



WJOG12219LTR

**がん幹細胞系マーカー及び Tumor mutation burden と術後再発の
関連性を評価する後ろ向き観察研究 実施計画書**

A retrospective evaluation of stem cell marker and tumor mutation burden as a
potential risk factor for surgical recurrence

【WJOG 理事長】

中川 和彦 近畿大学医学部腫瘍内科

【呼吸器委員会 委員長】

山本 信之 和歌山県立医科大学呼吸器・腫瘍内科

【TR-BB 委員会 委員長】

西尾 和人

近畿大学医学部ゲノム生物学

〒589-0014 大阪府大阪狭山市大野東 377-2

Tel: 072-366-0221 FAX: 072-367-6369

【研究代表者】

武田 真幸

近畿大学医学部腫瘍内科

〒589-0014 大阪府大阪狭山市大野東 377-2

Tel: 072-366-0221 FAX: 072-360-5000

e-mail: takeda_m@med.kindai.ac.jp

【研究事務局】

金村 宙昌

近畿大学医学部腫瘍内科

〒589-0014 大阪府大阪狭山市大野東 377-2

Tel: 072-366-0221 FAX: 072-360-5000

e-mail: hiroaki.kanemura@med.kindai.ac.jp

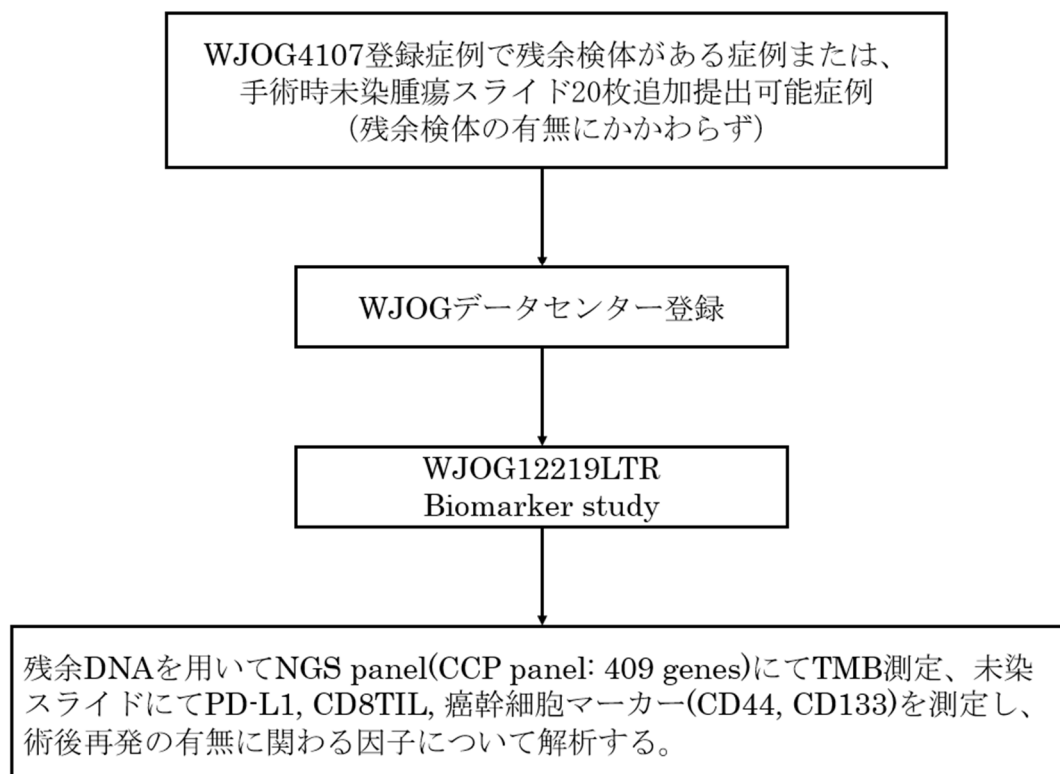
2021年1月11日 常任理事会承認(Ver.1.10)

(実施計画書改訂履歴は最終頁に記載)

UMIN ID : UMIN000040851

0. 概要

0.1. シェーマ



0.2. 目的

「非小細胞肺癌術後アジュバント治療における TS-1 vs CDDP+TS-1 の無作為化第 II 相臨床試験」(WJOG4107) に於ける余剰サンプルを用い次世代シーケンサーによる Tumor mutation burden(TMB)測定及び、PD-L1、癌幹細胞マーカーを測定し、Relapse-free survival (RFS) (術後再発有無) との関連性を検討する。

- ・ 主要評価項目

- 無再発生存期間と各バイオマーカーの関連性

- ・ 副次的評価項目

- 全生存期間と各バイオマーカーの関連性
 - 各バイオマーカーと臨床背景因子との関連性
 - 各バイオマーカー間の関連性

0.3. 対象

WJOG4107 に登録された症例のうち、残余検体サンプルがある症例または、余剰未染

スライドが提出可能な症例

0.4. 予定登録数と研究期間

NGS 解析に耐えうる余剰 DNA 検体が近畿大学医学部ゲノム生物学教室に保管されている症例(必須)及び、オプションとして免疫組織染色目的に追加未染スライド 20 枚を提出可能な症例(任意)。

登録期間：2020 年 8 月 3 日～2021 年 12 月 31 日

研究期間：2020 年 8 月 3 日～2023 年 12 月 31 日

0.5. 測定方法

- 1) 体細胞変異解析：次世代シーケンサ
- 2) 幹細胞系マーカー (CD44, CD133)、PD-L1、CD8 TIL：免疫組織染色

0.6. 予想される成果および予測される危険や不利益

0.6.1. 予想される成果

次世代シーケンサーを用いた体細胞遺伝子変異解析、幹細胞系マーカー、PD-L1/CD8 TIL 検査により、薬剤感受性や術後再発と関連する新たなバイオマーカーが見出されること、臨床情報の付随した体細胞遺伝子変異のデータ蓄積により将来の最適化医療に大きく貢献することが期待される。

0.6.2. 予想される危険や不利益

本研究で用いられる検体は、WJOG4107 において集積済みの余剰検体を用い、また免疫組織検査用の追加組織は手術時の組織を利用するため、検体採取による侵襲性を有さず、患者に対して最小限の危険を超える危険を含まないと考えられる。本研究は、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」を遵守し、個人情報には三省合同「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に基づき匿名化され厳重に管理する。対象患者の安全と人権を損なわないよう実施されることから、患者の人権・プライバシーに関する危険、不利益は極めて小さい。

0.7. 試験運営費用

研究代表者が獲得した民間助成金(肺癌学会研究助成金、武田科学振興財団助成金)及び近畿大学腫瘍内科講座研究費、近畿大学ゲノム生物学教室講座研究費を解析費用に充てる。

目次

0. 概要	2
0.1. シェーマ	2
0.2. 目的	2
0.3. 対象	2
0.4. 予定登録数と研究期間	3
0.5. 測定方法	3
0.6. 予想される成果および予測される危険や不利益	3
0.7. 試験運営費用	3
1 目的	7
2 背景と研究計画の根拠	7
2.1 元研究の概要と結果の要約	7
2.2 本追加研究の背景	8
2.3 研究デザイン	9
2.4 対象	10
2.5 研究参加に伴って予想される利益と不利益の要約	10
2.6 予定登録数と研究期間	10
3. 対象症例の選択	10
3.1 適格基準	10
3.2 除外基準	10
4. 症例登録	11
4.1. 登録手順	11
4.2. 登録に関する連絡先	11
5. 調査項目・臨床情報	12
5.1. 患者基本情報	12
5.2. 術後補助化学療法治療内容	12
5.3. 生存情報	12
5.4. 後治療	12
6. 研究の方法	12
6.1 試料と情報の種類	12
6.2 測定項目	12
7. 統計的事項	13
7.1. 解析対象集団	13
7.2. データの取扱い	13
7.3. 統計解析手法	14
8. 検体	15

8.1	腫瘍組織検体の処理と送付	15
8.2	送付に関する問い合わせ先	15
8.3	データの廃棄	15
9.	予測される患者に対する危険や不利益	15
10.	倫理的事項	16
10.1	遵守すべき諸規則	16
10.2	患者のプライバシーの保護	16
10.3	同意の取得	16
10.4	研究実施機関の承認	16
10.5	施設の承認の年次更新	16
11.	利益相反（COI）の管理について	16
12.	モニタリングと監査	16
12.1	モニタリング	16
12.2	監査	17
13.	試験の品質管理および品質保証	17
13.1	データの品質管理	17
13.2	データの品質保証	17
13.3	記録の閲覧	17
14.	データの取り扱いおよび記録の保存	17
15.	研究費	17
16.	知的財産権について	18
17.	結果の公表について	18
18.	研究機関の長への報告内容及び方法	18
19.	研究実施に関する変更、中止ならびに終了	18
19.1	研究実施計画書の改訂	18
19.2	メモランダム	18
19.3	試験実施中止および中断	18
19.4	研究終了	19
19.5	研究終了の報告	19
19.6	研究対象者等及びその関係者からの相談等への対応	19
20.	研究結果の公表と成果の帰属	19
20.1	結果の公表	19
20.2	最終総括報告	19
20.3	データの提供	19
20.4	データの二次利用	19
20.5	知的財産権	20

20.6	研究計画の事前登録	20
21.	研究実施体制	20
21.1	研究運営機関	20
21.2	研究依頼者	20
21.3	研究代表者	20
21.4	研究事務局	20
21.5	研究分担者	21
21.6	統計解析責任者	21
21.7	プロトコール評価責任者	21
21.8	委託測定機関	21
21.9	WJOG データセンター	21
21.10	施設監査責任者	22
21.11	安全性評価責任者	22
21.12	実施施設および施設代表医師名	22
22.	文献	22
23.	実施計画書改訂履歴	24

1 目的

「非小細胞肺癌術後アジュバント治療における TS1 vs CDDP+TS1 の無作為化第 II 相臨床試験」(WJOG4107) に於ける余剰サンプルを用い次世代シーケンサーによる Tumor mutation burden(TMB)測定及び、PD-L1、癌幹細胞マーカーを測定し、RFS (術後再発有無) との関連性を検討する。

- ・主な検討項目：切除可能非小細胞肺癌 II-III A 期における TMB、腫瘍細胞における PD-L1・CD44・CD133 発現、腫瘍浸潤リンパ球における CD8 発現と無再発生存期間との関連

- ・そのほかの主な検討項目

全生存期間と TMB, 腫瘍細胞における PD-L1・CD44・CD133 発現、腫瘍浸潤リンパ球における CD8 発現の関連性

TMB, 腫瘍細胞における PD-L1・CD44・CD133 発現、腫瘍浸潤リンパ球における CD8 発現と臨床背景因子との関連性

TMB, 腫瘍細胞における PD-L1・CD44・CD133 発現、腫瘍浸潤リンパ球における CD8 発現との相互の関連性

2 背景と研究計画の根拠

2.1 元研究の概要と結果の要約

非小細胞肺癌切除症例における術後成績は満足できるものではなく、術後再発例の多くが遠隔転移であるため、有効な術後補助化学療法の確立が必要である。根治切除後の 1 期非小細胞肺癌に対する CDDP ベースによる術後補助化学療法のランダム化試験の結果、外科手術 + 術後補助化学療法群で経過観察群に比べ死亡リスクが有意に低下し、切除可能 Stage I / II NSCLC に対しては完全切除後に術後補助化学療法として CDDP ベースの化学療法を行うことが標準治療となっている¹⁾²⁾。しかし、非小細胞肺癌に対して、完全切除後の術後補助化学療法の全生存期間延長に及ぼす恩恵はわずかであり、5 年生存率においては約 5% の改善効果にとどまっており、約 5-7 割の症例は完全切除後再発を認める。

TS-1 は 5-FU のプロドラッグであるテガフルに、ギメラシル、およびオテラシルカリウム (5-FU のリン酸化酵素の可逆的阻害剤：消化器毒性を抑制) を配合することにより、血中 5-FU 濃度を高めて抗腫瘍効果を増強させ、かつ消化器毒性の軽減を目的として開発された経口抗悪性腫瘍剤である。進行頭頸部がん及び胃がんの経験から TS-1 は安全に長期投与することが可能であることが示されており、非小細胞肺癌術後アジュバント治療として行った場合にプラチナ製剤との併用療法に匹敵する効果を期待できるかを検討する目的で「非小細胞肺癌術後アジュバント治療における TS-1 vs CDDP+TS-1 の無作為化第 II 相臨床試験」(WJOG4107) が立案された。主要評価項目として、2 年無再発生存期間 (relapse-free survival) が設定され、結果は、TS-1 群 65.6%、CDDP+TS-1 群 58.1%

3)と、術後補助化学療法として TS-1 療法がシスプラチン併用療法の代用可能なオプションであることが示唆された。

2.2 本追加研究の背景

WJOG4107 試験より、2 年無再発生存期間 (relapse-free survival: RFS) は TS-1 群 65.6%、CDDP+TS-1 群 58.1%³⁾と約 4 割の症例が再発しており、再発規定因子の検討が喫緊の課題である。近年、腫瘍細胞において、正常組織の幹細胞と同様、自己複製能と多分化能を發揮する癌幹細胞 (cancer stem cell) がわかってきており、癌幹細胞はさまざまなストレスに対して抵抗性を持ち、抗癌剤治療や放射線治療に抵抗性であるとされている。

CD44、CD133 などが癌幹細胞の細胞表面マーカーとして報告されている。CD44 はヒアルロン酸を主なリガンドとする接着分子であり、細胞接着、細胞運動、上皮間葉転換、癌細胞の増殖能・浸潤・転移への関与など様々なシグナル伝達に働くと言われている⁴⁾。ヒアルロン酸との相互作用でシスプラチン抵抗性を誘導するという報告もあり⁵⁾、非小細胞肺癌の予後不良、術後再発、リンパ節転移に関わるとされている^{6) 7)}。CD133 も様々な固形癌の癌幹細胞マーカーとして知られており⁸⁾、非小細胞肺癌ではシスプラチン抵抗性⁹⁾、リンパ節転移に関連し、予後不良因子とされている¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾。また低酸素によって CD133 の発現が誘導されると言われている¹³⁾。

術後補助化学療法を受けた症例を含む切除可能非小細胞肺癌において腫瘍細胞の PD-L1 発現を評価した報告は多く存在し、PD-L1 発現が高い場合には生存期間が短いなど予後不良因子とされている¹⁴⁾¹⁵⁾。しかし Tumor mutation burden (TMB) に関しては報告が少なく、TMB が切除可能非小細胞肺癌において予後因子としてどのように関連するのか一致した見解は得られていない¹⁶⁾¹⁷⁾。

CD44、CD133 を発現している集団がシスプラチンによる術後再発化学療法に抵抗性であることが明らかになりつつあり、追加での治療検討が必要である。免疫チェックポイント阻害剤は術後アジュバントの治療が複数実施されており、結果次第では、今後術後補助化学療法の標準治療の一つになりえる可能性がある。CD44 と上皮間葉転換 (Epithelial to Mesenchymal Transition: EMT) で発現する上皮接着分子である E-cadherin などは関連しており、CD44 が EMT の誘導に関わっているという報告もある¹⁸⁾¹⁹⁾。EMT を誘導する転写因子である zinc-finger E-box-binding homebox1 (ZEB1) が PD-L1 阻害作用を有する micro-RNA である miR-200 を抑制することで、PD-L1 発現を誘導することがヒト肺癌細胞株において報告されている²⁰⁾²¹⁾。CD44、CD133 などの癌幹細胞マーカーが発現している集団では、PD-L1 発現が高く免疫チェックポイント阻害薬の有効性が高い可能性がある。これらの背景から CD44、CD133 などの癌幹細胞マーカーと TMB、PD-L1/CD8 発現などの免疫関連分子の関連性を調べることで、従来のプラチナ化学療法による術後アジュバント療法抵抗性の集団に対して免疫チェックポイント阻害薬が有効な治療選択となるかどうかを検討することができる。

今回、WJGO4107 試験に於いて、シスプラチンベース、非プラチナベースの補助化学療法実施症例に対して、がん遺伝子パネル(下記記載)及び免疫チェックポイント機構・癌幹細胞に關与するタンパク発現を評価し、術後補助化学療法の治療選択の指針となりうるバイオマーカーを同定することを目的とする。本研究により肺癌の体細胞変異、タンパク発現を探索、検証することを通して、術後再発を關連性のある、肺癌の分子特性に關する知見を得ることは、次治療開発にも寄与すると考えられる。

2.3 研究デザイン

2.3.1 本試験の臨床的仮説とデザイン設定

上述のように CD44, CD133, PD-L1 は予後と負の關連があることが報告されている。CD44, CD133 を発現したプラチナ化学療法抵抗性とされる集団においては追加での治療検討が必要である。同集団において PD-L1 高発現、CD8 陽性腫瘍細胞リンパ球が高値であれば免疫チェックポイント阻害薬の効果が期待でき、さらに TMB の高低が治療効果に影響を与える可能性がある。本研究は非小細胞肺癌 II-III A 期の組織検体、DNA 検体を用いて癌幹細胞マーカー、免疫關連分子と臨床的背景や疾患予後との相関を検討する後方視的研究である。

2.3.2 検討項目の設定根拠

- ・主な検討項目：切除可能非小細胞肺癌 II-III A 期における TMB、腫瘍細胞における PD-L1・CD44・CD133 発現、腫瘍浸潤リンパ球における CD8 発現と無再発生存期間との關連

- ・そのほかの主な検討項目

全生存期間と TMB, 腫瘍細胞における PD-L1・CD44・CD133 発現、腫瘍浸潤リンパ球における CD8 発現の關連性

2年 RFS と TMB, 腫瘍細胞における PD-L1・CD44・CD133 発現、腫瘍浸潤リンパ球における CD8 発現の關連性

TMB, 腫瘍細胞における PD-L1・CD44・CD133 発現、腫瘍浸潤リンパ球における CD8 発現と臨床背景因子との關連性

TMB, 腫瘍細胞における PD-L1・CD44・CD133 発現、腫瘍浸潤リンパ球における CD8 発現との相互の關連性

CD44, CD133 などの癌幹細胞マーカーと TMB, PD-L1/CD8 発現などの免疫關連分子と關連性は不明であり、各バイオマーカーで分類された集団と術後化学療法の有効性、臨床背景因子との關連また術後補助化学療法の安全性・忍容性との關連は不明である。このため本研究では検討すべき項目として以下のように設定する。

切除可能病期非小細胞肺癌の疾患予後は全生存期間および無再発生存期間を用いて評価

されることが一般的である。このため本研究でもこれらの項目を疾患予後の指標として使用する。術後補助化学療法の有効性の指標としても全生存期間、無再発生存期間を用いる。安全性、忍容性の指標として有害事象、重篤な有害事象、死亡及び臨床検査異常を用いる。臨床背景因子の検討には組織型、病期、年齢、性別、PS、喫煙歴を用いる。

2.3.3 登録数設定根拠

本後方視的研究はバイオマーカーと無再発生存期間・全生存期間との関連を検討する探索的研究であり、WJOG4107 試験への参加の同意が得られた被験者 200 例が対象となる。そのため、推定精度を高めるために、使用可能な残余・保管検体を有する症例から可能な限りの登録を行うものとする。統計的仮説検定に基づく症例数設計は行わない。

2.4 対象

「3.1 対象」を参照のこと

2.5 研究参加に伴って予想される利益と不利益の要約

本研究は WJOG4107 試験に登録され、組織検体もしくは余剰 DNA 検体を使用可能な症例を対象とした後方視的研究である。また、解析に用いる組織検体、DNA 検体は既に採取・提出済の残余検体を使用するため、本研究による身体的侵襲はない。

2.6 予定登録数と研究期間

WJOG4107 試験への参加の同意が得られた被験者のうち、使用可能な残余・保管検体を有する症例から可能な限りの登録を行うものとする。

登録期間：2020 年 8 月 3 日～2021 年 12 月 31 日

研究期間：2020 年 8 月 3 日～2023 年 12 月 31 日

3. 対象症例の選択

3.1 適格基準

WJOG4107 に登録され、NGS 解析に耐えうる余剰 DNA 検体が近畿大学医学部ゲノム生物学教室に保管されている症例(必須)及び、オプションとして免疫組織染色目的に手術時の未染スライド 20 枚を提出可能な症例(任意)。

3.2 除外基準

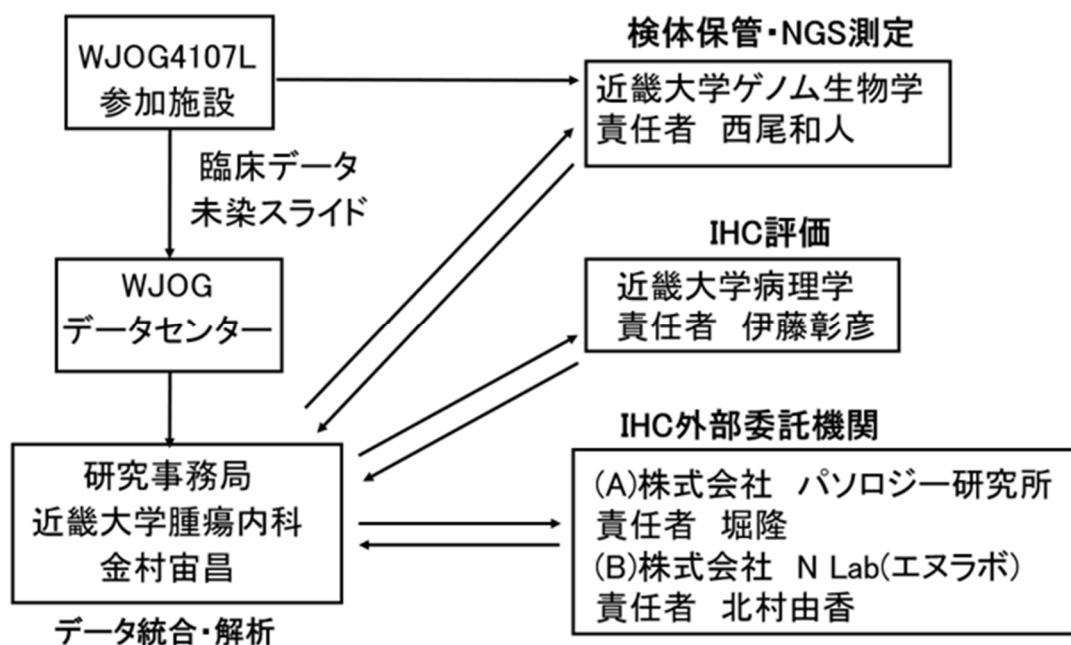
特に設定しない

4. 症例登録

4.1. 登録手順

1. 各施設は WJOG データセンターへ試験実施計画書が施設審査機関に承認されたことを示す文書を FAX もしくは PDF を E-mail で送付し通知する。
2. WJOG データセンターは、検体保管施設に保管管理されている当該施設の検体登録番号（WJOG4107 における検体登録番号）を参加施設へ通知する。
3. 参加施設は、施設審査機関での規定に従い、FAX にて利用可能な症例の検体登録番号を WJOG データセンターへ送付し登録する。
4. WJOG データセンターは、研究事務局、測定機関へ利用可能な症例の検体登録番号を通知する。

研究のフローチャート



4.2. 登録に関する連絡先

WJOG データセンター

TEL : 06-6633-7400

FAX : 06-6633-7405

E-mail : datacenter@wjog.jp

受付時間：月～金、9時～17時（祝祭日、年末年始 12/29-1/3 を除く）

5. 調査項目・臨床情報

5.1. 患者基本情報

以下の情報は WJOG4107 試験のデータを利用する。

生年月日 / 年齢、性別、ECOG performance status (PS)、組織型、原疾患に対する手術歴（治療内容、最終手術日）、喫煙歴（年数、本数）、TNM 分類、術後病理病期、臨床検査値

5.2. 術後補助化学療法治療内容

以下の情報は WJOG4107 試験のデータを利用する。

レジメン、開始時の ECOG PS、WJOG4107 試験登録日・治療開始日、投与サイクル数、最終投与日、PD 確認日、治療中止日、治療中止理由 (PD、毒性中止、その他の内容)、有害事象、術後補助化学療法期間の臨床検査値

5.3. 生存情報

生存情報は WJOG4107 試験のデータを使用する。

5.4. 後治療

以下の情報は WJOG4107 試験のデータを使用する。

後治療の有無、後治療の内容

6. 研究の方法

6.1 試料と情報の種類

試料として、WJOG4107 で収集された測定、解析後の残余検体で、同意を得て WJOG-BBC(近畿大学ライフサイエンス研究所ゲノムセンター内)に保管されている DNA サンプルを用いる。また手術検体から免疫組織染色用未染スライド 20 枚を提出可能な症例については、オプアウトまたは各患者からの同意取得にて提出し、解析に供する。解析に必要な臨床情報として、WJOG4107 登録時に収集した性別、年齢、喫煙歴、組織型、術後病理病期、PS(ECOG)等の情報を用いる。

6.2 測定項目

試料は下記の測定に供する。

・次世代シーケンサーによる体細胞遺伝子変異測定（必須）

WJOG4107 に登録された症例の余剰 DNA 検体を用いて、Oncomine Tumor Mutation Load Assay (Life Technologies 社、癌関連 409 遺伝子) の体細胞遺伝子変異(Tumor mutation burden)を測定する。TMB の評価は既報にて実施可能であることを実証済である²²⁾。

・ 癌幹細胞マーカー（任意；優先度 1）

非小細胞肺癌で報告のある幹細胞マーカーである CD44, CD133 を測定：腫瘍細胞における H-score

・ PD-L1 免疫組織染色（任意；優先度 2）

コンパニオン診断薬 PD-L1 IHC 22C3 pharmDx を使用し、TPS（Tumor Proportion Score：100 個以上の腫瘍細胞中の膜染色が得られた腫瘍細胞の割合（%））を測定

・ CD8 免疫組織染色（任意；優先度 3）

単位面積辺りの免疫細胞における陽性細胞数（positive cell number/mm²）

・ その他の免疫関連分子（任意；優先度 4）

CD4, FOXP3, PD-L2, T-bet (Th1 transcription factor), GATA3 (Th2 transcription factor)

・ その他の癌幹細胞マーカー（任意；優先度 5）

ABCG5, ALDH1, CD24, CD166, epithelial cell adhesion molecule epitopes (ESA, MOC-31, Ber-EP4), nestin, OCT4, sex-determining region Y-box2 (SOX2), CD90 (THY1), ABCB5, CD200, CD47, YAP

・ 上皮間葉転換マーカー

ZEB1, Cadherin, Vimentin, B-catenin, HSP47, collagen1, 2, Snail, Twist, cytokeratin, Zo-1

7. 統計的事項

7.1. 解析対象集団

報告対象の選択基準を満たさない症例を除外した症例を解析対象集団とする。症例の取り扱いについて判断が困難な場合には、データ固定前に研究代表者、研究事務局、統計解析責任者および WJOG データセンターが協議を行い決定する。

7.2. データの取扱い

7.2.1. 試験実施計画書逸脱データの取扱い

研究代表者、研究事務局、統計解析責任者および WJOG データセンターが協議を行い、取扱いを決定する。

7.2.2. 欠落、不採用および異常データの取扱い

検査、観察項目の中で、検査、観察が一度もなされなかった項目については、欠測として取り扱う。欠測に対し推定値または計算値などによるデータの補完は行わない。

7.3. 統計解析手法

全ての項目は 7.1. で定めた解析対象集団について解析を行う。

7.3.1. 患者背景

患者背景について、要約統計量を算出する。

7.3.2 主解析

各バイオマーカー（TMB、腫瘍細胞における PD-L1・CD44・CD133 発現、腫瘍浸潤リンパ球における CD8 発現）と無再発生存期間の関連の解析には 2 年目時点での時間依存性 ROC 曲線を用いる。この解析に基づいて、各バイオマーカーのカットオフ値を推定する。ただし、PD-L1 TPS については、カットオフ値として 1%、25%、50%を用いる。

推定されたカットオフ値で各バイオマーカーを 2 群に分け、Kaplan-Meier 法を用いて、無再発生存曲線を作成する。ログランク検定により群間比較の p 値を算出するが、検定の有意水準は定めない。また、比例ハザードモデルを用いて群間のハザード比とその 95%信頼区間を算出する。

バイオマーカーで分けられた 2 つのサブグループごとに、Kaplan-Meier 法を用いて TS-1 群と CDDP+TS-1 群の無再発生存曲線を作成する。また、説明変数に治療群、バイオマーカーで分けられた 2 群、これらの交互作用項を含む比例ハザードモデルを用いて、各項のハザード比を算出する。

上記と同様の解析を、6 ヶ月、1 年、5 年時点での時間依存性 ROC 解析を用いることで行う。

無再発生存期間の定義は、登録日から治験責任医師等の判定（RECIST 1.1 版に基づく）で進行を最初に認めた日又はあらゆる原因による死亡日までの期間とする。画像所見を伴わない病状悪化は、無再発生存期間の決定に用いられる進行とはみなさない。進行が報告される前に死亡した被験者は、死亡日で進行したとみなす。進行も死亡もしなかった被験者は、最後に画像診断を実施した日で打切りとする。画像診断を一度も受けず、かつ死亡しなかった被験者は、無作為化された日で打切りとする。進行の報告より前に緩和的局所療法又は悪性腫瘍に対する後治療を開始した被験者は、緩和的局所療法又は悪性腫瘍に対する後治療のいずれか早い開始の前で最後に画像診断を実施した日で打切りとする。

7.3.3 副次的解析

全生存期間

上記 7.3.2 の無再発生存期間に関する解析と同様の解析を行う。

全生存期間の定義は、登録日から死亡日までの期間とする。死亡しなかった被験者は、最後に生存が確認された日で打切りとする。

各バイオマーカーと組織型、病期、年齢、性別、PS、喫煙歴の関連を検討する。

年齢以外の項目についてはカテゴリごとにバイオマーカー値の要約統計量を算出する。また、7.3.2の2年目時点での時間依存性ROC解析で求めたカットオフ値を用いて高値、低値の人数とその割合を集計する。年齢については散布図を作成する。また、年齢を65歳以上と未満に分けて上記と同じ解析を行う。

バイオマーカー間の関連性

2つのバイオマーカー間の散布図を作成し、相関係数を算出する。

8. 検体

8.1 腫瘍組織検体の処理と送付

腫瘍組織検体は、病理医により腫瘍が確認できたパラフィン包埋切片（FFPE切片、スライス厚4-5 μ m程度）を20枚もしくはパラフィン包埋ブロックを宅急便にて下記の送付先にまで送付する（冷蔵便）。ただし、20枚を作成できない場合には、最低10枚以上かつ使用できる限りの枚数を提出する。腫瘍部分の割合が多い切片が望ましい。土日祝日、年末年始を除く平日のAM9時からPM5時までに到着するように送付すること。

8.2 送付に関する問い合わせ先

近畿大学医学部内科学腫瘍内科部門第一研究室 金村宙昌

8.3 データの廃棄

試料提供者より同意の撤回があった場合には、匿名化番号などを削除した上で近畿大学医学部の規定に従い適切に廃棄する。

9. 予測される患者に対する危険や不利益

本研究では、残余検体を用いるため、身体的な侵襲はない。実施する遺伝子解析は、腫瘍部の体細胞変異解析に限定する。本研究は、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」を遵守し、本研究計画書に基づいた本人への十分な説明・同意の下に行われること、個人情報には三省合同「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に基づき匿名化され厳重に管理する。また、既に包括的な同意を得た上での保存されている検体であり、二次的利用についても同意を得ているが、本研究に用いることについて、広く周知し、同意撤回の機会をWJOGのHP上に設ける。したがって患者の人権・プライバシーに関する危険、不利益は極めて小さい。但し、本研究での遺伝子解析に関する不安に対して相談の希望がある場合には、担当医が適切な遺伝相談外来を紹介する。

10. 倫理的事項

10.1 遵守すべき諸規則

本研究は、ヘルシンキ宣言（2013年世界医師会（WMA）フォルタレザ総会改訂版）、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」（平成29年2月28日一部改正）ならびに三省合同「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」（平成20年12月1日一部改正）を遵守して実施される。

10.2 患者のプライバシーの保護

検体保管施設および測定施設に送られる情報は、検体登録番号のみとする。連結した遺伝子情報が、解析施設および第三者に渡ることはない。

10.3 同意の取得

本試験は残余・保存検体を用いた非介入試験であるため参加施設ホームページ、WJOGホームページ、掲示板等のいずれかにて研究内容を公開しオプトアウトの形式を採用する。

10.4 研究実施機関の承認

本研究は、本試験実施計画書が各施設審査機関で承認されなければならない。承認が得られた場合、承認文書の原本は施設の方針に従って保管し、その写しをWJOGへ送付する。WJOGは、承認文書の写しを研究事務局に送付する。研究事務局はその写しを保管する。

10.5 施設の承認の年次更新

原則として、本試験承認の更新については、各施設の定めるところに従う。

11. 利益相反（COI）の管理について

本研究に関わる研究者やWJOG臨床研究を支援する者の利益相反は以下のように管理する。

1. 本研究に関わる者の利益相反については、参加施設の定めるところに従う。
2. 研究代表者や研究事務局、グループ代表者、理事長、データセンター長等本研究に中心的な役割をもって関わる者の利益相反に関しては、WJOG倫理委員会が管理する。
3. この他、個々のWJOG臨床研究に関わるWJOG事務局スタッフの利益相反に関しても同様に管理する。本研究は、近畿大学医学部利益相反マネジメント委員会での審査を受け、研究結果に影響を及ぼさないよう留意し研究を実施する。

12. モニタリングと監査

12.1 モニタリング

本研究のモニタリングは、施設審査機関承認書、症例登録票等を使用したセントラルモ

ニタリングとする。

12.2 監査

WJOG 施設監査の際、本研究を対象とすることがある。監査の手順等は原則として WJOG 施設監査手順に従う。

各施設は、研究に関する記録（カルテ、画像、施設審査機関承認書類等）を直接閲覧に供するものとする。

監査結果は、施設責任者、施設長、研究事務局と研究代表者、グループ代表者、WJOG 理事長に提出される。また、（常任）理事会に提出される。

13. 試験の品質管理および品質保証

13.1 データの品質管理

本試験の実施およびデータの安全性、正確性、信頼性を確保するため、WJOG は WJOG 標準手順書に従い、本試験の品質管理を実施し、その管理記録を記録・保存する。

13.2 データの品質保証

本試験の品質は、12 および 13.1 で得られる情報内で、これを保証する。

13.3 記録の閲覧

施設代表医師および実施施設は、WJOG のモニタリングおよび監査時に原資料等の全ての試験関連記録を直接閲覧に供する。

14. データの取り扱いおよび記録の保存

研究実施施設および WJOG は、本研究に係る文書または記録、あるいはその写しに関して、個人情報の保護に注意し、情報の漏洩、紛失、転記、不正な複写などがないように取り扱う。

WJOG および研究実施施設において、本研究に係る資料およびデータは、研究の中止又は終了後少なくとも 5 年が経過した日まで保管する。保管責任者は、それぞれデータセンター長及び研究代表者とする。

遺伝子解析の測定データは、USB 等の専用記憶媒体に移し、鍵のかかったロッカーに保管する。保存期間を過ぎたデータは、特に理由のない限り廃棄される。検体保管場所のセキュリティは研究棟の入り口、常時ロックされた研究室のドア、ディープフリーザーの鍵で 2 重ないし 3 重に保護される。

15. 研究費

研究代表者が獲得した民間助成金（肺癌学会研究助成金、武田科学振興財団助成金）及

び近畿大学腫瘍内科講座研究費、近畿大学ゲノム生物学教室講座研究費を解析費用に充てる。

16. 知的財産権について

本研究の実施により、特許権などを含む知的財産権が発生した場合は、委託者、WJOG 及び研究者間で別途協議する。

17. 結果の公表について

研究結果は研究代表者が共に可及的速やかにその成果をまとめ、成果物として、委託者に提出する。成果は、合議によりしかるべき学術雑誌および学会で発表する。

18. 研究機関の長への報告内容及び方法

研究実施施設は、研究実施期間中は 1 年に 1 回進捗状況報告書により、研究終了後には終了報告書により研究結果を報告する。報告事項としては、遺伝子解析が実施された試料・情報の数・研究結果、研究の進捗状況、問題発生の有無に係る情報を含む。

19. 研究実施に関する変更、中止ならびに終了

19.1 研究実施計画書の改訂

研究実施計画書の改訂の必要性を認めた場合、変更の妥当性および研究の評価への影響について、必要に応じ改訂を行う。

WJOG は、協議の内容、改訂の有無およびその理由などを文書にて記録し、保管する。

WJOG は、研究実施計画書の改訂した内容を速やかに研究実施機関に連絡する。研究実施機関は、施設で定められた手続きを行う。

19.2 メモランダム

研究実施計画書記載の変更が至急に周知するべきである場合および文言の修正等が累積した場合、呼吸器委員長・TR 委員長並びにデータセンター長の確認のもとにメモランダムを発行することができる。

19.3 試験実施中止および中断

WJOG は、試験自体を中止又は中断する場合には、その旨とその理由の詳細を速やかに施設代表医師に通知する。

なお、中止とは以下のいずれかの理由により、予定より早く試験を終了することを指す。

また、中断とは以下の理由が疑われた場合等に、症例登録を一時的に停止することを指す。

- 1) 本試験の目的が達成されたと判断された場合

- 2) 本試験の目的の達成確立が極めて小さいと判断された場合
- 3) 本試験施行中の情報により、本試験の安全性に問題があると判断された場合
- 4) 本試験以外の情報に基づき、本試験の安全性に問題があると判定された場合
- 5) 本試験以外の情報に基づき、本試験の意義が否定された場合
- 6) 症例登録の遅延等により、本試験の完遂が困難と判断された場合

中止となった場合の追跡期間及び解析期間は最終登録日を起点として、本実施計画書の記述に従う。

19.4 研究終了

本研究の最終解析報告書もしくは掲載済みの論文が(常任)理事会で承認されたことをもって研究終了とする。

論文掲載による終了の場合、UMIN にその URL もしくは引用された PubMed の URL を記載する。

19.5 研究終了の報告

本研究終了時は、WJOG より速やかにその旨を研究実施機関に通知する。

19.6 研究対象者等及びその関係者からの相談等への対応

研究代表者を相談窓口担当者とし、研究対象者及びその関係者からの相談等に応じる。

20. 研究結果の公表と成果の帰属

20.1 結果の公表

結果の公表は WJOG 発表規程に従い、学会発表および論文報告を原則とする。

20.2 最終総括報告

最終総括報告は、発表した論文をもってこれに代えることができる。

20.3 データの提供

研究終了後、規制当局の指示・指導もしくは関係企業などの希望により、個人情報を除いた本研究データを有償または無償で提供することがある。

20.4 データの二次利用

本研究で得られたデータを統合解析・メタアナリシス等に二次利用することが有益であると WJOG が判断した場合、(常任) 理事会の承認のもとに個人情報を除いたデータを二次利用できる。

20.5 知的財産権

本研究の実施計画書、登録票と症例報告書のデザイン、研究実行の結果作成したデータベースファイルおよびそこから得られる帳票類は WJOG に帰属する。本研究の施行において特許権などを含む知的財産権が発生した場合は、WJOG と参加施設間の中でその寄与度に応じて分配する。但し、次世代シーケンサ 測定技術に関するテクノロジーについては、その基本特許を有する企業等の協議にて決定する。

20.6 研究計画の事前登録

本試験は、試験実施に先立ち、事前にUMIN臨床試験登録システム(UMIN-CTR)に登録する。

21. 研究実施体制

21.1 研究運営機関

西日本がん研究機構 (WJOG) が本研究を運営する。

WJOG は、がんに対する臨床研究の実施および支援を主な目的として医療専門家が中心となって設立された特定非営利活動法人であり、会員からの会費、企業および個人からの寄付ならびに企業からの受託研究による収益を主たる資金源として活動している。

21.2 研究依頼者

特定非営利活動法人 西日本がん研究機構 West Japan Oncology Group(WJOG)

理事長 中川和彦

〒556-0016 大阪府大阪市浪速区元町 1 丁目 5 番 7 号 ナンバプラザビル 304 号

Tel : 06-6633-7400

Fax : 06-6633-7405

21.3 研究代表者

武田真幸

近畿大学医学部腫瘍内科

〒589-0014 大阪府大阪狭山市大野東 377-2

Tel: 072-366-0221 FAX: 072-360-5000

e-mail: takeda_m@med.kindai.ac.jp

21.4 研究事務局

金村宙昌

近畿大学医学部腫瘍内科

〒589-0014 大阪府大阪狭山市大野東 377-2

Tel: 072-366-0221 FAX: 072-360-5000
e-mail: hiroaki.kanemura@med.kindai.ac.jp

21.5 研究分担者

西尾和人 坂井和子 近畿大学医学部ゲノム生物学講座
伊藤彰彦 中村靖司 近畿大学医学部病理学講座

21.6 統計解析責任者

千葉康敬 近畿大学医学部

21.7 プロトコール評価責任者

プロトコール評価委員長 武田 晃司 西日本がん研究機構

21.8 委託測定機関

以下の委託機関において、個人情報保護対策を適切に行っている事業者しか外部委託先として選定していない。

測定機関名：株式会社 パソロジー研究所
住所：富山県富山市下野 16 新産業支援センター305 号室
電話番号：076-411-8088
Fax：076-444-0017
測定責任者：堀 隆
担当業務：免疫組織染色

測定機関名：株式会社 N Lab (エヌ ラボ)
住所：長崎県長崎市旭町 6 番 1 - 2406 号
電話番号：095-801-0225
測定責任者：北村 由香
担当業務：免疫組織染色

21.9 WJOG データセンター

データセンター責任者：中村 慎一郎
〒556-0016 大阪府大阪市浪速区元町 1 丁目 5 番 7 号 ナンバプラザビル 304 号
Tel：06-6633-7400
Fax：06-6633-7405
E-mail：datacenter@wjog.jp

21.10 施設監査責任者

多田 弘人 吹田徳洲会病院

21.11 安全性評価責任者

工藤 新三 大阪社会医療センター附属病院

WJOG 効果安全性評価委員一覧は別添とする。

21.12 実施施設および施設代表医師名

症例登録終了までの期間、毎月最新の情報が記載された一覧を WJOG より施設代表医師に報告する。

22. 文献

1. Pignon JP, Tribodet H, Scagliotti G V., et al. Lung adjuvant cisplatin evaluation: A pooled analysis by the LACE collaborative group. *J Clin Oncol.* 2008;26:3552-3559.
2. Douillard JY, Tribodet H, Aubert D, et al. Adjuvant cisplatin and vinorelbine for completely resected non-small cell lung cancer: Subgroup analysis of the lung adjuvant cisplatin evaluation. *J Thorac Oncol.* 2010;5(2):220-228.
3. Iwamoto Y, Mitsudomi T, Sakai K, et al. Randomized Phase II Study of Adjuvant Chemotherapy with Long-term S-1 versus Cisplatin-S-1 in Completely Resected Stage II-III A Non-Small Cell Lung Cancer. *Clin Cancer Res.* 2015;21(23):5245-5252.
4. Nagano O, Saya H. Mechanism and biological significance of CD44 cleavage. *Cancer Sci.* 2004;95:930-935.
5. Ohashi R, Takahashi F, Cui R, et al. Interaction between CD44 and hyaluronate induces chemoresistance in non-small cell lung cancer cell. *Cancer Lett.* 2007;252:225-234.
6. Luo Z, Wu RR, Lv L, et al. Prognostic value of CD44 expression in non-small cell lung cancer: A systematic review. *Int J Clin Exp Pathol.* 2014;7:3632-3646.
7. Sterlacci W, Savic S, Fiegl M, Obermann E, Tzankov A. Putative stem cell markers in non-small-cell lung cancer: A clinicopathologic characterization. *J Thorac Oncol.* 2014;9:41-49.
8. Liou GY. CD133 as a regulator of cancer metastasis through the cancer stem cells. *Int J Biochem Cell Biol.* 2019;106:1-7.
9. Liu YP, Yang CJ, Huang MS, et al. Cisplatin selects for multidrug-resistant CD133+ cells in lung adenocarcinoma by activating notch signaling. *Cancer Res.*

- 2013;73:406-416.
10. Alamgeer M, Ganju V, Szczepny A, et al. The prognostic significance of aldehyde dehydrogenase 1A1 (ALDH1A1) and CD133 expression in early stage non-small cell lung cancer. *Thorax*. 2013;68:1095-1104.
 11. Su C, Xu Y, Li X, et al. Predictive and prognostic effect of CD133 and cancer-testis antigens in stage Ib-IIIa non-small cell lung cancer. *Int J Clin Exp Pathol*. 2015;8:5509-5518.
 12. Chen E, Zeng Z, Bai B, Zhu J, Song Z. The prognostic value of CSCs biomarker CD133 in NSCLC: A meta-analysis. *Oncotarget*. 2016;7:56526-56539.
 13. Iida H, Suzuki M, Goitsuka R, Ueno H. Hypoxia induces CD133 expression in human lung cancer cells by up-regulation of OCT3/4 and SOX2. *Int J Oncol*. 2012;40:71-79.
 14. Sun JM, Zhou W, Choi Y La, et al. Prognostic significance of PD-L1 in patients with non-small cell lung cancer: A large cohort study of surgically resected cases. *J Thorac Oncol*. 2016;7:1003-1011.
 15. Huynh TG, Morales-Oyarvide V, Campo MJ, et al. Programmed cell death ligand 1 expression in resected lung adenocarcinomas: Association with immune microenvironment. *J Thorac Oncol*. 2016;11:1869-1878.
 16. Devarakonda S, Rotolo F, Tsao MS, et al. Tumor mutation burden as a biomarker in resected non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2018;36:2995-3006.
 17. Owada-Ozaki Y, Muto S, Takagi H, et al. Prognostic Impact of Tumor Mutation Burden in Patients With Completely Resected Non-Small Cell Lung Cancer: Brief Report. *J Thorac Oncol*. 2018;13:1217-1221.
 18. Su CY, Li YS, Han Y, Zhou SJ, Liu ZD. Correlation between expression of cell adhesion molecules CD44 v6 and E-cadherin and lymphatic metastasis in nonsmall cell lung cancer. *Asian Pacific J Cancer Prev*. 2014;15(5):2221-2224.
 19. Suda K, Murakami I, Yu H, et al. CD44 facilitates epithelial-to-mesenchymal transition phenotypic change at acquisition of resistance to EGFR kinase inhibitors in lung cancer. *Mol Cancer Ther*. 2018;17(10):2257-2265.
 20. Larsen JE, Nathan V, Osborne JK, et al. ZEB1 drives epithelial-to-mesenchymal transition in lung cancer. *J Clin Invest*. 2016;126(9):3219-3235.
 21. Chen L, Gibbons DL, Goswami S, et al. Metastasis is regulated via microRNA-200/ZEB1 axis control of tumour cell PD-L1 expression and intratumoral immunosuppression. *Nat Commun*. 2014;5:5241.
 22. Sakai H, Takeda M, Sakai K, et al. Impact of cytotoxic chemotherapy on PD- L1 expression in patients with non-small cell lung cancer negative for EGFR

mutation and ALK fusion. *Lung Cancer*. 2019;127:59-65.

23. 実施計画書改訂履歴

2020年6月20日 常任理事会承認(Ver.1.00)

2021年1月11日 常任理事会承認(Ver.1.10)