

## 目次

0. 概要	1
1. 目的	6
2. 背景	6
2.1 過去の報告	6
2.2 本附随研究の意義	7
3. 対象	9
4. 方法	9
4.1 試料解析研究参加施設	9
4.2 対象となる臨床試験	9
4.3 同意取得および試料の採取・保存	9
4.4 試料の匿名化および試料の送付	9
4.5 患者登録と試料送付の確認	11
4.6 共同研究グループ匿名化番号管理者の役割	11
4.7 試料解析実施施設の役割	11
4.8 JCOG データセンターの役割	12
4.9 SNPsタイピング方法	12
4.10 統計解析	13
5. 評価項目	13
6. エンドポイントの定義	14
6.1 急性期有害事象	14
6.2 晩期有害事象	14
7. 統計学的事項	15
7.1 解析対象となるデータの要約、一般化を否定する状況に無いことの確認	15
7.2 遺伝子多型間の比較可能性の確認	15
7.3 遺伝子多型と有害事象の関係の分析	15
7.4 結果の解釈を補足するための検討	16
7.5 有意水準および解析対象数に占める有害事象発現例数の見込み	16

7.6	結果の解釈	16
7.7	統計解析施設	17
8.	予想されるメリットおよびデメリット	18
8.1	本附随研究に参加した患者のメリットとデメリット	18
8.2	JCOG のメリットとデメリット	18
8.3	放射線医学総合研究所のメリットおよびデメリット	18
9.	倫理的配慮	19
9.1	患者の保護	19
9.2	患者への説明	19
9.3	試料などの保存、廃棄	21
9.4	遺伝子カウンセリングの必要性およびその体制	21
9.5	遺伝情報の開示に関する考え方	21
10.	研究資金	22
11.	予定検体数と研究期間	22
12.	研究組織	23
12.1	研究代表者	23
12.2	研究事務局	23
12.3	解析施設および責任者	23
12.4	共同研究グループ匿名化番号管理者	23
12.5	参加予定施設	23
12.6	研究計画書作成	25
12.7	JCOG0701 研究代表者	25
12.8	JCOG0701 研究事務局	25
13.	研究成果の公表	25
14.	参考文献	27

## 1 目的

JCOG0701「T1-2N0M0 声門癌に対する放射線治療の加速照射法と標準分割法のランダム化比較試験」の附随研究として、声門癌放射線治療による急性期および晩期有害事象の発現と程度(Grade)に關与する遺伝子多型のうち特に一塩基多型(single nucleotide polymorphism :SNP)を明らかにすることを目的としている。本附随研究は、後述する放射線感受性遺伝子候補 190 遺伝子 1,300SNPs のうち約 1,000 の SNPs を解析して、放射線治療による急性期および晩期有害事象の発現に關与している可能性が高い SNPs を同定する探索的研究である。

## 2 背景

### 2.1 過去の報告

癌治療における遺伝子多型の意義については、1)腫瘍の発生(発癌)、2)治療後の経過や予後、3)抗癌剤、ホルモン剤および放射線治療などの治療に対する反応、4)治療に伴う有害事象の発現、といった様々な要因を予測する指標となることが報告されている(1-12)。放射線治療後の予後と遺伝子多型との相関に関する解析では、炎症反応に關与するIL4R 遺伝子の SNPs、特に rs1805015 と rs1805016 が高悪性度神経膠腫の治療後の長期生存に、また MDM2 SNP309 G/G と癌抑制遺伝子 p53 遺伝子の codon 72 SNP Arg/Arg の SNPs はいずれも口腔扁平上皮癌の術後放射線治療の予後と相関し、さらにMDM2 SNP309 G/Gと癌抑制遺伝子 p53 遺伝子の codon 72 SNP Arg/Arg の両者の遺伝子多型を有する症例は最も全生存期間ならびに無病生存期間が不良であったとの報告がある(13, 14)。治療に対する反応性については、ブレオマイシンの加水分解に關与するBLMH 遺伝子の A1450G の SNP が、睾丸腫瘍患者におけるブレオマイシンを含む化学療法に対する反応性不良に關与することが報告されている(15)。また、脳腫瘍に対する新規抗癌剤として注目されているテモゾロマイドについては、手術または放射線治療にテモゾロマイドを併用した多形膠芽腫を対象にした解析で MDR1 遺伝子の exon12 C1236T の SNP がテモゾロマイドの反応性不良に關与していることが明らかとなっている(16)。

本附随研究の目的である遺伝子多型と放射線治療による急性期ならびに晩期有害事象との関連に關する報告は、最近になりいくつかその候補となる多型マーカーが報告されている。早期乳癌に対する乳房温存療法における乳房への放射線治療で生ずる皮膚炎(急性期有害事象)をエンドポイントとした遺伝子多型解析では、CD44, MAD2L2, PTTG1, RAD9A, LIG3 遺伝子上のハプロタイプ、また、ABCA1 と IL12RB2 の SNPs が CTCAE による Grade 2 以上の皮膚炎の発現に關与していることが報告された(17, 18)。同じ乳房温存療法後の放射線治療による皮膚の晩期有害事象に關する英国からの遡及的な解析では、TGFβ1 遺伝子の SNP が

放射線治療による線維化の発現を増強することが示されている (19)。重粒子線治療による前立腺癌放射線治療後の排尿を指標とした晩期有害事象の発現に関する解析では、SOD2, XRCC1 および XRCC3、また SART1, ID3, EPDR1, PAH, XRCC6 遺伝子の SNP が関連していると報告されている (20)。同様に前立腺癌の放射線治療後の重要な晩期有害事象の 1 つである Grade 2 以上の直腸出血の発現に、SOD2, XRCC1 および XRCC2 遺伝子の SNP の関与が報告されている (21)。しかし、報告は限られており、放射線治療による急性期ならびに晩期有害事象に関与する SNPs を含めた遺伝子多型については、今後の研究の進展の余地が多く残されている(22-26)。

## 2.2 本附随研究の意義

急性期や晩期有害事象の程度や発現の様式は、1) 治療因子、2) 対象となる正常組織(リスク臓器)の両者により影響を受ける。治療因子としては、リスク臓器に照射される線量(総線量ならびに分割線量)やその容積が、急性期有害事象や晩期有害事象の発現頻度や程度に関与することが臨床データの解析や Dose Volume Histogram (DVH)の解析で明らかとなっている。これらの結果をもとに、有害事象の発現頻度や程度を許容範囲に抑制する至適な線量分割の確立やリスク臓器に対する線量を低減するための 3 次元原体照射法、強度変調放射線治療および粒子線治療などの線量集中性に優れた治療技術が開発され進歩してきた。対象となる正常組織については、粘膜や皮膚などの急性期有害事象に関与する acutely responding tissue および脊髄や脳組織をはじめとする神経組織などの晩期有害事象に関与する late responding tissue といった異なる反応型組織があることが放射線生物学的な研究で明らかになっており、臨床的にも有害事象の予測やその対策に役立っている。しかし、治療因子や対象となる正常組織が同じでも放射線治療による急性期有害事象や晩期有害事象が患者によって大きく異なり、予測を超えた強い反応が現れる場合がある。放射線による急性期有害事象や晩期有害事象の細胞および分子レベルの解析で、DNA 損傷修復に関わる遺伝子、繊維化や血管内皮などの血流に関わる遺伝子とその発現に関与している可能性が報告されてきた。しかし、時間経過を含めてこれらの因子が複合的に関与するため、急性期有害事象や晩期有害事象の放射線生物学的な機序は明らかになっていないのが現状である。

近年の遺伝子学的な解析により、これらの反応の相違の背景に遺伝子多型が関与している可能性が報告されている。本附随研究は JCOG0701 の参加患者を対象として、放射線治療後の急性期および晩期有害事象の発現に関与している可能性のある遺伝子多型のうちの一塩基多型(SNP)を明らかにする探索的研究である。

JCOG0701 は病理組織学的に扁平上皮癌と診断された T1-2N0M0 声門癌患者を対象として、1回線量を 2.4 Gy に増加させて治療期間を短縮させた加速照射法を、一回 2 Gy の標

準分割照射法とランダム化比較して、primary endpoint である 3 年無増悪生存割合において非劣性であることを検証する試験であり、secondary endpoint として全生存期間、喉頭無増悪生存期間、無病生存期間、音声機能温存生存期間、局所完全奏効割合、推奨治療期間達成割合、有害事象を評価することになっている。2007 年 10 月より登録が開始され、2009 年 10 月の時点で 154 例が登録されている。標準治療群で期待される 3 年無増悪生存割合は 80～90%と考えられ、放射線治療単独で高い治癒率が得られる。そのため、治療に伴う急性期および晩期有害事象の頻度や程度は、治療後の生活の質の観点からも重要である。

本附随研究は、1)急性期有害事象と晩期有害事象の両者を対象としていること、2)臨床試験という治療因子の方法やその質が高いレベルで統一されている試験に附随した研究であること、3)臨床試験登録患者を対象とした研究であることから、有害事象発現前に被験者を特定し前向きデータを集積できること、4)治療が放射線治療単独で、化学療法などの他の治療因子が急性期有害事象や晩期有害事象に影響しないこと、などの点で大きな意義があると考えている。晩期有害事象は急性期有害事象と異なり非可逆的で長期に及ぶ反応であり、治癒が得られたとしても治療後の患者の QOL を低下させる。そのためその予測は臨床的に大きな意義があり、予測が可能となれば、1)放射線治療の総線量を低減する、2)放射線治療の照射範囲を可能な限り縮小する、3)有害事象を増強する化学療法の併用を回避する等の治療上の工夫で有害事象発現の回避や抑制が可能となる可能性もある。また、急性期有害事象の程度と晩期有害事象との関連については明確になっていないため、両者に共通の因子が関与しているか否かを解析することは重要である。さらに臨床試験という治療因子が高いレベルで統一されている前向き試験を対象に治療後の急性期有害事象ならびに晩期有害事象の発現およびその程度に関与する SNPs を解析することは、その結果の信頼性をより高いものにすると考えられる。さらに放射線治療単独による急性期有害事象および晩期有害事象に関与する SNPs を同定することは、放射線治療に起因する有害事象発現に関与する根本的な因子の解明の一助となり、部位や組織が異なる放射線治療の有害事象の発現を、より正確に予測できる可能性がある。本附随研究は数多くの遺伝子を対象として、放射線治療による急性期有害事象および晩期有害事象に関与する SNPs を同定する探索的解析であるため、本附随研究で同定された SNPs を用いた有害事象の予測の妥当性、つまり放射線治療による有害事象の発現における意義を、他の部位や臓器に対する放射線治療や臨床試験で検証することが次のステップとなる。

このように本附随研究で得られる結果は、放射線治療全般における有害事象発現予測に重要な知見をもたらすことが期待され、臨床的に大きな意義をもつと考えている。

### 3 対象

JCOG0701 に登録された患者のうち、試料の外部提供を含めて本附随研究計画書に関する IRB の承認が得られ、本人より同意が得られた患者を対象とする。

対象となる臨床試験の予定登録数が 300 例であることから、本附随研究の予定登録数は 200–250 例と見込んでいる。

### 4 方法

#### 4.1 試料解析研究参加施設

JCOG0701 の参加施設のうち、本附随研究の実施について IRB の承認が得られた施設。

#### 4.2 対象となる臨床試験

放射線治療グループ(グループ代表者 平岡真寛、グループ事務局 石倉聡)

JCOG0701「T1-2N0M0 声門癌に対する放射線治療の加速照射法と標準分割法のランダム化比較試験」

(JCOG0701 研究代表者 加賀美芳和、JCOG0701 研究事務局 古平 毅、鹿間直人)

#### 4.3 同意取得および試料の採取・保存

参加施設にて、本附随研究参加の同意が得られた患者より末梢血液(5 ml)の採血を行う。検体採取は放射線治療前後いずれの時期でも構わない。採取した血液(以下、試料とする)を速やかに全血のまま冷蔵庫(4℃)保存し、4日以内に試料解析実施施設(放射線医学総合研究所 重粒子線医科学センター)に送付する。4日以内に送付できない場合は、マイナス 80℃で試料を保存し、送付可能となった時点で速やかに送付をする。

#### 4.4 試料の匿名化および試料の送付

- 施設研究責任者または担当医は、事前に配付される「匿名化依頼票」に必要事項を記入し、患者より採取した試料とともに、施設個人情報管理者へ提出する。
- 施設個人情報管理者は、事前に各施設に配付される4枚複写式の「登録票」を用いて、試料および患者情報の連結可能匿名化のための以下の作業を行う。
  - ① 登録票の1枚目は施設個人情報管理者が保管するためのものである。登録票の1枚目には、ランダムな匿名化番号がプレプリントされている。施設個人情報管理者は、登録票の1枚目に必要事項(JCOG登録番号、診療録番号、患者氏名等)を記入し、施錠可能な金庫などを利用して施設内で厳重に保管する。

- ② 登録票の2枚目は共同研究グループ匿名化番号管理者へFAXするためのものである。登録票の2枚目には、プレプリントされた匿名化番号と、1枚目から複写されたJCOG登録番号が記載されており、図に示した「匿名化番号管理表」に相当する。以下の宛先にFAXする。

登録票2枚目のFAX先

〒104-0045 東京都中央区築地5-1-1

国立がんセンター研究所 疾病ゲノムセンター腫瘍ゲノム解析・情報研究部

Tel:03-3542-2511、内線2301

FAX: 03-3541-2685

- ③ 登録票の3枚目は、試料とともに試料解析実施施設へ送付するためのものである。登録票の3枚目には、匿名化番号がプレプリントされ、試料に貼付するための匿名化番号のシールが用意されている。施設個人情報管理者は試料にこのシールを貼付し、登録票の3枚目とともに、試料搬送業者を通じて、試料解析実施施設である放射線医学総合研究所へ送付する。試料の送付に関しては、「感染性物質の輸送規則に関するガイダンス2007-2008年版」に沿った方法および包装で行う。「感染性物質の輸送規則に関するガイダンス2007-2008年版」で本研究の試料である血液はカテゴリーBの試料に該当するため、研究事務局より事前に各参加施設に送付された試料容器に採血管を入れ、所定の外装容器(事前に配布)にて送付を行う。これ以外の容器・包装での試料送付は試料輸送の安全性の観点から用いない。

試料搬送業者

日本郵便

試料および登録票3枚目の郵送先

〒263-8555 千葉市稲毛区穴川 4-9-1

放射線医学総合研究所 重粒子医学センター 今井高志

TEL:043-206-3138

- ④ 登録票の4枚目は、研究事務局へ郵送するためのものである。登録票の4枚目にはJCOG登録番号が記載されており、以下の宛先にFAXする。

登録票4枚目の郵送先

〒162-8666 東京都新宿区河田町 8-1

東京女子医科大学 放射線腫瘍科 秋元哲夫

TEL: 03-5269-7355、FAX: 03-5269-7355

#### 4.5 患者登録と試料送付の確認

登録された患者の試料が過不足なく試料解析実施施設へ送られていることを確認するため、登録期間中や登録終了時等の適切な時期に、以下の手順で確認を行う。

- ① 研究事務局は患者登録期間中、登録終了後の適当な時期に以下の②、③の作業依頼を、試料解析実施施設、共同研究グループ匿名化番号管理者に対して行う。
- ② 試料解析実施施設では、決められた時期までに送付された全ての試料の匿名化番号と、それぞれに対応する施設の一覧を、共同研究グループ匿名化番号管理者に送付する。
- ③ 共同研究グループ匿名化番号管理者は、送られてきた一覧と、自らが管理する対応リストをつきあわせ、過不足のないことを確認する。
  - ✓ 対応リストにない試料が試料解析実施施設に送られてきている場合には、共同研究グループ匿名化番号管理者は該当患者のJCOG番号を研究事務局へ通知し、研究事務局は施設に対して該当患者の連絡票2枚目の送り忘れがないかを確認する。
  - ✓ 対応リストに含まれているが、試料が送られてきていない場合には、共同研究グループ匿名化番号管理者は該当患者のJCOG番号を研究事務局へ通知し、研究事務局は施設に対して該当患者の試料の送り忘れがないかを確認する。

#### 4.6 共同研究グループ匿名化番号管理者の役割

- 共同研究グループ匿名化番号管理者の業務は、各施設から送付された匿名化番号管理表から「対応リスト」を作成し、長期間にわたって「対応リスト」を安全に保管することである。必要に応じて研究事務局とJCOG登録番号を用いて連絡を取り合い、自らが管理する対応リストと、研究事務局が管理する登録患者のリストに過不足がないことを確認する。
- 共同研究グループ匿名化番号管理者は、JCOGで定めるヒトゲノム解析ポリシーの連結可能匿名化手順、及び診療情報との連結手順に従い、JCOGデータセンターから受け取った診療情報データパッケージ上のJCOG登録番号を匿名化番号に置き換え、試料解析実施施設に送付する。

#### 4.7 試料解析実施施設の役割

- 試料解析実施施設では、送付された試料から市販DNA抽出キットを用いてDNAの抽出を行う。放射線感受性遺伝子候補190遺伝子1,300SNPs(そのうち137遺伝子1,000SNPsに

については参考文献18参照)を中心に、SNPsについてヌクレオチドの質量差を検出する MassARRAYシステムによりタイピングを行う。

- 試料解析実施施設は共同研究グループ匿名化番号管理者を通じて、匿名化番号と本体試験であるJCOG0701で得られた有害事象(急性粘膜炎および音声機能の変化)の情報を含む診療データパッケージを受け取る。試料解析実施施設ではSNPsの解析結果と放射線治療後の有害事象(Grade 0-1 vs. Grade 2以上およびGrade 0-2/Grade 3以上の2カテゴリー、SNPsとGrade 0、1、2、3、4それぞれのグレードとの相関など)との関連性を allele, genotype (優性モデル、劣性モデル)に基づき各々Fisher正確検定により関連解析を行う。
- 試料解析実施施設は解析終了後、解析結果のダブルチェックのため、以下をJCOGデータセンターへ直接送付する。
  - ✓ 試料解析結果と診療情報データを統合したデータパッケージ(ただし匿名化番号は削除してから送付するよう注意する)
  - ✓ SAS(Statistical Analysis System)のプログラム/Log/Output(raw dataがoutputやlogに表示されないようなprogramとする)
  - ✓ 他の解析パッケージの実行program/log/output
- 試料解析実施施設は、解析終了後の試料の保存について同意が得られている試料については、匿名化番号を用いて試料を厳重に保存・管理する。研究事務局と試料解析実施施設は適宜連絡を取り合い、試料の保存状況について確認を行う。

#### 4.8 JCOGデータセンターの役割

- JCOGデータセンターは本体試験であるJCOG0701より得られた診療情報パッケージからカルテ番号等の個人情報を削除したデータパッケージを作成し、共同研究グループ匿名化番号管理者に送付する。この診療情報データパッケージにはJCOG登録番号が含まれる。
- JCOGデータセンターでは、試料解析実施施設より、前述の匿名化番号を含まないデータパッケージやSASプログラム等を受け取り、解析結果のダブルチェックを行う。

#### 4.9 SNPs タイピング方法

試料(血液:5mL)から市販 DNA 抽出キットを用いて DNA を抽出する。速やかに処理できない場合は超低温冷凍庫で短期間冷凍保存するが、長期保存は行わない。試料は研究期間終了後も、将来の研究のための貴重な資源として保管するが、それらを使用する場合は改めてプロトコールを作成し、JCOG の委員会、および各施設の IRB において審査される必要がある。

放射線感受性遺伝子候補 190 遺伝子 1,300SNPs(内 137 遺伝子 1,000SNPs については参考文献 18 参照) を対象として、そのうち約 1,000 の SNPs を中心に放射線医学総合研究所 重粒子医学センターにてヌクレオチドの質量差を検出する MassARRAY システムによりタイピングを行う。まず候補 SNP 領域を PCR 法により増幅し、多型サイトの直前にデザインしたプライマーを用いてポリメラーゼ反応によりアレル特異的なヌクレオチドを取り込ませる。取り込まれたヌクレオチドの質量を質量分析計により検出しデータベースに登録する。PCR やポリメラーゼ反応、質量分析の条件は既に確立しており、参考文献 18 中の SNPs についても公表されている。130 人の健常人における多型頻度データは取得済みである。本附随研究の対象においてアレル頻度が低いマーカーについてはタイピングを中断することもある。タイピング結果により以下の条件に合致する SNP マーカーは統計解析から除外する。1) アレル頻度 < 5%、2) Hardy-Weinberg 平衡が成立していない場合 ( $\chi^2$  検定、 $p < 0.001$ )。

また本研究は放射線治療による急性期および晩期有害事象の発現に関与している可能性が高い SNPs を同定する探索的研究であるため、解析結果により対象とする遺伝子を広げたタイピング結果を用いて関連解析を行うことも考えている。

#### 4.10 統計解析

急性粘膜炎、音性機能の変化のそれぞれについて、SNP 頻度を allele, genotype (優性モデル、劣性モデル) に基づき構成した 2 群間で、Grade 0-1 と Grade 2 以上の有害事象発現に差があるか否か、Fisher 正確検定により関連解析を行う(詳細は 7 章参照)。タイピングデータの集計、統計解析は Dynacom 社 SNPalyze ソフトウェア、SAS Institute 社 統計解析ソフトウェアを中心に行う。また SNP マーカーのゲノム情報は UCSC Genome Browser Gateway などの公共データベースより取得する。

### 5 評価項目

以下の項目を対象となる臨床試験(JCOG0701)の CRF より抽出し、SNPs の解析結果と放射線治療後の有害事象との関連性を統計学的に評価する。

- 急性期有害事象:放射線治療による急性粘膜炎  
SNPs と Grade 0-1 vs. Grade 2 以上、Grade 0-2/Grade 3 以上の2カテゴリーおよび Grade 0, 1, 2, 3, 4 それぞれのグレードの 5 カテゴリーとの相関
- 晩期有害事象:音声機能の変化  
SNPs と Grade 0-1 vs. Grade 2 以上、Grade 0-2/Grade 3 以上の2カテゴリーおよび Grade 0, 1, 2, 3, 4 それぞれのグレードの 5 カテゴリーとの相関  
#グレーディングは CTCAE v3.0 による。

## 6 エンドポイントの定義

声門癌に対する放射線治療後の臨床的エンドポイントとしては、1)急性期有害事象の指標として照射野範囲内の“粘膜炎”、2)晩期有害事象の指標として放射線治療による“音声機能の変化”を選択した。喉頭癌に対する放射線治療では、照射範囲内の皮膚炎も急性反応の指標となるが、放射線治療のエネルギーや患者固定に使用するシェルの有無により、その程度や発現頻度が影響される。そのため、治療因子による影響が少ない“粘膜炎”を臨床的エンドポイントとして採用した。放射線治療後の“音声機能の変化”は、放射線治療による粘膜下や組織の線維化を背景に治療後の時間経過により出現し線維化の程度を反映して“音声機能の変化”が強くなると考えられるため、晩期有害事象の指標として採用した。これらのエンドポイントの評価方法は以下のとおりである。

### 6.1 急性期有害事象

放射線治療後の「急性粘膜炎」を CTCAE v3.0 でグレーディングし、SNPs と、Grade 0-1/Grade 2 以上および Grade 0-2/Grade 3 以上の 2 カテゴリーの関連を解析する。また、SNPs と Grade 0-2/Grade 3 以上との関連についても評価する。また、SNPs と Grade 0、1、2、3、4 それぞれのグレードとの相関についても解析し評価する。

#急性粘膜炎のグレーディングは放射線治療後 90 日までの最も強いグレードとする。

### 6.2 晩期有害事象

放射線治療後の「音声機能の変化」を CTCAE v3.0 でグレーディングし、SNPs と Grade 0-1/Grade 2 以上および Grade 0-2/Grade 3 以上の 2 カテゴリーの関連を解析する。また急性期有害事象と同様に、SNPs と Grade 0、1、2、3、4 それぞれのグレードとの相関についても解析し評価する。

#音声機能の変化の Grade 1(軽度または間欠的な嗄声または声の変化があるが、発話内容は十分に理解可能)、Grade 2(中等度または持続的な声の変化があり、時々聞き直すことがあるが、電話で理解可能)と定義されているが、客観的なグレーディングの再現性を向上させるため、Grade 2 の定義に“1 ヶ月以上持続する”と付帯的な定義を設けた。

#「音声機能の変化」のグレーディングは放射線治療後 91 日以降で最も強いグレードとする。

## 7 統計学的事項

### 7.1 解析対象となるデータの要約、一般化を否定する状況に無いことの確認

本附随研究は臨床試験(JCOG0701)に登録された全例を対象として実施するものではないことから、結果の一般化を否定する状況に無いことを確認する目的で、JCOG0701に登録された全登録例と本附随研究の対象となる全症例、JCOG0701に登録されたものの本附随研究の対象とならなかった症例と本附随研究の対象となる全症例との間で、背景因子、予後、有害事象発現状況の比較を行う。

### 7.2 遺伝子多型間の比較可能性の確認

本附随研究は臨床試験対象症例を扱うので治療法の統一、有害事象の判定ポイントは厳密に設定されているが、まず、年齢、性別、施設、治療法など診療情報と急性期有害事象(Grade 0-1 vs. Grade 2 以上)、晩期有害事象(Grade 0-1 vs. Grade 2 以上)との関連をそれぞれ解析し、有害事象発症に遺伝的要因以外の因子が関わっている可能性について検討する。

### 7.3 遺伝子多型と有害事象の関係の分析

特定の診療情報と有害事象発症との間に関連が認められない場合は、遺伝子多型で構成した 2 群間で、急性期有害事象あるいは晩期有害事象のそれぞれについて、Grade0-1 と Grade2 以上の有害事象発症に差があるか否か、Fisher 正確検定により関連解析を行う。この場合 allele, genotype (優性モデル、劣性モデル)それぞれについてどのモデルが最適であるか検討する。また、検出力を上げるため SNPs の組合せ、特に同一遺伝子座での SNPs の組合せによるハプロタイプ解析を行い、リスクハプロタイプを予測する。また、診療情報を説明変数に加えた対数線型モデルにより、感度分析及び診療情報を調整した効果の推定を行う。

一方、特定の診療情報と有害事象発症との間に関連が認められる場合にはこれらの因子に基づくサブグループ別の解析を行いサブグループ毎の効果の推定を行うと共に、交互作用が見られない場合はこれらの因子を層とした Cochran-Mantel-Haenszel 流の  $\chi^2$  検定並びに層を併合した効果の推定を行う。また、有害事象発症との間に関連が認められた因子を説明変数に加えた対数線型モデルにより、診療情報を調整した効果の推定を行い、同様の結果が得られるか否かを確認する。さらに、有害事象発症との間に関連が認められなかった因子も説明変数に加えた対数線型モデルにより、感度分析及び診療情報を調整した効果の推定を行う。

なお、JCOG0701における治療群(標準治療群、試験治療群)が有害事象発症に影響を与えているか否かの確認も行き、必要に応じて治療群を説明変数あるいは層とした解析を行

う。

#### 7.4 結果の解釈を補足するための検討

本附随研究は前向きにデータを集積する研究であることから、一定の臨床上の条件を満たす集団における遺伝子多型頻度、ならびに、各遺伝子多型毎の有害事象発症割合を推定することが可能であり、これらを算出する。

また、事前に定めた有害事象のグレードのカットオフが適切であるか否かを確認するために、遺伝子多型と各有害事象の2値化していないグレードとの関係を分析する。より適切なグレードのカットオフが見いだされた場合には、そのカットオフに基づき7.2、7.3の分析を行う。

#### 7.5 有意水準および解析対象者数に占める有害事象発現例数の見込み

本附随研究は、先行研究で有害事象との関連が報告されているSNPsに関する解析(タイピングを行うマーカーは実験データ、論文データを基にした候補遺伝子アプローチ)と、新たなSNPsを探索する解析とからなる。検証的ならびに探索的な解析ともにFDRを5%として多重性の調整を行う。

急性期有害事象のエンドポイントである放射線治療による急性粘膜炎のうちGrade 2以上の発現頻度は、過去の報告から約30%と予想され、本附随研究の参加見込み症例を250例とした場合に75例となる。晩期有害事象のエンドポイントである音声機能の変化の場合、Grade 2の付帯条件によりGrade 2以上の発現頻度は20-30%と予想され、50-75例と推定される。

#### 7.6. 結果の解釈

本研究で解析予定のSNPsは、これまで放射線治療の有害事象で報告されているSNPsを網羅しており、これまでに報告されているSNPsを事前に明示することで、それらと今回の研究で有害事象との関連が示唆されたSNPsを比較することが可能である。すなわち、これまで報告のあったSNPsに関しては本研究により検証的なvalidationを行うという位置づけとなる。一方、これまでに報告がなく、本研究で新たに放射線治療の有害事象との関連が示唆されたSNPsについては探索的な位置づけとし、この研究に引き続き予定している全乳房短期照射の臨床試験の遺伝子多型解析において、validationを行う。

これまで放射線治療の有害事象発生に関与すると報告のあったSNPsで、本研究で検証的な位置づけであるSNPsは以下の10SNPsである。

SOD2: rs4880    TGFB1:rs1800469    XRCC1: rs25487    XRCC3:rs861539    IL12RB2:rs3790568  
ABCA1: rs2230806    CD44: rs8193    PTTG1 :rs3811999    RAD9A: rs2286620    LIG3: rs3744355

## 7.7. 統計解析施設

放射線医学総合研究所 重粒子医学センター 今井高志

〒263-8555 千葉県稲毛区穴川 4-9-1

TEL:043-206-3138、FAX:043-206-6267

E-mail: imait@nirs.go.jp

※ 統計解析は上記施設で行い、JCOG データセンターでは解析結果の validation を行う。

## 8 予想されるメリットおよびデメリット

### 8.1 本附随研究に参加した患者のメリットとデメリット

放射線治療後の急性および晩期有害事象の発現予測因子としてのSNPの臨床的意義が本附随研究により明らかとなれば、関連する遺伝子のSNPの有無で治療の個別化を実現できる可能性がある。ただし、本附随研究の結果、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、あくまでも将来の放射線治療患者に還元するための研究である。デメリットとしては、身体的に大きな負担とはならないが、試料採取のため5mlの採血が必要であることである。

### 8.2 JCOGのメリットおよびデメリット

本附随研究は厚生労働科学研究費補助金がん臨床研究事業の公的研究費に加えて厚生労働科学研究費補助金がん臨床研究事業の主任研究者である研究代表者ならびに本研究グループと放射線医学総合研究所と間の共同研究契約に基づく研究費により実施される共同研究である。貴重な臨床検体から得られる有益な情報を放射線医学総合研究所と共にJCOGが享受できる。

デメリットとしては、各施設の試料採取とその連結可能匿名化に要する労力、共同研究グループ匿名化番号管理者の個人情報管理に関わる労力および事務局およびJCOGデータセンターにおける統計解析業務に要する労力などが挙げられる。

### 8.3 放射線医学総合研究所のメリットおよびデメリット

JCOGと放射線医学総合研究所の間で、声門癌放射線治療による急性および晩期有害事象の発現とその重症度に関係するSNPを特定することができれば、治療前に有害事象の発現を考慮した治療の個別化を実現できる可能性があり、放射線治療の有害事象に関与するSNPに関する重要な知見を得ることができる。放射線医学総合研究所のデメリットとしては、試料のSNP解析に要する労力と費用の負担が挙げられる。

## 9 倫理的配慮

### 9.1 患者の保護

本附随研究は遺伝子多型に関する研究であるため、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」の適用範囲である。そのため、各々の参加施設から本附随研究のために提供され、かつ保存されている試料の利用にあたっては「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」の趣旨に準拠して取り扱う。なお、本附随研究では、個人情報には匿名化され、試料提供者に対する危険や不利益は極めて少なく、また、放射線治療の急性および晩期の有害事象を予測する SNP の探索的研究として高度の有用性があると思われる。本附随研究で測定対象とする試料は、JCOG 研究として行われる試料解析研究のうち提供者の個体を形成する細胞に共通して存在し、その子孫に受け継がれ得るヒトゲノム及び遺伝子の構造又は機能を、試料等を用いて明らかにしようとする研究、すなわち「ヒトゲノム解析研究」に該当するため、JCOG で定めるヒトゲノム解析ポリシーの試料の取り扱い、匿名化などの方法を遵守した上で本附随研究を実施する。

個人の識別につながる情報は、個人情報管理者により管理され、連結した遺伝子多型情報が第三者に渡ることはない。もし遺伝子多型解析内容が外部に漏洩することがあっても、提供者およびその家族に対する社会的差別や精神的苦痛などの不利益行為につながる可能性は極めて低い。

本附随研究においては、採血により得られた血液を試料とすることから、試料提供者である JCOG0701 参加患者に身体的および精神的に大きな負担を強いることはない。

### 9.2 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 の臨床試験の附随研究であること  
試料の取り扱いに連結可能匿名化の処理などが必要なこと。
- 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。ただし、研究結果が連結不可能匿名化されている場合や、研究結果が既に公開されている場合には、結果の中から提供者の情報を取り除くことが困難であること
- 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) 遺伝子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、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(放射線医学総合研究所 重粒子線医科学センター)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IRB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、研究事務局に変更の内容を連絡すること。

### 9.3 試料等の保存、廃棄

本附随研究においては試料解析実施施設(放射線医学総合研究所 重粒子線医科学センター)に提出された血液検体が試料となる。試料は試料解析実施施設においてSNPs解析に利用され、残余試料は試料解析実施施設でその期間を定めずに保存される。残余試料の二次利用を行う場合には、研究計画書をJCOGプロトコール審査委員会や研究を行う機関の長の承認を得ることとする。残余試料は提供患者の希望があった場合破棄されるが、その場合には匿名化番号なども削除し破棄する。

### 9.4 遺伝カウンセリングの必要性およびその体制

本附随研究に直接関連して遺伝カウンセリングが必要になる場合は非常に稀であると考えられるが、患者や家族などから求めがあった場合には、倫理的、法的、社会的または精神心理的諸問題の解消または緩和を目指して援助や支援をするための遺伝カウンセリングを、参加施設の遺伝相談外来にて行う。または遺伝相談外来がない場合は他施設などの適切な窓口を紹介して対応する。

### 9.5 遺伝情報の開示に関する考え方

本附随研究は放射線治療の有害事象に関する探索的研究であり、将来の患者にとっての有害事象の予測を目的としているため、登録患者に対する遺伝情報の開示により患者が得られるメリットはない。ただし、登録患者より遺伝情報の開示の希望があった場合には担当医と研究事務局を通じて試料解析実施施設より遺伝情報を取得し、前述の点に留意の上で説明を行う。その際には、必要に応じて遺伝カウンセリングの紹介を行う。

## 10 研究資金

本研究は厚生労働科学研究費補助金がん臨床研究事業の主任研究者である研究代表者と、独立行政法人放射線医学総合研究所の理事長との間で取り交わされた共同研究契約に基づいて行われる。研究費の分担については以下のように分担して負担を行う予定であり、このことは共同研究契約書でも定められている。

- 共同研究グループ匿名化番号管理者への委託費用、研究終了までの維持費および試料の搬送費用は委託契約に基づいて厚生労働科学研究費補助金がん臨床研究事業(H21-がん臨床-一般-018)「放射線治療期間の短縮による治療法の有効性と安全性に関する研究」班(主任研究者 加賀美芳和)で負担
- SNPs 解析費用は放射線医学総合研究所が負担

## 11 予定検体数と研究期間

本附随研究の対象となる声門癌症例数より、予定検体数は200-250検体程度と考えられる。IRBの承認が得られてから研究を開始し、本体臨床試験(JCOG0701)は2007年10月より登録が開始され、予定登録期間は4年、追跡期間は3年の総研究期間が7年の研究である。本附随研究のエンドポイントの1つである晩期有害事象については、追跡不能または死亡までの最悪値を評価するため、本附随研究の研究期間は本体臨床試験(JCOG0701)の総研究機関を考慮して5年間とする。

## 12 研究組織

### 12.1 研究代表者

秋賀美芳和 国立がんセンター中央病院 放射線治療部  
 〒104-0045 東京都中央区築地5-1-1  
 TEL: 03-3542-2511、FAX: 03-3248-9134  
 E-mail: ykagami@ncc.go.jp

### 12.2 研究事務局

秋元哲夫 東京女子医科大学 放射線腫瘍科  
 〒162-8666 東京都新宿区河田町 8-1  
 TEL: 03-5269-7355、FAX: 03-5269-7355  
 E-mail: t-akimoto@rad.twmu.ac.jp

### 12.3 試料解析実施施設および責任者

放射線医学総合研究所 重粒子医学センター 今井高志  
 〒263-8555 千葉市稲毛区穴川 4-9-1  
 TEL: 043-206-3138、FAX: 043-206-6267  
 E-mail: imait@nirs.go.jp

### 12.4 共同研究グループ匿名化番号管理者

国立がんセンター研究所 疾病ゲノムセンター 吉田輝彦  
 〒104-0045 東京都中央区築地5-1-1  
 TEL: 03-3542-2511、内線2301、FAX: 03-3541-2685  
 E-mail: tyoshida@ncc.go.jp

### 12.5 参加予定施設

- JCOG0701「T1-2N0M0 声門癌に対する放射線治療の加速照射法と標準分割法のランダム化比較試験」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。
- 参加施設の追加や登録可能施設の追跡協力施設への変更、研究責任者、コーディネーターの変更などによる内容変更は、プロトコル改訂・改正申請時に合わせて行い、それ以外の時に記載の変更は行わない。なお、最新の参加施設一覧は JCOG ホームページ (<http://www.jcog.jp/>) で 1 か月に 1 度更新されているので、確認可能である。