

研究計画書

口腔癌におけるクラステリンの発現意義

研究責任者

山崎真美

埼玉医科大学総合医療センター病理部
〒350-8550 埼玉県川越市鴨田 1981 番地

Tel: 049-228-3522

Fax: 049-228-3522

Ver. 1.0 2022年8月8日

1. 口腔癌におけるクラステリンの発現意義

2. 研究組織について

〒350-8550 埼玉県川越市鴨田 1981 番地埼玉医科大学総合医療センター病理部

実施責任者（職名）

山崎真美（総合医療センター病理部：助教、歯科医師）：総括

共同研究者（職名）

病理部 医師 教授 東 守洋

病理部 医師 講師 山下高久

病理部 医師 准教授 百瀬修二

病理部 医師 助教 増田 渉

病理部 医師 助教 菊地 淳

病理部 医師 助教 今田浩生

病理部 医師 助教 高柳奈津子

病理部 歯科医師 助教 沢田圭佑

病理部 医師 助教 伊藤梢絵

病理部 医師 助教 山本 渉

病理部 医師 助教 村上千明

病理部 医師 助教 永田 真莉乃

病理部 医師 助教 菊地由季菜

病理部 臨床検査技師 松野和子

病理部 臨床検査技師 大澤久美子

病理部 臨床検査技師 大野優子

病理部 臨床検査技師 青木智章

病理部 臨床検査技師 木内恭子

歯科口腔外科 歯科医師 助教 高橋 匠

歯科口腔外科 歯科医師 教授 金子 貴広

3. 研究の背景・意義と目的

癌抑制遺伝子である TP53 は多くの分子を制御し、その遺伝子変異は口腔癌をはじめ、さまざまな癌における分子基盤となることが知られている。しかしながら、TP53 の遺伝子変異のみでは前癌病変にとどまることが多く、発癌には additional な分子メカニズムがあると考えられている。われわれは現在までに口腔癌だけでなく、口腔内の前癌病変でも TP53 の遺伝子変異を有する症例が多いことを見出してきた。すなわち、口腔内の癌化にも TP53 遺伝子異常のほか additional な分子メカニズムが必要である

と考えられる。Clusterin (CLU) は細胞周期や増殖に関わる重要分子であり、口腔癌において癌化、腫瘍促進性に働くと考えられているが、未だ不明な点が多い。つまりその発現のメカニズムを明らかにすることは、口腔癌の癌化のメカニズムを理解できるだけでなく、新規治療ターゲットを見出すことが可能と考えられる。本研究では口腔癌における CLU の発現メカニズムを臨床病理学的に明らかにすることを目的とする。

4. 研究方法

- ① 遺伝子変異解析；診断済みの口腔癌 100 例、および前がん病変である口腔上皮異形成 (OED) 50 例の病理組織標本から DNA を抽出後、次世代シーケンサー (NGS)、サンガーシーケンス法にてシーケンスし遺伝子変異解析を行う。具体的には以下の遺伝子のシーケンスを行う。遺伝子情報は腫瘍細胞のみを対象とするため、遺伝しうる疾患は検出しえない。

ABL1	ABL2	ACVR2A	ADAMTS20	AFF1	AFF3	AKAP9	AKT1	AKT2	AKT3
ALK	APC	AR	ARID1A	ARID2	ARNT	ASXL1	ATF1	ATM	ATR
ATRX	AURKA	AURKB	AURKC	AXL	BAI3	BAP1	BCL10	BCL11A	BCL11B
BCL2	BCL2L1	BCL2L2	BCL3	BCL6	BCL9	BCR	BIRC2	BIRC3	BIRC5
BLM	BLNK	BMPR1A	BRAF	BRD3	BRIP1	BTK	BUB1B	CARD11	CASC5
CBL	CCND1	CCND2	CCNE1	CD79A	CD79B	CDC73	CDH1	CDH11	CDH2
CDH20	CDH5	CDK12	CDK4	CDK6	CDK8	CDKN2A	CDKN2B	CDKN2C	CEBPA
CHEK1	CHEK2	CIC	CKS1B	CMPK1	COL1A1	CRBN	CREB1	CREBBP	CRKL
CRTC1	CSF1R	CSMD3	CTNNA1	CTNNB1	CYLD	CYP2C19	CYP2D6	DAXX	DCC
DDB2	DDIT3	DDR2	DEK	DICER1	DNMT3A	DPYD	DST	EGFR	EML4
EP300	EP400	EPHA3	EPHA7	EPHB1	EPHB4	EPHB6	ERBB2	ERBB3	ERBB4
ERCC1	ERCC2	ERCC3	ERCC4	ERCC5	ERG	ESR1	ETS1	ETV1	ETV4
EXT1	EXT2	EZH2	FAM123B	FANCA	FANCC	FANCD2	FANCF	FANCG	FAS
FBXW7	FGFR1	FGFR2	FGFR3	FGFR4	FH	FLCN	FLI1	FLT1	FLT3
FLT4	FN1	FOXL2	FOXO1	FOXO3	FOXP1	FOXP4	FZR1	G6PD	GATA1
GATA2	GATA3	GDNF	GNA11	GNAQ	GNAS	GPR124	GRM8	GUCY1A2	HCAR1
HIF1A	HLF	HNF1A	HOOK3	HRAS	HSP90AA1	HSP90AB1	ICK	IDH1	IDH2
IGF1R	IGF2	IGF2R	IKBKB	IKBKE	IKZF1	IL2	IL21R	IL6ST	IL7R
ING4	IRF4	IRS2	ITGA10	ITGA9	ITGB2	ITGB3	JAK1	JAK2	JAK3
JUN	KAT6A	KAT6B	KDM5C	KDM6A	KDR	KEAP1	KIT	KLF6	KRAS
LAMP1	LCK	LIFR	LPHN3	LPP	LRP1B	LTF	LTK	MAF	MAFB
MAGEA1	MAGI1	MALT1	MAML2	MAP2K1	MAP2K2	MAP2K4	MAP3K7	MAPK1	MAPK8
MARK1	MARK4	MBD1	MCL1	MDM2	MDM4	MEN1	MET	MITF	MLH1
MLL	MLL2	MLL3	MLLT10	MMP2	MN1	MPL	MRE11A	MSH2	MSH6

MTOR	MTR	MTRR	MUC1	MUTYH	MYB	MYC	MYCL1	MYCN	MYD88
MYH11	MYH9	NBN	NCOA1	NCOA2	NCOA4	NF1	NF2	NFE2L2	NFKB1
NFKB2	NIN	NKX2-1	NLRP1	NOTCH1	NOTCH2	NOTCH4	NPM1	NRAS	NSD1
NTRK1	NTRK3	NUMA1	NUP214	NUP98	PAK3	PALB2	PARP1	PAX3	PAX5
PAX7	PAX8	PBRM1	PBX1	PDE4DIP	PDGFB	PDGFRA	PDGFRB	PER1	PGAP3
PHOX2B	PIK3C2B	PIK3CA	PIK3CB	PIK3CD	PIK3CG	PIK3R1	PIK3R2	PIM1	PKHD1
PLAG1	PLCG1	PLEKHG5	PML	PMS1	PMS2	POT1	POU5F1	PPARG	PPP2R1A
PRDM1	PRKAR1A	PRKDC	PSIP1	PTCH1	PTEN	PTGS2	PTPN11	PTPRD	PTPRT
RAD50	RAF1	RALGDS	RARA	RB1	RECQL4	REL	RET	RHOH	RNASEL
RNF2	RNF213	ROS1	RPS6KA2	RRM1	RUNX1	RUNX1T1	SAMD9	SBDS	SDHA
SDHB	SDHC	SDHD	SEPT9	SETD2	SF3B1	SGK1	SH2D1A	SMAD2	SMAD4
SMARCA4	SMARCB1	SMO	SMUG1	SOCS1	SOX11	SOX2	SRC	SSX1	STK11
STK36	SUFU	SYK	SYNE1	TAF1	TAF1L	TAL1	TBX22	TCF12	TCF3
TCF7L1	TCF7L2	TCL1A	TET1	TET2	TFE3	TGFBR2	TGM7	THBS1	TIMP3
TLR4	TLX1	TNFAIP3	TNFRSF14	TNK2	TOP1	TP53	TPR	TRIM24	TRIM33
TRIP11	TRRAP	TSC1	TSC2	TSHR	UBR5	UGT1A1	USP9X	VHL	WAS
WHSC1	WRN	WT1	XPA	XPC	XP01	XRCC2	ZNF384	ZNF521	KRT13
KRT17	KRT19	KRT20	KRT5	KRT6	KRT7	KRT8	MUC16	Nanog	OCT4
TERT	CLU	CFS1R	JSK3	SMP	FAT1	CASP8	FAT4	BRCA1	BRCA2

- ② FFPE 標本を用いた発現解析；上記症例の病理組織標本を用いた CLU 発現解析を行う。シーケンスの結果より CLU の発現と関連のありそうな分子を抽出し、それらの発現解析も行い、CLU との関連性について解析する。
- ③ FFPE 標本を用いたグリコシル化解析；CLU の発現にはグリコシル化が必要であり、グリコシル化を観察するために蛍光標識クイックプローブで糖鎖の蛍光ラベリングを行い、糖鎖と CLU の発現を蛍光顕微鏡で確認する。
- ④ 予後解析；上記 100 例の口腔癌と 50 例の OED での CLU 発現と臨床病理学的な項目（年齢、性別、口腔内環境、飲酒・喫煙歴）、予後との関連性を検索し、CLU の発現が口腔癌の予後予測マーカーとなりうるか解析する。臨床病理学的項目は診療録を用いる。

5. 研究期間

研究期間：自機関の長の実施許可日～2027年3月31日。

研究対象期間：1990年1月1日～2021年12月31日までに病理部に提出された病理検体を用いる。

観察期間：1990年1月1日～2026年12月31日までの診療録を用いる。

6. 予定症例数

調査対象の期間：1990年1月1日から2021年12月31日までの症例を診療録より抽出する。

目標症例数：150例。埼玉医科大学総合医療センター病理部に保管されている症例。

7. 研究の実施場所

埼玉医科大学総合医療センター病理部（地下1階）ならびに第二研究棟1階共同研究室、2階病理学研究室。

8. 被験者の選択基準・除外基準

選択基準：口腔癌あるいは口腔上皮異形成の診断がなされ、残余検体があるもの。

除外基準：研究に同意されなかった症例、残余検体がない症例。

9. 研究の科学的合理性の根拠

口腔癌のCLUの発現メカニズムを明らかにすることで口腔癌の分子動態解明の一助となる。

10. 被験者に理解を求め同意を得る方法

患者本人に別紙説明文書により説明し、別紙同意文書より同意をえる。同意後も同意撤回の希望があれば、同意撤回文書にて撤回可能とする。同意取得が困難な症例には、総合医療センター研究倫理委員会のホームページ上で本研究が行われていることを明記し、研究対象者が拒否できる機会を保障する（オプトアウト）。

11. 研究対象者に緊急かつ明白な生命の危機が生じている状況における研究の取り扱い

既存検体を用いるため該当なし。

12. 個人情報の取扱いについて

本研究により得られた個人情報は厳重に管理する。データはインターネットに接続されていないPCを使用し、外部記憶媒体（外付けディスク）に記憶させ、その記憶媒体と文書は個人情報管理者病理部臨床検査技師 阿部倫子が病理部の鍵のかかる棚に厳重に保管する。

研究終了後、研究等の実施に関わるデータおよび文書を、研究の中止または終了後少なくとも5年間、あるいは研究結果発表後3年が経過した日までの間のどちらか遅い期日まで保存する。その後、個人を特定されないよう処理した上で廃棄する。

13. 当該臨床研究に参加することにより期待される利益及び起こり得る危険並びに必然的に伴う心身に対する不快な状態

患者に直接の利益および危険はない。患者にとって危険、心身に対する不快な状態は想定されない。

14. 試料の取扱いについて

研究には病理組織残余検体を使用する。病理診断に使用されたブロック検体は病理部で通常管理保存

される他の標本と同様に保存、管理する。研究終了後、研究等の実施に関わるデータおよび文書を、研究の中止または終了後少なくとも5年間、あるいは研究結果発表後3年が経過した日までの間のどちらか遅い期日まで保存する。その後、個人を特定されないよう処理した上で廃棄する。

15. 病院長への報告内容及び方法

- ①研究責任者は、研究の倫理的妥当性又は科学的合理性を損なう又はそのおそれがある事実を知り、又は情報を得た場合であって、研究の継続に影響を与えられらるるものを得た場合には、遅滞なく、病院長に文書にて報告し、必要に応じて研究を停止、若しくは中止し、又は研究計画書を変更する。
- ②研究責任者は、研究の実施の適正性又は研究結果の信頼を損なう又はそのおそれがある事実を知り、又は情報を得た場合には、速やかに病院長に文書にて報告し、必要に応じて、研究を停止し、若しくは中止し、又は研究計画書を変更する。
- ③研究責任者は、研究計画書に定めるところにより、研究の進捗状況及び研究の実施に伴う有害事象の発生状況を研究倫理委員会及び病院長に文書にて報告する。
- ④研究責任者は、研究を終了（中止の場合を含む）したときは、その旨及び研究結果の概要を文書又は電磁的方法により遅滞なく研究倫理委員会及び病院長に文書にて報告する。

16. 利益相反について

研究は病理部一般研究費および埼玉医科大学若手研究者育成研究助成費、学内グラントを用いる。その他申告すべき利益相反はない。

17. 研究に関する情報の公開の方法

研究の成果は学会、論文での発表を行う。

18. 研究対象者等及びその関係者からの相談等への対応

研究に関する相談等の対応は研究実施者が適切に対応する。

本研究に関する相談等のための問い合わせ先：

埼玉医科大学総合医療センター 埼玉県川越市鴨田 1981

病理部 助教 山崎真美 電話：049-228-3522（平日8:30-17:30）

19. 費用負担及び謝礼について

本研究に参加することに対して費用負担・謝礼はない。

20. 健康被害や有害事象への対応

該当なし

21. 期待される成果、医学上の貢献の予測について

口腔癌の CLU の発現メカニズムを明らかにすることで口腔癌の分子動態解明の一助となる。

22. 知的財産権について

本研究で得られた結果や、データ、知的財産権は、学校法人埼玉医科大学に帰属する。

23. 研究の実施に伴い、研究対象者の健康、ある場合には、研究対象者に係る研究結果（偶発的発見も含む。）の取り扱い

本研究においては研究対象者の健康に影響を与えうる重要な知見が得られる可能性はない。また腫瘍部分のみを解析するため、遺伝しうる遺伝情報は得られない。

24. 研究に関する業務の一部を委託する場合には、業務内容及び委託先の監督方法

業務の委託はなし。

25. 研究対象者から取得された試料・情報について、研究対象者等から同意を受ける時点では特定されない将来の研究のために用いられる可能性又は他の研究機関に提供する可能性がある場合には、その旨と同意を受ける時点において想定される内容

該当なし

26. モニタリングと監査

モニタリング：該当せず。

監査：該当せず。

27. 教育・研修受講（e-learning も可）状況と研究期間中の受講予定について（少なくとも年に一度の受講は必要）

本研究申請者は全員、当該教育・研修を受講しており、e-learning の終了証を別紙提出する。