

7. 予想される利益と不利益、研究終了後の対応について

【利益】①皮膚症状について定期的に観察するため、皮膚障害を早期に発見でき、治療が必要な場合は、早期に治療ができます。②1回の検査ごとに500円相当の図書券、又はクオカードを謝礼としてお渡し致します。

【不利益】この研究にご参加いただく場合は、研究終了までに計6回、約10分のアンケートの回答と約30～40分の皮膚計測にご協力をお願いします。

【研究終了後の対応】この研究の参加期間が終了した後の治療については、お身体の状態等に合わせその時に最良と思われる治療法などをご提案させていただきます。

8. 健康被害が発生した時の対応・補償について

この研究に参加されて、健康被害が生じることはまずありません。

しかし、万が一、この研究に参加したことが原因となって予想しなかった健康被害を受けた場合は通常の診療同様に適切に対処いたします。

その際の医療費はあなたが加入している健康保険で、あなた自身にご負担いただくこととなります。この臨床試験に参加されることにより補償金が支払われることはありません。

9. 倫理委員会の承認を受けました

この研究は、研究に参加するみなさんの不利益にならないかということや、目的や方法が科学的に妥当であるか、結果として医学の発展に役立つ情報が得られるかどうかなどが確認され、国立がん研究センター研究倫理審査委員会の承認をうけています。

10. この研究の資金と利益相反について

利益相反とは、研究者が企業等から経済的な利益（研究費、株式等）の提供を受け、その利益の存在により研究結果に影響を及ぼす可能性のある状況のことをいいます。本研究は、厚生労働省から研究助成を受けて実施されています（平成26-28年度厚生労働科学研究委託費）。この他に、特定の団体からの資金提供などは受けておりませんので、研究組織全体に関して起こりうる利益相反はありません。

本研究に関する研究者の利益相反の管理は、国立がん研究センター利益相反委員会が行っていますので、詳細をお知りになりたい場合は、担当医までお問い合わせください。

11. 研究の責任者とお問い合わせ先

この研究に関してご不明な点や不安があるときなどは、下記連絡先（事務局）までご連絡下さい。

〈研究代表者〉 野澤桂子（独立行政法人国立がん研究センター中央病院アピランス支援センター）

〒104-0045 東京都中央区築地5-1-1

TEL 03-3547-5201（内3015）メール：knozawa@ncc.go.jp

〈当施設研究責任者・担当医〉 大江裕一郎・山本昇・軒原浩・藤原豊・堀之内秀仁・神田慎太郎

独立行政法人国立がん研究センター中央病院呼吸器内科 〒104-0045 東京都中央区築地5-1-1

〈研究事務局〉 国立がん研究センター中央病院アピランス支援センター 藤間勝子・青木和子・高橋恵理子

〈他施設研究責任者・担当医〉

水谷仁（三重大学大学院皮膚科教授）〒514-8507 三重県津市江戸橋2-174 TEL 022-717-7271

菊地克子（東北大学・病院・皮膚科学講師）〒980-8575 仙台市青葉区星陵町2-1 TEL 0592-31-5025

ご協力おねがいたします



同意書（患者さん用）

国立がん研究センター中央病院 病院長 殿

私は、「薬物療法に伴う皮膚症状の変化に関する研究」について、担当医または調査担当者から以下の内容について説明を受け、これを十分理解し、了承したうえで、本研究に協力することに同意します。

本研究の目的（説明文書№1）

本研究の方法（対象者、調査形式、質問内容、研究への参加：説明文書№2～5）

プライバシーへの配慮（データの処理、個人情報の管理など：説明文書№6）

その他（研究資金、研究責任者、問い合わせ先など：説明文書№7～11）

私は上記について、担当医または調査担当者より十分に説明を受け、理解いたしましたので、研究への参加に同意します。

『患者本人』 同意日： 平成 年 月 日

氏名（自署）

上記研究について、私が説明しました。

『医師・調査担当者』 説明日： 平成 年 月 日

担当医または調査担当者（自署）

同意書（カルテ保存用）

国立がん研究センター中央病院 病院長 殿

私は、「薬物療法に伴う皮膚症状の変化に関する研究」について、担当医または調査担当者から以下の内容について説明を受け、これを十分理解し、了承したうえで、本研究に協力することに同意します。

本研究の目的（説明文書No1）

本研究の方法（対象者、調査形式、質問内容、研究への参加：説明文書No2～5）

プライバシーへの配慮（データの処理、個人情報の管理など：説明文書No6）

その他（研究資金、研究責任者、問い合わせ先など：説明文書No7～11）

私は上記について、担当医または調査担当者より十分に説明を受け、理解いたしましたので、研究への参加に同意します。

『患者本人』 同意日： 平成 年 月 日

氏名（自署）

上記研究について、私が説明しました。

『医師・調査担当者』 説明日： 平成 年 月 日

担当医または調査担当者（自署）



薬物療法に伴う皮膚症状の変化に関する研究 ご協力をお願い

—セツキシマブ（アーピタックス®）による治療を行う皆さま—

1.研究の目的

薬物療法はがんに対してとても有益な治療です。その反面、できものや炎症、乾燥、かゆみなどを引き起こし、患者さんに苦痛を感じさせるため、それらの皮膚症状をやわらげる処置の開発も重要です。そのためには、治療によってどのように皮膚が変化し、現在行われている処置によってどのように皮膚がケアされているのか、を正確に評価する必要があります。しかし、現在のところ、皮膚症状は医師の主観的な評価によるのみで、科学的に十分な検証がされているわけではありません。

そこで、薬物療法による皮膚変化や、その症状に対する緩和的な処置の結果について、機器を用いて正確に評価したいと、本研究を計画しました。当院（国立がん研究センター中央病院）を含む3施設による共同研究です。今回の研究で得られたデータをもとに、皮膚症状を緩和するより良い処置方法を構築し広める予定です。

2.研究の方法

外来受診の方で対象条件を満たす方に、説明文書と口頭により研究参加へのお願いをします。

承諾された方には、以下のスケジュールで最大で1時間程度（約10分のアンケート記入と約30～40分の皮膚計測）の研究にご協力いただきます。アンケートでは、スキンケアの状況、外見に関する考えや気持ちをうかがいます。皮膚計測は顔、胸部、腕、手で行い、放射線治療で皮膚がどのように変わるかを調べます。（小さな器具をあてるだけで、痛みなどはありません。）

第1回目（薬物の投与前） アンケート記入+皮膚計測（バリア機能、水分量など）

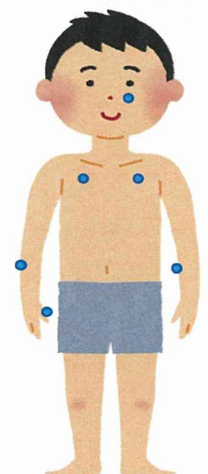
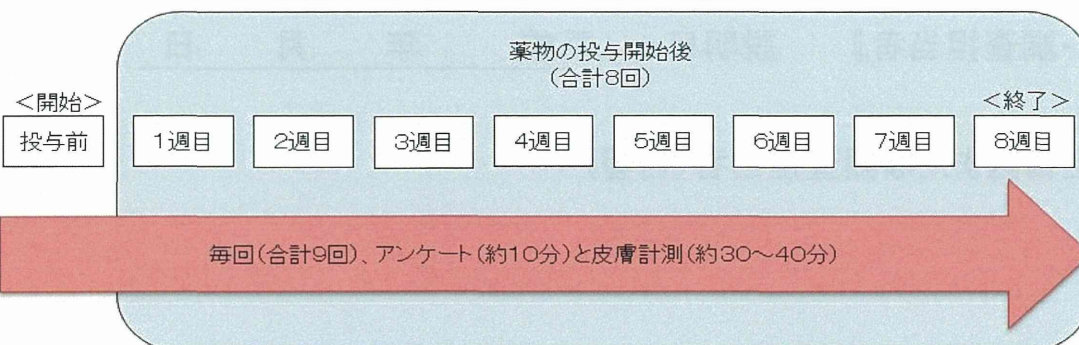
第2回目

第9回目

（薬物の投与開始後1週目～8週目） アンケート記入+皮膚計測

- ★薬物の投与後、5階の測定室で測定部皮膚を露出させ約15分間休憩した後に、皮膚計測を行います。
- ★メイクをしている女性は、メイク除去後に皮膚計測を行います。
- ★保湿剤やステロイド剤などの外用剤が処方されている場合、測定日は塗らないでください。

補足：本研究の全体の流れは、以下のようになっています。
全ての研究実施期間は、研究許可日～約1年2カ月です。



3.現在、20～69歳で、セツキシマブ（アーピタックス®）初回治療前の患者さん（男女：大腸がん）にお願いしています

4.研究参加への同意について

この研究の説明を担当者から聞いた上で、参加されるかどうかを患者さんの自由な意思で決めてください。同意書への署名をもって、正式に参加に同意されたことになります。また、同意後でも自由に撤回することができます。

5.研究に参加されなくても、治療上の不利益をこうむることはありません

研究への参加は、あなたの自由な決定によるものであり、参加を拒否されても、治療上の不利益は一切ありません。調査の途中で、研究への参加をとりやめることも可能です。

6.個人情報の取り扱いは慎重に行い、外部に漏れることはありません

この研究に関するデータは、データセンターである国立がん研究センターにおいて全て数量的に処理されるだけでなく、外部にもれないよう取り扱いを慎重におこなっております。

データからは、個人情報を特定できないよう削除し、代わりに新しく符号をつけます。これを匿名化といいます。削除した情報と符号を結びつける対応表は、厳重に管理されます。この方法により、中央病院の研究関係者には符号しか分からなくなり、患者さんの個人情報が外部に漏れることは一切ありません。とりわけ初回アンケートでは、婚姻状況などの個人的な情報について少しだけお聞きしますが、あなたの回答は匿名化されたうえに、その場で封筒に入れられ、密封のままデータセンターに送られます。そのため、アンケート内容が研究実施者に知られることもありません。なお、質問紙に未記入の事項があった場合、および治療が中断されていないかを確認する場合には、カルテを拝見させていただきますこと、ご了解ください。

この研究から得られた結果は、学会や医学雑誌などで公表されることがあります。このような場合にも、患者さんの個人情報に関することが外部に漏れることは一切ありません。

また、この研究が適切に行われているかどうかを第三者の立場で確認するために、当センター臨床研究監査を担当する部門の者があなたのカルテやその他の診療記録などを拝見することがあります。このような場合でも、担当者には守秘義務があり、患者さんの個人情報は守られます。この研究で得られたデータを、この研究以外の目的で使用することはありません。なお、この研究で得られたデータは、研究終了5年後にはすべて廃棄いたします。その際も、情報が外部にもれないように十分に配慮いたします。

なお、本研究のアンケート結果については、全体で数量的に処理させていただくため、個々の方への開示を予定しておりません。しかし、皮膚計測の結果については、希望される方にのみ最終計測時に書面にてご報告させていただきます。

7. 予想される利益と不利益、研究終了後の対応について

【利益】①皮膚症状について定期的に観察するため、皮膚障害を早期に発見でき、治療が必要な場合は、早期に治療ができます。②1回の検査ごとに500円相当の図書券、又はクオカードを謝礼としてお渡し致します。

【不利益】この研究にご参加いただく場合は、研究終了までに計9回、約10分のアンケートの回答と約30~40分の皮膚計測にご協力をお願いします。

【研究終了後の対応】この研究の参加期間が終了した後の治療については、お身体の状態等に合わせその時に最良と思われる治療法などをご提案させていただきます。

8. 健康被害が発生した時の対応・補償について

この研究に参加されて、健康被害が生じることはまずありません。

しかし、万が一、この研究に参加したことが原因となって予想しなかった健康被害を受けた場合は通常の診療同様に適切に対処いたします。

その際の医療費はあなたが加入している健康保険で、あなた自身にご負担いただくことになります。この臨床試験に参加されることにより補償金が支払われることはありません。

9. 倫理委員会の承認を受けました

この研究は、研究に参加するみなさんの不利益にならないかということや、目的や方法が科学的に妥当であるか、結果として医学の発展に役立つ情報が得られるかどうかなどが確認され、国立がん研究センター研究倫理審査委員会の承認をうけています。

10. この研究の資金と利益相反について

利益相反とは、研究者が企業等から経済的な利益（研究費、株式等）の提供を受け、その利益の存在により研究結果に影響を及ぼす可能性のある状況のことをいいます。本研究は、厚生労働省から研究助成を受けて実施されています（平成26-28年度厚生労働科学研究委託費）。この他に、特定の団体からの資金提供などは受けておりませんので、研究組織全体に関して起こりうる利益相反はありません。

本研究に関する研究者の利益相反の管理は、国立がん研究センター利益相反委員会が行っていますので、詳細をお知りになりたい場合は、担当医までお問い合わせください。

11. 研究の責任者とお問い合わせ先

この研究に関してご不明な点や不安があるときなどは、下記連絡先（事務局）までご連絡下さい。

〈研究代表者〉 野澤桂子（独立行政法人国立がん研究センター中央病院アピランス支援センター）

〒104-0045 東京都中央区築地5-1-1

Tel. 03-3547-5201（内3015）メール：knozawa@ncc.go.jp

〈当施設研究責任者・担当医〉 朴成和・山田康秀・濱口哲弥・加藤健・沖田南都子・高島淳生・岩佐悟・本間義崇

独立行政法人国立がん研究センター中央病院消化管内科 〒104-0045 東京都中央区築地5-1-1

〈研究事務局〉 国立がん研究センター中央病院アピランス支援センター 藤間勝子・青木和子・高橋恵理子

〈他施設研究責任者・担当医〉

水谷仁（三重大学大学院皮膚科教授）〒514-8507 三重県津市江戸橋2-174 Tel. 022-717-7271

菊地克子（東北大学・病院・皮膚科学講師）〒980-8575 仙台市青葉区星陵町2-1 Tel. 0592-31-5025

ご協力おねがいたします



同意書（患者さん用）

国立がん研究センター中央病院 病院長 殿

私は、「薬物療法に伴う皮膚症状の変化に関する研究」について、担当医または調査担当者から以下の内容について説明を受け、これを十分理解し、了承したうえで、本研究に協力することに同意します。

本研究の目的（説明文書№1）

本研究の方法（対象者、調査形式、質問内容、研究への参加：説明文書№2～5）

プライバシーへの配慮（データの処理、個人情報の管理など：説明文書№6）

その他（研究資金、研究責任者、問い合わせ先など：説明文書№7～11）

私は上記について、担当医または調査担当者より十分に説明を受け、理解いたしましたので、研究への参加に同意します。

『患者本人』 同意日： 平成 年 月 日

氏名（自署）

上記研究について、私が説明しました。

『医師・調査担当者』 説明日： 平成 年 月 日

担当医または調査担当者（自署）

同意書（カルテ保存用）

国立がん研究センター中央病院 病院長 殿

私は、「薬物療法に伴う皮膚症状の変化に関する研究」について、担当医または調査担当者から以下の内容について説明を受け、これを十分理解し、了承したうえで、本研究に協力することに同意します。

本研究の目的（説明文書№1）

本研究の方法（対象者、調査形式、質問内容、研究への参加：説明文書№2～5）

プライバシーへの配慮（データの処理、個人情報の管理など：説明文書№6）

その他（研究資金、研究責任者、問い合わせ先など：説明文書№7～11）

私は上記について、担当医または調査担当者より十分に説明を受け、理解いたしましたので、研究への参加に同意します。

『患者本人』 同意日： 平成 年 月 日

氏名（自署）

上記研究について、私が説明しました。

『医師・調査担当者』 説明日： 平成 年 月 日

担当医または調査担当者（自署）

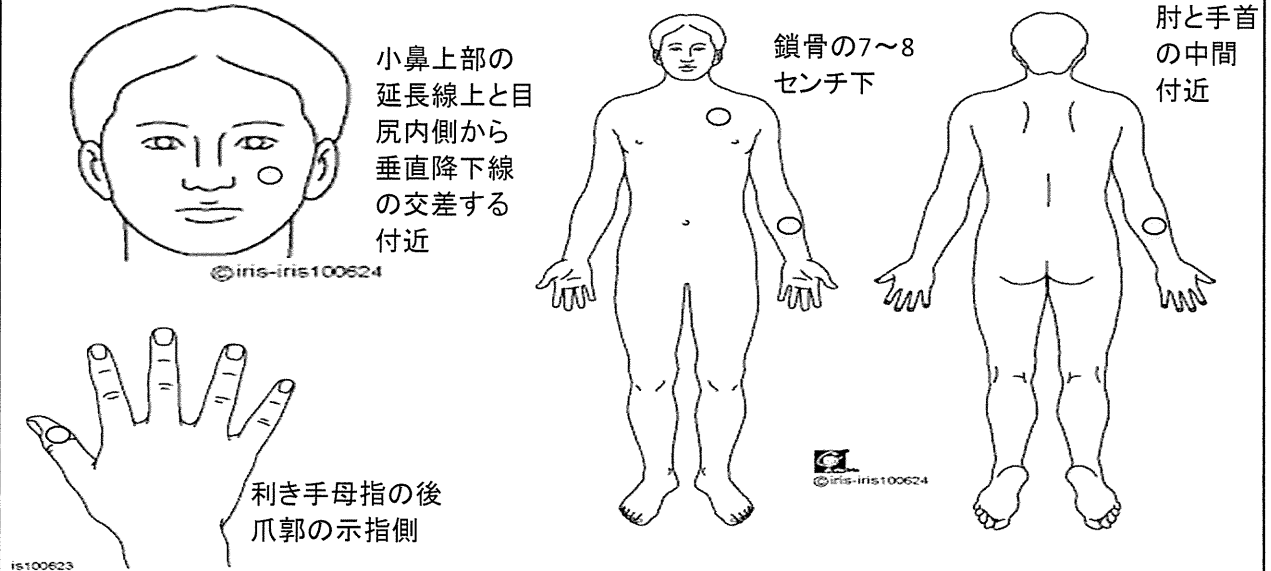
記録用紙 Case Report Form

(分子標的治療薬皮膚症状評価)

施設名	
担当医師	
性別	男・女

対象者コード		年齢		性別	男・女
診断名	セツキシマブ初回投与大腸癌またはアフアチニブ(OR エルロチニブ)初回投与非小細胞癌				
合併症	あり(疾患名:)・なし				
併用薬剤					

開始時皮膚所見、測定部位になにかあれば記入



適格基準	はい	いいえ
・(A)入院にてアフアチニブ(ジオトリフ)またはエルロチニブ(タルセバ)を初回投与される非小細胞肺癌患者あるいは(B)通院にてセツキシマブ(アービタックス)を初回投与される大腸癌患者	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
・20歳以上70歳未満	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
・パフォーマンスステータスが0~1の患者 0:まったく問題なく活動できる。発症前と同じ日常生活が制限なく行える。 1:肉体的に激しい活動は制限されるが、歩行可能で、軽作業や座っての作業は行うことができる。	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
・研究協力に書面による同意の得られた患者	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
・原疾患以外の併存疾患がある場合、投薬などにより1ヵ月以上コントロールが良好である患者	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

除外基準	はい	いいえ
・アンケートに自己で回答することが困難な患者	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
・長期の照射休止期間(年末年始等)が入ることが予測される患者	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
・アトピー性皮膚炎など皮膚機能に影響する皮膚疾患を持つ患者	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
・ステロイドや抗菌剤の全身投与など、皮膚機能に影響を与える治療を受けている患者	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
・併存疾患のコントロールが不良である患者	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
・担当医師が研究参加に不適切と判断した患者	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

アフアチニブ(ジオトリフ) またはエルロチニブ(タルセバ)

セツキシマブも同様の書式を使用

■薬剤投与量ならびに投与期間

投与量	投与開始日	投与中止日
() mg/日	年 月 日	年 月 日
() mg/日	年 月 日	年 月 日
() mg/日	年 月 日	年 月 日
() mg/日	年 月 日	年 月 日

■外用薬

薬剤名	使用部位に○をつける	開始日	中止日
()	顔 胸 腕 手指	年 月 日	年 月 日
()	顔 胸 腕 手指	年 月 日	年 月 日
()	顔 胸 腕 手指	年 月 日	年 月 日
()	顔 胸 腕 手指	年 月 日	年 月 日

■内服薬

薬剤名	1日投与量	開始日	中止日
()	mg 分1 分2 分3	年 月 日	年 月 日
()	mg 分1 分2 分3	年 月 日	年 月 日
()	mg 分1 分2 分3	年 月 日	年 月 日
()	mg 分1 分2 分3	年 月 日	年 月 日

①投与前(初回)

年月日(20 年 月 日)

■質問紙

測定者記入欄 回収
 フェイスシート
 今までのスキンケア
 Skindex 29
 ソーシャルサポート等

アファチニブORエルロチニブは全6回。
 セツキシマブは全9回。
 毎回本シートを作成する。

■NIC-CTCによる皮膚障害のグレード (評価者: _____ 医師) → 裏面へ

①瘡瘍様皮疹グレード()

Grade 1: 体表面積の<10%を占める紅色丘疹および/または膿疱で、そう痒や圧痛の有無は問わない
 Grade 2: 体表面積の10-30%を占める紅色丘疹および/または膿疱で、そう痒や圧痛の有無は問わない; 社会心理学的な影響を伴う; 身の回り以外の日常生活動作の制限
 Grade 3: 体表面積の>30%を占める紅色丘疹および/または膿疱で、そう痒や圧痛の有無は問わない; 身の回りの日常生活動作の制限; 経口抗菌薬を要する局所の重複感染
 Grade 4: 紅色丘疹および/または膿疱が体表のどの程度の面積を占めるかによらず、そう痒や圧痛の有無も問わないが、静注抗菌薬を要する広範囲の局所の二次感染を伴う; 生命を脅かす

②乾皮症()

Grade 1: 体表面積の<10%を占めるが紅斑やそう痒は伴わない
 Grade 2: 体表面積の10-30%を占め、紅斑またはそう痒を伴う; 身の回り以外の日常生活動作の制限
 Grade 3: 体表面積の>30%を占め、そう痒を伴う; 身の回りの日常生活動作の制限
 Grade 4: -

③癢痒症()

Grade 1: 軽度または限局性; 局所治療を要する
 Grade 2: 激しいまたは広範囲; 間欠性; 掻破による皮膚の変化(例: 浮腫, 丘疹形成, 擦過, 苔癬化, 滲出/痂皮); 内服治療を要する; 身の回り以外の日常生活動作の制限
 Grade 3: 激しいまたは広範囲; 常時; 身の回りの日常生活動作や睡眠の制限; 経口副腎皮質ステロイドまたは免疫抑制療法を要する
 Grade 4: -

④爪囲炎(疼痛としてグレード評価する)()

Grade 1: 軽度の疼痛
 Grade 2: 中等度の疼痛; 身の回り以外の日常生活動作の制限
 Grade 3: 高度の疼痛; 身の回りの日常生活動作の制限
 Grade 4: -

⑤その他の皮膚障害(具体的に)

Grade 1: 症状がない, または軽度の症状がある; 臨床所見または検査所見のみ; 治療を要さない
 Grade 2: 中等症; 最小限/局所的/非侵襲的治療を要する; 年齢相応の身の回り以外の日常生活動作の制限
 Grade 3: 重症または医学的に重大であるが、ただちに生命を脅かすものではない; 入院または入院期間の延長を要する; 活動不能/動作不能; 身の回りの日常生活動作の制限
 Grade 4: 生命を脅かす; 緊急の処置を要する

■皮膚計測(測定者: _____)

測定室環境(室温 _____ °C, 相対湿度 _____ %) 馴化時間(_____ 分)

ビジア 撮影後チェック(国がん、東北大のみ)

指標	測定回数	頬部(右/左)	前胸部(右/左)	前腕屈側(右/左)	前腕伸側(右/左)	母指爪郭(右/左)
メラニン	1回目					/
紅斑	1回目					
メラニン	2回目					
紅斑	2回目					
メラニン	3回目					
紅斑	3回目					
メラニン	3回の平均					
紅斑	3回の平均					
TEWL (g/m ² /h)	平均値					
キャパシタンス(a.u.)	1回目					
	2回目					
	3回目					
	3回の平均					
皮脂量	1回目					

■評価部(測定部)皮膚症状

(評価者: _____ 医師)

顔面①	乾燥	なし	軽微	軽度	中等度	重度
	紅斑	なし	軽微	軽度	中等度	重度
	丘疹	なし	軽微	軽度	中等度	重度
	膿疱	なし	軽微	軽度	中等度	重度
	腫脹	なし	軽微	軽度	中等度	重度
	他()	なし	軽微	軽度	中等度	重度
胸部②	乾燥	なし	軽微	軽度	中等度	重度
	紅斑	なし	軽微	軽度	中等度	重度
	丘疹	なし	軽微	軽度	中等度	重度
	膿疱	なし	軽微	軽度	中等度	重度
	腫脹	なし	軽微	軽度	中等度	重度
	他()	なし	軽微	軽度	中等度	重度
前腕伸側	乾燥	なし	軽微	軽度	中等度	重度
	落屑	なし	軽微	軽度	中等度	重度
	紅斑	なし	軽微	軽度	中等度	重度
	丘疹	なし	軽微	軽度	中等度	重度
	腫脹	なし	軽微	軽度	中等度	重度
	他()	なし	軽微	軽度	中等度	重度
前腕屈側	乾燥	なし	軽微	軽度	中等度	重度
	落屑	なし	軽微	軽度	中等度	重度
	紅斑	なし	軽微	軽度	中等度	重度
	丘疹	なし	軽微	軽度	中等度	重度
	腫脹	なし	軽微	軽度	中等度	重度
	他()	なし	軽微	軽度	中等度	重度
爪郭⑤	乾燥	なし	軽微	軽度	中等度	重度
	紅斑	なし	軽微	軽度	中等度	重度
	腫脹	なし	軽微	軽度	中等度	重度
	滲出	なし	軽微	軽度	中等度	重度
	肉芽形成	なし	軽微	軽度	中等度	重度
	他()	なし	軽微	軽度	中等度	重度

■有害事象

有害事象の有無

あり

なし

発現時期		程度	有害事象の症状
20 年 月 日 (試験開始 年 月 日後)		<input type="checkbox"/> 軽症 <input type="checkbox"/> 中等度 <input type="checkbox"/> 重症	
			治療の有無
			<input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし
試験への影響	転帰		原因(試験との因果関係)
<input type="checkbox"/> 試験継続 <input type="checkbox"/> 試験中止	<input type="checkbox"/> 治癒(治癒日:20 年 月 日) <input type="checkbox"/> 軽快(軽快日:20 年 月 日) <input type="checkbox"/> 不変 <input type="checkbox"/> 悪化		<input type="checkbox"/> 確実に因果関係あり <input type="checkbox"/> おそらく因果関係あり <input type="checkbox"/> 因果関係なし <input type="checkbox"/> その他()

発現時期		程度	有害事象の症状
20 年 月 日 (試験開始 年 月 日後)		<input type="checkbox"/> 軽症 <input type="checkbox"/> 中等度 <input type="checkbox"/> 重症	
			治療の有無
			<input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし
試験への影響	転帰		原因(試験との因果関係)
<input type="checkbox"/> 試験継続 <input type="checkbox"/> 試験中止	<input type="checkbox"/> 治癒(治癒日:20 年 月 日) <input type="checkbox"/> 軽快(軽快日:20 年 月 日) <input type="checkbox"/> 不変 <input type="checkbox"/> 悪化		<input type="checkbox"/> 確実に因果関係あり <input type="checkbox"/> おそらく因果関係あり <input type="checkbox"/> 因果関係なし <input type="checkbox"/> その他()

発現時期		程度	有害事象の症状
20 年 月 日 (試験開始 年 月 日後)		<input type="checkbox"/> 軽症 <input type="checkbox"/> 中等度 <input type="checkbox"/> 重症	
			治療の有無
			<input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし
試験への影響	転帰		原因(試験との因果関係)
<input type="checkbox"/> 試験継続 <input type="checkbox"/> 試験中止	<input type="checkbox"/> 治癒(治癒日:20 年 月 日) <input type="checkbox"/> 軽快(軽快日:20 年 月 日) <input type="checkbox"/> 不変 <input type="checkbox"/> 悪化		<input type="checkbox"/> 確実に因果関係あり <input type="checkbox"/> おそらく因果関係あり <input type="checkbox"/> 因果関係なし <input type="checkbox"/> その他()

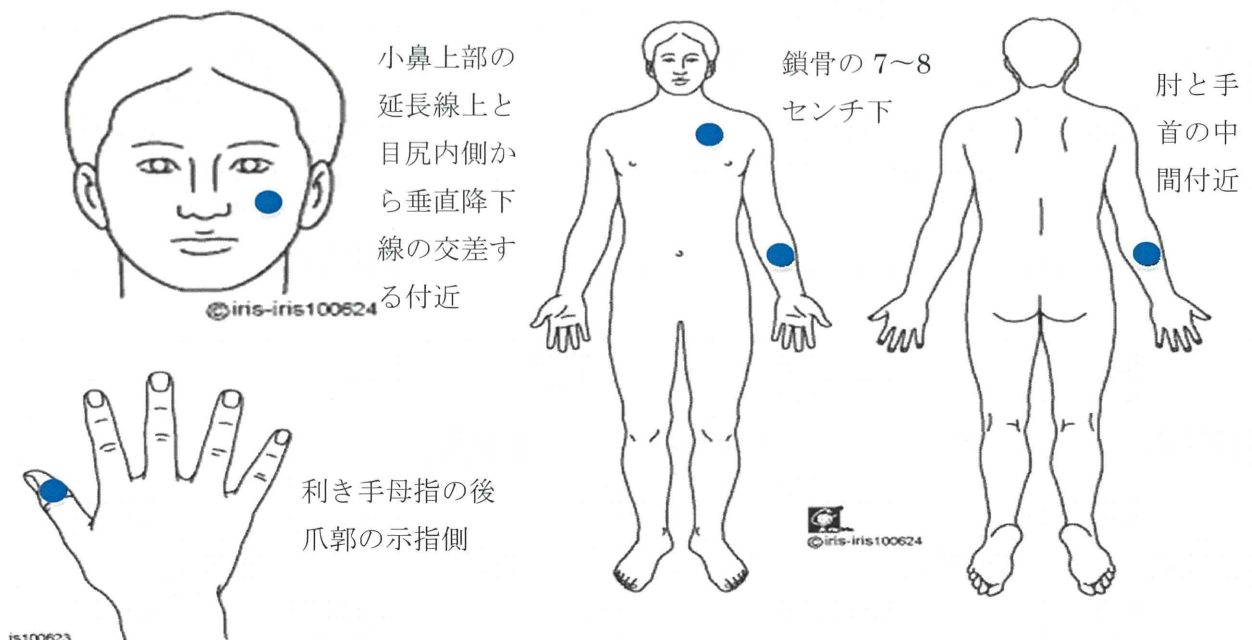
発現時期		程度	有害事象の症状
20 年 月 日 (試験開始 年 月 日後)		<input type="checkbox"/> 軽症 <input type="checkbox"/> 中等度 <input type="checkbox"/> 重症	
			治療の有無
			<input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし
試験への影響	転帰		原因(試験との因果関係)
<input type="checkbox"/> 試験継続 <input type="checkbox"/> 試験中止	<input type="checkbox"/> 治癒(治癒日:20 年 月 日) <input type="checkbox"/> 軽快(軽快日:20 年 月 日) <input type="checkbox"/> 不変 <input type="checkbox"/> 悪化		<input type="checkbox"/> 確実に因果関係あり <input type="checkbox"/> おそらく因果関係あり <input type="checkbox"/> 因果関係なし <input type="checkbox"/> その他()

測定についての注意事項

【原則】

- 1) 各測定部位、左右どちらを測定するか決める。
 - ① 頬は、小鼻上部の延長線上と目尻の内側から垂直下降線の交差点を測定する。
 - ② 胸は、鎖骨の胸骨端から垂直に7-8cm下ろした地点を測定する。
 - ③ 前腕屈側は、手首と肘の真ん中の地点を測定する。
 - ④ 前腕伸側は、手首と肘の真ん中の地点を測定する。
 - ⑤ 親指爪郭は、側爪郭と第一関節間の手掌側を測定する。

(下図参照)



- 2) 挫創や皮疹や色素沈着部分は避けて測定する。
- 3) ほくろ、シミ、体毛、血管、毛根のある箇所は避けて測定する。

【例外】

- 1) 傷がある場合は、傷から5cmは離れるように設定する。
- 2) 滲出がある場合は約2cm四方の測定範囲内で避けることが可能であれば避けて測定する。避けられない場合は、滲出がみられることを記録用紙にメモしておく。

三次元培養皮膚を用いた皮膚外表の評価系の構築

担当責任者 平川聡史 浜松医科大学医学部 皮膚科学講座

研究要旨

上皮成長因子受容体(EGFR)のシグナル伝達機能を阻害すると、皮膚には多様な変化が生じる。しかし、その病態については不明な点が多い。そこで、本研究では三次元ヒト培養皮膚モデルを用いて、外表変化を形態学的に評価した。手法は、新しい観察技術であるナノスーツ法に基づき走査型電子顕微鏡を用いた。この結果、erlotinib や gefitinib で処理した三次元ヒト培養皮膚モデルは表面が粗造に変化した。EGFR の阻害は、角化に異常を及ぼすことが示唆された。

研究協力者

針山 孝彦 浜松医科大学医学部 総合人間科学講座 生物学
高久 康春 浜松医科大学医学部 総合人間科学講座 生物学
太田 勲 浜松医科大学 実験実習機器センター 超微形態共同実験室
妹尾 千代 浜松医科大学医学部 皮膚科学講座
石井 大佑 名古屋工業大学 若手研究イノベータ養成センター

A. 研究目的

本研究の目的は、上皮成長因子受容体 (epidermal growth factor receptor, EGFR) を阻害することにより生じる皮膚障害の病態を、外表変化に基づいて形態学的及び細胞生物学的に解明することである。

EGFR に基づくシグナル伝達は、表皮角化細胞の分化を制御する。表皮角化細胞の分化異常は、角化の異常として現れることが多い。実際に、癌薬物療法で EGFR を阻害すると、患者皮膚は乾燥し、角質に変化が生じやすい。従って、本研究では EGFR 阻害による外表の変化について三次元ヒト培養皮膚モデルを用いて検討し (図 1), 形態学的及び細胞生物学的的手法により解析する。



図 1 三次元ヒト培養皮膚モデル

B. 研究方法

EGFR 阻害薬は選択性が高い一方、その作用は多岐にわたる。実際、癌薬物療法として EGFR 阻害薬を投与すると、患者皮膚には多様な有害事象が生じる。従って、分子標的薬の作用を検討するためには、従来の方法とともに新

たな評価系を構築しなければならない。

ナノスーツ法は電子顕微鏡を用いて、生きたまま組織を観察する新たな手法である。ナノスーツ法は、ショウジョウバエの幼虫を走査型電子顕微鏡で観察することにより、その有用性が確認された。ナノスーツ法は、電子線あるいはプラズマ照射により生体表面に高分子化合物の重合を促し、組織を生きたまま電子顕微鏡で観察する技術である。ナノスーツは、約 50 nm の皮膜を総称するものであり、界面活性剤などを用いて形成することが可能である。しかし、ほ乳類の細胞でナノスーツを形成し、生物学的実験に応用可能かどうか、まだ分からない点が多い。そこで今回、ヒト表皮角化細胞を用いてナノスーツ法の応用を試み、EGFR 阻害薬が皮膚に及ぼす作用を評価した。

三次元ヒト培養皮膚モデルは、再生医療の基盤になる立体培養系の1つである。このモデルは臨床応用も進んでおり、培養手法は確立している。さらに、三次元ヒト培養皮膚モデルは薬剤や化粧品が皮膚に及ぼす影響を評価する上でも極めて有用である。従って、三次元ヒト培養皮膚モデルに立脚した新しい薬剤評価系を構築することは、極めて重要である。そこで本研究では、EGFR 阻害薬が皮膚に及ぼす作用を、三次元ヒト培養皮膚モデルを用いて評価した。

1. 三次元ヒト培養皮膚モデルの構築

最初に培養ヒト線維芽細胞を播種し、間質を構築した。その後、間質組織の上面に培養ヒト表皮角化細胞を播種し、立体的に表皮を構築した。さらに、表皮の上面を空気に晒し、表皮の角化を誘導した (図 2)

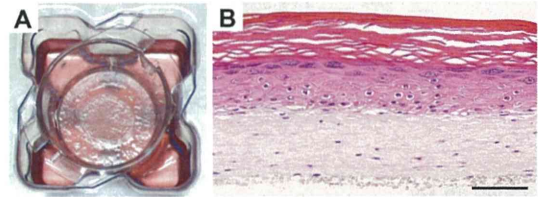


図 2 エアリフト：角化を誘導する培養手技 (A) 三次元ヒト培養皮膚モデルの底面は、培養液に接している。一方、その表面は空気に晒されている。この環境変化が表皮に角化を誘導する。(B) 三次元ヒト培養皮膚モデルのヘマトキシリンエオジン染色。表皮には分化が誘導され、顆粒層と角層が形成されている。(Hirakawa et al. *Engineered Cell Manipulation for Biomedical Application*. in press より転載)

2. 皮膚障害モデルの作成

主に切除不能な転移性肺癌に対して投与される erlotinib や gefitinib は、EGFR の自己リン酸化を阻害する低分子化合物である。そこで、本研究では三次元ヒト培養皮膚の培養液に対して erlotinib あるいは gefitinib を添加し、EGFR 阻害による皮膚障害を誘導した。薬剤の濃度は、0.1 μM から 100 μM まで検討した。対照群には Dimethyl sulfoxide を用いた。

3. ナノスーツ法による外表の評価

三次元ヒト培養皮膚モデルの表面に界面活性剤などを塗布し、その後電子線を照射してナノスーツの形成を促した。その後、試料は走査型電子顕微鏡 HITACHI S-4800 で観察した。

4. エネルギー分散型 X 線分光 (EDX) 法

EDX 法は、電子線照射により発生する特性 X 線を検出し、エネルギーで分光することにより、元素分析を行う方法であ

る。
カルシウムは、表皮の角化を制御する重要な元素の 1 つである。そこで、本研究では三次元ヒト培養皮膚モデルにおけるカルシウムイオンの分布に着目し、EDX 法に基づいて分析を行った。

5. 倫理面への配慮

培養細胞を用いた本研究から得た情報に基づき、平成 27 年度から 28 年度にわたり患者皮膚、毛髪及び爪を採取して評価することを新たに着想した。このため、浜松医科大学臨床試験倫理審査委員会に対して研究課題を申請し、平成 26 年度から 3 年間にわたり適用される承認を得た。

研究課題名：ナノスーツ法の医療応用：上皮系組織の正常構築及び病的変化の解析（研究責任者：浜松医科大学医学部総合人間科学 生物学・教授・針山孝彦）

研究分担者の平川は、学内研究組織で研究を担当することが承認されている。

C. 研究結果

1. ナノスーツ法による培養皮膚観察
三次元ヒト培養皮膚モデルについて、ナノスーツ法を用いて、走査型電子顕微鏡による表面観察を行った。この結果、対照群の表面は平滑で、皮膚が本来持つ瑞々しい構造を保持していた。一方、erlotinib あるいは gefinitib で処理した群では、三次元ヒト培養皮膚モデルの表面が粗造に変化し、角層に著明な変化が起きていた。

2. EDX 法によるカルシウムイオン分析
DMSO あるいは gefitinib で処理した

三次元培養皮膚モデルをナノスーツで皮膜化し、EDX 法を用いて分析した。この結果、対照群では組織内におけるカルシウムイオンの密度勾配を検出した。一方、gefitinib 投与群では組織内におけるカルシウムイオンの密度勾配が失われていた。この分析から、表皮の角化にはカルシウムイオンが関わり、EGFR の阻害はカルシウムイオンの密度勾配を破綻することにより角化異常をもたらすことが示唆された。

D. 考察

本研究は、EGFR を阻害することにより生じる皮膚変化を電子顕微鏡レベルで観察するモデルを確立した。ナノスーツ法は、走査型電子顕微鏡を用いて組織を生きたまま観察する技術である。本研究は、ナノスーツ法が三次元ヒト培養皮膚モデルの表面観察でも有用であることを示し、哺乳類の培養細胞でもナノスーツの皮膜が形成されることを示唆するものである。本研究では、培養ヒト皮膚角化細胞と線維芽細胞を用いて立体培養を行い、生体に近い組織を再構築した。従って、ナノスーツ法は、ヒト皮膚を観察する上でも有用な可能性がある。本知見に基づき、平成 27 年度以降、さらに生体に由来する皮膚の表面観察を行う予定である。

EGFR 阻害薬により、三次元ヒト培養皮膚モデルの表面は粗造に変化することが、ナノスーツ法で明らかになった。さらに EDX 法でカルシウムイオンの分布を分析すると、EGFR 阻害薬により、三次元ヒト培養皮膚モデルではカルシウムイオンの分布が乱れていた。従って、EGF は、カルシウムイオンの分布を制御することにより、表皮の角化を制御している可能性が

示唆される。

E. 結論

EGFR 阻害薬による皮膚有害事象は、その病態の1つに角化異常が存在する可能性がある。

F. 健康危険情報

特記事項なし。
(総括研究報告書に記載)

G. 研究発表

1. 論文発表
関連業績なし。

2. 学会発表

研究の刊行に関する一覧表(学会発表等実績)に記載

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

特願 2014-014910 申請中

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

高真空中でも気体と液体の放出を防ぐ ナノスーツ“NanoSuit[®]”による生きたままの 生物試料の高解像度電子顕微鏡観察

浜松医科大学医学部

総合人間科学講座(生物学) 教授 針山 孝彦

▶▶ 電子顕微鏡で生きたままの生物を 観察したい

現在、電子顕微鏡は生命科学の研究に不可欠な機器である。ところが、電子線が空気中を通過できないために高真空環境が必要で、生物試料が高真空中に曝されると体内のガスや液体が奪われ体積収縮し微細構造も大きく変形してしまう。そのため、生物試料に化学的処理を施し乾燥させ死んだ生物を観察しているのが従来の方法であった。

数年前に、研究グループの若いメンバーが「できるはずだ! やりましょう!」と胸を張ってくれ、初心に立ち戻って研究をスタートさせた。真空度 $10^{-5} \sim 10^{-7}$ Paの高分解能の電界放射型走査型電子顕微鏡(FE-SEM)を用いて、さまざまな生物を網羅的に高真空中でそのまま観察した。ほとんどの生物は真空環境におかれると押しつぶされたような姿で死に、表面構造は体積収縮により変形したが、粘性のある細胞外物質(ECS)を個体の最外層にもつ一部の生物(ショウジョウバエの幼虫など)では、体積収縮のない微細構造表面を観察できるだけでなく、電子顕微鏡の中で活発に動いていることを発見した(図1A~C)。これが一つ目のブレークスルーだった。

▶▶ ナノスーツの発見

その生物を同じFE-SEM内で電子線照射なしで1時間ほど放置(図1E)し、その後、電子線のスイッチを入れて観察すると体積収縮により変形し死亡していた(図1G)。生命維持されている個体の表面と、潰れてしまったその間に構造的な違いがあるか観察するため、個体の最外層

の超薄切断面を作成し透過型電子顕微鏡(TEM)で観察した。電子線照射による観察後の表面には50~100nmの薄膜が形成されていた(図1D)が、電子線照射なしで1時間放置した個体では最外層の薄膜は観察されなかった(図1H)。ECSの電子線重合¹⁾を予想してこの実験を行ったわけだが、これが二つ目のブレークスルーとなった。重合膜が生命維持に関わっているのであれば、電子線照射と同じように高分子重合を促進するプラズマ照射でも同様の結果が期待されるはずである。ショウジョウバエ幼虫にプラズマ照射して同様の実験操作を行うと電子線照射の場合と同じようにFE-SEM内で動いている様子が観察され、また電子線を用いた観察をしないで同じ高真空下のFE-SEMの試料室内に曝しただけの個体も1時間近く形態が維持されたまま生存していた。TEM観察したところ、プラズマ処理個体の表面にも薄膜が形成されていた。この膜がFE-SEMが必要とする $10^{-5} \sim 10^{-7}$ Paの高真空中でも生命を守っている、ほぼ同じ真空度の世界でもヒトの命を守る宇宙服をイメージして、その薄さから「NanoSuit[®]」と名付けた²⁾。

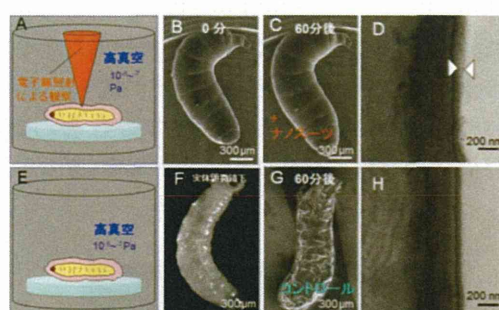


図1 ナノスーツ処理したショウジョウバエ幼虫の(ウジ)の電子顕微鏡画像

▶▶ ナノスーツの発明

次に、幼虫のECSの成分の物質に類似した高分子を選定し、ECSをもたない生物に対して同等の機能発現を試みた。ECSは非常に多くの分子を含んでおり、類似物質としてどの分子を選べば良いのか難しい課題となったが、若き共同研究者が界面活性剤の効果の可能性を気づいた。これが、本研究における三つ目の大きなブレイクスルーである。生体適合性という観点から、Polysorbate 20 (Tween20)を選出した。ボウフラを直接FE-SEM観察するとショウジョウバエの幼虫とは異なり、体積収縮による変形が起り数分の間に扁平になってしまう(図2A)が、1% Tween20をごく薄く塗布し濾紙などの上に置いて余分な溶液を除いた後、プラズマ処理すると、高真空中でも体積収縮がなく微細構造が観察できた(図2B,C)。ボウフラは微細構造観察時にも活発に活動しており、観察後に飼育水に戻すと、蚊に成長した。観察後のボウフラ断面のTEM観察を行うと、最外層に50~100nmの薄膜が形成されていた。

▶▶ 従来法とナノスーツ法の比較と観察対象の広がり

生物試料を化学固定した後、形をできるだけ維持する乾燥法により試料内部の液体成分を除去したのち、試料表面に金やオスmiumなどでコーティングをして観察していたものが従来法と呼ばれる実験方法である。この方法で注意深く作業を行っても体内に水分が多い材料では変形をなかなか防ぐことができない。高倍で観察すると未処理に比べて変形が少ないものの、ナノスーツ法に比べて多くのしわが観察され、従来法では微細構造の大きな変化があることがわかった。これまで用いてきた動物だけでなく、別の生物にも本技術が適用できるかどうか調べた。五界説で分けられる生物のほとんどのもので生命維持し動的な観察を続けることができ、汎用性があることが確認できた³⁾。

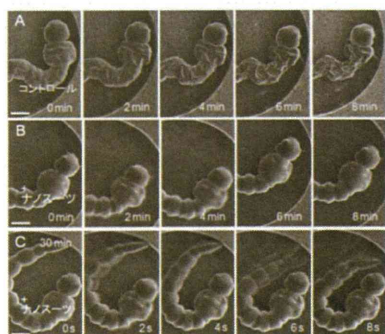


図2 ナノスーツ処理した蚊の幼虫の(ボウフラ)の電子顕微鏡画像

▶▶ これからの展開

これらの技術によって、簡便に生きたままの生物を電子顕微鏡観察でき新たな生命研究展開がスタートした責務を感じている。本報告はNanoSuit®法の初期の段階のFE-SEMでの動物の観察にとどめたが、FE-SEMでの組織や細胞などの観察も一部可能になりつつある。近い将来、この技術が人工的なWet materialの観察や医療上の診断技術にも広がることを目指し、とくに浜松医科大学発の研究として大きく発展させ世界に発信していきたいと考えている。

▶▶ 参考文献

- 1) Sun KH (1954) Effects of atomic radiation on high polymers. *Modern Plastics* 32(1):141-238.
- 2) Takaku Y, Suzuki H, Ohta I, Ishii D, Muranaka Y, Shimomura M, Hariyama T (2013) A thin polymer membrane, nano-suit, enhancing survival across the continuum between air and high vacuum. *PNAS*, 110(19): 7631-7635.
- 3) Ohta I, Takaku Y, Suzuki H, Ishii D, Muranaka Y, Shimomura M, Hariyama T (2014) Dressing living organisms in a thin polymer membrane, the NanoSuit, for high-vacuum FE-SEM observation. *Microscopy* 2014 63(4): 295-300

動画などを見ることができるサイト

- <http://www.pnas.org/content/110/19/7631>
- <http://www.jst.go.jp/pr/announce/20130416/>

▶▶ 謝辞

本研究は、高久、鈴木、太田、石井、村中、下村 各氏との異分野連携の結果達成できたものです。また、研究推進を加速してくださったJST・CREST関係者、および新学術領域「生物多様性を規範とする革新的材料技術」の皆様へ感謝申し上げます。