

Hochberg 法により, False Discovery Rate の計算を行う。

効果予測因子の検討は以下のように行う。対象とする遺伝子は、①mRNA microarray、microRNA microarray にて検出された発現量が、TMZ 群および IT 群の少なくとも一方で検出限度以上かつ、IT 群の Long survival group と short survival group の遺伝子を対象とするの遺伝子数の比が2倍以上の遺伝子、②事前に IT の効果予測因子の候補として報告されている遺伝子のうち、少なくとも一方に当てはまる遺伝子とする。

遺伝子の発現量は分布等を確認した上で、中央値で Low、High の 2 値に分類する。ただし、予後因子の解析の際に 3 値に分類するモデルが選択されていた場合は 3 値での解析を行くこととし、その際、無イベントのプロファイルが存在するなど、交互作用項の検討が出来ない場合もあり得ることから、解析に用いる区分は、①単純な 3 値への分類、②予後因子解析で検討した最も当てはまりの良い対比が $(-2, 1, 1)$ 、 $(-1, -1, 2)$ であった場合には、当該対比に基づく 2 値への分類、②同じく最も当てはまりの良い対比が $(-1, 0, 1)$ であった場合には中央値による 2 値への分類、の優先順位で解析方法を選択する。エンドポイントである OS に関して、遺伝子群(Low、High)と治療群、それらの交互作用項を説明変数に加え、Cox の比例ハザードモデルにより交互作用の検定を行う。交互作用の検定は検出力が低いことが知られているため、有意水準 20%で有意となったものを、IT の効果予測因子の候補とする。さらに、遺伝子群に関して、Kaplan-Meier 法による累積生存曲線の推定や、log-rank 検定等を行う。これらの解析を総合的に判断し、選択された遺伝子が新たな効果予測因子の候補となるかを検討する。

また、サンプルの背景情報に依存しない unsupervised な手法により、治療群の中での新たなクラスの見出しを行う。具体的には、SNP-array 法、mRNA microarray、microRNA microarray で計測された信号を多変量データとみなしたクラスタ解析を行う。クラスタ解析のアルゴリズムとしては k-平均法および階層型クラスタ解析法を用いる。k-平均法におけるクラスタ数 k の決定は Gap 統計量に基づいて決定する。また、階層型クラスタ解析においては、木構造の各枝の統計的有意性について bootstrap 法を用いて定量化する。

さらに、SNP-array 法、mRNA microarray、microRNA microarray にて検出された 2 群間で発現の異なるマーカー候補群によるクラス予測等の解析を行うなどの supervised な手法等を用い、IFN の効果予測因子や IFN 治療を行った患者の予後因子や IFN の効果予測因子となり得る遺伝子群を多方面から探索する。具体的には、SNP-array 法、mRNA microarray、microRNA microarray で計測された信号を多変量データとみなした判別分析を行う。判別分析のアルゴリズムとしては、まず、線形判別境界を持つ予測モデルとして線形判別分析、ロジスティック回帰分析を適用する。必要であれば、L2 正則化および L1 正則化に基づく変数選択を行う。正則化係数の選択には leave-one-out cross-validation を用いる。さらに、非線形な判別境界を持つ予測モデルとして、最近傍判別分析、サポートベクトルマシンを適用する。最近傍判別分析の近傍数およびサポートベクトルマシンのハイパーパラメータの決定には leave-one-out cross-validation を用いる。最終的な予測性能の検証にも leave-one-out cross-validation を用いる。すなわち、ハイパーパラメータの選択(モデル選択)と予測性能の検証を行うために、nested leave-one-out cross-validation を行う。

クラス予測に関しては、予後因子として抽出された候補を効果予測因子の検討の対象とすることは可能であるが、計算上の問題から、予後因子として抽出されなかった候補の中で効果予測因子を検討することは困難である。そのため、後者の検討を可能とするため、本試験では、A 群(TMZ 単独療法)、B 群(IT 療法)それぞれに対して独立に以下の方針で検討を行うこととする。

- ①A 群(TMZ 単独療法)を対象に前述の判別分析、並びに、validation を行う。ここで見いだされたものは予後因子と見なす(正確には「予後因子である」、「予後因子であり、かつ、TMZ 療法の効果予測因子である」、「予後因子ではないものの、TMZ 療法の効果予測因子である」のいずれかであるが、本試験では無治療群を置いていないことから、これら 3 通りの可能性のいずれであるのかは結論づけることができない)。
- ②B 群(IT 療法)を対象に前述の判別分析、並びに、validation を行う。ここで見いだされたものは、「予後因子であるものの IT 療法の効果予測因子ではない」「予後因子であり、かつ、IT 療法の効果予測因子」「予後因子ではないものの IT 療法の効果予測因子」のいずれかである。
- ③ここまで選出された候補に対して、それぞれ、A 群(TMZ 単独療法)と B 群(IT 療法)を併合したデータセットにおいて Cox 回帰で評価する。その際、クラス予測のための classifier、治療群、classifier と治療群の交互作用、並びにこれらの交互作用項を説明変数に加え、Cox の比例ハザードモ

デルにより交互作用の検定を行う。交互作用の検定は検出力が低いことが知られているため、有意水準 20%で有意となったものを、IT の効果予測因子の候補とする。これらの解析を総合的に判断し、選択された classifier が新たな効果予測因子の候補となるかを検討する。

なお、これらの解析も探索的なものとは言え、遺伝子発現解析研究の分野における多重性の問題はより重大であるため、false discovery rate (FDR)を算出するなど、解析の目的に応じ、適切な false positive を調整する方法を用いる。結果に関しては、leave-out-one cross-validation,を行うなどして、総合的に妥当性を判断する。これらの解析に関しては、試料解析研究事務局において行い、JCOG データセンターでは試料解析結果と診療情報を統合したデータパッケージに基づく統計解析結果のダブルチェックを行う。

4) 結果の解釈

1p、19q、*TP53*、*PTEN*、などの既知のバイオマーカーが OS とどのように関連しているか、従来の報告と比較し、その相違を確認する。また、網羅的解析によって新たに得られたバイオマーカーが IFN の予後因子、効果予測因子となり得るかどうかが評価する。

5.5. 統計解析施設

目的 1、目的 2 の統計解析: JCOG データセンター

目的 3 の統計解析: 試料解析研究事務局

目的 3 の統計解析のうち、試料解析結果と診療データを統合したデータパッケージを対象として行われる解析部分のダブルチェック: JCOG データセンター

6. 予測されるメリットおよびデメリット

6.1. 本附随研究に参加した患者のメリットおよびデメリット

本附随研究に参加した患者が得られるメリットはないと考えられ、あくまでも将来の膠芽腫患者に還元するための研究である。

本附随研究では、「疫学研究に関する倫理指針」の趣旨を踏まえた対応を行い、試料の提供者およびその家族への不利益を最小限に留めるよう配慮する。本附随研究では患者識別情報として、JCOG0911 患者登録番号と患者イニシャルのみを使用するため、個人の識別につながる情報が第三者に渡ることはない。

また、本研究で使用する試料は、病理検査用に保存されているホルマリン固定パラフィン包埋標本、手術時に摘出された腫瘍および血液を試料とするため、試料提供者である本附随研究参加患者に及ぼす医学的・経済的な負担は少ないと考えられる。

6.2. JCOG のメリットおよびデメリット

本研究は公的研究費である厚生労働科学研究費補助金がん臨床研究事業(平成 20 年)および国立がん研究センターがん研究開発費指定研究 20 指-4 からの研究費によりサポートされる研究である。貴重な臨床検体から得られる有益な情報を JCOG が享受でき、それを通じて将来の神経膠腫患者に対する医学的意思決定に貢献できることが期待される。

デメリットとしては、各施設の標本作製に要する労力および保存検体の消費、試料解析研究事務局および JCOG データセンターにおけるデータ管理・統計解析業務に要する労力などが挙げられる。

デメリットとしては、各施設の標本作製に要する労力および保存検体の消費、試料解析研究事務局および JCOG データセンターにおけるデータ管理・統計解析業務に要する労力などが挙げられる。

7. 倫理的配慮

7.1. 患者の保護

本附随研究は、特定の間人集団に対する「遺伝子発現に関する研究」および「がん組織にのみ後天的に出現して次世代には受け継がれないゲノム又は遺伝子の変異を対象とする研究」であるため、「疫学研究に関する倫理指針」の適用範囲である。このため、本研究に関係するすべての研究者はヘルシンキ宣言(付表)および「疫学研究に関する倫理指針」(平成 14 年 6 月 17 日制定、平成 16 年 12 月 28 日全部改正、平成 17 年 6 月 29 日一部改正、平成 19 年 8 月 16 日全部改正、平成 20 年 12 月 1 日一部改正)に従って本研究を実施する。

なお、本研究は JCOG で行われる臨床研究であるため、「JCOG 試料解析研究ポリシー」及び、「JCOG 非ゲノ

「ム解析研究ポリシー」にも従って行う。

7.2. インフォームドコンセント

7.2.1. 患者への説明

本附随研究への登録に先立って、担当医は患者本人に施設の IRB 承認が得られた説明文書（添付の説明文書または施設で改変を加えた説明文書）を患者本人に渡し、以下の内容を口頭で詳しく説明する。

- 1) この研究が JCOG の臨床試験 (JCOG0911) の附随研究であること。
- 2) 遺伝子とは
- 3) 遺伝子と疾病
- 4) 遺伝子解析研究へのご協力について
- 5) 研究協力の任意性と撤回の自由
研究参加に先立って同意拒否が自由であることや、いったん同意した後の同意の撤回も自由であり、それにより診療上の不利益を受けないこと。
- 6) 提供者または代諾者等により同意が撤回された場合には、撤回に係る試料等が廃棄され、撤回に関わる研究結果が消去されること。
- 7) 研究の意義、目的と方法
- 8) 予測される研究結果および提供者等に対して予測される危険や不利益
- 9) 研究計画書の開示
- 10) 試料の提供は無償であること
- 11) 個人情報の保護について: 氏名や個人情報は守秘されるための最大限の努力が払われること。
- 12) 研究の倫理審査
- 13) 試料から得られた解析結果は、匿名化された上研究成果として公表
- 14) 将来、研究の成果が特許権等の知的財産権を生み出す可能性と研究成果から生じる知的財産権の帰属
- 15) 遺伝子解析研究終了後の試料などの保存、使用または廃棄などの取り扱い方針
- 16) 研究資金について
- 17) 遺伝カウンセリングについて
- 18) 研究責任者の氏名と職名
- 19) 担当医師の連絡先、研究代表者、試料解析研究事務局
担当医の連絡先のみでなく、施設の研究責任者、研究の研究代表者（または試料解析研究事務局）の連絡先を文書で知らせ、個人情報の訂正、同意の撤回および研究について苦情を含めて自由に質問できること。

上記の説明に加えて、当該試料解析実施施設（名古屋大学試料解析研究事務局、静岡県立静岡がんセンター一病棟診断科、ファルコバイオシステムズ、東京大学医学部附属病院 Cancer board 研究室）で試料解析を行う旨の説明文書ならびに同意書を併せて取得する。患者に対する説明同意文書は原則としてモデル説明同意文書をそのまま用いるが、参加施設の倫理審査委員会等の承認を得て、モデル説明同意文書の内容を変更した場合には、試料解析研究事務局に変更の内容を連絡すること。

7.2.2. 同意

研究についての説明を行い、十分に考える時間を与え、患者が研究の内容をよく理解したことを確認した上で、研究参加について同意するか否かを確認する。患者本人が研究参加に同意した場合、付表の同意書または医療機関で定められた書式の本研究の同意書を用い、説明をした医師名、説明を受け同意した患者名、同意を得た日付の記載があることを確認する。

同意文書は2部コピーし、1部は患者本人に手渡し、1部は施設コーディネーターが保管する。原本はカルテに保管する。

7.3. 個人情報の保護と患者識別

JCOG は、個人情報および診療情報などのプライバシーに関する情報は個人の人格尊重の理念の下、厳重

に保護され慎重に取り扱われるべきものと認識し、「JCOG プライバシーポリシー」を定め、万全な管理対策を講じ、プライバシー保護に努める。詳細については、JCOG ホームページ(<http://www.JCOG.jp/>)参照。

なお、本研究では、患者識別として JCOG0911 の患者登録番号と患者イニシャルのみを使用する。よって、匿名化の作業は行わないものの、個人の特定は出来ず、試料提供者に対する個人情報流出する危険や不利益は極めて少ない。

7.3.1. JCOG が従うポリシー、法令、規範

JCOG は JCOG 研究を行うにあたり原則として、「JCOG プライバシーポリシー」、その他、以下の法令、規範に従う。下記以外の法令、規範、ポリシーが適応となる場合は、加えて従うこととする。

- ・ 個人情報の保護に関する法律(平成 15 年 5 月 30 日法律第 57 号、最終改正:平成 15 年 7 月 16 日法律第 119 号)
- ・ ヘルシンキ宣言(日本医師会訳)
- ・ 疫学研究に関する倫理指針(平成 14 年 6 月 17 日制定、平成 16 年 12 月 28 日全部改正、平成 17 年 6 月 29 日一部改正、平成 19 年 8 月 16 日全部改正、平成 20 年 12 月 1 日一部改正)

7.3.2. 患者情報の開示等に対する対応

患者本人より JCOG が保有するプライバシーに関する情報の開示などを求められた場合の対応者は、原則として当該患者の医療機関の研究者(施設研究責任者、施設コーディネーター、担当医)とする。

7.3.3. 一般的な問い合わせおよび苦情の受付

プライバシーポリシーに関する一般的な問い合わせや苦情は、下記にて、郵便、電子メール、FAX のいずれかの方法で受け付ける。

問い合わせ窓口: JCOG データセンター プライバシー保護担当

郵送先 : 〒104-0045 東京都中央区築地 5-1-1 国立がん研究センター

E-mail : JCOG_privacy@ml.JCOG.jp

FAX : 03-3542-3374

7.3.4. プロトコールの遵守

本研究に参加する研究者は、患者の安全と人権を損なわない限り、本プロトコールを遵守する。

7.3.5. 検体・試料の保存、破棄

余剰検体は、JCOG0911 患者登録番号、イニシャルなども削除し全ての試料を破棄する。

7.4. 医療機関の倫理審査委員会の承認

7.4.1. 研究参加開始時の承認

本附随研究への参加に際しては、本プロトコールおよび患者への説明文書を用いて研究を実施することが、各医療機関の承認を得なければならない。

承認が得られた場合、各医療機関の施設コーディネーターは各医療機関の承認文書のコピーを試料解析研究事務局へ送付する(郵送または FAX: 052-744-2361)。承認文書原本は施設コーディネーターが保管、コピーは試料解析研究事務局が保管する。

なお、患者への説明文書は、臨床研究についての諸要件から逸脱しない範囲において医療機関毎に改変を加えたものを当該医療機関の承認を得て用いることができるが、プロトコールについては医療機関毎の内容変更は許容されない。全施設共通のプロトコールを用いる。内容の変更が必要な場合は、全施設で用いるプロトコールとして改正もしくは改訂を行うため、医療機関からプロトコール本文の修正依頼があった場合は、施設コーディネーターは試料解析研究事務局に相談すること。説明文書を医療機関の指示等により改変した場合は、改変した説明文書を試料解析研究事務局に送付する。試料解析研究代表者/試料解析研究事務局は、施設での改変(削除や内容変更)が不適切と判断した場合、施設研究責任者/施設コーディネーターを通じて医療機関に再検討を依頼することができる。

7.4.2. 各医療機関の承認の年次更新

各医療機関における、本プロトコールおよび患者説明文書に対する審査承認の年次更新の要否については各医療機関の規定に従う。審査承認の年次更新が行われた場合であっても、JCOG としては各医療機関の

年次更新承認書の提出は求めない。

7.5. JCOG 研究に関わる者の利益相反(COI)の管理について

JCOG の研究に関わる研究者や JCOG 研究を支援する者の COI は以下のように管理する。

- 1) 施設研究責任者や施設コーディネーターなど参加施設での診療において JCOG 研究に関わる者の COI については、参加施設の医療機関の規定に従う。
- 2) 研究代表者や研究事務局、グループ代表者やグループ事務局など、JCOG 研究に中心的な役割をもって関わる者の COI については、JCOG 利益相反委員会が管理する。その他、JCOG の効果・安全性評価委員会などの委員や、個々の JCOG 研究に関わる JCOG データセンター/運営事務局スタッフの COI についても同様に管理する。

8. 研究資金

- 厚生労働科学研究費補助金 がん臨床研究事業(H20-がん臨床-一般-019)
「悪性神経腫瘍に対するTemozolomide の治療効果を増強した標準的治療確立に関する研究」班
- 国立がん研究センターがん研究開発費指定研究 20 指-4
「希少悪性腫瘍に対する標準的治療確立のための多施設共同研究」班

9. 予定検体数と研究期間

JCOG0911 の予定登録数が 120 例であることから、本附随研究の登録数は 80-120 例と見込んでいる。いずれかの参加施設において初めて IRB の承認が得られた日をもって研究開始日とし、順次、承認が得られた参加施設からの試料の収集を行う。本体研究(JCOG0911)は 2010 年 4 月より登録が開始され、予定登録期間は 1.5 年、追跡期間は 2 年の総研究期間が 3.5 年の研究である。本附随研究は JCOG0911 の生存期間を用いるため、本附随研究の研究期間は本体研究(JCOG0911)の総研究期間を考慮して 5 年間とする。

10. 研究組織

10.1. グループ代表者

渋井壮一郎
国立がん研究センター中央病院脳神経外科
〒104-0045 東京都中央区築地 5-1-1
TEL:03-3542-2511(代表)
FAX:03-3545-3567
E-mail:sshibui@ncc.go.jp

10.2. 研究代表者

若林俊彦
名古屋大学大学院医学系研究科 脳神経外科
〒466-8550 愛知県名古屋市昭和区鶴舞町 65
TEL:052-744-2355 (ダイヤルイン)
FAX:052-744-2361
E-mail:wakabat@med.nagoya-u.ac.jp

10.3. 試料解析研究事務局

夏目敦至
名古屋大学大学院医学系研究科 脳神経外科
〒466-8550 愛知県名古屋市昭和区鶴舞町 65
TEL:052-744-2355 (ダイヤルイン)
FAX:052-744-2361
E-mail:anatsume@med.nagoya-u.ac.jp

成田善孝
国立がん研究センター中央病院 脳神経外科

〒104-0045 東京都中央区築地 5-1-1
 TEL:03-3542-2511(代表)
 FAX:03-3545-3567
 E-mail: yonarita@ncc.go.jp

10.4. 試料解析実施施設及び責任者

夏目敦至

名古屋大学大学院医学系研究科脳神経外科
 〒466-8550 愛知県名古屋市昭和区鶴舞町 65
 TEL:052-744-2355 (ダイヤルイン)
 FAX:052-744-2361
 E-mail: anatsume@med.nagoya-u.ac.jp

渡邊麗子

静岡県立静岡がんセンター病理診断科
 〒411-8777 静岡県駿東郡長泉町下長窪 1007
 TEL:055-989-5222
 FAX:055-989-5714
 E-mail r.watanabe@scchr.jp

東央晋

株式会社ファルコバイオシステムズ
 〒604-0911 京都市中京区河原町通二条上る清水町 346
 TEL:075-257-8541
 FAX:075-257-8544
 E-mail:h-higashi@mail.falco.co.jp

小川誠司

東京大学医学部附属病院 Cancer board 研究室
 〒108-8639 東京都港区白金台 4-6-1
 TEL: 03-5449-5331
 FAX: 03-5449-5451
 E-mail: todaiips@ims.u-tokyo.ac.jp

10.5. 参加施設

JCOG0911「初発膠芽腫に対するインターフェロン- β + テモゾロミド併用化学放射線療法のランダム化第 II 相試験」の参加施設のうち、試料の外部提供に関する IRB の承認が得られた施設。

10.6. 統計解析責任者

JCOG データセンター
 福田治彦
 柴田大朗
 水澤純基
 試料解析研究事務局
 夏目敦至
 竹内一郎

11. 委託研究契約

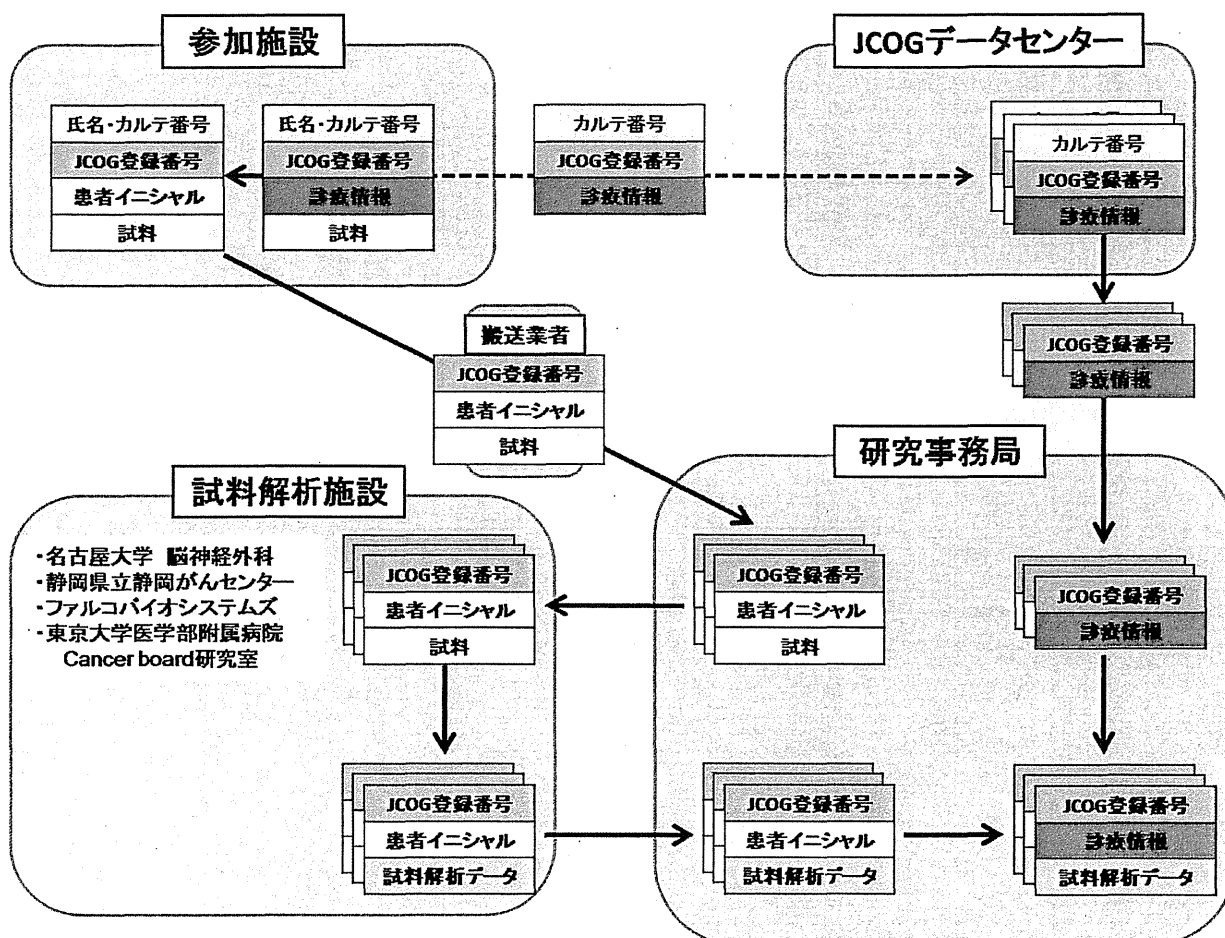
本研究における、Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA)法に関しては、国立がん研究センターの共同研究に関する規定に従い、株式会社ファルコバイオシステムズと委託研究契約を締結した上で実施する予定である。なお、本研究に要する費用は全て、8.研究資金に記載した通り、厚生労働科学研究費補助金 がん臨床研究事業 (H20-がん臨床一般-019)「悪性神経膠腫に対するTemozolomide の治療効果を増強した標準治療確

立に関する研究」班、および、独立行政法人国立がん研究センターがん研究開発費指定研究 20 指-4「希少悪性腫瘍に対する標準治療確立のための多施設共同研究」班より支出される。

12. 研究結果の公表

共同研究者と協議の上、報告をまとめ公表する。試料解析研究代表者、試料解析研究事務局、共同研究者が共同して論文を作成し、学会発表を行う。

13. 附图:試料の流れ



14. 参考文献

- Hirose Y, Sano H. [Molecular pharmacology on DNA methylating agent temozolomide]. *No Shinkei Geka* 2007;35(2):117-129.
- Ludlum DB. DNA alkylation by the haloethylnitrosoureas: nature of modifications produced and their enzymatic repair or removal. *Mutat Res* 1990;233(1-2):117-126.
- Pegg AE, Dolan ME, Moschel RC. Structure, function, and inhibition of O6-alkylguanine-DNA alkyltransferase. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol* 1995;51:167-223.
- Jaeckle KA, Eyre HJ, Townsend JJ, Schulman S, Knudson HM, Belanich M, et al. Correlation of tumor O6 methylguanine-DNA methyltransferase levels with survival of malignant astrocytoma patients treated with bis-chloroethylnitrosourea: a Southwest Oncology Group study. *J Clin Oncol* 1998;16(10):3310-3315.
- Mineura K, Yanagisawa T, Watanabe K, Kowada M, Yasui N. Human brain tumor O(6)-methylguanine-DNA methyltransferase mRNA and its significance as an indicator of selective chloroethylnitrosourea chemotherapy. *Int J Cancer* 1996;69(5):420-425.
- Belanich M, Pastor M, Randall T, Guerra D, Kibitel J, Alas L, et al. Retrospective study of the correlation between the DNA repair protein alkyltransferase and survival of brain tumor patients treated with carmustine. *Cancer Res* 1996;56(4):783-788.
- Natsume A, Ishii D, Wakabayashi T, Tsuno T, Hatano H, Mizuno M, et al. IFN-beta down-regulates the expression of DNA repair gene MGMT and sensitizes resistant glioma cells to temozolomide. *Cancer Res* 2005;65(17):7573-7579.
- Esteller M, Garcia-Foncillas J, Andion E, Goodman SN, Hidalgo OF, Vanaclocha V, et al. Inactivation of the

- DNA-repair gene MGMT and the clinical response of gliomas to alkylating agents. *N Engl J Med* 2000;343(19):1350-1354.
9. Natsume A, Wakabayashi T, Ishii D, Maruta H, Fujii M, Shimato S, et al. A combination of IFN-beta and temozolomide in human glioma xenograft models: implication of p53-mediated MGMT downregulation. *Cancer Chemother Pharmacol* 2008;61(4):653-659.
 10. Bello MJ, Alonso ME, Aminoso C, Anselmo NP, Arjona D, Gonzalez-Gomez P, et al. Hypermethylation of the DNA repair gene MGMT: association with TP53 G:C to A:T transitions in a series of 469 nervous system tumors. *Mutat Res* 2004;554(1-2):23-32.
 11. Kamiryo T, Tada K, Shiraishi S, Shinjima N, Kochi M, Ushio Y. Correlation between promoter hypermethylation of the O6-methylguanine-deoxyribonucleic acid methyltransferase gene and prognosis in patients with high-grade astrocytic tumors treated with surgery, radiotherapy, and 1-(4-amino-2-methyl-5-pyrimidinyl)methyl-3-(2-chloroethyl)-3-nitrosourea-based chemotherapy. *Neurosurgery* 2004;54(2):349-357; discussion 357.
 12. Nakamura M, Watanabe T, Yonekawa Y, Kleihues P, Ohgaki H. Promoter methylation of the DNA repair gene MGMT in astrocytomas is frequently associated with G:C → A:T mutations of the TP53 tumor suppressor gene. *Carcinogenesis* 2001;22(10):1715-1719.
 13. Hegi ME, Diserens AC, Gorlia T, Hamou MF, de Tribolet N, Weller M, et al. MGMT gene silencing and benefit from temozolomide in glioblastoma. *N Engl J Med* 2005;352(10):997-1003.
 14. von Deimling A, Bender B, Jahnke R, Waha A, Kraus J, Albrecht S, et al. Loci associated with malignant progression in astrocytomas: a candidate on chromosome 19q. *Cancer Res* 1994;54(6):1397-1401.
 15. von Deimling A, Nagel J, Bender B, Lenartz D, Schramm J, Louis DN, et al. Deletion mapping of chromosome 19 in human gliomas. *Int J Cancer* 1994;57(5):676-680.
 16. Nakamura M, Yang F, Fujisawa H, Yonekawa Y, Kleihues P, Ohgaki H. Loss of heterozygosity on chromosome 19 in secondary glioblastomas. *J Neuropathol Exp Neurol* 2000;59(6):539-543.
 17. Cairncross JG, Macdonald DR. Successful chemotherapy for recurrent malignant oligodendroglioma. *Ann Neurol* 1988;23(4):360-364.
 18. Cairncross G, Berkey B, Shaw E, Jenkins R, Scheithauer B, Brachman D, et al. Phase III trial of chemotherapy plus radiotherapy compared with radiotherapy alone for pure and mixed anaplastic oligodendroglioma: Intergroup Radiation Therapy Oncology Group Trial 9402. *J Clin Oncol* 2006;24(18):2707-2714.
 19. van den Bent MJ, Carpentier AF, Brandes AA, Sanson M, Taphoorn MJ, Bernsen HJ, et al. Adjuvant procarbazine, lomustine, and vincristine improves progression-free survival but not overall survival in newly diagnosed anaplastic oligodendrogliomas and oligoastrocytomas: a randomized European Organisation for Research and Treatment of Cancer phase III trial. *J Clin Oncol* 2006;24(18):2715-2722.
 20. Kouwenhoven MC, Kros JM, French PJ, Biemond-ter Stege EM, Graveland WJ, Taphoorn MJ, et al. 1p/19q loss within oligodendroglioma is predictive for response to first line temozolomide but not to salvage treatment. *Eur J Cancer* 2006;42(15):2499-2503.
 21. Schmidt MC, Antweiler S, Urban N, Mueller W, Kuklik A, Meyer-Puttlitz B, et al. Impact of genotype and morphology on the prognosis of glioblastoma. *J Neuropathol Exp Neurol* 2002;61(4):321-328.
 22. Ichimura K, Schmidt EE, Miyakawa A, Goike HM, Collins VP. Distinct patterns of deletion on 10p and 10q suggest involvement of multiple tumor suppressor genes in the development of astrocytic gliomas of different malignancy grades. *Genes Chromosomes Cancer* 1998;22(1):9-15.
 23. Karlbom AE, James CD, Boethius J, Cavenee WK, Collins VP, Nordenskjold M, et al. Loss of heterozygosity in malignant gliomas involves at least three distinct regions on chromosome 10. *Hum Genet* 1993;92(2):169-174.
 24. Rasheed BK, McLendon RE, Friedman HS, Friedman AH, Fuchs HE, Bigner DD, et al. Chromosome 10 deletion mapping in human gliomas: a common deletion region in 10q25. *Oncogene* 1995;10(11):2243-2246.
 25. Ohgaki H, Dessen P, Jourde B, Horstmann S, Nishikawa T, Di Patre PL, et al. Genetic pathways to glioblastoma: a population-based study. *Cancer Res* 2004;64(19):6892-6899.
 26. Li J, Yen C, Liaw D, Podsypanina K, Bose S, Wang SI, et al. PTEN, a putative protein tyrosine phosphatase gene mutated in human brain, breast, and prostate cancer. *Science* 1997;275(5308):1943-1947.
 27. Tohma Y, Gratas C, Biernat W, Peraud A, Fukuda M, Yonekawa Y, et al. PTEN (MMAC1) mutations are frequent

- in primary glioblastomas (de novo) but not in secondary glioblastomas. *J Neuropathol Exp Neurol* 1998;57(7):684–689.
28. Bredel M, Pollack IF, Hamilton RL, James CD. Epidermal growth factor receptor expression and gene amplification in high-grade non-brainstem gliomas of childhood. *Clin Cancer Res* 1999;5(7):1786–1792.
 29. el-Deiry WS, Tokino T, Velculescu VE, Levy DB, Parsons R, Trent JM, et al. WAF1, a potential mediator of p53 tumor suppression. *Cell* 1993;75(4):817–825.
 30. Watanabe K, Tachibana O, Sata K, Yonekawa Y, Kleihues P, Ohgaki H. Overexpression of the EGF receptor and p53 mutations are mutually exclusive in the evolution of primary and secondary glioblastomas. *Brain Pathol* 1996;6(3):217–223; discussion 223–214.
 31. Serrano M. The tumor suppressor protein p16INK4a. *Exp Cell Res* 1997;237(1):7–13.
 32. Carnero A, Hannon GJ. The INK4 family of CDK inhibitors. *Curr Top Microbiol Immunol* 1998;227:43–55.
 33. Yan H, Parsons DW, Jin G, McLendon R, Rasheed BA, Yuan W, et al: IDH1 and IDH2 mutations in gliomas. *N Engl J Med* 360:765–773, 2009
 34. Dang L, White DW, Gross S, Bennett BD, Bittinger MA, Driggers EM, et al: Cancer-associated IDH1 mutations produce 2-hydroxyglutarate. *Nature* 462:739–744, 2009
 35. Sanada M, Ogawa S et al. Gain-of-function of mutated C-CBL tumour suppressor in myeloid neoplasms. *Nature*. 2009 Aug 13;460(7257):904–8.
 36. Kato M, Ogawa S et al. Frequent inactivation of A20 in B-cell lymphomas. *Nature*. 2009 Jun 4;459(7247):712–6.
 37. Kawamata N, Ogawa S, Koeffler HP et al. Cloning of genes involved in chromosomal translocations by high-resolution single nucleotide polymorphism genomic microarray. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008 Aug 19;105(33):11921–6.

説明文書・同意書

「JCOG0911: 初発膠芽腫に対するインターフェロン- β + テモゾロミド併用化学放射線療法のランダム化第 II 相試験」の附随研究

化学療法、放射線療法を施行した膠芽腫例における効果予測因子
および予後因子に関する研究について

JCOG 脳腫瘍グループ

1. はじめに

この説明文書は、臨床試験 JCOG0911「^{りんしょうしけんジェイコグ}初発膠芽腫^{しょはつこうがしゅ}に対するインターフェロン-β + テモゾロミド

^{へいようか がくほうしゃせんりょうほう}併用化学放射線療法^{だいにそうしけん}のランダム化第Ⅱ相試験^{ふずいけんきゅう}」(以下、JCOG0911 試験)への参加に同意いただ

いた患者さんを対象に、この臨床試験の^{ふずいけんきゅう}附随研究として計画した、治療効果に^{いでんし}関係する遺伝子

^{いじょう}異常を調べる研究について説明したものです。この説明文書は、この研究に参加するかどうかを

決める際に、担当医による説明を補い、あなたの理解を助けるために用意されています。ご家族

と一緒に読みいただいてもかまいません。担当医の話やこの説明文書の内容で分からないこと

や疑問点などがありましたら、担当医に遠慮なくお尋ねください。

2. ^{いでんし}遺伝子とは

「^{いでん}遺伝」とは「^{たいしつ}親の体質が子に伝わること」です。「体質」には、顔かたちや体つきなどのほかに、

病気のかかりやすさなどが含まれます。人の体の状態は、遺伝だけではなく、環境によっても左右

されますが、遺伝は人の体を形成するという最も基本的で重要な役割を果たしています。「遺伝」に

「子」という字が付いて「遺伝子」となると、「遺伝を決定する小単位」という科学的な言葉になります。

遺伝子の正体は^{ディーエヌエー}「DNA (デオキシリボ核酸)^{かくさん}」という物質で、A(アデニン)、T(チミン)、G(グアニン)、

C(シトシン)という4種類^{えんき}の「塩基」がいくつもつながった^{くさり}”鎖”のようなものです。

1つの細胞の中には数万種類の遺伝子が入っています。人の体は約60兆個の細胞から成り立

っていて、1つ1つの細胞の中には役割の違う多数の遺伝子のセットが含まれています。^{じゆせい}受精した

1つの細胞は、分裂を繰り返して増えますが、この細胞の中にあるそれぞれの遺伝子に従って「こ

れは目の細胞」、「これは腸の細胞」などと分化しながら、最終的には約60兆個まで増えて人の体を形作ります。つまり、「体の設計図」の役割を果たしているのが遺伝子です。遺伝子の働きによって60兆個の細胞はそれぞれ特別な機能をもった細胞として存在しているのです。

3. 遺伝子と疾病^{しつべい}

このように、遺伝子は私たちの体を形作るために非常に大切な役割をもつ一方で、さまざまな病気の原因にもなります。私たちの体は、非常に精巧なプログラムで制御^{せいぎょ}されていて、必要なタンパク質が必要な場所で必要な時間に必要な量だけ作られることで、健康な体を維持しています。しかし、遺伝子に異常^{ちようせつきこう}が起こるとこの調節機構^{ちようせつきこう}がうまく働かなくなり、必要なタンパク質が不足したり逆に増えすぎたりします。その結果、体の中の物質にアンバランスが生じて、病気を引き起こすことがあります。

また、体を構成する組織の細胞で遺伝子の異常^{ちようせつきこう}が起きると、異常を起こした細胞を中心に病気が発生することがあります。これを体細胞変異^{たいさいぼうへんい}といいますが、「がん」はその代表的な病気です。

ただし、発病には喫煙や飲酒といった生活習慣などの環境素因^{かんきようそいん}も強く影響します。一方、特定の遺伝子に生まれつき異常がある場合を生殖細胞変異^{せいしよくさいぼうへんい}といいますが、その異常が子や孫へと伝わって病気が発生することがあり、がんの中にもまれですが、遺伝性のがんが存在します。

これまでは遺伝子の異常によって引き起こされる病気について説明しましたが、この他にも、顔かたちや体つきが人それぞれ異なるといった「個性^{こせい}」にも遺伝子^{いでんしたけい}が関係しています。これは顔や体を設計する遺伝子は人それぞれ生まれつきの違いをもっているために生じるもので、この違いを「遺伝子多型(いでんしたけい;ポリモルフィズム)」と呼んでいます。「個性」の中には太りやすい、

病気になりやすいなどの生まれながらに備わっている体質(遺伝素因)も含まれ、これらも生まれつきの遺伝子の違い(DNA 内の塩基配列の個体差)すなわち「遺伝子多型」に基づくもので、遺伝する可能性があります。

がんはそのような人が生まれながらにもっている体質(遺伝素因)と生活習慣などの影響(環境素因)が絡み合い、その結果生じた遺伝子の異常が複雑に影響して生じるとも考えられています。また、がんの治療に使う抗がん剤などの薬の効き具合、あるいは副作用の出やすさや強さにも、1 人 1 人の遺伝子の違い、すなわち「遺伝子多型」が関わっている可能性が最近になって少しずつ明らかになってきました。

4. 遺伝子解析研究へのご協力について

この研究では、あなたの血液、手術によって取り出された腫瘍あるいは組織を使って、遺伝子の解析を行い、どのような特徴があるのか、あなたのご病気や治療効果との関係を調べます。これにより、腫瘍それぞれの原因の解明、ひいては新しい治療法の開発につなげることが目的です。この研究に参加することによって、あなたが得られる個人的な利益はないと考えられます。しかし、遺伝子解析研究にご賛同いただければ、将来あなたと同じ脳腫瘍の患者さんに対する治療の進歩やこれからの新しいよりよい医療の開発に役立つ多くの知見が得られることを私たちは期待しています。このため、採血した血液や、手術の時に切除し保存されている病気の組織(腫瘍、その他の組織、血液)を診療記録とともにこの研究に利用させて頂きたいのです。血液の採取は通常の検査の採血と同じですので特に危険を伴うものではありません。また、手術で切除された腫瘍組織は病気の程度や性質を診断するために利用されますが、その検査で不要となった部分を研究に利用します。遺伝子解析の研究では脳腫瘍の治療成績を左右すると考えられている

エムジーエムティー MGMT と呼ばれるたんぱく質や種々の遺伝子発現の有無及びその量を詳しく調べます。それら全

ての結果を集約し、新しい治療法や診断技術の開発につなげたいと考えています。尚、これらの研究は手術で切除され保存されている病気の組織や、血液を用いて研究を行いますので、新たな危険を伴うことはありません。

なお、この研究は、ヒトの精子や卵子などの生殖細胞の異常や役割を調べるものではありませんので、人が生まれながらにもっている体質(遺伝素因)などは分かりません。

研究の目的や方法を含め、あなたに同意していただくための手続きについて次章以降で詳しく説明します。あなたがこの説明をよく理解され、この研究に協力しても良いと思われた場合には、「同意書」にご署名ください。

5. 研究協力の任意性と撤回の自由

この研究への参加は強制ではありません。この研究に協力するかどうかは、あなたの自由意志でお決めください。また、参加に同意しない場合でも、あなたの不利益になるようなことはありません。もちろん、本研究に参加せず JCOG0911 試験にだけ参加していただくことも可能です。

また、いったん同意した場合でも、いつでも同意を取り消すことができ、その場合には提供していただいた血液や遺伝子を調べた結果は廃棄され、診療情報などもそれ以降はこの研究で使われることはありません。この場合にも、あなたの不利益になるようなことはありません。

同意を撤回する場合には、文書(同意撤回書)で担当医までお知らせください。

6. 研究の意義、目的と方法

(1) 研究の目的と意義

この研究には、大きく分けて3つの目的があります。

1つは、この膠芽腫という病気は、腫瘍組織の中で M G M T^{エムジーエムティー}と言われる遺伝子がメチル化という

修飾^{しゅうしょく}がされている場合、治療が効き、生存期間が延長すると報告されています。ただしその

MGMT の測定方法にはいくつかあり、どの方法が最もよいか現在のところ分かっていません。よ

って、今回の研究では、手術の時に得られた病理標本^{びょうりひょうほん}を MGMT の抗体で染めてその染まり方

を調べるという免疫染色法^{めんえきせんしよく}や、MGMT 遺伝子のメチル化の状態を調べる M S P 法^{エムエスピー}、パイロシー

クエンス法という方法を行って、将来の膠芽腫の患者さんの生存期間を予測するためにはどの

測定法が最も良いかを調べるのが第一の目的です。

2つ目は、JCOG0911 試験に参加する、インターフェロン β とテモゾロミドの併用療法を受けた患者さんの中で、腫瘍組織の MGMT のメチル化の無い患者さんにも治療効果があるのかどうかを調べることです。現時点では、インターフェロン β が本当に有効かどうかは分かっていませんが、もしインターフェロン β の治療も行うことで MGMT のメチル化が無い患者さんにも治療効果があれば、今後テモゾロミドにインターフェロン β の治療を加える治療が期待できるということになります。

3つ目は、膠芽腫の腫瘍細胞の遺伝子レベルでの特徴を詳しく調べることによって、今後の膠芽腫の患者さんのための新しい治療法につながる遺伝子の特徴を見つけるという目的です。もし新しい遺伝子異常などが見つければ、新しい治療法が見つかったり、より安全な治療の計画を立てたり、また副作用の対処を予め準備しておくことができるようになると考えています。

この研究は JCOG0911 試験への参加に同意いただいた患者さんを対象に参加をお願いしており、全体で 80-120 人の参加を予定しています。

(2) 研究の方法

今回あなたが受けられる手術によって取り出された、腫瘍あるいは組織の一部をいただきます。腫瘍から DNA などを取り出して遺伝子解析を行います。またホルマリンで固められた病理標本を薄く切って作られたスライドを用いて、免疫染色法を行います。

また、あなたから血液を 4mL 採血します。血液から DNA を取り出して遺伝子を調べますが、対象となる遺伝子は、現在すべてが明らかになっているわけではありません。そこで、細胞や組織の多くの遺伝子を調べることとなります。さらに、あなたが参加する JCOG0911 試験で得られた診療情報をあわせて使わせていただきます。

なお、ご希望があれば、他の患者さんの個人情報保護やこの研究に支障が生じない範囲内で、この研究の研究実施計画書の内容をご覧いただくことができます。また、遺伝子を調べる方法などに関する資料が必要であればご用意します。

(3) 解析を行う施設

あなたからいただいた腫瘍組織や血液、病理標本は、名古屋大学の脳神経外科教室や静岡県立静岡がんセンターの病理診断科、株式会社ファルコバイオシステムズ、そして東京大学医学部附属病院の Cancer board 研究室で分担して解析を行います。

(4) 研究の期間

この研究は 2010 年 MM 月から 5 年間実施する予定です。

7. あなたにもたらされる利益および不利益

遺伝子解析研究はまだ開発の途上であり、遺伝子診断自体の精度を向上させたり、遺伝子解析結果の有効性を確かめたりするには、多くの情報を集め研究を続けていく必要があります。したがって、この研究の結果がただちにあなたに有益な情報をもたらす可能性は少なく、むしろ、今後の医学の発展に寄与するもので、将来、がんの診断や予防・治療などがより効果的に行われるようになる可能性を期待しています。

一方で、まれにこのような遺伝子解析研究により、病気と遺伝子との重要な関係が見つかることがあります。その場合、結果を知ることが有益であると判断された場合に限り、担当医からあなたに説明をお受けになるかどうかお尋ねします。もちろん、あなたにお知らせする前にあなた以外の方にお話しすることはありません。

8. 試料の提供の費用について

ここで行われる遺伝子解析研究に必要な費用は、あなたが負担することはありません。またあなたがこの研究のために腫瘍組織や血液を提供して頂いたことに対して報酬^{ほうしゅう}が支払われることや交通費の支給もありません。

9. 個人情報の保護について

あなたの診療にかんする記録は、当院で保管し、秘密を厳守いたします。またこの遺伝子解析^{いでんしかいせき}の結果を医学雑誌や学会で報告する場合にも、あなたのプライバシーは守られます。^{いがくざっし がっかい}

この研究では、患者識別として、JCOG0911 の患者登録番号および、患者イニシャルのみを使用します。つまり、氏名、生年月日、カルテ番号など、個人が特定できるような、あなたの個人情報が外部に漏れることはありません。このような方法によって、あなたの血液から取り出した遺伝子

の情報と診療情報は、外部の者はもちろん、遺伝子解析を担当する研究者にもあなたのものと分かってなくなります。

10. この研究の倫理審査について

この研究は、当院の倫理審査委員会と JCOG の委員会によって、研究計画の妥当性が評価されています。つまり、この研究に参加する患者さんの権利が守られていることや医学の発展に役立つ情報が得られることなどが検討され、計画が適切であることが認められています。また、この研究を実施する間は JCOG のデータセンター、効果・安全性評価委員会、試料解析研究委員会が、患者さんの安全が確保され、プライバシーが守られているかどうかを監視することになっています。

11. 研究成果の公表

この研究の成果は、あなたやあなたのご家族を特定できるような氏名などの情報を排除した上で、かならず匿名化された上で、学会発表や学術雑誌および Web 上に公開されたデータベースなどで公に発表されることがあります。この研究は多くの方々のご協力が必要ですので、すぐにあなたにとって有益な情報が発見されるといった可能性はほとんどありません。また、この研究に参加してくださった患者さん全員の遺伝子の情報をあわせて統計学的に解析することによって、はじめて意味のある結果が得られることとなります。したがって、原則として遺伝子を解析した結果をお知らせすることはありません。このような研究の成果は将来の医学の発展に貢献するものであることをご理解ください。

ただし、ご希望があれば^{いでんし}遺伝子を解析した結果をお知らせします。この場合、あなたの情報を抽出する作業が必要となりますので、お知らせまでにお時間がかかったり、開示の内容によっては実費が発生する場合があります。詳細は、担当医までお問い合わせください。

なお、研究の進み具合やこの研究の成果については、あなたの求めに応じ、担当医からご説明します。

12. 研究から生じる^{ちてきざいさんけん きぞく}知的財産権の帰属

^{いでんしかいせき}遺伝子解析研究の結果として^{とつきよけん}特許権などが生じる可能性があります。その際、その権利は国、^{けんきゆうきかん みんかんきぎょう きょうどうけんきゆうきかん けんきゆうすいこうしゃ}研究機関、民間企業を含む共同研究機関および研究遂行者などに属し、あなたに特許権などは生じません。また、この特許権などをもととして^{けいざいてきりえき}経済的利益が生じる可能性もありますが、あなたはこれについても権利がありません。これは、遺伝子の働きを調べ、治療・診断法を開発することがとても難しく、これらを開発するためにはあなたを含めた多くの方々の遺伝子解析結果に加え、他の研究成果や多くの技術の介入が必要とされるためです。

13. この研究が終了した後の検体の取扱いの方針

あなたの^{けつえき しゅようそしき}血液・腫瘍組織は、この研究のためにのみ使わせていただきます。

また、この研究が終了次第、提供していただいたあなたの検体は適切な方法ですみやかにすべて^{はいき}廃棄します。また、同意をいただかずにこの研究以外であなたの診療情報は使うこともありません。