

10. トランスレーショナルリサーチ (TR)

10.1. TR の目的

本治験の参加に同意した患者の臨床検体（初回手術時の外科的摘出組織および再発癌に対するエベロリムス投与前後に採取した血液）を用いて、卵巣明細胞腺癌に対するエベロリムスの治療効果を規定するバイオマーカーを検索することを主な目的とする。また本研究において検討するバイオマーカー候補が、重篤な副作用発現を予見するバイオマーカーともなりうるかどうかについても検討を行う。

本研究により有用なバイオマーカーが同定されれば、エベロリムスに対する抗腫瘍効果を、“薬剤投与前に”見出すことが可能となり、不要な薬剤投与や重篤な副作用の発生を回避できる可能性がある。また本研究により得られるデータには個々の卵巣明細胞腺癌の生物学的特性に関する情報が含まれており、エベロリムス投与後に再燃する病変に対する治療薬の選択に際して重要な参考資料となる可能性がある。

10.2. 被験者の同意について

本 TR は探索的検討として、治験参加に同意し、登録されたすべての患者に対して実施する。ただし提出された検体についての、将来の TR での使用可否に関しては、患者が選択的（組織のみ・血液のみ・両方）に同意または不同意の意思を示すことができる。

10.3. 検体処理方法

10.3.1. 腫瘍検体の処理

10.3.1.1. ブロックの作製（図 10.3.1.1. 参照）

初回外科手術時に得られた腫瘍組織検体は、10-20%ホルマリン緩衝液を用いて固定した後、パラフィン包埋ブロックを作製する（ただし、既にパラフィンブロックがあるもしくは病理診断用のブロックしかない場合は、HE 染色等を確認し、薄切対象ブロックを選択する）。

10.3.1.2. 薄切スライドならびに検体提出時の流れ（図 10.3.1.1. および 10.3.1.2. 参照）

1) PIK3CA/KRAS 変異探索

症例登録後、投与開始前までに、10 μ m で薄切した未染スライド 8 枚および 3-4 μ m で薄切した未染スライド 2 枚を SRL の回収担当者に提出（DNA 採取→癌遺伝子変異検査用の検体として※詳細は項目 10.4. TR の実施方法を参照）。

薄切した未染スライドについては薄切後、常温で保管し送付する

2)上記 1)以外の TR 探索

全症例の登録完了後に、治験調整事務局から各施設へ免疫染色用のスライドの提出連絡を行う。連絡を受けた施設は、再度 1)で使用したパラフィンブロックを 5 μ m で 20 枚薄切し、常温にて送付する。尚、検体量が不十分な場合は、同一症例の他のブロックを使用することも許容する。

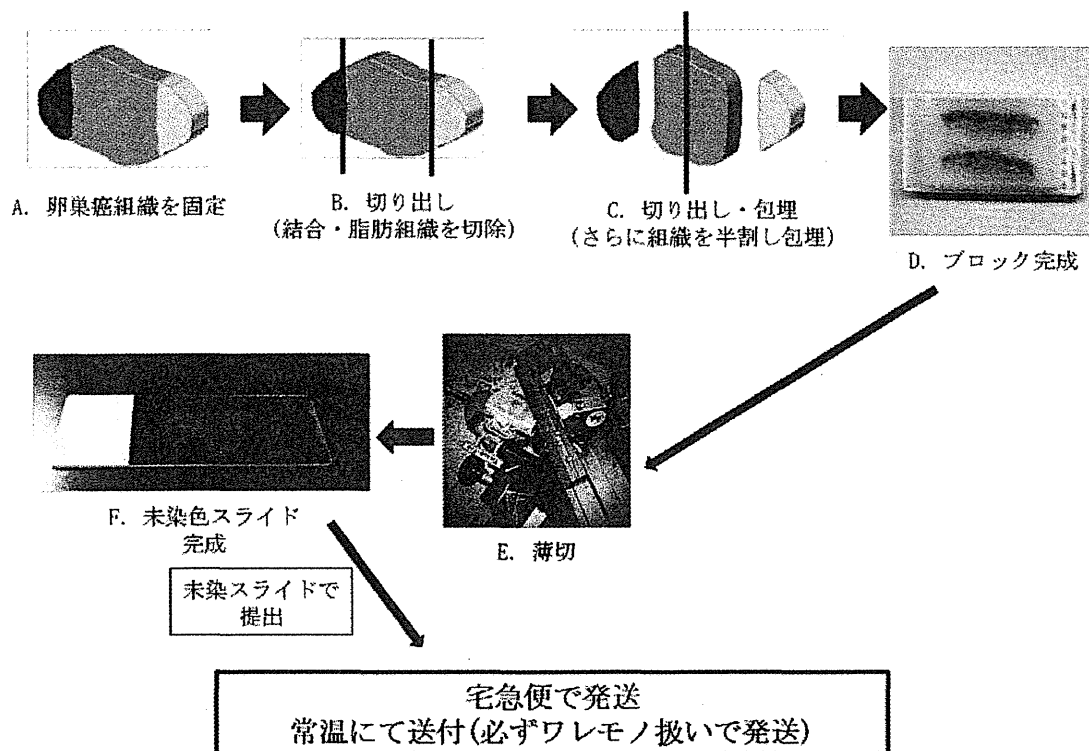
*検体作成時の注意点

症例登録時に薄切したブロック番号を必ず控え、紛失の防止に努めること。また上記 2)で薄切する際も、極力 1)で使用したブロックを使用すること。

薄切するブロックを選択の際は必ず事前に HE 染色にて該当のブロック内の腫瘍面積を確認し、壊死などを除いた腫瘍面積が約 80%以上あるものを極力選択する。判断が困難な場合は各施設の病理医に判定をしてもらう。

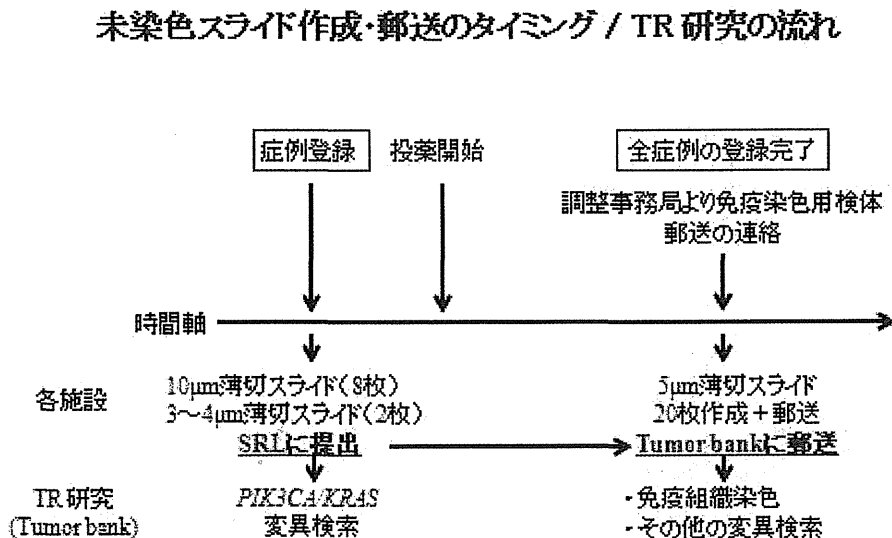
提出する未染スライドは、必ずシランコーティングスライド（免疫組織化学染色に通常使用するスライド）を用いる。

図 10.3.1.1. 組織採取とブロック作製、薄切、保存、送付について



注意) JGOG組織バンクコードがラベリングされた検体容器を用いて必ず提出すること。

図 10.3.1.2. 未染色スライド作成・郵送のタイミング / TR 研究の流れ



10.3.2.血液サンプルの処理

10.3.2.1.採血ポイント

下記の採血ポイントにおいて実施する。

①症例登録後、投与開始前

②投与開始 2 週間後 (第 1 サイクル Day14±3 日)

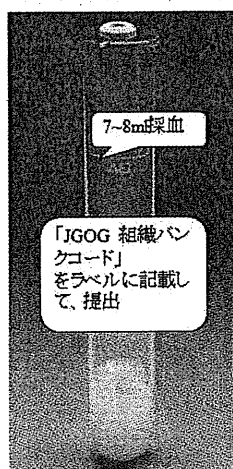
採血キット (真空分離剤入採血管、ラベル、血清保存用チューブ) は、治験調整事務局より各施設へ事前に郵送される。

10.3.2.2.処理方法 (図 10.3.2.2.を参照)

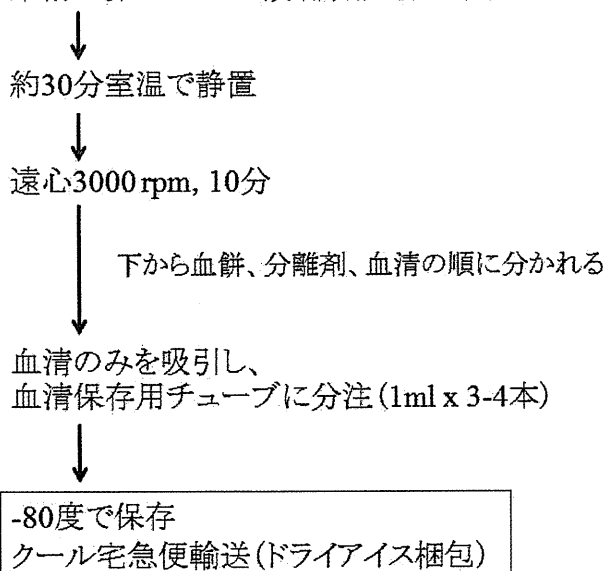
配布の採血キットを使用し、真空分離剤入採血管を用いて血液サンプル約 7~8ml を採血する (溶血をさけるため、できる限りゆっくり採血を行うよう心掛ける)。採血後は室温で約 30 分静置し、サンプルを 3000 回転 10 分で遠心分離した後に血清部分を吸引する。目視にて、明らかな溶血がある場合は、再度採血を行い、溶血の無い血清を分離する。血清保存用チューブに 1ml ずつ 3~4 本に分注し、マイナス 80℃ で保存する。なお、血清の分離法に関しては各施設の SOP に準じて行ってもよい。

図 10.3.2.2. 血液の採取、保存について

血清分離剤入採血管



末梢血採血 7-8ml (分離剤入採血管)



*注. 調整事務局から通知のあった、JGOG 組織バンクコードをラベルに記載して提出すること。

10.3.3. バンクコード付与手続きと出荷

- 1) 治験担当医師は、症例登録の際に、「将来の TR への同意/不同意」についても Rave に入力する。治験調整事務局は、症例登録完了後、JGOG 組織バンクコードに変換手続きを行い JGOG 組織バンクへ検体提出に関する連絡を行う。
- 2) 治験調整事務局は、割り当てられたバンクコードを治験担当医師へ連絡する。
- 3 治験担当医師は、病理スライドおよび治験調整事務局より事前に郵送された採血キット内のラベルにバンクコードを記載したうえで使用する。すべての検体は、施設において提出前にバンクコードのみが記載されていることの再確認を行い、個人情報漏洩を防止する。

検体（組織および血液）は、下記へ送付する。

【組織】

○PIK3CA/KRAS 変異探索

提出時期：症例登録後、投与開始前（各症例ごと対応する）

提出先：SRL（詳細手順は、各医療機関が SRL 担当者との協議の上、決定すること）

○その他の TR 探索

提出時期：全症例の登録完了時

提出先：JGOG 組織バンク

〒683-8504 鳥取県米子市西町 36-1 鳥取大学医学部附属病院がんセンター

TEL：0859-38-6292 FAX：0859-38-6293

Email：gan-center@med.tottori-u.ac.jp

薄切した未染スライドは抗原性を保つため、薄切後 2-3 週間で JGOG 組織バンクへ送付すること。万一、保管期限がこの期間を超える場合は発送まで、-80℃にて保管すること(※送付は常温可)。

スライドを送付する場合は、スライドが輸送中に割れないように梱包し送付すること。(例：発送伝票にワレモノであることを明記し、クッション材などでの梱包が望ましい)。

【血液】

提出時期：各症例の「10.3.2.1.採血ポイント」に規定する 2 ポイントの採血終了時

提出先：JGOG 組織バンク

〒683-8504 鳥取県米子市西町 36-1 鳥取大学医学部附属病院がんセンター

TEL：0859-38-6292 FAX：0859-38-6293

Email：gan-center@med.tottori-u.ac.jp

血液サンプルはドライアイスで梱包し凍結させたままクール便にて JGOG 組織バンクへ送付する。提出は各被験者の両採血ポイントの採取が終了したのち、まとめて発送してよい。

10.3.4.バンクコードと検体の管理

治験調整事務局は、バンクコードに関連する匿名化情報はパスワードが設定されたコンピューターにて適切に管理する。

また JGOG 組織バンクにおいては、受領した後の保管用検体には、この「JGOG 組織バンクコード」のみをラベリングして保管する。JGOG 組織バンクにおいて、この組織バンクコードから個人情報を特定することはできない。

各医療機関において、バンクコードの管理は適切に行うこと。(たとえば、パスワードが設定されたコンピューターにて管理するなど、各施設が定める手順に従うこと)

薬剤応答に関わるバイオマーカーや遺伝子が新規に同定された場合に備えて、治験期間中はすべての収集された検体は JGOG 組織バンクにて保存する。これらの検体の保管庫は常時施錠され、JGOG 組織バンクの任命された担当者以外の者が入室することでは

きない。また、鍵の保管は安全管理者のもと厳重に管理される。これらの検体は、治験の終了（すべてのデータ解析が完了）の後、個人情報の漏洩のないよう十分に配慮し、JGOG 組織バンク責任者立会いのもとで焼却処理によって廃棄する。ただし、患者の同意が得られた検体については、本治験期間の終了後も引き続き JGOG 組織バンク内で保存し、将来の新たな医学的研究に用いる可能性がある。

10.3.5. 検体の破棄の方法

検体は、治験期間の終了時には、個人情報の漏洩がないよう十分に配慮し、JGOG 組織バンク責任者立会いのもとで焼却処理によって廃棄する。なお、いったん患者の同意を取得して検体を提出した後であっても、後に患者が同意の撤回を希望した場合には、「トランスレーショナルリサーチ同意撤回に関する情報」を Rave にて報告する。治験調整事務局は、医療機関情報をマスキングし、症例登録番号を JGOG 組織バンクコードに変換したのちに、JGOG 組織バンクへ検体破棄依頼に関する連絡を行う。JGOG 組織バンクは適切に焼却処理を行い、廃棄終了後には治験調整事務局へ「トランスレーショナルリサーチ同意撤回後の検体破棄に関する連絡」を行なう。治験調整事務局はこれを確認した後、当該施設の治験担当医師宛に連絡する。

10.4. TR の実施方法

エベロリムスの治療効果を予見するバイオマーカーを同定することを目的とし、薬剤耐性や mTOR の活性経路に関わる、あるいはそれを代償するような経路に関わる遺伝子/タンパク質などについて解析を行う。

解析項目は、がん抑制遺伝子の変異解析、免疫染色による蛋白発現解析、また血液を用いた蛋白発現解析に大別される（下記）。それぞれの分子によって分析方法は異なり、また解析方法も異なるが、一般的には以下に示すような方法を用いて解析を行う。

本 TR プロトコルは 2011 年 8 月時点（プロトコル作成時）の最新知見をもとに作成されているが、TR 研究は最新の科学論文を参考にしながら遂行する必要がある、新しい知見が得られれば、必要に応じてプロトコルの改訂を行う。

10.4.1. 癌遺伝子・癌抑制遺伝子の変異解析について

10.4.1.1. 概要

Exome sequencing 等の結果から、卵巣明細胞腺癌では新規癌抑制遺伝子 *ARID1A* の遺伝子変異が 46~57% と報告されている。また、卵巣明細胞腺癌では癌遺伝子 *PIK3CA* の oncogenic mutation が 33~37%、癌遺伝子 *KRAS* の oncogenic mutation が 4.1% と報告されている。癌抑制遺伝子 *ARID1A* の遺伝子産物である BAF250a はクロマチンリモデリングに関するタンパク質で、転写に関与している。癌抑制遺伝子 P53 と結合する事が知られており、胃癌、卵巣明細胞腺癌では *ARID1A* と *p53* の遺伝子変異は mutually

exclusive の関係にある。

また、SNP array の結果から、明細胞腺癌は他の組織型と異なり遺伝子増幅、欠失が少ないこと、20q13 の遺伝子増幅が特徴的であった。20q13 領域に存在する *ZNF217* の遺伝子増幅の頻度は 20.4% であった。さらに、卵巣明細胞腺癌 60 例を用いた後方視的解析からは、*ZNF217* の遺伝子増幅を有する症例は予後不良と報告されている。

10.4.1.2. 検索項目および方法

本 TR 研究の主な目的は、エベロリムスの効果予見のバイオマーカーの探索である。ゆえに、現時点で本 TR において検討を予定しているバイオマーカーは以下の通りである。

1) *PIK3CA*

卵巣明細胞腺癌組織を用いた Exome sequencing 等の結果から、mTOR の上流にある癌遺伝子 *PIK3CA* の oncogenic mutation が 33~37% の頻度で存在することが報告されている。遺伝子変異や遺伝子増幅を伴う癌遺伝子は「癌遺伝子依存 (Oncogene addiction)」という現象を引き起こす事が、近年提唱されている。すなわち、*PIK3CA* の oncogenic mutation を有する卵巣明細胞腺癌は *PIK3CA*/AKT/mTOR の経路に、癌細胞の生存を強く依存している可能性がある。そこで *PIK3CA* の oncogenic mutation の hot spot と報告されている、Exon 1, 9, 20 のサンガーシークエンスを行う。卵巣明細胞腺癌において、*PIK3CA* の oncogenic mutation が mTOR 阻害剤 (エベロリムス) の効果予測のバイオマーカーとなり得るかを検討する。

【対象】卵巣明細胞腺癌組織

【方法】パラフィン包埋ブロックを薄切した切片から DNA を抽出し、*PIK3CA* の Exon 1, 9, 20 を PCR で増幅後、サンガーシークエンスを行う。*PIK3CA* の oncogenic mutation の有無とエベロリムス感受性との関連を比較検討する。

2) *KRAS*

KRAS は MAPK 経路の上流に位置する癌遺伝子であり、卵巣明細胞腺癌組織を用いた Exome sequencing の結果から、その 4.1% に oncogenic mutation が存在すると報告されている。また、*KRAS*/BRAF/MAPK 経路は重要な細胞増殖シグナルと考えられている。仮に *PIK3CA* に oncogenic mutation が存在し *PIK3CA*/AKT/mTOR 経路が活性化された状態であったとしても、*KRAS* にも oncogenic mutation が存在し、*KRAS*/BRAF/MAPK 経路も同時に活性化されていた場合は mTOR 阻害剤 (エベロリムス) の効果が低い可能性がある。そこで *KRAS* の oncogenic mutation の hot spot と報告されている、Exon 1 のサンガーシークエンスを行う。卵巣明細胞腺癌において、*KRAS* の oncogenic mutation が mTOR 阻害剤 (エベロリムス) の負な効果予測のバイオマ

カーとなり得るかを検討する。

【対象】 卵巣明細胞腺癌組織

【方法】 パラフィン包埋ブロックを薄切した切片から DNA を抽出し、*KRAS* の Exon 1 を PCR で増幅後、サンガーシーケンスを行う。*KRAS* の oncogenic mutation の有無とエベロリムス感受性との関連を比較検討する。

3) BRAF、その他

卵巣明細胞腺癌で遺伝子変異の頻度が高い *ARID1A* は癌抑制遺伝子のため遺伝子変異の hot spot は存在しない。あらゆる Exon で遺伝子変異が存在すると考えられている。そのため、パラフィン包埋組織から抽出した DNA では PCR での増幅に限界がある。しかし、*ARID1A* の遺伝子変異は免疫染色によるタンパク質発現と相関すると報告されているため、*ARID1A* に関しては免疫染色で代替可能である。また、*BRAF* は *KRAS*/*BRAF*/*MAPK* 経路に存在する癌遺伝子であり、卵巣漿液性腺癌(低悪性度)では高頻度に oncogenic mutation が存在する。しかし、卵巣明細胞腺癌では *BRAF* の oncogenic mutation は極めて低いと考えられているため、抽出した DNA 量に余裕がある場合にのみ、*BRAF* Exon 15 の oncogenic mutation の検討を行う。またその他卵巣癌薬剤耐性や増殖に関する可能性のある遺伝子に関しても遺伝子変異の解析、メチル化の解析、転写プロファイルの解析を検討する。

【対象】 卵巣明細胞腺癌組織

【方法】 パラフィン包埋ブロックを薄切した切片から遺伝子を抽出し、*BRAF* の Exon 15 を PCR で増幅後、サンガーシーケンスを行う。*BRAF* の oncogenic mutation の有無とエベロリムス感受性との関連を比較検討する。

10.4.2.免疫組織染色による蛋白発現解析について

10.4.2.1.概要

これまでに、他癌種(明細胞腺癌以外の上皮性卵巣癌を含む)において、mTOR 阻害剤の効果を予見するバイオマーカーの検索がなされてきた。これまでの研究の多くは免疫組織染色法によってなされており、PI3K-AKT-mTOR signaling cascade を構成する各シグナルの活性化がバイオマーカーとなるとする報告が散見されるが、未だ決定的なバイオマーカーは同定されていない。

10.4.2.2.検索項目および方法

これまでの基礎・臨床研究を参考に、下記のバイオマーカー候補について免疫組織染色による検討を行う予定である。材料は、初回手術検体のパラフィンブロックから作成した薄切スライドを用いる(項目 6-1 に従って作成)。バイオマーカー候補はプロトコル作成時の科学的証拠を根拠に選定し、以下の 3 項目に分類しているが、実際の解析を開

始する時点の最新の科学文献を参考にし、検討項目を適宜変更する可能性がある。

1) AKT・mTOR 経路

mTOR は上流の PI3K-AKT によって活性化され、癌の増殖に必要な蛋白の翻訳を促進する。これまでの様々な癌における基礎・臨床研究により、AKT・mTOR 経路に存在するシグナルの活性が高い細胞ほど、mTOR 阻害剤に高い感受性を示すことが明らかとなっており、本 TR 研究でもこの経路に着目した検討を行う。具体的には、以下のシグナルについて免疫組織染色を行う。

免疫組織化学の対象蛋白 (AKT・mTOR 経路)				
P-AKT	P-TSC2	P-mTOR (Ser2448)	P-mTOR (Ser2481)	P-S6K1
P-S6	P-4EBP1	P-PRAS40	P-Rictor	Cyclin D1

2) mTOR シグナルを代償する経路^{20) 23) 24)}

mTOR を阻害した場合、その細胞増殖・生存機能を代償するシグナル経路が活性化する可能性があり、代償シグナルの活性が強い細胞ほど、エベロリムスの感受性が低下する可能性があるため、代償シグナル活性は、エベロリムス感受性を規定するバイオマーカーとなり得る。

PI3K-AKT・mTOR 経路、MAPK シグナル経路はいずれも RTK(Receptor Tyrosine Kinase)/Ras のシグナル伝達経路の下流に位置し、それぞれが癌における細胞増殖・細胞生存に重要であることが知られており、しばしば PI3K 活性化が RAS-MAPK 活性化と相加的・相乗的あるいは相補的に作用して癌の発生や進展を促進している可能性が報告されている。MAPK 経路は、複数のプロテインキナーゼによって構成されており、Raf、MEK1/2、ERK1/2 と順繰りにリン酸化が起こり、細胞増殖・分化を誘導する。本 TR においても mTOR シグナルを代償とする経路として併せて検討を行う。

3) 検討予定因子：P-ERK

MAPK シグナル経路は、Ras-MEK-ERK と順々にリン酸化が起こり活性化する。活性化されたリン酸化 ERK(P-ERK)はその後細胞質から核へ移行し、転写因子のリン酸化を介して遺伝子発現を調節するため、細胞増殖などのマスタースイッチとして重要である。従って、P-ERK を検索することは、本経路の活性化を確認する意味においても重要といえる。

4) その他の蛋白

mTOR 阻害剤の効果予測マーカーの開発はまだ検証段階であり、様々な報告がなされ

ているが、癌化が単一の癌遺伝子に依存しておらず、色々なシグナル伝達系との関連から決定的なマーカー候補は見い出せていない。そこで本 TR においても、複数の科学的根拠を参考に以下のエベロリムスの効果予測マーカー候補の探索を併せて行う。

候補蛋白	分子の特徴と本研究における測定意義
Ki67 ²⁵⁾	癌細胞の基本的な性質としての細胞増殖と、他のシグナル分子との相関、mTOR 阻害剤の奏効割合との関連を調べることができる。
ARID1A ¹⁷⁾	ARID1A は卵巣明細胞腺癌で最も高頻度 (46~57%) に遺伝子変異が生じている癌抑制遺伝子である。TP53 と結合する事が知られており、p53 の遺伝子変異とは mutually exclusive の関係にある。
STAT3 ²⁶⁾	IL-6-Stat3 シグナルは卵巣明細胞腺癌にて活性化していることが報告されており、その薬剤耐性機構に関与することが示唆されている。
HNF-1 β ²⁸⁾	卵巣明細胞腺癌のマーカー分子であり、患者選択において確かに卵巣明細胞腺癌を選択できていると validate できる。また、糖代謝との関連が報告されており、mTOR は代謝と関連が深いので、HNF-1 β の発現強度と mTOR 阻害剤の奏効割合が相関する可能性がある。
HIF-1 α ¹¹⁾	HIF-1 α はこれまでも他の上皮性卵巣癌に比して明細胞腺癌において亢進していること、さらに mTOR の活性化が明細胞腺癌における HIF-1 α の活性化さらには予後不良因子であることから、mTOR 阻害剤の奏効ならびに下流因子へ与える影響を推測できる。
VHL ²⁹⁾	既にエベロリムスが承認されている明細胞型腎細胞癌では 50-70% に VHL の欠失、変異を認め、このことが HIF-1 を活性化することが知られており、同様の組織形態を示す明細胞腺癌においても類似した現象が推測されることから、予め HIF-1 α 陽性例においては VHL の発現を検討する。またエベロリムスは VHL を活性化する可能性があることから、治療後に HIF-1 系の下流因子の奏効マーカーとなり得る可能性がある。
NAC1 ³⁰⁾	卵巣漿液腺癌(High grade)で約 20% の遺伝子増幅が認められており、NAC1 高発現症例は予後不良と報告されている。卵巣癌の組織型では明細胞腺癌が最も高発現の頻度が高い。転写制御因子と考えられている。
Stathmin ³¹⁾	乳がん、子宮体がん、卵巣がんをはじめ種々のがんが発現が認められ、細胞増殖や転移に関係すると考えられている。また乳がんでは PI3Kinase 活性化に伴い発現が亢進し、PI3Kinase 阻害剤使用の選択マーカーとなる可能性が報告されている。
IGF-1R ³⁴⁾	mTOR シグナルに関連の深い growth factor であり、IGF-1R を介して PIK-AKT-mTOR シグナルを活性化するため、エベロリムス感受性

	を規定するバイオマーカーとなりうる。
--	--------------------

10.4.3.血液サンプルを用いた蛋白発現解析

10.4.3.1. 概要

再発癌を対象とした本試験において、再発病変の生検・手術検体を用いた TR 研究を行うことは不可能である。従って血液サンプルは、再発時の腫瘍の分子生物学的特徴を反映する唯一の材料であり、血液サンプルを用いた TR 研究の意義は非常に大きい。エベロリムスの治療効果を規定する血液中のバイオマーカーを特定できれば、将来、簡便な血液検査によって、治療効果の予見やエベロリムス投与対象者の選別が行える可能性があり、医療経済的な意義も大きいと言える。

解析対象となるバイオマーカーの候補（下記表を参照）は、これまでの基礎・臨床研究を参考に、mTOR シグナルに関連する因子を中心とする他、これまでに卵巣明細胞腺癌との関連や抗癌剤耐性との関連が指摘された因子も含めることとし、血液を対象サンプルとして測定可能であるものとした。

バイオマーカー候補はプロトコル作成時の科学的証拠を根拠に選定されているが、実際の解析を開始する時点の最新の科学文献を参考にし、検討項目を適宜変更する可能性がある。

10.4.3.2. 測定項目および測定方法

ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay)もしくは Luminex®のいずれかを用いる。また、血液サンプルは採血ポイント（10.3.2.1.に記載）にて採取された血液より抽出した血清を使用する。

測定項目	分子の特徴と本研究における測定意義
VEGF-A ³²⁾	VEGF-A は血管新生を促進する因子。mTOR によってその発現の一部が制御されるため、強発現の組織は mTOR 活性が高く、mTOR 阻害剤に高い感受性を示す可能性がある。
VEGF-C ³³⁾	VEGF-C はリンパ管新生を促進する因子。mTOR によってその発現の一部が制御されるため、強発現の組織は mTOR 活性が高く、mTOR 阻害剤に高い感受性を示す可能性がある。
IL-6 ²⁶⁾ , ²⁷⁾	卵巣癌患者の血清及び腹水の IL-6 発現量は、予後と相関することが報告されている。また、卵巣明細胞腺癌組織における IL-6 の高発現も確認されている。
IL-8 ²⁶⁾ , ²⁷⁾	TH2 サイトカインである IL-8 も IL-6 と同様に、卵巣癌患者の予後との関連が報告されている。
IGF-1 ³⁴⁾	mTOR シグナルに関連の深い growth factor であり、IGF-1R を介して

	PIK-AKT-mTOR シグナルを活性化するため、エベロリムス感受性を規定するバイオマーカーとなりうる。
Thrombopoietin ³⁵⁾	卵巣癌はしばしば血小板増多や血栓症を併発し、血小板増多症例は予後不良であることが報告されている。血小板増多には IL-6 以外にも Thrombopoietin が深く関わっている。
FOLR1 ³⁶⁾	葉酸受容体は卵巣癌、子宮体癌で過剰発現が確認されており癌の進展と関係する。また抗癌剤耐性にも関連していると報告されている。

10.4.4. 将来の研究における臨床検体（組織および血液）の使用について

本 TR のために収集した患者サンプル、すなわち、腫瘍のパラフィン包埋ブロック・非染色プレパラート・そこから抽出した DNA・血漿のうち、解析後の残余サンプルは、将来それらを用いた新たなバイオマーカー探索など、新たな研究を行う可能性があるため、JGOG 組織バンクに保存しておく。本 TR 研究において、本プロトコルに記載した以外の新たな研究を行う場合は、新たにプロトコルを作成し、IRB の承認を得る。

なお、「トランスレーショナルリサーチ同意書」では、本 TR のために収集した患者サンプルを将来の研究に用いることについても患者の同意を得るが、この同意はいつでも撤回可能であり、同意の撤回があった場合は 10.3.5. に従って、すみやかにサンプルを廃棄する。

10.5. 検体の将来の TR への使用について

JGOG 組織バンクに保管された検体を、将来その他の TR に使用する場合には、JGOG に所属する施設の TR 研究者が JGOG へ新たに TR 計画書を申請し、JGOG においてその研究計画書が承認されなければならない。JGOG は、JGOG 臨床試験審査委員会ならびに JGOG 倫理審査委員会において承認された場合に限り、JGOG 組織バンクから当該 TR 研究者に限定して検体を提供することを許可する。このように新たな TR 用に検体が提供される場合においても、個人情報とプライバシーを保護するため、「JGOG 組織バンクコード」のみが検体識別情報として使用される。

10.6. JGOG 組織バンク責任者、安全管理者

JGOG 組織バンクには、以下の管理責任者、安全管理者を置く。

【JGOG 組織バンク責任者】

紀川純三

鳥取大学医学部附属病院がんセンター センター長・教授

住所：〒683-8504 鳥取県米子市西町 36-1

TEL：0859-38-6292 FAX：0859-38-6293

【安全管理者】

大山賢治

鳥取大学医学部がんセンター 助教

住所：〒683-8504 鳥取県米子市西町 36-1

TEL：0859-38-6292 FAX：0859-38-6293

11. 評価基準・効果判定

11.1. Disease control rate (CR+PR+SD (8 週以上)) の定義

RECIST(Response Evaluation Criteria in Solid Tumors)ガイドライン Ver1.1 (Appendix7 を参照)に従って客観的に有効性の評価がなされ、最良総合効果として CR、PR もしくは SD (8 週以上)であった患者の割合として定義する。

11.1.1. 測定可能病変 (Measurable disease)

以下のいずれかに該当する病変を測定可能病変 (measurable lesion) とする。

- 1) CT あるいは MRI で 5 mm $\geq$ スライス厚の場合は最大径 10 mm 以上の病変, スライス厚 > 5mm の場合はスライス厚の 2 倍以上の病変
- 2) リンパ節は 5 mm $\geq$ スライス厚で, 短径 $\geq$ 15mm の病変
- 3) 胸部単純 X 線写真にて最大径 20 mm 以上で, かつ周囲が肺野で囲まれている (縦隔や胸壁に接していない)
- 4) メジャーとともにカラー写真撮影ができる最大径 10 mm 以上の表在性病変 (皮膚転移など)

11.1.2. 測定不能病変 (Non-measurable disease)

11.1.1 以外のすべての病変を測定不能病変 (non-measurable lesion) とする。以下の病変は, 測定不能病変とするので注意すること。

- ・ 10mm 以下の小病変
- ・ 10mm $\leq$ 短径 < 15mm のリンパ節
- ・ 髄膜病変
- ・ 腹水・胸水・心膜液
- ・ 皮膚/肺リンパ管症
- ・ 画像診断により確認できない腹部腫瘍 など

11.1.3. 標的病変 (Target lesions)

登録時に認められた測定可能病変のうち, 繰り返して正確に測定できる病変から 1 臓器につき最大 2 病変, 合計 5 病変までを選択して標的病変 (Target lesion) とする。選択した標的病変の部位 (コード), 検査法, 検査日, 長径 (リンパ節に関しては短径) を eCRF にて報告する。

11.1.4. 非標的病変 (Non-target lesions)

標的病変として選択されなかった病変は, 測定可能か否かを問わずすべて非標的病変 (non-target lesion) として部位 (コード), 検査方法, 検査日を記録する。これらの非標的病変は測定の必要はないが, 「あり」「なし」の別, またまれに「明らかな増悪」の有無についてもフォローアップまでの間評価をおこなうことに注意すること。

11.1.5. 腫瘍縮小効果の判定

各群共に、2サイクル毎にベースラインと同じ検査法にて評価をし、判定する。

注: 本試験では CA-125 による評価は行わない。参考値としてのみ取り扱う。

11.1.6. 標的病変の効果判定規準

完全奏効 (CR): すべての標的病変の消失。リンパ節病変は、短径で10 mm未満に縮小して
いなくてはならない。

部分奏効 (PR): ベースライン径和に比して、標的病変の径和が30% 以上減少。

進行 (PD): 試験中の最小の径和 (ベースライン径和が試験中の最小値である場合、これを最
小の径和とする) に比して、標的病変の径和が20%以上増加、かつ、径和が絶対値でも5 mm
以上増加。1つ以上の新病変の出現も進行とする。

安定 (SD): 試験中の最小の径和に比して、PRに相当する縮小がなくPDに相当する増大がな
い。

評価不能 (NE): ある時点で1箇所でも標的病変が評価されていない場合。

$$\text{径和の縮小割合} = \frac{\text{治療前の径和} - \text{評価時の径和}}{\text{治療前の径和}} \times 100\%$$

$$\text{径和の増大割合} = \frac{\text{評価時の径和} - \text{最小の径和}}{\text{最小の径和}} \times 100\%$$

11.1.7. 非標的病変の効果判定規準

完全奏効 (CR): すべての非標的病変の消失。すべてのリンパ節は病的腫大とみなされないサ
イズ(短径が10 mm 未満)とならなければならない。

非CR/非PD(Non-CR/Non-PD): 一つ以上の非標的病変の残存。

進行 (PD): 新病変が1箇所以上出現するか、既存の非標的病変に明らかな増悪がみられる場
合。通常、明らかな増悪は標的病変の状態に勝るものではない。病変1箇所の増大ではなく、病
勢全体の状態変化を表すものでなければならない。

評価不能 (NE): ある時点で少なくとも1箇所でも非標的病変が評価されていない場合。

「非標的」病変に限って明らかな増悪がみられるのは稀であるが、そのような状況では治療担当

医の意見を優先させること。また後日、判定パネル(または試験責任医師)が増悪の状態を確認すること。

11.1.8.新病変出現の有無

ベースラインにおいて記録された全腫瘍病変以外で、プロトコル治療中に出現した新しい病変

11.1.9.総合効果(Overall Response)

総合効果は、標的病変の腫瘍縮小効果と非標的病変の腫瘍縮小効果および新病変との組み合わせから、以下の表に従って判定する。

表 11.1.9.総合効果

標的病変の効果	非標的病変の効果	新病変出現の有無	総合効果
CR	CR	なし	CR
CR	CR/PD 以外	なし	PR
CR	NE	なし	PR
PR	PD 以外または NE	なし	PR
SD	PD 以外または NE	なし	SD
NE	PD 以外	ない	NE
PD	問わない	問わない	PD
問わない	PD	問わない	PD
問わない	問わない	あり	PD

11.1.10.最良総合効果(Best Overall Response)

最良総合効果(Best Overall Response)判定には、confirmation を必要とする。

総合効果(overall response)はCR>PR>SD>PD>NE の順に「良好」であるとし、全コースの総合効果から以下の規準に従って最良総合効果(Best Overall Response)を判定する。複数の区分の定義に該当する場合は、CR>PR>SD>PD>NE の順に、より良好なものに区分する。

・ CR(Complete Response):完全奏効

4 週(28 日)以上の間隔で連続2 回以上の総合効果CR が得られた場合。

2 回目の総合効果CR が確認され最良総合効果CR が確定した日を「CR 確定日」とする。

・ PR(Partial Response):部分奏効

4 週(28 日)以上の間隔で連続2 回以上のPR 以上の総合効果(CR またはPR)が得られた場合。

2 回目のPR 以上の総合効果が確認され最良総合効果PR が確定した日を「PR 確定日」とする。

・ SD(Stable Disease):安定

最良総合効果のCR もPR も得られなかったが、治療開始後8 週後の判定以降まで総合効果が

PD ではなく、かつ総合効果が 1 回以上 SD 以上である場合。

- ・ PD (Progressive Disease) : 進行

最良総合効果CR、PR、SD のいずれにも該当せずに、総合効果がPD となった場合。

- ・ NE (Not Evaluable) : 評価不能

総合効果がすべて NE であった場合

下表に SD、PD、NE 判定例を示す。

表 11.1.10. 最良総合効果(SD、PD、NE の判定例)

最初の総合効果	次の総合効果	その次の総合効果	最良総合効果
PR,CR のいずれか	SD	PD	SD
PR,CR のいずれか	SD	NE	SD
PR,CR のいずれか	PD	—	PD
PR,CR のいずれか	NE	NE	NE
PR,CR のいずれか	NE	SD	SD
SD	PD	—	PD
SD	SD	PD	SD
SD	NE	PD	PD
NE	NE	PD	PD
NE	NE	NE	NE

11.2.全生存期間の定義

登録日を起算日とし、あらゆる原因による死亡日までの期間

- ・生存患者では、最終生存確認日をもって打ち切りとする。
- ・追跡不能の場合、追跡不能となる以前で生存が確認されていた最終日をもって打ち切りとする。

11.3.無増悪生存期間 (Progression-free survival: PFS)

登録日から増悪が最初に確認された日又は死亡日（死因は問わない）までの期間と定義する。解析のカットオフ日の時点又は、他の癌治療を受けた時点で増悪も死亡も認められていない患者はカットオフ日又は癌治療を受けた日のいずれか早い方の時点の前に実施した最後の腫瘍評価時点を持って PFS を打ち切りとする。

11.4.腫瘍縮小効果中央判定

本治験実施計画書に規定する治療を行った全症例について、効果判定委員による腫瘍縮小効果の判定を実施する。原則として年 1 回実施する。中央効果判定委員会を実施する際には、治験責任医師は中央評価判定標準業務手順書に従い、必要な資料を調整事務局へ速やかに

送付する。

11.5.有害事象(発生頻度と程度)

適格・不適格を問わず、プロトコル治療の一部が施行された被験者数(全治療例)を分母とし、CTCAE v4.0(Common Terminology Criteria for Adverse Events)、日本語訳 JCOG 版を用いて、個々の有害事象の最悪グレード、発現例数および発現割合を求める。

11.6.病理診断中央判定

本登録が行われた全症例について、病理診断委員による卵巣明細胞腺癌の適格性診断を行う。(ただし、JGOG3017 試験に参加しており中央病理判定にて組織型の確定がなされている場合はその結果を採用するため、本治験での判定は行わないこととする)

病理中央診断を実施する際には、治験責任医師は病理中央診断標準業務手順書に従い、必要な資料を調整事務局へ速やかに送付する。なお、病理標本も病理中央診断標準業務手順書に従って作製する。

12. データの報告方法

12. 1. データの集積

(1) 症例データの報告(変更または修正含む)

治験担当医師は、原資料に基づき症例データの報告を行う。EDC (Electronic Data Capture) システム Medidata Rave® を使用し、下記 URL にアクセス/データ入力を行い、データセンターに集積する。

URL: <https://kitasato-ctcc.mdsol.com>

ただし、治験実施施設の施設長が指名した「治験分担医師および治験協力者リスト」に記載されている治験協力者は、原資料に記載され、かつ医師の判断を要さない項目のみ入力することができる。入力画面に合わせて必要事項を入力し、データ保存を行う。治験責任医師は、治験分担医師および治験協力者が入力したデータの内容を点検し、問題がないことを確認した上で電子署名をする。

治験担当医師または治験協力者は、「eCRF 入力マニュアル Appendix3」に従ってデータを入力、変更または修正する。

12. 2. 原資料の特定

本治験における原資料は以下のとおりとする。

- ・ 診療記録
- ・ 画像診断フィルム
- ・ スクリーニング名簿
- ・ 同意文書
- ・ 治験薬管理表
- ・ 一般臨床検査結果の出力用紙
- ・ eCRF に入力されたデータ
- ・

下記の項目については eCRF に直接入力し、これを原データとして取扱うことができる。

- 1) 症例登録フォームに入力された被験者の状況
- 2) 登録において適格性が確認されたが、治験薬の投与が実施できないと判断した日およびその理由
- 3) 各種検査に関する異常所見の有無及びコメント
- 4) プロトコルスケジュールの変更、投与量の変更の理由
- 5) プロトコル投与終了・中止と判断した日およびその理由
- 6) 有害事象に関する記載(重篤度、程度、発現時期、化学療法との因果関係および因果関係に関するコメント)
- 7) 併用治療の実施理由

- 8) プロトコル治療の効果判定
- 9) 追跡不要と判断した理由
- 10) 被験者が死亡した場合、化学療法・治験薬との関連性
- 11) eCRF 中のコメント、欄外入力

12. 3. 欠落、不採用および異常データの取り扱い手順

治験開始前に予期されなかった欠測データ、不採用データおよび異常データについては、治験調整医師および統計解析担当者が協議し、その取扱いを決定する。その取扱い内容に関しては、解析報告書に記載する。