

## 研究計画書

### 1. 【研究課題名】

シロリムス口内炎の発症機序と経過に関する観察研究

### 2. 【研究の実施体制】

#### ① 【代表者】

所属 新潟大学医歯学総合病院高度医療開発センター 職名 特任教授 氏名 中田 光

#### ② 【研究分担者】

所属 新潟大学医歯学総合病院高度医療開発センター 職名 特任教授 氏名 北村 信隆

所属 新潟大学医歯学総合病院脳研究所 職名 准教授 氏名 武井 延之

所属 新潟大学医歯学総合病院小児外科 職名 教授 氏名 木下 義晶

所属 新潟大学医歯学総合病院呼吸器感染症内科 職名 特任助教 氏名 島 賢治郎

所属 新潟大学医歯学総合病院呼吸器感染症内科 職名 特任教授 氏名 高田 俊範

所属 新潟大学医歯学総合病院臨床研究推進センター 職名 助教 氏名 田中 崇裕

別紙で全分担施設と分担研究者一覧を示す。

#### ③ 【個人情報管理者】

所属 新潟大学医歯学総合病院臨床研究推進センター 職名 助教 氏名 田中崇裕

#### ④ 【研究実施の場所】

多機関共同研究

新潟大学医歯学総合病院 高度医療開発センター

新潟大学医歯学総合病院 臨床研究推進センター

新潟大学医歯学総合病院 脳研究所

別紙で全分担施設一覧を示す。

### 3. 【研究の目的及び意義】

本研究は、新たに mTOR 阻害剤シロリムス服用する患者を対象に服用後 24 週間の間に出現する口内炎について、1) 発現時期、2) 個数、3) 位置、4) 形状、5) 症状、6) 罹患期間 7) 治療・予防について外来診察、アンケート調査により調査し、また、外来受診時に唾液採取と口腔粘膜スワブによる粘膜細胞採取により、シロリムスが口腔内環境に及ぼす影響について解析する。以上の研究により、シロリムス口内炎の予防と治療に繋がるような有益な情報を得る。

### 4. 【研究方法及び期間】

#### 4.1 研究背景

申請者らは、リンパ脈管筋腫症 (Lymphangiomyomatosis: LAM) に対する日米加共同 MILES 試験の日本側代表として参加し、同試験の成功に貢献し (NEJM,2011)、ついで 2012 年に開始された「リンパ脈管筋腫症に対するシロリムス投与の安全性に関する多施設共同治験－安全性を主要評価項目とした医師主導治験－ (Lymphangiomyomatosis Sirolimus Trial for Safety: MLSTS)」を実施し、シロリムスの薬事承認に繋がった。

LAM に対する薬事承認 (2014 年 12 月) 以来、結節性硬化症 (Tuberous Sclerosis Complex: TSC) の血管線維腫に対する外用 (2018 年 3 月) が承認された。現在、難治性リンパ管疾患、限局性皮膚異形成 II 型 (てんかん発作、進行性骨化性線維異形成症 (fibrodysplasia ossificans progressive: FOP) に対するシロリムスの有効性と安全性に関する無対照非盲検医師主導治験が進行中である。シロリムスをはじめとした mTOR 阻害剤の最大の有害事象は口内炎であり、QOL の障害となっている。

MLSTS の医師主導治験においても最も頻度が多かった有害事象は口内炎であり、63 例中 56 例 (88.9%) に発生した。 Kaplan-Meier 推定法によるシロリムス口内炎の累積発症率は、投与後 1 か月で 66.7%、3 か月で 83.2%、6 か月で 86.6% に達した。投与後 9 か月での累積推定値は 90.4% となり、最終的にシロリムス服薬者の 9 割以上に口内炎が発症すると推定された。シロリムス口内炎の罹患回数は平均 4.4 回で、63 例中 42 例 (66.7%、口内炎発症者 56 例中 75.0%) は 2 回以上発生する再発性のアフタ性口内炎であり、再発回数は 2 回から最大 20 回に及んでいた。

シロリムス口内炎の罹患期間は、50 日単位での人数の分布では 50 日以内が最も多く、口内炎発症者 56 例中 19 例 (33.9%) であったが、1 年以上の長期罹患者の累積人数も比較的多く、口内炎発症者 56 例中 23 例 (41.0%) に認められた。シロリムス口内炎は投与後最初の半年間で最も頻発し、それ以降は頻度が緩徐になる。他の有害事象も経時的に減少傾向を示していたが、口内炎に関しては、いずれに時期においても最も発症頻度が高かった。

シロリムス口内炎の臨床像の特徴として、従来の化学療法剤による口内炎とは明らかに異なる所見を呈することがあげられる。シロリムスの発症部位として、通常的口内炎好発部位である可動粘膜に加えて、舌下面や口腔底等、角化の少ない口腔粘膜部に多く発現する。形態的には卵円形で、潰瘍底が基底膜を超えないアフタ性口内炎に類似している。

口内炎に関する *in vitro* での基礎的研究として、患者から採取した口腔粘膜細胞を 7 継代から 8 継代まで細胞培養した。次いで同培養細胞上にシロリムスを添加し、培養細胞の反応を観察した。その結果、培養細胞の増殖/生存能は 50% 程度に抑制され、DNA 合成能は 20% 程度低下した。核の面積はシロリムス 0nM に比べ、10nM の方が有意に小さくなっていった。細胞の面積はシロリムス 0nM に比べ、0.1nM、1nM ならびに 10nM の方が有意に小さくなっていった。形態的検索として細胞形態を位相差顕微鏡下で観察したところ、シロリムス非存在下では口腔粘膜細胞は楕円形から紡錘形の付着細胞であるが、シロリムス存在下では小型紡錘形細胞の割合が増加した。表面抗原の検索として、シロリムス存在下および非存在下で培養した口腔粘膜細胞の E-cadherin、desmoglein の発現は、シロリムスの濃度が

高くなるにつれ、低下した。シロリムによる接着因子の低下が細胞の剥奪を惹起している可能性もある。シロリムスの副作用の一つとして、口渇があることから、唾液の減少と唾液内の EGF をはじめとする細胞増殖因子を介して、口腔粘膜細胞の剥奪や修復の遅れが加速する可能性もある。

## 4.2 研究デザイン

多施設/非対照/前向き観察研究

## 4.3 研究方法

プロジェクト 1：研究対象者には、服薬前と服薬後 3 週間は、連日、その後は週間日誌をつけてもらう。体温、体重、口渇感、口内炎の数と部位、痛み、対策（含嗽や軟膏塗布など）等について記載していただく。また、外来診察日に口内炎の部位、数、大きさ、形状、痛みなどをカルテに記載する。6-11 歳で日誌への記載が困難であると判断された場合は、家族が代理で記載することを認める。

プロジェクト 2：外来診察日は、①シロリムス服薬前（許容-14 日）、②服薬後 14 日（許容±3 日）、③28 日（許容±7 日）、④56 日（許容±10 日）、⑤84 日（許容±14 日）、⑥168 日（許容±28 日）とする。毎回、口腔内診査\*を行い、部位（口唇、口角、口腔前庭歯肉頬移行部、頬粘膜、舌背、舌側縁、舌下面、硬口蓋、軟口蓋）、大きさ（長径 5 mm 未満、5mm 以上～10 mm 未満、10 mm 以上）、出血（あり、なし）、境界（明瞭、不明瞭）、疼痛の（あり、なし）を口内炎所見用紙に記入する。

また、口内炎（口腔粘膜炎）全体のグレードを口内炎所見用紙に記録する（CTCAE）ver3.0、下記 Grade 分類）。

Grade 1: 症状がない、または軽度の症状; 治療を要さない

Grade 2: 経口摂取に支障がない中等度の疼痛または潰瘍; 食事の変更を要する

Grade 3: 高度の疼痛; 経口摂取に支障がある

Grade 4: 生命を脅かす; 緊急処置を要する

Grade 5: 死亡

なお口腔内診査の際は、医療用マスクならびにディスポーザブルグローブ（必要に応じて診察用フェイスガードもしくはゴーグル等）を装着の上、デンタルミラー、舌圧子、ペンライト、必要であれば、口角鉤（アングルワイダー）等を用いて、十分に口腔内の視野（明視野）を確保して行う。

\*注）一部の施設で口腔内写真の撮影を行う。

①③⑤⑥受診時に一定時間内の唾液を集めて計量した後、-80 度以下に冷凍保存し、新潟大学脳研究所腫瘍病態学分野に 1 例分まとめて送付する。唾液内の増殖因子（EGF, KGF 等）を定量する。

5 分間に採取できる唾液を全てサンプルチューブに吐いてもらい、チューブの目盛から唾液量を記載する。また、唾液を 1ml ディスポスポイトを用いて、タンパク分解酵素阻害剤入りバイアル 2 本に 1ml ずつ移す。

プロジェクト 3：①③受診日にオーセレックスブラシ®を用いて、上記口腔内の右側頬粘膜、舌下面粘膜、舌下小丘、下唇粘膜の 4 カ所より、粘膜細胞を擦過採取する。細胞は、それぞれ LBC プレップチューブに懸濁後、冷蔵保存(4°C)し、速やかに新潟大学医歯学総合病院高度医療開発センター先進医療開拓部門に送付する。同所で細胞診用プレパラートを作製し、蛍光免疫染色により採取した粘膜細胞の細胞面積と接着因子(E-Cadherin, Desmoglein 等)の発現強度を測定する。細胞の面積のヒストグラムを作成し、経時変化を解析する。また接着因子の発現の経時変化を計測する。

低年齢の患者から、唾液収集、粘膜細胞擦過採取などの協力が得られない場合は、無理のない範囲で実施し、場合によってはそのポイントは諦め、次のポイントでの実施を試みることに。

なお、粘膜細胞擦過採取について、③受診日に採取出来なかった場合は、④受診日に採取を実施すること。

OPCSS受診と検査スケジュール

週数	① ベース ライン	② 服用 開始	試験期間 (24週)				
			③ 2W	④ 4W	⑤ 8w	⑥ 12W	⑦ 24w
Visit	Visit0		Visit1	Visit2	Visit3	Visit4	Visit5
Day		0	14	28	56	84	168
許容範囲	-14days		±3days	±7days	±10days	±14days	±28days
文書同意	○						
口腔内診察・所見記入*1	○		○	○	○	○	○
CTCAEグレード判定	○		○	○	○	○	○
唾液採取*2	○			○		○	○
口腔粘膜細胞擦過採取*3	○			○			

\*1) 一部の施設で口腔内写真の撮影を行う。

\*2) ① ③ ⑤ ⑥受診時に一定時間内の唾液を集めて計量した後、タンパク分解酵素阻害剤入りバイアルに1ml ずつ2本とり、-80度に冷凍保存し、新潟大学脳研究所腫瘍病態学分野に送付する。唾液内の増殖因子 (EGF, KGF等) を定量する。

\*3) ① ③受診時にオーセレックスブラシ®を用いて、上記口腔内の右側頬粘膜、舌下面粘膜、舌下小丘、下唇粘膜より粘膜細胞を擦過採取する。細胞は、LBCプレップチューブに懸濁後、冷蔵保存(4°C)し、新潟大学医歯学総合病院高度医療開発センター先進医療開拓部門に送付する。

#### 4.3 予定対象者数

## 40 症例

### 4.4 研究期間

承認日 ～ 2025 年 3 月

### 4.5 統計解析

シロリムス口内炎の好発部位、口内炎グレード、疼痛スコア、発症時期、頻発時期、用量との関係、症状持続期間、口腔粘膜細胞の小型化と服薬日数の関係、口腔粘膜細胞の接着因子の発現と服薬日数の関係を解析し、単変量解析ならびに多変量解析により、各因子の関連性を知り、今後の予防・治療介入の基礎とする。その他詳細は別途作成する統計解析計画書に記載する。

## 5. 【研究対象者の選定方針】

### 5.1 選択基準

1. シロリムスを服用する成人（18 歳以上 80 歳以下）または 6 歳以上の小児で、本人または代諾者から文書による研究参加の同意が得られること。
2. 服薬・口内炎アンケートに協力してくれる患者
3. 過去にシロリムス及びエベロリムスの服用歴がある場合は、3 ヶ月以上服薬していないこと。
4. ①シロリムス服薬前（許容-14 日）、②服薬後 14 日（許容±3 日）、③服薬後 28 日（許容±7 日）、④56 日（許容±10 日）、⑤84 日（許容±14 日）、⑥168 日（許容±28 日）、に外来受診できる患者

注) 括弧内は、visit の allowance 日数

### 5.2 除外基準

1. その他医師が不適と判断した患者

## 6. 【研究の科学的合理性の根拠】

シロリムス内服により、口腔粘膜細胞の質的な変化が起こり、発症に至っていると予想されるが、疫学研究や上記の *in vitro* 研究だけでは、確証に至らない。服用後 3 ヶ月以内に 8 割の患者が口内炎を発症し、6 ヶ月を過ぎると、発症が減ることから、この間の臨床経過と唾液中の増殖因子などや粘膜細胞の形状や接着因子の発現を調べることにより、シロリムス服用初期の患者の口腔粘膜細胞や唾液の変化が一過性なのかどうかを知る必要がある。

## 7. 【インフォームド・コンセントを受ける手続き等】

研究担当者は、審査委員会で承認の得られた同意説明文書を研究対象者に渡し、文書及び口

頭による十分な説明を行い、研究対象者の自由意思による同意を文書で取得する。

研究担当者は、研究対象者の同意に影響を及ぼす情報が得られたときや、研究対象者の同意に影響を及ぼすような実施計画等の変更が行われるときは、速やかに研究対象者に情報提供し、研究に参加するか否かについて研究対象者の意思を予め確認するとともに、事前に審査委員会の承認を得て同意説明文書等の改訂を行い、研究対象者の再同意を得ることとする。

## 8. 【個人情報等の取り扱い】

研究責任者は、定められた保管方法に従って研究担当者等が情報等（研究に用いられる情報及び当該情報に係る資料）を正確なものにするよう指導し、情報等の漏えい、混交、盗難、紛失等が起こらないよう必要な管理を行う。

研究責任者は、研究に用いられる情報等については、可能な限り長期間保管し、少なくとも、当該研究の結果の最終の公表について報告された日から 5 年を経過した日までの期間、適切に保管する。

また、特定の個人を識別できる情報へ匿名化された情報について、本院が対応表を保有する場合には、対応表の保管についても同様とする。廃棄する際は、匿名化し個人情報に注意して行う。

## 9. 【研究対象者に生じる負担並びに予測されるリスク及び利益、これらの総合的評価並びに当該負担及びリスクを最小化する対策】

本研究で使用するデータは、日常診療範囲のデータと唾液と口腔内スワブであり、研究対象者に新たに生じるリスクや負担は非常に少ない。また、研究対象者が得られると予想される利益もない。

## 10. 【試料・情報（研究に用いられる情報に係る資料を含む。）の保管及び廃棄の方法】

本研究で他の研究機関に試料・情報を提供する場合には、研究機関の長に報告し匿名化した上で提供する。なお、本研究により得られた唾液や口の中の細胞などの検体は、研究終了後廃棄する。

## 11. 【研究機関の長への報告内容及び方法】

### (1) 進捗状況等の報告

研究責任者は、少なくとも年に 1 回、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機関の長に文書で報告する。

### (2) 重篤な有害事象の報告

研究責任者は、侵襲を伴う研究の実施において重篤な有害事象の発生を知った場合には、速やかにその旨を研究機関の長に報告する。

- (3) 研究の倫理的妥当性若しくは科学的合理性を損なう事実等の情報を得た場合  
研究責任者は、研究の倫理的妥当性若しくは科学的合理性を損なう事実若しくは情報又は損なうおそれのある情報であって研究の継続に影響を与えると考えられるものを得た場合には、遅滞なくその旨を研究機関の長に報告する。
- (4) 研究の実施の適正性若しくは研究結果の信頼を損なう事実等の情報を得た場合  
研究担当者は、研究の実施の適正性若しくは研究結果の信頼を損なう事実若しくは情報又は損なうおそれのある情報を得た場合には、速やかにその旨を研究機関の長に報告する。
- (5) 研究終了（中止の場合を含む、以下同じ。）の報告  
研究責任者は、研究を終了したときは、その旨及び研究の結果概要を文書により遅滞なくその旨を研究機関の長に報告する。
- (6) 研究に用いる試料及び情報の管理状況  
研究責任者は、人体から取得された試料及び情報等の保管について、必要な管理を行い、管理状況について研究機関の長に報告する。
- (7) 研究結果の公表の報告  
研究責任者は、結果の最終の公表を行ったときは、遅滞なく研究機関の長へ報告する。また、最終の公表を行ったとして報告した後に、研究結果の公表を行うこととなった場合は、速やかにその旨を研究機関の長に報告する。

## 12. 【研究の資金源等，研究機関の研究に係る利益相反及び個人の収益等，研究者等の研究に係る利益相反に関する状況】

### ①研究資金の調達方法

本研究は、ノーベルファーマ社が出資する学内共同研究費を研究資金として実施する。また、本研究の研究担当者は、「国立大学法人新潟大学利益相反マネジメント規定」にしたがって、利益相反審査委員会に必要事項を申告し、その審査と承認を得るものとする。

### ②利益相反自己申告書の提出の有無

- 利益相反マネジメント専門委員会へ提出済み  
 提出していない

## 13. 【研究に関する情報公開の方法】

本研究は、通常の診断や治療、検査を行い、その中で得られた診療情報を収集する観察研究であり、公開データベース等への研究の登録は行わない。研究の成果は、提供者本人やその家族の氏名などが明らかにならないようにして、学会発表や学術誌およびデータベース上で公表されることがある。

**14. 【研究対象者等及びその関係者からの相談等への対応】**

住所 〒951-8520 新潟県新潟市中央区旭町通 1 番町 754

電話番号 025-227-2029

所属 高度医療開発センター 氏名 中田 光

以下は該当・非該当をチェックし、該当する場合は詳細を記載すること。

**15. 【代諾者等からインフォームド・コンセントを受ける場合】**

■該当・□非該当 研究対象者が 6 歳以上 18 歳未満の小児の場合は代諾者より同意を得る。

**16. 【インフォームド・アセントを得る場合】**

□該当・■非該当

**17. 【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を実施しようとする場合】**

□該当・■非該当

**18. 【研究対象者等に経済的負担又は謝礼がある場合】**

■該当・□非該当 研究対象者に Q U O カード(3,000 円)を進呈

**19. 【軽微な侵襲を伴う研究の場合】**

■該当・□非該当 口腔内スワブを採取する点で、軽度の侵襲性ありとした。

**20. 【侵襲（軽微な侵襲を除く。）を伴う研究の場合】**

□該当・■非該当

**21. 【通常の診療を超える医療行為を伴う研究の場合】**

□該当・■非該当

**22. 【研究の実施に伴い、研究対象者の健康、子孫に受け継がれ得る遺伝的特徴等に関する重要な知見が得られる可能性がある場合】**

該当・非該当

23. 【研究に関する業務の一部を委託する場合】

該当・非該当 DOTワールド株式会社に研究事務局業務補助（研究分担施設との調整、資材発送等）を委託

24. 【取得された試料・情報の将来の使用の可能性】

該当・非該当

25. 【モニタリング・監査の実施手順】

該当・非該当