

厚生労働科学研究費補助金
(子ども家庭総合研究事業)

登録症例に基づく神経芽細胞腫マスキリーニングの
効果判定と医療体制の確立

平成16年度研究報告書 (1 / 2冊)

平成17年4月

主任研究者 檜山英三

**厚生労働科学研究費補助金
(子ども家庭総合研究事業)**

**神経芽細胞腫マスキリーニング効果判定と
医療体制に関する研究
平成16(2004)年度研究報告書**

厚生労働科学研究費補助金（子ども家庭総合研究事業）
登録症例に基づく神経芽細胞腫マスキリーニングの効果判定と医療体制の確立
平成16年度研究報告書

目 次

班員名簿

総括研究報告

| | |
|-------------------------------------|----|
| 登録症例に基づく神経芽細胞腫マスキリーニングの効果判定と医療体制の確立 | 1 |
| 主任研究者 檜山 英三 | |
| 平成16年度経過報告 | 13 |

分担研究報告

マスキリーニング発見例の後ろ向きコホート研究

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 神経芽細胞腫マスキリーニングの効果判定と医療体制に関する研究 | 31 |
| 分担研究者 杉本 徹 | |
| Involvement of reactive oxygen species and caspase activation in apoptosis of a neuroblastoma cell line, NB-39-nu, induced by retinoic acid or fenretinide | 37 |
| 林 富 | |
| 神経芽細胞腫マスキリーニング研究班—登録症例に基づく 神経芽細胞腫マスキリーニングの効果判定と医療体制の確立—に関する研究 | 43 |
| 福澤 正洋 他 | |

マスキリーニング症例の後ろ向き解析および前向き介入研究の構築

| | |
|----------------------------------------------------------------|----|
| 神経芽細胞腫マスキリーニングの適切な施行時期、 およびマスキリーニングの有効性検証のための前向き介入研究実施要綱の検討 | 47 |
| 赤澤 宏平 他 | |
| 多標的モデルによる神経芽細胞腫罹患過程に関する数理モデルの構築 | 55 |
| 大瀧 慈 | |

前向き介入研究

| | |
|------------------------------------------|----|
| I. 「前向き介入研究—マスキリーニングの実施時期変更の検討と評価」に関する研究 | |
| (1) 神経芽細胞腫：適切なマスキリーニングの時期はいつ？ | 61 |
| (2) 神経芽細胞腫：京都府における18か月児マスキリーニング | 64 |
| 澤田 淳 | |
| 大阪府における神経芽腫マスキリーニングシステム —これまでの実績とこれから— | 67 |
| 中山 雅弘 他 | |

マスキリーニング症例の腫瘍特性解析

| | |
|-------------------------------------|----|
| 登録症例に基づく神経芽細胞腫マスキリーニングの効果判定と医療体制の確立 | 73 |
| 中川原 章 | |

| | |
|----------------------------------------|---------|
| 6 ヶ月乳児マススクリーニングで発見される神経芽腫の生物学特徴..... | 77 |
| | 金子 安比古 |
| 予後不良神経芽腫の特異的腫瘍マーカーの検索ープロテオーム解析から | 81 |
| | 升島 努 他 |
| マススクリーニング症例の病理組織研究と腫瘍特性に関する研究 | |
| ー神経芽腫の組織型とその年齢分布、予後との関連性ー | 95 |
| | 浜崎 豊 |
| 神経芽細胞腫の網羅的遺伝子解析..... | 81 |
| | 檜山 英三 他 |
| 研究成果の刊行に関する一覧表..... | 105 |

厚生労働科学研究費補助金
(子ども家庭総合研究事業)

神経芽細胞腫マススクリーニング研究班
班員名簿

厚生労働科学研究費補助金 (子ども家庭総合研究事業)

班員名簿 [平成16年3月31日現在]

| 役職 | 氏名 | 所属 | 肩書 | 住所 | 備考 |
|-------|-------|--------------------------------|-----|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 主任研究者 | 楡山英三 | 広島大学自然科学研究支援開発センター | 教授 | 〒734-8551 広島県広島市南区霞1-2-3 Tel.082-257-5951 Fax.082-257-5416 eiso@hiroshima-u.ac.jp | |
| 分担研究者 | 澤田 淳 | 京都第二赤十字病院 | 院長 | 〒602-8026 京都府京都市上京区釜座通丸太 町上ル春帯町355-5 Tel.075-231-5171 Fax.075-256-3451 prawada@koto.kpu-m.ac.jp | |
| " | 杉本 徹 | 京都府立医科大学小児科 | 教授 | 〒602-8566 京都府京都市上京区河原町通広小 路上る梶井町465 Tel.075-251-5569 Fax.075-252-1399 tosugimo@koto.kpu-m.ac.jp | |
| " | 中山雅弘 | 大阪府立母子保健総合医療センター検査科 | 部長 | 〒594-1101 大阪府和泉市室堂町840 Tel.0725-56-1220 Fax.0725-56-1858 nkymmshr@mch.pref.osaka.jp | |
| " | 福澤正洋 | 大阪大学大学院医学系研究科小児発達医学 | 教授 | 〒565-0871 大阪府吹田市山田丘1-1 Tel.06-6879-3753 Fax.06-6879-3759 fukuzawa@ped surg.med.osaka-u.ac.jp | |
| " | 林 富 | 東北大学大学院医学系研究科小児医学講座 小児外科学分野 | 教授 | 〒980-8574 宮城県仙台市青葉区星陵町1-1 Tel.022-717-7237 Fax.022-717-7240 yhayashi@ped-surg.med.tohoku.ac.jp | |
| " | 赤澤宏平 | 新潟大学医学総合病院医療情報部 | 教授 | 〒951-8520 新潟県新潟市旭町通1-754 Tel.025-227-2471 Fax.025-227-0850 akazawa@med.niigata-u.ac.jp | |
| " | 大瀧 慈 | 広島大学原爆放射線医科学研究所 | 教授 | 〒734-8551 広島県広島市南区霞1-2-3 Tel.082-257-5852 Fax.082-256-7106 ohtaki@hiroshima-u.ac.jp | |
| " | 中川原章 | 千葉県がんセンター研究所 | 所長 | 〒260-8717 千葉県千葉市中央区仁戸名町666-2 Tel.043-264-5431 Fax.043-262-8680 akiranak@chiba-cc.jp | |
| " | 金子安比古 | 埼玉県立がんセンター研究室 | 室長 | 〒362-0806 埼玉県北足立郡伊奈町大字小室818 Tel.048-722-1111 Fax.048-723-5197 kaneko@cancer-c.pref.saitama.jp | |
| " | 升島 努 | 広島大学大学院医歯薬学総合研究科 | 教授 | 〒734-8551 広島県広島市南区霞1-2-3 Tel.082-257-5300 Fax.082-257-5304 tsutomu@hiroshima-u.ac.jp | |
| " | 浜崎 豊 | 静岡県立こども病院臨床病理科 | 医長 | 〒420-8660 静岡県静岡市漆山860 Tel.054-247-6251 Fax.054-247-6243 mhamasan@sch.pref.shizuoka.jp | |
| 研究協力者 | 秦 順一 | 国立成育医療センター | 所長 | 〒157-8535 東京都世田谷区大蔵2-10-1 Tel.03-3414-0181 Fax.03-3414-3100 jhata@nch.go.jp | |
| " | 成瀬 浩 | 日本公衆衛生協会スクリーニング精度管理センター | 施設長 | 〒355-0002 埼玉県東松山市東平656-1 Tel.0493-22-5639 Fax.0493-21-3732 hi_naruse@hkg.odn.ne.jp | |
| " | 田中丈夫 | 国立病院機構呉医療センター小児科 | 医長 | 〒737-0023 広島県呉市青山町3-1 Tel.0823-22-3111 Fax.0823-21-0478 ttanaka@kure-nh.go.jp | |
| " | 楡山桂子 | 広島大学原爆放射線医科学研究所 | 助教授 | 〒734-8551 広島県広島市南区霞1-2-3 Tel.082-257-5841 Fax.082-256-7105 khiyama@hiroshima-u.ac.jp | |

| | | | | | |
|---|--------|--------------------|------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|
| " | 高原裕夫 | 徳島大学病院小児外科・小児内視鏡外科 | 助教授 | 〒770-8503 徳島県徳島市蔵本2-50-1 Tel.088-633-7138 Fax.088-631-9698 takehara@clin.med.tokushima-u.ac.jp | |
| " | 佐々木文章 | 北海道大学小児外科小児内視鏡外科 | 教授 | 〒060-8638 北海道札幌市北区北15条西7丁目 Tel.011-706-7381 Fax.011-706-7384 sskfmk@med.hokudai.ac.jp | |
| " | 杉山正彦 | 東京大学医学部附属病院小児外科 | 助手 | 〒113-8655 東京都文京区本郷7-3-1 Tel.03-5800-8671 Fax.03-5800-5104 SUGIYAMA-psu@h.u-tokyo.ac.jp | |
| " | 近藤知史 | 名古屋市立大学大学院医学研究科 | 講師 | 〒467-0001 愛知県名古屋市中区瑞穂区瑞穂町川澄1番地 Tel.052-853-8231 Fax.052-853-6440 s.kondo@med.nagoya-cu.ac.jp | |
| " | 田尻達郎 | 九州大学大学院医学研究院 | 講師 | 〒812-8582 福岡県福岡市東区馬出3-1-1 Tel.092-642-5573 Fax.092-642-5580 taji@pedsurg.med.kyushu-u.ac.jp | |
| " | 山岡裕明 | 広島大学病院小児外科 | 助手 | 〒734-8551 広島県広島市南区霞1-2-3 Tel.082-257-5216 Fax.082-257-5219 yama2@hiroshima-u.ac.jp | |
| " | 西 基 | 北海道医療大学生命基礎科学講座 | 教授 | 〒061-0293 北海道石狩郡当別町金沢1757 Tel.0133-23-1211 Fax.0133-22-1835 motoi@hoku-iryo-u.ac.jp | |
| " | 藤田晃三 | 札幌市衛生研究所 | 所長 | 〒003-8505 北海道札幌市白石区菊水9条1丁目 Tel.011-841-7672 Fax.011-841-7073 kozo.fujita@city.sapporo.jp | |
| " | 浅見 直 | 新潟大学医学部小児科 | 助教授 | 〒951-8510 新潟県新潟市旭町通一丁目757 Tel.025-227-2222 Fax.025-227-0778 asamitds@medws1.med.niigata-u.ac.jp | |
| " | 小田辺なお子 | 新潟県保健衛生センター | 課長補佐 | 〒951-8680 新潟県新潟市川岸町2-11-11 Tel.025-267-6326 Fax.025-231-1051 kensa@nhsc.or.jp | |
| " | 三間屋純一 | 静岡県立子ども病院血液腫瘍科 | 部長 | 〒420-8660 静岡県静岡市漆山860 Tel.054-247-6251 Fax.054-247-6259 jmimaya@poppy.ocn.ne.jp | |
| " | 石山 洋 | 静岡県予防医学協会代謝異常等検査室 | 室長 | 〒421-1292 静岡県静岡市建徳1-3-43 Tel.054-277-3412 Fax.054-278-7717 ishiyama@shsa.net | |
| " | 沼田公介 | 大阪血清微生物研究所 | 室長 | 〒533-0024 大阪府大阪市東淀川区柴島2-2-20 Tel.06-6322-4531 Fax.06-6325-3387 numata.kosuke@osaka-kessel.co.jp | |

総括研究報告

－平成16年度研究－

登録症例に基づく神経芽細胞腫マススクリーニングの効果判定と 医療体制の確立

主任研究者 檜山英三 広島大学自然科学研究支援開発センター 教授
広島大学病院小児外科

研究要旨

神経芽腫マススクリーニング（以下マス）事業は、治療不要な腫瘍の過剰診断と死亡率の低下に関する一定の見解が得られていないことから休止が決定した。この事業の休止の条件として①本症の罹患と死亡の正確な把握、②マスの実施時期変更等、新たな検査方法の検討・評価、③本症による死亡の減少を目指した臨床診断と治療成績向上のための研究の推進と実施体制の確立、の三点について速やかに対応することが示された。そこで、本研究は、これらの課題に対応し、神経芽細胞腫のマスの効果判定および有効なマス事業の開発とこの腫瘍の臨床診断と治療成績向上を目的として開始した。①について日本小児外科学会、日本小児がん学会の登録例 5,010 例（マス発見例 2,443 例）を中心に後ろ向き研究を開始した。今年度は、1995 年までに発症し、予後・合併症の調査が終了した症例を集計、病理診断、腫瘍特性の検討を行った。多標的仮説に基づいた罹患過程の数理モデル化および罹患年齢に関するモンテカルロ数値実験による検討により、現実近似した 4 グループ（うち 1 つのグループは胎内で発生死亡）がみいだされ、病理学的検討でも、3 グループに分類できることを見いだした。現在、各症例の悪性度、腫瘍特性データとの相関では、6 ヶ月時にマスで発見された症例の約 10-20%がマスの恩恵を受けていたと考えられ、マス休止後にこれらが進行例として発見されることが推定された。②に対して、マスを継続、継続検討中の自治体を中心に、前向き研究の実施時期と方法について論議した。後向き研究の検討において、進行例の発生年齢、進行例での VMA / HVA の増加時期、予後良好例での減少時期から、16 ヶ月以降にマスを施行するのが適切であること示唆された。また、従来の生後 14 ヶ月、18 ヶ月マスのパイロットスタディの結果を解析し、過剰診断を最小限にすることを第一とし、生後 18 ヶ月で施行することにほぼ決した。現在、発生率が同等で、全数登録可能なマスを施行しない自治体を対照として選定し、サンプル数と観察期間、方法・精度管理、追跡調査方法などのプロトコル作成中である。③に対して、腫瘍特性解析から、リスク分類のガイドライン作成と、予後不良な腫瘍の新たな腫瘍マーカーの同定をめざしている。セントラルレビューによる病理診断に加え、凍結組織を用いた腫瘍特性（MYCN 遺伝子増幅、染色体欠失と増加、DNA 核型など）については有用な因子を選別する目的で、各因子の重み付けと、同一判定基準での解析体制の整備をめざし、DNA チップ法を導入して網羅的解析を施行した。さらに、予後不良例の新規マーカー探索として、カテコラミン代謝物の一斉分析法がほぼ確立でき、高分子タンパク質分析のための MALDI-TOF 分析も含め保存血清、尿を用いた特異的マーカーの探索を進めている。

Summary

In 2003, Japanese neuroblastoma mass-screening (MS) program was stopped due to the over diagnosis of the favorable tumors which spontaneously regress or mature and absence of convincing evidence for decrease of mortality. To stop this MS program, the following three issues were listed to be promptly settled: ① calculation of accurate morbidity and mortality rates of neuroblastoma, ② planning and evaluation of a new MS program scheduled at different timing, ③ promotion and establishment of studies on clinical diagnosis and treatment to decrease the mortality rate of neuroblastoma. To settle these three issues, this study project has been started. For the first issue, retrospective study has been begun using of 5,010 cases including 2,443 MS-detecting cases registered in Japanese Societies of Pediatric Surgeons and Pediatric Oncology. In this year, we used the cases who were diagnosed before 1995 and subsequently followed for 5 years. A mathematical model for neuroblastoma development using "target" theory in molecular biology, where we hypothesized existence of three target genes as follows: one pair of a tumor suppressor gene, one oncogene, and a gene switching to differentiation and Monte Carlo simulation study

for onset of neuroblastoma revealed that neuroblastoma cases could be divided into four groups including a fetal one which develops in early gestational age and lethal. In this model, favorable tumor consists of cells losing the function switching to normal differentiation. Histological classification of large number of tumors showed the existence of three groups consisting of a favorable one in infants and two unfavorable groups in elder children. MS program for 6-month old children is unlikely to be effective to detect unfavorable tumors earlier. To settle the second issue, we discussed the timing and protocol of MS in the prefectures where new MS program is going or will be going. Retrospective study on the ages when urinary VMA/HVA levels increase in the advanced cases and when these levels decrease in the favorable cases using the registered cases before MS program revealed that appropriate timing of MS should be after 16 months old. Pilot MS projects for 14- and 18-month-old children revealed that MS at 18 months is appropriate to reduce the over-diagnosis of favorable tumors. Now, we are preparing the protocol of the prospective MS study including sample size, observation period, accuracy management, and follow-up method selecting the control prefectures where no MS program will be performed. To settle the last issue, we estimated the biological characteristics of neuroblastomas to make up new guideline for risk assessment. Moreover, we also searched for the new tumor markers that detect only unfavorable tumors. We have found many prognosis-associated factors in neuroblastoma samples obtained during the periods of MS-project for 6-month-old children and are defining the prognosis-predicting weight for each factor. In this year, we applied the samples for genome-wide aberration study using SNPs Chips. Then, we will establish the unified guideline for risk assessment. To identify new specific tumor markers for unfavorable tumors, analytical method for detection of total catecholamine metabolites in urine and blood has been established. Using this method and the new MALDI-TOF/MS analysis for detection of protein markers, we will start to find new markers in reserved serum and urine samples.

| ＜分担研究者氏名・所属機関名及び所属機関における職名＞ | |
|-----------------------------|--------------------------------|
| 澤田 淳 | （京都第二赤十字病院院長） |
| 中山 雅弘 | （大阪府立母子保健総合医療センター検査部部長） |
| 杉本 徹 | （京都府立医科大学医学研究科小児発達医学教授） |
| 林 富 | （東北大学大学院医学系研究科小児医学講座小児外科学分野教授） |
| 福澤 正洋 | （大阪大学大学院医学系研究科小児発達医学教授） |
| 金子安比古 | （埼玉県立がんセンター研究室室長） |
| 中川原 章 | （千葉県立がんセンター研究所生化学研究部部長） |
| 升島 努 | （広島大学大学院医歯薬学総合研究科先進医療開発科学講座教授） |
| 赤澤 宏平 | （新潟大学医歯学総合病院医療情報部教授） |
| 大瀧 慈 | （広島大学原爆放射線医科学研究所計量生物研究分野教授） |
| 浜崎 豊 | （静岡県立こども病院臨床病理科医長） |

（以下マス）を行う事業（神経芽細胞腫検査事業）は、治療不要な腫瘍の過剰診断による不利益に加え、死亡率の低下に関する一定の見解が得られていないことから休止が決定した（神経芽細胞腫マスキリーニング検査のあり方に関する検討会報告書、平成15年7月30日）。この休止の条件として①本症の罹患と死亡の正確な把握、②マスの実施時期変更等、新たな検査方法の検討・評価、③本症による死亡の減少を目指した臨床診断と治療成績向上のための研究の推進と実施体制の確立、の三点について速やかに対応することが示された。そこで、本研究は、これらの課題に対応し、神経芽細胞腫のマスの効果判定および有効なマス事業の開発とこの腫瘍の臨床診断と治療成績向上を目的として開始された。①については、日本小児外科学会と日本小児がん学会で、長年継続してきた二つの登録を併せて後向き解析をする。②については、1才以降を対象とした新たなマス事業についての前向き研究を行う。③については、全国的なマス事業の基で得られた悪性度の異なるグループの腫瘍特性の解析結果から、それぞれの腫瘍グループの発生と経過を解明する。また、全国に凍結保存されている腫瘍サンプルおよび今後の検体をバンク化し、多くの予後関連因子に重み付けをして治療の層別化に向けたリスク分類のガイドラインを作成する。さらに、血清や尿中の新たな腫瘍マーカーの探索を行ない、神経芽細胞腫の診断技術・治療成績向上に寄与することを目的としている。

A. 研究目的

1985年以降、全国的に施行された生後6ヶ月の全ての乳児を対象とした尿による神経芽細胞腫のマスキリーニング

B. 研究方法

①後向きコホート解析：1979年から日本小児外科学会および日本小児がん学会に登録されてきた症例5010例（マス発見2443例）を対象に、病理所見や腫瘍特性を再評価後、発生頻度、治療法と予後の推移を再検討する。人口動態調査死亡票から得られる神経芽細胞腫による死亡例から各年度、各地域の登録率を算出し、全体数を推計後、統計学的にマスによる死亡数の減少効果を算定する。多標的仮説に基づいた罹患過程の数理モデル化・罹患年齢に関するモンテカルロ数値実験による検討結果と実際の発生数と予後との関連を検討し、より実際に近い神経芽細胞腫の発生モデルを提唱した。さらに、症例の検討から休止後の神経芽細胞腫の発生動向を推定し、公表する。また、数は少数であるが、最も予後不良なMYCN増幅を認める症例のマス発見例での検討を行った。

②前向き研究：対象年齢を変更しマス事業を継続・継続予定の京都、大阪、新潟、札幌、静岡、川崎などのマス施行群と、神経芽細胞腫の発生率が同等で、全数登録可能なマスを施行しない自治体を対照群とした前向き研究について、サンプル数と観察期間、マス施行時期、方法と精度管理、受診例および非受診例の追跡調査方法などの具体的プロトコルを作成し、綿密に自治体と連携、協議し、前向き研究を開始する。その前段階として、マス施行以前の症例から、それらの進行例の増加時期とVMA・HVAの増加してくる時期、予後良好例のVMA・HVAの減少時期などから、適切なマス施行時期の推定を行った。

③腫瘍特性解析：マス事業の基で得られた腫瘍検体の分子生物学的な腫瘍特性データを全国から集積し、追跡調査から得られる悪性度との関連性から、各因子に重みづけをして、悪性度を規定する因子を検討する。また、腫瘍組織の特性をマイクロアレイ、DNAチップ(SNPsアレイ)等の新しい解析法で、同一基準で一度に解析するシステムを構築し、施設間あるいは検査法間の差異を評価、再検討する。この際、後向き研究で追跡調査が終了した検体については連結不可能匿名化し、腫瘍バンク化した上で腫瘍特性を再検討し、本邦の神経芽細胞腫での腫瘍特性のリスク分類のガイドライン作成を行う。その前段階として、一番染色体単腕の数とMYCN増幅の有無が検索されている453例の神経芽腫を3群に分類し、年齢、マス発見例と臨床発見例、予後について解析し、マス発見例の予後良好例と将来進行例となりえた予後不良例の頻度について推察した。

また、血中・尿中のカテコラミン類のプロテオーム解析法を用いて、悪性度の高い腫瘍の特異的マーカー探索を行い、尿中VMA・HVAに替わる有効な腫瘍マーカーの検出を

めざした。

(倫理面への配慮)

患者データについては個人識別に関わる情報を除去したものを利用した。

C. 研究結果

①後向きコホート解析：二つの学会の登録症例を照合して得られた5010例（マス発見例2443例）のうち、1981年から1995年までの治療開始例で5年後の予後が追跡しえた約2500例のデータから多標的仮説に基づいた罹患過程の数理モデル化および罹患年齢に関するモンテカルロ数値実験による検討により、現実近似した4群に分けられ、1つは胎生期に発症し死亡する群で、実際には残りの3群が生後に発症する結果であった。病理学的検討では、神経芽細胞腫は3グループに分類され、前記の残りの3群にほぼ合致した。統計学的解析と病理所見の両面から、明らかに腫瘍の悪性度が異なるグループが分類され、これらの自然歴がある程度明らかになったことは、画期的結果であった。また、予後良好な腫瘍は生後18ヶ月頃までに発症することが示され、前向き研究に対して大きな示唆を与えた知見となった。

また、施設レベルでの後向き研究にて、生後6ヶ月のマス事業で発見された100症例の治療成績と腫瘍特性、さらに無治療経過観察のデータから、マス事業休止後のシミュレーションを行った。その結果、53%が休止にて発見されない過剰診断症例であったが、19%は臨床で発見される症例で、これらを含めた47%の症例は、1歳を超えて発見された場合60%以上が進行例と予想された。

乳児期神経芽腫プロトコルにて治療した症例で、MYCN増幅を認めた症例では、マス発見例がそれ以外の症例に比べ非進行例が多く、有意に予後良好であることが示された。

②前向き研究：施行時期を変えてマスを継続、継続検討中の自治体関係者等を交えて、実施時期と方法について論議した。従来の生後12ヶ月、14ヶ月、18ヶ月マスのパイロットスタディでの発見例を解析した結果、12ヶ月、14ヶ月では、明らかに予後良好な腫瘍が発見されており、後向き研究の結果も踏まえて、予後良好な腫瘍の過剰診断を最小限にすることを第一とし、生後18ヶ月で施行することに決した。統計学的に判定可能なサンプル数と観察期間、方法・精度管理、追跡調査方法などについて討議し、3年間でほぼ60万出生する地域を施行対象地域とし、後向き研究から発生率が同等で、全数登録可能なマスを施行しない自治体を対照群として選定し、北米のケベックの解析と同等の規模

で行うこととした。中央病理診断と凍結組織を用いた腫瘍特性解析を行う体制も整え、大阪では実際の運用が開始されて、インフォームドコンセントを得て腫瘍サンプルを得ている。現在、データセンターを選定する最終決定段階で、個人情報保護法と疫学解析の倫理指針に則って、18年度開始を目標に、プロトコル作成中である。

③腫瘍特性解析：予後不良例早期発見へのマスの効果判定のため、全国主要12施設での約1100例の腫瘍特性の分子生物学的データの集計を行った。測定法、判定基準の差異から、*MYCN* 遺伝子増幅、染色体欠失と増加、核型など集計困難な因子も少なくなく、凍結組織を用いた腫瘍特性解析にはDNAチップ（SNPsアレイ）法を導入し、少量の腫瘍DNAを用いた検査で、感度、精度からも同一判定基準でこれらが一度に解析できる方法を確立した。この手法を用いて後向きに保存されている腫瘍の特性を再評価し、追跡調査からの悪性度を用いて各因子に重み付けを行い、総合的に腫瘍特性を評価するリスク分類が進行中である。

453例の神経芽腫を予後良好なtype 1腫瘍（trisomy 1/*MYCN* コピー数正常）313例、予後不良なtype 3腫瘍（disomy 1/*MYCN* コピー数増幅）46例、両者の中間の予後を示すtype 2腫瘍（disomy 1/*MYCN* コピー数正常）89例に分類した。6ヶ月マス発見乳児と臨床的発見乳児type 1腫瘍の病期は臨床的発見年長児type 1腫瘍より早期で（ $P<0.0001$ と $P=0.0007$ ）、予後も良好であった（ $P<0.0001$ と $P=0.005$ ）。マス発見乳児type 2腫瘍の病期は臨床的発見乳児type 2腫瘍や臨床的発見年長児type 2腫瘍より早期で（ $P=0.06$ と $P<0.0001$ ）、予後は臨床的発見乳児type 2腫瘍や臨床的発見年長児type 2腫瘍より良好であった（ $P=0.014$ と $P<0.001$ ）。type 3腫瘍の病期は、どの臨床群においても進行期で、予後不良であった。マス発見type 1腫瘍の予後は極めて良好であり、その頻度は高い。一方、臨床的発見年長児type 1腫瘍の予後は中間であり、頻度は低く、その進行期腫瘍には1p-が高頻度に見られた。以上の所見から、マス発見腫瘍のごく一部は、マスにより発見されなければ、進行期年長児腫瘍として発見されることが推測された。マス発見type 2腫瘍の病期は早期であり、予後は良好である。一方、臨床的発見乳児および年長児type 2腫瘍の病期は進行期であり、予後は不良であった。この所見から、マスのターゲットとなる腫瘍はtype 2であることが予想される。これに対して、type 3腫瘍はどの年齢でも、どの発見方法でも進行期であり、予後は不良であった。type 2は6ヶ月マス発見腫瘍の10%を占め、これにマスで発見されなければ進展すると推測されるごく一部のtype 1腫瘍を加えると、マス発見腫瘍の10-15%が6ヶ月マスの恩恵を受けていた。

さらに、悪性度の高い腫瘍に特異的な新規マーカー検索、特に体液中のカテコラミン代謝系を中心とした解析法として、質量数に応じて分離するLC/MSによるカテコラミン代謝物の一斉分析系の確立、血液中のカテコラミン一斉分析の前処理濃縮法、分離法の確立、尿中カテコラミン一斉分析の前処理濃縮法、分離法の確立を行った。さらにMALDI-TOF質量分析法による高分子タンパク質検出法の確立をめざし、標準物質で検出感度の検証を行った。

D. 考察

過去20年近く継続された生後6ヶ月で施行された神経芽細胞腫検査事業は、過剰診断による不利益から、休止となり、社会的にも大きな問題であるが、今後、これらで得られた成果を治療が真に必要な神経芽細胞腫の診断と治療成績向上に結びつけることは、小児がんに携わってきたものの使命である。本年度、マス施行時期に診断された症例の発生頻度と予後の統計解析と病理所見の検討から神経芽細胞腫は3つのグループに分かれ、これらの自然歴がほぼ明らかになり、学術的にもこの腫瘍の成立に関して意義深い。これらは、臨床症例の動態ともほぼ一致し、6ヶ月マスによる診断症例の過半数が過剰診断例で、10-20%が恩恵を受けているという結果はほぼうなずける。3つのグループそれぞれの腫瘍特性を正確に評価し、それぞれのグループのリスク分類が可能となれば治療法選択への指針となり、臨床にきわめて有意義である。さらに、今後、数理モデルの標的に一致する遺伝子変化や遺伝子発現異常が同定できれば、この腫瘍の各グループの診断のみならず治療に直結する。また、従来の大規模な疫学研究から生後6ヶ月マス事業で死亡率の有意な低下がみられた報告から、時期を変更したマス事業の有効性も十分期待され、過剰診断を最小限にすることで社会的に受け入れられる事業になりうると考えられる。さらに、治療が必要な腫瘍に特異的な腫瘍マーカーが見出されれば、新たなスクリーニング法の開発だけでなく、臨床の場での診断や治療効果の判定に応用可能なマーカーとなる。特に、*MYCN*増幅例が乳児例の中でマス発見例が予後良好であったことも、予後不良例の早期発見の有効性を示唆している。予後不良例の新規マーカーの探索のため、本年度に開発したLS/MSを用いたカテコラミン代謝産物の量的な網羅的解析法は、尿中カテコラミン測定の標準法であるHPLCに変わりうる方法であり、今後のマーカー探索のみでなく、カテコラミン代謝物測定法の改良、精度管理にも結びつく有用な解析法として期待される。特に、予後不良な*MYCN* 遺伝子増幅例の6ヶ月マス発見例が予後良好であったことは、こうした予後不良例に特異的な

マーカーにてスクリーニングを行うことの有用性を示唆している。

社会的にも20年近く行われたこの事業を通じて得たこのかけがえのない貴重な症例の積み重ねとそれらから得られた腫瘍検体は、世界に類のない唯一無二の財産であり、これらのデータを集積して解析することで、この腫瘍を構成する特性の異なる各グループの発生と自然歴が解明可能である。そのために、腫瘍検体のバンク化と腫瘍特性解析法の標準化が必須であり、それらから学術的・社会的に得られる成果は計り知れない。すなわち、生後6ヶ月マス事業のデータを基にした前向き研究で新たなマス事業の有効性を実証し実行すること、あるいは新たな分子マーカーの発見や腫瘍のリスク分類のガイドラインを提唱し、本腫瘍の診断・治療向上に貢献することの社会的意義はきわめて大きい。

一旦休止となった神経芽細胞腫検査事業であるが、この事業の成果は未だ十分に明らかにされていない。本年度の100例の6ヶ月マス発見例の検討では、半数が過剰診断であったが、20%は明らかに臨床で発見されうる症例であり、これらは今後進行例とし見出される可能性が高い。これは、1番染色体単脱とMYCN増幅からの腫瘍特性分類の検討で6ヶ月マスの恩恵をこうむった症例10-15%にほぼ一致し、興味ある知見である。さらに、残りの30%は、予後良好でありながら、進行例となって臨床症状を呈して診断される可能性もあり、こうした症例にどのような治療をなすべきかの結論は得られていない。このように、本研究にて、マス施行中のマス発見例に臨床診断例を加えた全症例の約80%について詳細に検討することで、従来の生後6ヶ月マス事業の妥当性と成果が正しく評価できる。過剰診断等の問題はあったが、20年近く全国的に継続されたこの事業によって、自然に分化・退縮するグループから予後不良なグループまでの症例が数多く登録され、1,000を超える腫瘍検体が保存されたことは貴重な財産である。これらを詳細に解析することで、この腫瘍の自然歴や新たな特性が詳細に解明されうると考えられ、予後予測可能なリスク分類のガイドライン作成は、治療法の選別と予後向上につながる。また、多くの研究者に利用可能な腫瘍バンクとすれば、本邦から世界に向け多くの知見が発信され得る。こうしたデータを基に、腫瘍特性から治療が必要な悪性度の高い腫瘍のみを正しく分別し、それらの早期発見をめざした新たなマススクリーニング事業を展開し、また、新たな治療法を開発することは、神経芽細胞腫全体としての治療成績の向上につながる。従来のマス事業の反省とともに、この事業で得られたエビデンスを正しく評価することで、初めて国民

に納得が得られる成果が示せる。

現在、世界的にも神経芽細胞腫のリスク分類を行うべくワーキングが活発に行われており、本事業はこれらへの大きな科学的根拠を与えうる研究事業であることに間違いはない。

さらに、悪性度の高い腫瘍に特異的な新規マーカー検索を目的に、特に体液中のカテコラミン代謝系を中心とした解析法として、LC/MSによるカテコラミン代謝物の一斉分析系を確立した。この方法は、簡便で将来のマスへの応用も視野にいれた開発であり、今後、保存血清、尿を用いて悪性度の高い腫瘍の特異的なマーカー探索に応用できる。また、MALDI-TOF質量分析法による高分子タンパク質検出法の確立により高分子タンパク質複合体の検出の可能性も示しており、将来はプロテインチップや組織マッピングへの利用が可能である。さらに、高分子タンパク質の一斉解析が可能となれば、病態解析や人工ワクチンのためのプロファイリング技術などへの応用が考えられる。

こうした腫瘍特性の鍵を握る遺伝子変化の解明と悪性度の高い腫瘍に特異的なマーカーの検出は、腫瘍の個性である悪性度から治療法を選択する個別化医療につながり、神経芽細胞腫の新たな治療戦略が構築される。

E. 結論

①後向きコホート解析：1998年までに発症し、予後・合併症の調査が終了した3,288例（マス発見1,681例）は、厚生労働省報告の症例数のほぼ80%を占め、ほぼ満足いく登録数であった。現在、予後調査、病理診断、腫瘍特性の再調査中であり、また、人口動態調査死亡票の神経芽細胞腫死亡例から年度、地域毎の登録率を算出し、統計学的に全数を推計すべく死亡票閲覧許可を申請したが、現在交付待機中で、来年度以降の解析予定となった。統計学的推計ならびに病理所見の検討から、大きく3つのグループの存在が明らかになり、達成度としては、詳細な数値と登録率からの全数推計を除いて、ほぼ目標に達した。さらに現在、1998年までに治療を開始した症例の蓄積と、各症例の悪性度・予後と腫瘍特性データとの関連や医療費、合併症、QOLを含めたコストベネフィットの面からの解析を施行中である。また、多標的仮説に基づいた罹患過程の数理モデル化が、かなり実際の発生数の分布や病理結果と相関していることから、これらの標的となる遺伝子変化を探索する新たな目標がみいだされた。

②前向き研究：施行時期を変えたマス事業の継続、継続予定の自治体を対象に、過剰診断防止、有意な死亡率減少とコストベネフィットからの効果判定を行うべく、施行時

期、方法などプロトコルを検討してきた。最も大きな問題である施行時期は、できうる限り統一を計るべく入念に討議し、パイロットスタディ等の解析と後向き研究から、新たなマスの施行時期としては生後 18 ヶ月が妥当と結論した。さらに、マス施行やマス発見例のインフォームドコンセントの取得法、治療法の統一化などの問題が解決に至っておらず、症例を登録するデータセンターの準備はほぼ終了したが、当初の 17 年度開始は困難で、18 年度からの前向きスタディ開始へと目標変更した。

③腫瘍特性解析：マスによる予後良好例の発見状況、予後不良例早期発見への効果判定のため、全国各施設での腫瘍特性解析データの集計を行い、1,000 例を超えるデータを得ることができたが、それぞれの施設が独自の方法与判定基準を用いていることから、多くの因子を同時に同じ判定基準で再検討する方法として SNPs アレイ解析法を確立した。現在、後向き登録症例うち 1,200 例以上の凍結保存腫瘍が把握され、本邦ならではの腫瘍バンク設立が可能となり、SNPs アレイ解析法を多施設のデータの再評価に用いている。さらに、尿中、血中のカテコラミン代謝物を含めた低分子マーカーの LC/MS による網羅的検出法は、当初の目的とした悪性度の高い腫瘍の特異的マーカーを探索に向け、有用なツールであり、臨床サンプルにて解析中である。

F. 健康危険情報

特記すべき事項になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Hiyama E, and Hiyama K. Telomerase detection in the diagnosis and prognosis of cancer. *Cytotechnology*, 45: 61-74, 2005.
- 2) Shay JW, Hiyama K, Hiyama E. Telomerase and Lung Cancer. In: HI Pass, DP Carbone, DH Johnson, JD Minna, AT Turrisi III (eds.), *Lung Cancer: Principles and Practice*. 3rd ed. Vol.1 pp.160-171 Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA, USA, 2005.
- 3) Kumazaki, T., Hiyama, K., Takahashi, T., Omatsu, H., Tanimoto, K., Noguchi, T., Hiyama E., Mitsui, Y., Nishiyama, M. Differential gene expressions during immortalization of normal human fibroblasts and endothelial cells transfected with human telomerase reverse transcriptase gene. *Int J Oncol*, 24: 1435-1442, 2004
- 4) Hiyama E., Hiyama K., Yamaoka H., Sueda T., Reynolds C. P., Yokoyama T. Expression profiling of

favorable and unfavorable neuroblastomas. *Pediatr Surg Int*, 20: 33-38, 2004.

- 5) Hiyama E., Yamaoka, H., Matsunaga, T., Hayashi, Y., Hayashi, Y., Ando, H., Suita, S., Horie, H., Kaneko, M., Sasaki, F., Hashizume, K., Nakagawara, A., Ohnuma, N., Yokoyama, T. High expression of telomerase is an independent prognostic indicator of poor outcome in hepatoblastoma. *Br J Cancer*, 91: 972-979, 2004.
- 6) Morimoto K, Wakayama A, Yoshimine T, Nakayama M. High-grade cord tumor with cerebellar and retroperitoneal extension. *Pediatric Neurosurgery* 2004;40 : 149-50
- 7) Osone S, Hosoi H, Kuwahara Y, Matsumoto Y, Iehara T, Sugimoto T. Fenretinide induces sustained-activation of JNK/p38 MAPK and apoptosis in a reactive oxygen species-dependent manner in neuroblastoma cells. *Int J Cancer*.112 219-224, 2004
- 8) Nakagawara A. Molecular and developmental biology of neuroblastoma. In *Neuroblastoma*, Eds. S. Cohn & N-K. Cheung, 2005, Springer-Verlag, Heidelberg, in press
- 9) Abe M, Ohira M, Kaneda A, Yagi Y, Yamamoto S, Kitano Y, Takato T, Nakagawara A, Ushijima T. CpG island methylator phenotype is a strong determinant of poor prognosis in neuroblastomas. *Cancer Res*. in press
- 10) Ohira M, Oba S, Nakamura Y, Hirata T, Ishii S, Nakagawara A. A review of DNA microarray analysis of human neuroblastomas. *Cancer Lett*. in press
- 11) Ozaki T, Hosoda M, Miyazaki K, Hayashi S, Watanabe K, Nakagawa T, Nakagawara A. Functional implication of p73 protein stability in neuronal cell survival and death. *Cancer Lett*. in press
- 12) Ohira M, Oba S, Nakamura Y, Isogai E, Kaneko S, Nakagawa A, Hirata T, Kubo H, Goto T, Yama-da S, Yoshida Y, Fuchioka M, Ishii S, Nakagawara A. Expression profiling using a tumor-specific cDNA microarray predicts the prognosis of intermediate-risk neuroblastomas. *Cancer Cell*, in press
- 13) Nakagawara A. Neural crest development and neuroblastoma: the genetic and biological link. In *NGF and Related Molecules in Health and Disease*, Ed. By Luigi Aloe and Laura Calza, Progress in Brain

- Research Vol. 146, 2004, Elsevier Science Publisher, pp233-242.
- 14) Nakagawara A, Ohira M. Comprehensive genomics linking between neural development and cancer: Neuroblastoma as a model. In Special Issue: Neural development and cancer. *Cancer Lett.* 204:223-224, 2004.
 - 15) Miyazaki K, Fujita T, Ozaki T, Kato C, Kurose Y, Sakamoto M, Kato S, Goto T, Itoyama Y, Aoki M, Nakagawara A. NEDL1, a novel ubiquitin-protein isopeptide ligase for Dishevelled-1, targets mutant superoxide dismutase-1. *J. Biol. Chem.* 279: 11327-11335, 2004.
 - 16) Hamano S, Ohira M, Isogai E, Nakada K, Nakagawara A. Identification of novel human neuronal leucine-rich repeat (hNLRR) family genes and inverse association of expression of Nbla10449/hNLRR-1 and Nbla10677/hNLRR-3 with the prognosis of primary neuroblastomas. *Int. J. Oncol.* 24:1457-1466, 2004
 - 17) Ohtori S, Isogai E, Hasue F, Ozaki T, Nakamura Y, Nakagawara A, Koseki H, Yuasa S, Hanaoka E, Shinbo J, Yamamoto T, Chiba H, Yamazaki M, Moriya H, Sakiyama S. Reduced inflammatory pain in mice deficient in the differential screening-selected gene abrrative in neuroblastoma. *Mol. Cell. Neurosci.* 25:504-514, 2004.
 - 18) Wang YQ, Seimiya M, Kawamura K, Yu L, Ogi T, Takenaga K, Shishikura T, Nakagawara A, Sakiyama S, Tagawa M and O-Wang J. Elevated expression of DNA polymerase K in human lung canceris associated with p53 inactivation: negative regulation of POLK promoter activity by p53. *Int. J. Oncol.* 25:161-165, 2004.
 - 19) Ando K, Ozaki T, Yamamoto H, Furuya K, Hosoda M, Hayashi S, Fukuzawa M, Nakagawara A. Polo-like kinase 1 (Plk1) inhibits p53 function by physical interaction and phosphorylation. *J. Biol. Chem.* 279:25549-25561, 2004.
 - 20) Takahashi M, Ozaki T, Todo S, Nakagawara A. Decreased expression of the candidate tumor suppressor gene ING1 is associated with poor prognosis in advanced neuroblastomas. *Oncol Rep.* 12:811-816, 2004.
 - 21) Kato C, Miyazaki K, Nakagawa A, Ohira M, Nakamura Y, Ozaki T, Imai T, Nakagawara A. Low expression of human tubulin tyrosine ligase and suppressed tubulin tyrosination/detyrosination cycle are associated with impaired neuronal differentiation in neuroblastomas with poor prognosis. *Int. J. Cancer* 112:365-375, 2004.
 - 22) Yamakawa T, Toyabe S, Cao P, Akazawa K. Web-based delivery of medical multimedia contents using an MPEG-4 system. *Comput Meth Prog Bio* 75(3): 259-264, 2004.
 - 23) Arcana M., Ohtaki M.: Multi-target Models and their Application to Data Analysis, *Hiroshima J. Med. Sci.*, in press
 - 24) 檜山英三、金子道夫、家原知子：抗がん剤使用ガイドライン：神経芽腫。 *がん治療学会誌*, in press
 - 25) 澤田淳、家原知子、松本良文、細井創、杉本徹：神経芽腫マス・スクリーニングー過去と現在ー日本のマススクリーニングが示したのもの。 *小児内科* 36:1928-1932, 2004
 - 26) 細井創、家原知子、松本良文、杉本徹、澤田淳：神経芽細胞腫マス・スクリーニングの成果と問題点。 *日本がん検診・診断学会誌*, 11:65-70, 2004.
 - 27) 田中丈夫、家原知子、細井創、杉本徹、水田祥代、澤田淳。生物学的指標によるマス・スクリーニング発見神経芽腫の腫瘍進展リスクの評価。 *小児がん* 第41巻第1号：76-80, 2004
 - 28) 細井創、家原知子、松本良文、杉本徹、澤田淳。神経芽細胞腫マス・スクリーニングの成果と問題点、マス休止にあたり、文献的考察。 *日本がん検診・診断学会誌* 11 68-73, 2004
 - 29) 杉本徹、家原知子、細井創、澤田淳。神経芽腫の早期発見・治療と子どものQOL: 休止となった神経芽腫マス・スクリーニングの成果と問題点。 *京母衛誌* 第12巻9-12, 2004
 - 30) 福澤正洋：小児悪性腫瘍の治療戦略。 *外科* 66：428-435、2004
 - 31) 鳥谷部真一、赤澤宏平。医療支援のためのデータ分析・評価。 *医療情報* (医療情報システム編)、日本医療情報学会・篠原出版社、東京、pp222-229、2004.
 - 32) 浜崎豊、小林庸次、中山雅弘、田中祐吉：神経節腫の減少についてーマススクリーニング発見神経芽腫摘出の影響かー *小児がん* 2003:40:182-185

2. 学会発表

- 1) Hiyama E, Kobayashi T, Kojima K, Hiyama K, Nishiyama M, Shay JW. Telomere-binding proteins and genome-wide transcriptome in human cancers with high and low telomerase activity. AACR Special Conference in Cancer Research: The Role of Telomeres and Telomerase in Cancer. November 3-7, 2004, San Francisco, California, USA.
- 2) Hiyama K, Nishiyama M, Nouguchi T, Ohataki M, Otani K, Satoh K, Tanimoto K, Hiyama E. Differential expression profiles in cancer-derived immortal cells and in vitro immortalized cells. AACR Special Conference in Cancer Research: The Role of Telomeres and Telomerase in Cancer. November 3-7, 2004, San Francisco, California, USA.
- 3) Hiyama E, Hiyama K, Kobayashi T, Yamaoka H, Nishiyama M, Sueda T, Reynolds CP. Gene expression profiling of neuroblastoma cell lines treated identifies genes upregulated by retinoic acid that are overexpressed in favorable neuroblastoma primary tumors. Advanced in Neuroblastoma 11th Conference, June 16-19, 2004, Genova, Italy
- 4) Hiyama E, Hiyama K, Kobayashi T, Yamaoka H, Nishiyama M, Sueda T, Shay JW., Reynolds CP. Gene expression profiles and telomerase repression during differentiation of neuroblastoma cells induced by retinoic acid. 95th annual meeting of AACR, March 27-31, 2004, Orlando, Florida, USA.
- 5) Gotoh T, Hosoi H, Kuwahara Y, Osone S, Tsuchiya K, Iehara T, Kuroda H, Sugimoto T. Prediction of MYCN amplification in neuroblastoma using serum DNA and real-time quantitative PCR. Advances in Neuroblastoma Research, 16th-19th June 2004, Genova, Italy, 2004
- 6) Sugimoto T, Iehara T, Hosoi H, Hamazaki M, Tanaka T, Tajiri T, Kaneko M, Sawada T. Treatment and prognostic factors of neuroblastoma in under 1-year-old infants in Japan. Advances in Neuroblastoma Research, 16th-19th June 2004, Genova, Italy, 2004
- 7) Iehara T, Hamazaki M, Tanaka T, Hosoi H, Kaneko M, Sugimoto T, Sawada T. Infantile Dumbbell-type neuroblastoma. Advances in Neuroblastoma Research, 16th-19th June 2004, Genova, Italy, 2004
- 8) Kikuchi K, Iehara T, Tanda K, Tuji K, Tuchiya K, Hosoi H, Tokiwa K, Iwai N, Sugimoto T. Localized neuroblastoma with MYCN amplification in infants. A report of 3 cases. Advances in Neuroblastoma Research, 16th-19th June 2004, Genova, Italy, 2004
- 9) Tanaka T, Iehara T, Sugimoto T, Hamazaki M, Teramukai S, Tsuchida Y, Kaneko M, Sawada T. Multivariate evaluation for heterogeneous neuroblastomas: the discrimination of progressing risk tumors detected clinically and through infantile mass-screening program. Advances in Neuroblastoma Research, 16th-19th June 2004, Genova, Italy, 2004
- 10) Osone S, Hosoi H, Kuwahara Y, Matsumoto Y, Iehara T, Sugimoto T. Fenretinide induces sustained-activation of JNK/p38 MAPK and apoptosis in a reactive oxygen species-dependent manner in neuroblastoma cells. Advances in Neuroblastoma Research, 16th-19th June 2004, Genova, Italy, 2004
- 11) Yoneda A, Kusafuka T, Kuroda S, Soh H, Fukuzawa M. Laparoscopic total tumor excision, a suitable surgical option for neuroblastomas detected through mass-screening and observed by wait-and-see policy. 第41回日本小児外科学会総会, 2004.6.2-4
- 12) 檜山英三, 山岡裕明, 末田泰二郎, 西村真一郎, 小林正夫, 檜山桂子: マイクロアレイからみた神経芽細胞腫の病態探索 第41回日本小児がん学会, 京都, 2004.11.21-22.
- 13) 山岡裕明, 檜山英三, 宮河真一郎, 佐藤貴, 西村真一郎, 小林正夫: 小児固形腫瘍再発症例の外科治療の検討. 第41回日本小児がん学会, 京都, 2004.11.21-22.
- 14) 檜山英三: 特別発現. 神経芽腫マスキリーニング休止後を考える. 第41回日本小児がん学会, 京都, 2004.11.21-22.
- 15) 檜山英三, 小林健, 檜山桂子, 西山正彦, C. Patrik Reynolds, Jerry W. Shay マイクロアレイによる神経芽細胞腫分化誘導における遺伝子発現解析と臨床応用. 第63回日本癌学会総会, 福岡 2004.9.29-10.1
- 16) 中村 潤, 吉田茂彦, 石井智浩, 天江新太郎, 和田基, 西 功太郎, 林 富: 当科における神経芽腫129例の検討. 第41回日本小児外科学会総会, 大阪, 2004.6.2-4.
- 17) 渡辺直樹, 中舘尚也, 恒松由記子, 金子安比古: 神経芽腫の ploidy 異常と中心体異常. 第46回日本人類遺伝学会. 2004.10 東京
- 18) 長谷川朝美, 青木悠里, 久保田耕司, 升島努, 檜山英三, 前田昌子: 神経芽細胞腫診断のための新規マーカーの

検索．日本薬学会第 125 年会，東京：2005.3.29. ～ 31.

- 19) 久保田耕司，杉山礼隆，守田弘之，青木悠里，長谷川朝美，升島努，檜山英三：LC-MS によるマススクリーニングのための尿中カテコールアミン類の分析法の開発．日本薬学会第 125 年会．東京：2005.3.29 ～ 31.
- 20) 長谷川朝美，青木悠里，久保田耕司，升島努，檜山英三，前田昌子：LC-MS による神経芽細胞腫の新マーカー探索．日本薬学会第 125 年会，東京：2005.3.29. ～ 31.
- 21) 升島努，檜山英三，前田昌子：LC-MS による神経芽細胞腫の新マーカー探索．日本薬学会第 125 年会，東京：2005.3.29. ～ 31.
- 22) 浜崎 豊，岸本宏志，田中祐吉，山本圭子：神経芽腫の予後．とくに DNA 倍数体解析によるタイプ分類および組織型との関連性．第 20 回日本小児がん学会発表 平成 16 年 11 月，京都
- 23) 浜崎 豊，小林庸次，中山雅弘，田中祐吉，岸本宏志，山本圭子，家原知子，杉本 徹：神経芽腫の組織型とその年齢分布．第二回檜山班会議，平成 17 年 1 月，大阪

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許出願
 - 1) 赤澤宏平，齊藤昌也．匿名化プログラムおよび匿名化方法（特許 2002-347135, 出願中）
 - 2) 松戸隆之，赤澤宏平，鳥谷部真一．Poisson ノイズを含む画像からノイズを除去するアルゴリズムの開発（特願 2005-003130）
2. 実用新案登録

特になし。
3. その他

特記すべきことなし。

研究班平成 16 年度経過報告

研究班平成16年度経過報告

第1回班会議

日時：平成16年7月29日（木）
 場所：砂防会館 本館5階 最上
 住所 東京都千代田区平河町2-7-5（本館）
 TEL03-3261-8386（代表）
 最寄駅 地下鉄永田町駅（有楽町線・半蔵門線・南北線）4
 番出口 徒歩1分
<http://www.sabo.or.jp/map.htm>
 時間：13:00～17:00

出席者：檜山英三、澤田淳、杉本徹、家原知子、米田光宏、中山雅弘、竹島清美、中川原章、金子安比古、升島努、大瀧慈、浜崎豊、成瀬浩、鈴木恵美子、田中丈夫、堀川洋子、西基、花井潤師、小田辺なお子、三間屋純一、石山洋、沼田公介、山岡裕明、柏木知子（厚生労働省母子保健課）、以上24名

班会議開催にあたって 檜山主任研究者より、本研究班の申請から、その後の厚生労働省との対応、経緯について報告され、15年度のマス休止に伴う条件として

1. 神経芽細胞腫の罹患と死亡の正確な把握
 2. 神経芽細胞腫マスキリングの実施時期変更等、新たな検査方法の検討と評価
 3. 神経芽細胞腫による死亡の減少を目指した、臨床診断と治療の向上のための研究の推進と実施体制の確立
- の課題を克服すべく、本研究班を立ち上げる旨説明された。

そのために、以下の3本の調査研究を行うことを説明した。

実際の研究計画、方法について示され、以下のごとく論議された。

①後ろ向きコホート解析

1979年から小児外科学会悪性腫瘍委員会に登録されている神経芽腫群症例5,100例（うちマス発見例2,494例）を中心に、一部小児がん学会神経芽腫委員会の登録データも加えて解析する。これらのうち追跡調査を行えた症例について、死亡例を死亡票と照らし合わせ、死亡統計から得られる神経芽腫による死亡数から各年度の登録率を算定し、統計学的処理にてマスによる死亡数の減少効果を算定する。発見症例の増加率、それらへ医療、予後、

合併症も検討し、コストベネフィットからのマスの効果を可能な限り後ろ向きに評価する。

家原先生から、小児がん学会神経芽腫委員会での集計データが示され、その予後解析が以前の久繁班で行われたことを報告された。マスキリング症例は、きわめて予後が良好であること、一部に予後不良症例があることが示された。また、同時期の乳児期の臨床で見つかった症例は、VMA、HVAが決して低くなく、むしろ高いことが報告された。

一方、これらの結果から、平成16年度以降、マス休止に伴う神経芽細胞腫の発生動向を推定するとともに、登録率、登録症例の質ともに良好な地域を選別し、前向き研究の材料とする。一方、米国との同時期、同程度の治療での成績と比較し、16年度中には、後ろ向きの疫学調査をほぼ終了し、公表する。また、マスで発見される腫瘍のどの程度が治療が必要な腫瘍であったかを検討し、マス休止後の神経芽細胞腫の発生状況をシミュレーションし、実際の発生動向と比較検討する。これらにも、疫学、統計学グループによる詳細な検討を加えることが論議された。

②前向き介入研究：マスキリングを継続する地域と休止する地域の比較検討

本年度から、検査時期を変更して神経芽細胞腫マスキリングが継続される自治体として札幌市、新潟県、静岡県、京都府、大阪府が予定されている。これらの年間の出生数はおおよそ20万人であり、これと同等で登録率の高い地域を対照として選定し、前向きの介入研究を行う。

マスキリングの効果判定には、以前のケベック（約50万人）のデータ以上のマスが必要と考えられ、最低3年間程度の出生を対象としなくてはならない。これらを5年経過観察したとすると8年の研究となる。まず、マスキリングの施行時期をできるだけ同じ時期とし、マスキリングの検査判定基準の均一化とマスキリングのデータを電子化し、さらに対照地域を含めて質の高い登録と追跡を行うシステム作りを行う。対象地域の選定には過去の悪性腫瘍登録から、登録率が高く、移動しても補足しやすい自治体を選ぶこととする。スタディのデザインを疫学・統計グループにより、こと細かく検討し、その計画に沿って可能な限り各地区の

データセンターとなる箇所を選定し、検査センターと連携し確実な登録と症例追跡を行う。

③神経芽腫の腫瘍特性の解析：

腫瘍組織が凍結保存されている症例が、全国で1000例を超えると考えられ、これらの症例のうちマスキリーニング陽性例で退縮分化したもの、同年齢で再発したもの、臨床発見例で予後不良なものなど、臨床データから分類し、同一施設で同一の検査法にて、組織型の分類とともにこれらの生物学時特性（MYCN増幅、一番染色体単腕欠失、DNA核型、NTRK1発現など）を測定し、悪性度、再発危険度、あるいは予後を予測する有効なマーカーを選別する。米国COGのデータとも比較検討し、腫瘍特性からもマスの効果判定を行う。さらに病期別、診断時年齢別に検討し、血清学的診断も含めて臨床応用可能なマーカーを決定する。これらの検討に、遺伝子増幅、発現などの網羅的解析、染色体分析研究に秀でた施設に試料を集積して行い、施設間あるいは検査法の違いによるバイアスをできるだけ除く。得られたマーカーを、今後、同意を得て組織あるいは血清を採取しえた前向き症例に応用し、治療法選択の一要素とし、予後予測を行い、追跡調査を行い、これらのマーカーの有用性を検証する。

特に、予後不良症例では、保存されている診断時の血清を用いて、腫瘍組織のマスキリーニング検査などで得られた発現上昇遺伝子の遺伝子産物、あるいはプロテオームで検出された異常蛋白にて選別可能か否かを検討し、こうした症例の早期発見と治療法開発につながる結果を得る。

総括：

後向き調査での結果との前向き介入研究の結果を比較検討、後ろ向き検査で予測された概数との比較を行い、後向き調査の妥当性ととも、前向き調査にてマスの効果判定を行う。さらに、マス休止後の発見例の中で、分化退縮する腫瘍の分別、さらに予後不良でより早期から濃厚治療が必要な腫瘍の分別のガイドラインを作製する。さらに、マスの再開の是非、再開するとすれば適切なマス施行年齢を示唆するエビデンスを示し、予後不良例の早期発見法、治療法の開発を通じて神経芽細胞腫治療成績向上をめざし、本邦のみならず、世界に結果を公表する。

研究成果発表：

1. 班会議開催にあたって

檜山英三
(広島大学自然科学研究支援開発センター)

2. 神経芽腫マスキリーニング症例の分析

家原知子 (京都府立医科大学小児科学)

3. 神経芽腫死亡率の変化

西基
(北海道医療大学生命基礎科学講座)

4. 神経芽腫の層別化によるリスク分類

田中丈夫、堀川洋子
(国立病院機構呉医療センター、小児科)

5. 神経芽腫における血清NM23-H1濃度の臨床的意義

金子安比古
(埼玉県立がんセンター)

6. (1) マイクロアレイデータに関する新しい解釈と解析方法について

(2) 順序カテゴリー応答データに対する回帰分析法

大瀧 慈
(広島大学原爆放射線医科学研究所計量生物研究分野)

討論：

- ▶ 登録症例からのマスキリーニングの効果の後ろ向き解析
- ▶ マスキリーニング症例の腫瘍特性の解析
- ▶ 神経芽細胞腫による死亡の減少を目指した新しいマーカーの検出

7. 札幌市の生後1歳2か月児の神経芽腫マスキリーニング

花井潤師
(札幌市衛生研究所)

8. 大阪府における神経芽腫マス・マスキリーニング

中山雅弘
(大阪府立母子保健総合医療センター検査科)

9. 6か月神経芽腫マスキリーニングの実績

石山 洋
(静岡県予防医学協会)

10. 新潟県保健衛生センターによる非行政的神経芽細胞腫マスキリーニングの再開

小田辺なお子、若林真理子
(新潟県保健衛生センター)