

## 自主臨床研究課題名

「札幌医大肺がん組織アレイの作製」

## 研究組織

研究機関名：札幌医科大学フロンティア医学研究所分子医学部門

研究責任者：佐久間 裕司（同 准教授）

研究分担者：高橋 弘毅（札幌医科大学呼吸器・アレルギー内科学講座 教授）

長谷川 匡（札幌医科大学病理診断学 教授）

渡邊 敦（札幌医科大学呼吸器外科 教授）

山田 玄（札幌医科大学呼吸器・アレルギー内科学講座 准教授）

電話番号：011-611-2111（内線 2610）

## 作成日

2014年5月2日 計画書案 第1版作成

## 研究実施計画書

課題名 札幌医大肺がん組織アレイの作製

### 1. 研究の背景

進行または再発非小細胞肺がんの治療は、それまで抗がん剤による化学療法が中心であったが、近年の分子標的治療の導入により著しい進歩を認めている。すなわち、特定の遺伝子異常が確認された症例においては、対応する分子標的薬を投与することで一定の奏功率を期待できるようになった。しかし、分子標的治療の奏功例も1年前後で治療抵抗性（耐性）を獲得することが経験され、臨床上の重要な問題のひとつとなっている。現時点では薬物療法のみで肺がんを根治させることは難しいと考えられ、より効果的な診断法・治療法の確立が求められている。本研究は、今後の肺がん研究の基盤となりうる肺がん組織アレイの構築を目標として計画された。

### 2. 研究の目的

肺がんには主要なものだけでも腺がん、扁平上皮がん、小細胞がん、大細胞がんなどの多彩な臨床像・病理組織像を示す亜型が含まれている。さらに近年では同じ腺がんも病理分類されるものにも組織発生、臨床像などを全く異にする多数の亜型が含まれていることが明らかにされている。肺がんの主要なdriver mutationであり治療法の選択にも関わるEGFRおよびKras遺伝子変異とEML4-ALK融合遺伝子の有無を肺がん組織で検索しておくことは、臨床的あるいは基礎的研究を行う上では必須であり、診療上も有益である。そこで本研究では（1）原発性肺がんとして診断された約300症例を対象に臨床データ（術後の生存データまで含める）、病理診断データおよび上記の主要な遺伝子異常の有無を記録した札幌医大肺がんデータベースを構築することを目指す。さらに本学から発信する肺がん研究を促進するため（2）データベースに含まれた症例については、ホルマリン固定パラフィン包埋された肺がん組織ブロック（附属病院病理部に保管されている）から正常部1箇所、腫瘍部2-3箇所の組織（径1mm）を削り貫き、配列させた組織アレイも併せて作製することを目標とする。

### 3. 研究対象者

本研究では、2005年1月から2008年12月に当院で根治切除され原発性肺がんとして診断された約300症例を対象とする。この時期に手術された患者を対象とすることにより、研究上、重要性の高い生存情報（術後再発の有無や全生存期間）についても信頼性の高いデータが入手可能である。

## 4. 研究方法

4-1：対象となる患者をリストアップし、病理組織診断を含む患者の診療情報を収集しデータベース化する。個人の特定に至らないよう患者名・患者 ID を連結可能匿名化する。

4-2：研究代表者が肺がん組織の病理標本を再評価し、各患者につき代表的切片 1 枚（1 枚にがん部と非がん部を含む）を選択する。その後、同部のホルマリン固定パラフィン包埋ブロックから 3  $\mu$ m 厚の未染標本を 3 枚作製し、1 枚を HE (hematoxylin and eosin) 染色を行う。がん細胞を密に含む領域を研究代表者が HE 標本上同定し、未染標本の同部から DNA を抽出する。最初に最も変異頻度の高い *EGFR* 遺伝子の hot spot (exon 19, 21) 変異の有無を loop-hybrid mobility shift assay (LH-MSA; 神奈川県立がんセンターで開発され、実際に使用されている高感度な PCR ベースの変異検出法) で検索する。次いで *EGFR* 変異が陰性だった腫瘍に関しては *Kras* 遺伝子の hot spot (codon 12, 13) 変異の有無も LH-MSA で検索する。最後に *EGFR*, *Kras* 変異ともに陰性だった症例には ALK 免疫染色を施行し ALK 陽性肺がん (ALK 融合遺伝子陽性とほぼ同義) を抽出する。

4-3：各症例の代表的切片 (HE 標本) に非腫瘍部 1 箇所、腫瘍部 2-3 箇所をマーキングする。印を付けた場所に相当する組織 (径 1 mm) を、組織アレイ作製装置を用いてパラフィンブロックから削り貫き、組織アレイを作製する。同一症例からなる組織アレイブロックを 3 個作成し、長期間使用できるようにする。組織アレイ上の組織の位置情報と、匿名化番号の対応表も作成する。

## 5. 情報公開文書

本研究は、2005 年 1 月から 2008 年 12 月に当院呼吸器外科 (旧 第二外科) で手術され、病理部で保存している肺がん組織のホルマリン固定パラフィン包埋ブロックを対象とする後ろ向き研究であるため、情報公開文書を作成し当院やホームページ上で公開し周知する。

## 6. 解析予定症例数

既述のように約 300 症例からなる archive 構築を目指す。他施設の報告も踏まえると腺がん：~60%、扁平上皮がん：~20%、その他：~20%程度からなると推定される。この規模のデータベースを構築しておくことにより、我々自身あるいは他の研究グループが報告した新規治療標的分子等がどの程度の症例に発現しているのか、更にはその分子発現群が肺がんのなかで新たな subgroup を形成するかなどを早急に日本人の肺がん症例で検索することが可能となる。本研究では、今後の肺がん研究の基盤となりうる肺がんデータベースの構築と組織アレイの作製を目指しており、統計学的解析を行う予定はない。

## 7. 研究予定期間

病院長承認日より 2016 年 3 月 31 日までに組織アレイを作製する予定である。本研究で作製された組織アレイを使用する今後の研究については特に期間を限定しないが、その都度、研究内容について臨床研究審査委員会でご審議をいただく。

## 8. 臨床研究審査について

この研究を行うにあたっては、「ヘルシンキ宣言（2008 年改定）」「臨床研究に関する臨床研究審査指針（平成 15 年 7 月 30 日施行）（平成 20 年 7 月 31 日全部改正）」を遵守する。またこの研究は、本院の臨床研究審査委員会承認され、病院長の承認を受けた後に開始する。この研究の実施計画書、情報公開文書、研究責任者もしくは分担者に変更が生じた場合は、本院の臨床研究審査委員会、病院長に届け出、承認を受ける。自主臨床研究実施状況報告書により年に 1 回、病院長に研究の進捗状況を報告する。

## 9. 個人情報の保護の方法

研究責任者と研究分担者が、提供された試料や診療情報から個人を特定できる情報（住所、氏名、生年月日など）を取り除き、新たに符号を付す。個人を特定できる情報と符号との関係に対応させた記録は厳重に保存管理する。治療選択上の必要が生じた場合は、遺伝子変異解析の結果を被験者または代諾者に説明することも可能とする。その場合には、研究責任者または研究分担者が符号化された情報を元に戻す操作を行う。

## 10. 患者の費用負担

この研究に参加することによる患者の費用負担は生じない。

## 11. 健康被害の補償

既に手術で切除された肺がん組織を解析対象とする後ろ向き観察研究であり、健康被害は生じない。

## 12. 研究に関する資料の利用方法と廃棄方法およびその匿名化の方法

本研究で収集された診療情報や遺伝子変異解析情報および作製された組織アレイはフロンティア医学研究所分子医学部門で厳重に保存する。腫瘍組織が組織アレイに収載された患者の診療情報等は連結可能匿名化した状態で管理し研究に供する。また組織アレイは原則的に薄切により使い切り、使用不可能となるまで研究に使用する。残余検体を破棄する必要がある際には、匿名のまま廃棄する。

### 13. 研究成果の公表

研究成果を公表する場合は、研究対象者を特定できないようにした上で、学会や学術雑誌等で公表する。

### 14. 研究資金および利益相反

フロンティア医学研究所分子医学部門の教育研究費や研究代表者の科学研究費補助金で研究を遂行する。この研究についての利益相反はない。