

国立成育医療センター放射線診療部

b) 調査票 別紙

C. 研究結果

1) 小児進行神経芽腫放射線治療ガイドライン (案) 別紙

我々の神経芽腫放射線治療データ解析およびエビデンス・レベルの高い文献を参考に、本邦における「小児進行神経芽腫放射線治療ガイドライン (案)」を策定した。このガイドライン案に対して、小児放射線治療委員会にて修正を加え、また「神経芽腫プロトコール検討委員会」にて化学療法、外科療法とのすりあわせを行い、現在最終案として治療研究開始に備えている。

2) 小児進行神経芽腫放射線治療ガイドライン (案) に対する全国調査結果

現在、日本での放射線治療施設は放射線治療専門医 (日本放射線腫瘍学会認定医) が専任スタッフとして居なくても法的には問題が無く、放射線治療が行われている。

これに危機感を持った日本放射線腫瘍学会が認定医制度および施設認定制度を発足させた。日本放射線腫瘍学会放射線科専門医修練機関の認定基準を満たしているとして認定した施設は (2005 年 1 月現在) 認定施設 106 施設、準認定施設 19 施設、認定協力施設 77 施設、総計 202 施設である。この中には小児専門施設として国立成育医療センターが準認定施設として認定されているのみで、他の小児専門施設は認定施設となっていない。

これは、認定施設基準として専任スタッフ

(1) 放射線腫瘍学会認定医 1 名が常勤で勤務し、十分な指導体制がとれ、放射線治療を専任とする医師と合わせ 2 名以上いること。

(2) 放射線治療専門の診療放射線技師が 1 名以上いること。(3) 放射線治療担当の医学物理士がいること。

放射線治療患者数と放射線治療内容に関して、以下の (a) を満足し、さらに (b) または (c) のいずれかであること規定されている。

(a) 密封小線源治療 (腔内照射、組織内照射) の治療患者数 (新規症例) が年間 10 例以上行われていること。

(b) 外部照射の治療患者数 (新規症例) が年間 250 例以上で、その内容が著しく偏って

いないこと。

(c) 外部照射の治療患者数 (新規症例) が年間 150 例以上、250 例未満であるが、別記の項目の条件 (1) から (5) までの 3 つ以上を満していること。

(1) 術中照射を年間 5 例以上行っている。

(2) 定位放射線照射を年間 5 例以上行っている。

(3) 全身照射を年間 5 例以上行っている。

(4) 温熱治療を年間 5 例以上行っている。

(5) 放射線治療患者用の病床を 10 床以上有し、治療患者の全身管理を主治医として行っている。

以上の基準を満たすことが出来ない施設にあっては、準認定施設および認定協力施設がある。準認定施設とは密封小線源治療がない施設やあっても症例が不十分な施設 A と他の放射線治療施設ではできない特殊な放射線治療が行われている施設 S とがある。

外部照射の治療患者数 (新規症例) が年間 60 例以上の施設で、かつ以下の 2 項 (第 1 項 専任スタッフ 放射線腫瘍学会認定医である常勤の放射線治療医が 1 名以上勤務していること。第 2 項 施設、設備) を認定制度委員会が検討して、認定協力施設として認めることができる。この場合、いずれにしても「放射線腫瘍学会認定医である常勤の放射線治療医」が必須とされている。

現在の小児専門施設にあっては、必須項目の「放射線腫瘍学会認定医である常勤の放射線治療医」が居ない状況であることが問題となっている。

このような現状において、神経芽腫治療研究に参加していただけるであろう施設として、昨年度より小児横紋筋肉腫治療研究 (JRSG) に参加表明している JRSG 参加登録施設 121 施設を調査対象とした。この調査施設は小児腫瘍に積極的に係わりを持っているとされている施設であり、今後神経芽腫全国治療研究に参加していただける施設と認識している。

53 施設からの調査回答があった。

回答率 $53/121=43.8\%$

調査協力頂いた施設として、小児専門施設 7 施設、がんセンター・大学病院を含む成人施設 46 施設であった。

回答内容

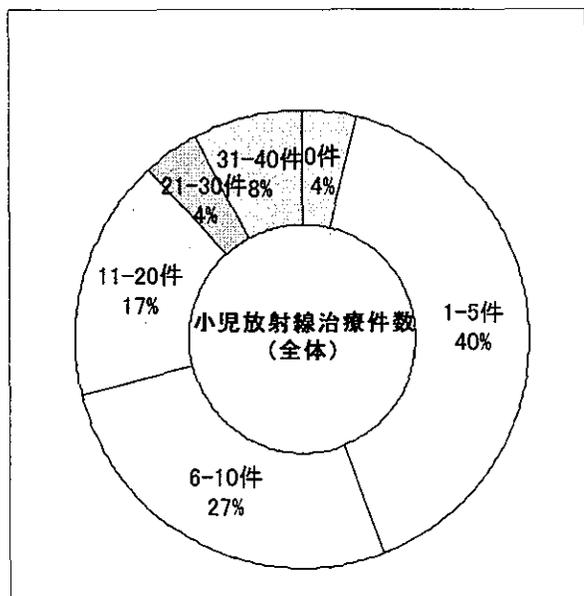
a) 施設の基本データ

●インターネットメール環境が病院にある施設数は 100%であった。

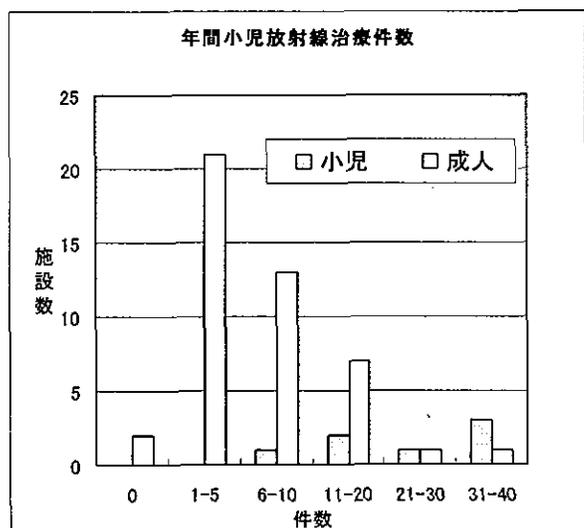
このことは、データセンターとの連絡や登録が「セキュリティー」さえ確保できれば、郵送などによる方法よりもスピーディ、リアルタイムに行える環境が整っていると考えられる。

● 年間の放射線治療件数 (概算) 小児 (新患)

小児放射線治療件数 (年間初診症例)

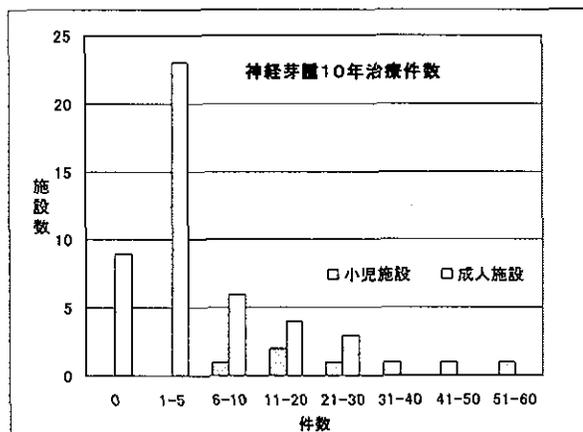


小児専門施設と成人施設でみた年間小児放射線治療件数 (初診症例)

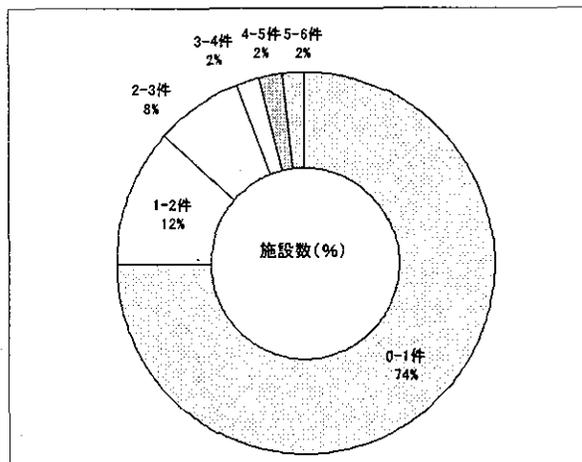


● 最近 10 年間の小児神経芽腫の放射線治療件数 (概算)

神経芽腫 10 年間症例数 (小児専門施設と成人施設との対比)

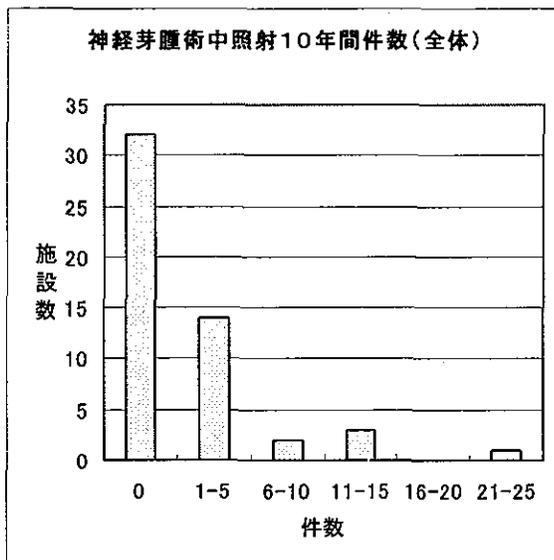


年間神経芽腫初診症例数 (施設毎の分析)



● 最近 10 年間の小児神経芽腫の「術中照射」件数 (概算)

10年間の神経芽腫放射線治療初診件数	小児施設	成人施設	総計
神経芽腫件数	205	256	461
術中照射件数	50	58	108



年間症例	小児施設	成人施設	合計
神経芽腫 放射線治療	20.5	25.6	46.1
術中照射	5	5.8	10.8

b) 質問票

進行神経芽腫の全国治療研究における小児進行神経芽腫放射線治療ガイドライン(案)を認めていただけるかの調査を行った。

【問1】進行神経芽腫の全国プロトコールにおいて、放射線治療は、超大量化学療法と骨髄移植の後に行われることになりましたが、いかがでしょうか？

了承する	反対する	回答なし
51	0	3

コメント

1. 当院の小児外科と協同步調をとります
2. 途中で入れるよりベターと思います。今回頂いたプロトコールには銘記されていませんが・・・
3. 超大量化学療法 1 回の時は、移植の後に RT,2 回法の時？
4. TBI があるなら TBI と連続して行う。TBI なしならこの順番でよい。当院では BMT と頭蓋の照射間隔をあけている。このような特別な場合もある。
5. TBI を含まないと考えてよろしいでしょうか

【問2】切除術後の照射野について、従来は「初診時の腫瘍床をもとに照射野を決定する」となっていましたが、広すぎる場合が少なくな

いとの指摘があり、文献※を参考にして、今回は「化学療法で縮小した場合は、切除術直前の腫瘍床をもとに照射野を決定する」と致しましたが、いかがでしょうか？

了承する	反対する	回答なし
48	2	4

コメント

- 1) 局所再発が危惧される。21 例の retrospective study の結果を受けて、従来の方法を変更するのは危険ではないでしょうか。
- 2) case by case では、初診時の腫瘍床はカバーしたほうがよいと考えるが、周辺の正常組織によっては無理な場合がよくある。正常組織耐容線量をもとに考える方が、理にかなっていると思われるが複雑になりますね。
- 3) わかりません
- 4) もともとの腫瘍は巨大であることが多く。広すぎる場合があるので賛成です。
- 5) よいと思う。Chemo 後 ope 前の field でも大きすぎて、結局 tumor bed (付属していた部分) のクリップをめやすに field を決定していることもある。Rhabdomyosarcoma のプロトコールでは臓器が元の位置に戻ったときの記載がわかりにくいのでシェーマなどを用いてほしい。

【問3】超大量化学療法後の術後照射として、総線量 19.8Gy (1.8Gy/回, 11回)を採用しましたが、いかがでしょうか？

了承する	反対する	回答なし
49	0	5

コメント

1. 種々の理由にて、休止期間(照射期間延長)が入った場合、どの様に対応すべきでしょうか。
2. 経験がなく評価不能
3. これは放射線医の意見を聞いて下さい
4. 1.8Gy とした根拠は何でしょうか？照射野が広い場合など 1.5Gy のほうが、よいこともあるのではないのでしょうか。
5. 骨皮質+骨髄転移の時は増量必要があるのでしょうか？不明です。
6. 19.8Gy の設定根拠がよくわからないのですが、preliminary な study は行われているのでしょうか
7. macro でのこしたときは 19.8+10.6Gy の

追加になるが、10.6Gy 分の field 設定を明確にしていきたい。

【問 4】術中照射の線量は、電子線による 10Gy (1 回)を採用しましたが、いかがでしょうか？

了承する	反対する	回答なし
43	3	8

コメント

1. 当科ではできない
2. 対応できません
3. 術中照射の意義に関して retrospective のデータ以外にないのでしょうか？
4. 術中照射は行う予定ありませんので、コメントできかねます
5. 当施設では、術中照射は対応できていません
6. 経験がなく評価不能
7. 当院では施行してないから
8. OKです。
9. 術中照射は施行してありません
10. 線量設定根拠がよくわからないのですが、preliminary な study は行われているのでしょうか
11. わからない。実際には IORT ができるのは、マンパワー、外科医の協力、限られてくると思われる。大きさにおいても術後照射で IORT ができそうな case は少ない。
12. 原則 10Gy でよいと思うが、tumor mass が大きい場合は 12Gy でもやむを得ないのではないのか。

【問 5】術中照射の電子線エネルギーは、顕微鏡的残存を前提に 6MeV を考えていますが、いかがでしょうか？

了承する	反対する	回答なし
44	3	7

コメント

1. 原則 6MV でよいが、小さい子で腎摘後の cavity から照射すると 6MeV では spinal cord に達する可能性があります。
2. 当科ではできない
3. 対応できません
4. 術中照射は行う予定ありませんので、コメントできかねます
5. 6MV→6MeV が正確な単位です。また病巣の深さにより 4~12MeV の変更が必要です。
6. 6MeV
7. どちらともいえない
8. ガイドラインの文章には、6MV と規定する

記述は見当たりません。また、6MV に固定する必要はあるのでしょうか。

9. その通りのエネルギーが適当ですが、残存潜在深度によって 4MeV 又は 9MeV を可とする。

10. 5MV または 7MV しか劣化のマイクロトロンはできません。7MV も可としてほしい。

11. 術中照射は施行してありません
12. 大きさによってエネルギーを選択することにしたほうがよい。
13. ラйнаップの機能により 6MV がなく、5MV か 7MV の場合もありうる
14. これも進展度が深い場合 9MeV~もあり得る。

【問 6】化学療法後に MIBG シンチ陽性残存の骨転移に照射 19.8Gy (1.8Gy/回, 11 回)を行うことにしましたが、いかがでしょうか？

了承する	反対する	回答なし
49	0	5

コメント

1. (3) の論文が根拠と判断しましたが、根治を目指すなら原発巣と同じエリアに残存の場合はブーストの方が理解しやすいと感じました。(慢性有害事象がふえますかね)
2. 必ず MRI 又は PET のダブルチェックとして下さい。(残念ですが MIBG のみでの照射部位決定には個人差が出てしまう可能性が疑われますので)
3. 経験がなく評価不能
4. 施設によっては MIBG シンチを行っていない施設もあるのではないのでしょうか。
5. 単なる骨皮質転移と骨髄転移は同じでいいか不明です。
6. 照射前に up 部位の検査は必要ないでしょうか？
7. 線量設定根拠がよくわからないのですが、preliminary な study は行われているのでしょうか
8. TBI が入らないならこれでいい。

【問 7】その骨転移への照射範囲の決定は、超大量化学療法「前の」MIBG シンチ残存病変に行うべきか、超大量化学療法「後の」MIBG シンチ残存病変に行うべきか、いかがでしょうか？

前	後	回答なし
13	32	9

コメント

1. 原則「前」にしておいて、照射体積が大きすぎる場合は制限するなどよいのでは、と思

- います。
2. 問2と整合性をあわせて後者になります。しかし、骨病変を正しく評価できるのでしょうか？
 3. 成人であれば「前」で行うと思いますが、小児は化学療法が期待できるので「後」でもと思います。
 4. 現在は化学療法後の MIBG シンチ残存病変のみに照射を行っています。どちらが良いかについての明確な根拠はありません。
 5. コメントできるだけの知識を持ち合わせていません。
 6. 経験がなく評価不能
 7. MIBG ではわかりにくい。骨+Ga シンチの方がよい
 8. わかりません。問2と問7は同様に扱ってほしいと考えます。化療前、後どちらかに統一。
 9. 全骨になるのは避けたいので、「前の」病変としたいです。
 10. 根拠になる study がありましたら教えてください
 11. MIBG は Planning には役に立ちにくい。MRI を参考にしているが、それも診断医の協力が必要。何ヶ所までか明記する。(論文では4ヶ所以下)
 12. このプロトコルは化療後の縮小した範囲に照射線治療をするのを基本としているので、骨病変もそうすべき

問1～6までは、多くの施設が放射線治療ガイドライン案の記載に関して了承していただいているが、コメントでも見られるように各施設における経験に差異があり、またこのガイドライン案の策定根拠とした文献などに関するエビデンス・レベルの不安を持っておられる回答者が見られた。

問7に関しては「骨転移への照射範囲の決定」をどの時期の MIBG シンチ残存病変に行うかの設問には、「超大量化学療法「後の」MIBG シンチ残存病変に行うべき」との意見が多く見られた。

これは、神経芽腫には骨転移が多く、かなり広い範囲の骨転移巣への照射を行わねばならず、これにより小児では骨成長障害を来し、少なからず放射線治療医にとっては問題となってきたものである。これを避けえるものとして、超大量化学療法に骨転移巣のコントロールを期待しており、「超大量化学療法「後

の」MIBG シンチ残存病変に行うべき」ことに賛意を表しているものとする。

D. 考察

小児神経芽腫治療研究に参加していただける施設として JRSO 参加登録施設 121 施設に対して調査を行ったところ、53/121=43.8%の回答率であった。この調査に協力していただいた施設はかなり積極的に小児腫瘍治療を行う意思の強い施設であると考えられる。ということは、かなりのバイアスが掛かっていると考えて良い。

しかしながら、小児腫瘍治療研究の意思があると考えられる 53 施設においてすら、年間 10 例以下の小児腫瘍放射線治療しか行われていない施設が 67%にもおよんでいることが明らかとなった。更に、今回の研究目的である神経芽腫についてみると、放射線治療件数が年間 1 件以下の施設が 74%にも達することが判明した。

このような施設に対して、精度良く、小児放射線治療を行うことは、我々が模索している Quality Assurance Review Center(QARC)および放射線治療セントラル・レビュー・センターが必要と考える。

今回、日本神経芽腫研究グループ発足に合わせて、進行神経芽腫局所治療としての放射線療法に対する小児進行神経芽腫放射線治療ガイドライン(案)を日本放射線腫瘍学研究グループ(Japanese Radiation Oncology Study Group: JROSG)における JROSG 小児腫瘍グループが委員長正木を首班として策定した。この小児進行神経芽腫放射線治療ガイドライン(案)に関する意見聴取を行ったところ、多くの放射線治療医から賛意が得られた。しかしながら、全員の承認を得られたわけではないことを考慮し、今後の治療研究に際し、得られた意見を放射線治療ガイドラインに反映する必要があると考えているが、この放射線治療ガイドライン案の正当性を確保すべく参加施設に更なる周知徹底が必要と考えている。

進行神経芽腫においては骨転移のコントロールが重要と考えられている。これを治療研究において、局所療法としての放射線治療が必要であるか、あるいは超大量化学療法により放射線治療を行わずに骨転移巣のコントロールが可能かということを知りたいと考えている小児科医、小児外科医、放射線治療医は多い。

今回の調査においても、「骨転移への照射範囲の決定」をどの時期の MIBG シンチ残存病変に行うかの設問には、「超大量化学療法「後の」MIBG シンチ残存病変に行うべき」との意見が多く見られた。

これは、神経芽腫には骨転移が多く、かなり広い範囲の骨転移巣への照射を行わねばならず、これにより小児では骨成長障害を来とし、少なからず放射線治療医にとっては問題となってきたものである。これを避けえるものとして、超大量化学療法に骨転移のコントロールを期待しており、「超大量化学療法「後の」MIBG シンチ残存病変に行うべき」ことに賛意を表しているものとする。

しかし、この骨転移巣への放射線治療を軽減する治療研究、即ち超大量化学療法により放射線治療を行わずに骨転移のコントロールが可能か、あるいは超大量化学療法にて CR となった骨転移巣への放射線治療は必要でないということに関しては、現在のエビデンス・レベルの高い文献を検索しても、いまだ行われていない研究である。

現在までに報告されている欧米の prospective 治療研究では、骨髄移植前に局所療法が行われており、その際の MIBG シンチで陽性であった骨転移巣に放射線治療を適応としている。従って、今回の治療研究においても、現在のエビデンスからすると、「超大量化学療法「前の」MIBG シンチ残存病変に行うこと」を治療研究として行った方が安全であると考えている。この治療研究が上手くいけば、幹細胞移植後の画像所見で陽性所見のあった骨転移部位、即ち「超大量化学療法「後の」MIBG シンチ残存病変」へ照射するか、あるいは照射無しとするかのランダムイズド・トライアルを行うことが可能になると考えている。

E. 結論

小児がんはその発生数が少ないが、小児であるが故にその放射線治療には細心の注意が必要で、米国国立癌研究所 (NCI) が配信する Cancer Information Physician Data Query from National Cancer Institute においても至適治療法を決定し実施するには専門家が集団が必要としており、「小児および青年の癌はまれである。小児期および思春期の癌患者は、小児期および思春期に発生する癌の治療経験を有する専門家から構成される集学的チームのある医療機関に紹介すべきであ

る。」と記されている。本邦において、このような集学的治療チームが結成されている施設は少なく、ましてや小児がんを経験のある放射線治療医は少ない。

そこで日本神経芽腫研究グループ (Japan Neuroblastoma Study Group: JNBSG 仮称) 発足に当たり、小児放射線治療の品質管理・品質保証 (QC/QA) を確保するために小児放射線治療委員会を設立した。この委員会は「日本放射線腫瘍学研究グループ (Japanese Radiation Oncology Study Group): JROSG」の承認を受け、JROSG 小児腫瘍グループとして専門委員会となり、全国の放射線治療医に承認して頂いた。

小児放射線治療委員会 (JROSG 小児腫瘍グループ)

委員長

正木 英一 国立成育医療センター放射線診療部

委員

池田 恢 国立がんセンター中央病院放射線診療部

角美奈子 国立がんセンター中央病院放射線診療部

三橋 紀夫 東京女子医科大学放射線医学教室

野崎美和子 獨協医科大学越谷病院放射線科

國枝 悦夫 慶應義塾大学医学部放射線科 (都立清瀬小児病院放射線科併任)

関根 広 慈恵医大放射線科 (埼玉県立こども病院放射線科併任)

副島 俊典 兵庫県立成人病センター放射線科 (兵庫県立こども病院放射線科併任)

井上 武宏 大阪大学医学部放射線科

高井 良尋 東北大学医学部放射線科

中村 和正 九州大学大学院臨床放射線科
小児放射線治療委員会事務局

北村 正幸 国立成育医療センター放射線診療部

アメリカの治療研究では放射線治療の精度保証を求め、放射線治療セントラル・レビュー・センターが構築されており、そこへ各施設からの放射線治療開始時期に必要な報告用紙、また放射線治療終了後の報告用紙が集められ、放射線治療の精度管理が行われている。日本においても欧米で要求されている精度保証を行わなければならないと考えて

いる。

日本において小児がん治療はセンター施設に集約してそれを行うということは行われておらず、多くの施設で独自に治療に当たってきた。これに対して、欧米並みの治療成績を上げるために小児急性白血病、悪性リンパ腫の治療において小児血液科、小児腫瘍科がグループを形成し、統一プロトコールによる治療を行い、その治療成績を上げてきた。昨年より、横紋筋肉腫の治療研究が全国組織としての統一プロトコールによる小児がん治療を小児科、小児外科、整形外科、耳鼻科（頭頸部外科）、泌尿器科、放射線科、病理からなる日本横紋筋肉腫研究グループ（JRSG）により行われている。

本邦において世界に先駆けて行われていた神経芽腫の骨髄破壊的化学療法は、その治療成績があまりに良好なため、研究者からは疑いの目で見られ、その結果スタディ・デザインの貧弱さが指摘されるに至った。しかし、その日本の化学療法プロトコールを模倣した、アメリカなどのしっかりとしたスタディ・デザインにより神経芽腫の骨髄破壊的化学療法は標準的治療と認められるようになった。ここにおいて、本邦でも全国的な治療研究を始める機運が高まり、小児科、小児外科、放射線科、病理が一同に介しての全国レベルでの日本神経芽腫研究グループ（Japan Neuroblastoma Study Group: JNBSG 仮称）による治療研究準備が開始されようとしている。

この治療研究において、必要なことは精度管理といわれている。欧米のグループスタディの精度管理はデータセンターが第三者機関として機能し、その中に各種治療における Quality Assurance Review Center(QARC)を設け、データの精度管理を行いながらデータ収集・解析を行っている。

そこで、神経芽腫全体のデータセンター構想は他の分担研究に譲り、ここでは放射線治療の精度管理を行うシステムの研究を行うこととする。

この放射線治療の精度管理を行うシステムには、放射線治療セントラル・レビュー・センター機能が必要と考えている。そこでは、放射線治療の品質管理・品質保証（QC/QA）までも考慮した放射線治療の精度確保のために必要な放射線治療データを放射線治療開始 3

日以内に収集し、その放射線治療データを解析し、治療研究に則った治療が行われているかの審査が必要である。更にその結果をリアルタイムに施設に返還し、放射線治療に役立てるようにしなければならない。

また、小児放射線治療に不慣れな施設からの相談を受け付け、治療研究に支障が出ないようにする放射線治療問合せ機能も必要とされている。

今後、小児放射線治療委員会を核とした Quality Assurance Review Center(QARC)を担当する放射線治療セントラル・レビュー・センターを構築していく予定である。

成人がん主体の現在の放射線治療を精度良く行うことから、初めて小児がんにおいても精度の良い放射線治療が行えるものとする。しかし、成人がんは多岐に渡り、欧米の放射線治療に係わるマンパワーの 1/10 にも満たない人員で、日常の放射線治療業務を行う現場では余裕のある仕事が出来ない。即ち QARC にデータを送付する時間がないのが実情である。そこで、本邦では年間 150 例位しか発生しない小児神経芽腫について、その放射線治療に対する小児がん放射線治療セントラル・レビュー・センターを構築し、実証することが、今後成人がんの放射線治療に対する放射線品質保証センター Radiotherapy Quality Assurance Center（放射線治療セントラル・レビュー・センター）設立に役立つと考える。

現在の通信事情を勘案し、インターネット経由で情報収集を図り、その審査結果を同じくインターネット経由で配信することが最もリーズナブルであると考えているが、その為のセキュリティ対策は他の研究として検証される予定である。

神経芽腫の治療研究に参加していただけるであろう施設として、JRSG 参加登録施設 121 施設を選定した。その 121 施設に調査依頼を行い、53 施設からの回答があり、 $53/121=43.8\%$ の回答率であった。全ての施設においてインターネット環境は整備されており、通信の遅れによるボトルネックは無いと考えられた。

F. 健康危険情報

分担研究報告書につき不記載

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案特許
なし
3. その他
なし

1. 概要

神経芽腫の放射線治療に関して、術後照射が局所再発を減少させていることは明らかであるが、骨髄破壊的化学療法プロトコルを施行する際の放射線治療の有効性を確認する必要がある。その化学療法施行時において、術後照射線量とその照射時期および転移巣に対する放射線治療の有効性について検討を行う。

2. 進行神経芽腫放射線治療の根拠

予後不良因子である N-myc 癌遺伝子の増幅が認められた stage 3 および全ての stage 4 の進行期には骨髄破壊的化学療法と併用する腫瘍巣術後照射と骨転移部への放射線治療 20Gy を局所療法として採用することにより局所制御率が高まっている。

1980 年代、骨髄破壊的化学療法を用いない旧来の治療法では、POG staging system C 1 歳以上の予後不良群の化学療法 ADR、CPM、CDP、VM-26(あるいは VP16)後の手術とその 3 週間以内の術後照射（1 歳以上 2 歳までは 24Gy/3 週間、2 歳以上は 30Gy/3~4 週間）により、術後照射を行わない群より明らかに予後が改善した 1)。

1990 年代になり、骨髄破壊的化学療法を用いるようになると、術後残存腫瘍および骨転移部へ 10Gy/5 分割照射を行い、その後の骨髄移植を前提とした TBI（12Gy/6 分割）を行うことにより予後が改善された 2)。初診時の腫瘍巣を術後照射野とする術後照射 20Gy 以上では局所再発率が 10%であった 3)。また、術後照射 10Gy のみでは局所再発率が 52%と高く、TBI 10Gy 加わえることにより局所再発率が 22%と下がることも明らかとなった 4)。最近では、遅延一期的手術に引き続き、TBI を用いない骨髄破壊的化学療法後の末梢血幹細胞移植療法を行うプロトコルが提案されている。その時に用いられる術後放射線治療は骨髄破壊的化学療法の影響を避けるため、末梢血幹細胞移植療法後に行われることとなり、さらに照射野として化学療法により縮小した腫瘍巣を GTV とし、腫瘍巣に 1cm マージンを設け、また初診時のリンパ節転移巣には頭尾側 1.5cm、側方 1cm マージンを設けた CTV、さらに 0.5cm マージンを設けた PTV にて 21Gy/14 分割（肉眼的残存腫瘍には 9Gy ブースト照射）を行う。13-cis-retinoic acid にて維持療法とすることにより進行神経芽腫であっても 2 年期待局所再発率を 7%に落とすことが出来ている 5)。

化学療法を術直後から実施でき、腫瘍巣にのみ照射することが可能な術中照射では、電子線エネルギー 6MeV 10~12Gy にて顕微鏡的残存腫瘍は制御されている 6,7)。

骨転移巣に対する放射線治療は TBI 10Gy のみでは転移局所再発率が 31%と高く 8)、転移局所へ多分割照射 21Gy/14 分割/7 日間で 7.7%と局所再発率を下げる事が可能となった 3)。

文献

1. Castleberry RP, Kun LE, Shuster JJ, et al: Radiotherapy Improves the Outlook for Patients Older Than 1 Year With Pediatric Oncology Group Stage C Neuroblastoma. J Clin Oncol

9:789-795,1991.

2. Evans AE, August CS, Kamami N, et al: Bone marrow transplantation for high risk neuroblastoma at the Children's Hospital of Philadelphia: an update. *Med Pediatr Oncol.* 23:323-327,1994.

3. Kushner BH, Wolden S, LaQuaglia MP, et al: Hyperfractionated low-dose radiotherapy for high-risk neuroblastoma after intensive chemotherapy and surgery. *J Clin Oncol.* 19(11):2821-8. 2001.

4. Haas-Kogan DA, Swift PS, Selch M, et al: Impact of radiotherapy for high-risk neuroblastoma: a Children's Cancer Group study. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 56(1):28-39. 2003.

5. Bradfield SM, Douglas JG, Hawkins DS, et al: Fractionated low-dose radiotherapy after myeloablative stem cell transplantation for local control in patients with high-risk neuroblastoma. *Cancer.* 100(6):1268-75. 2004.

6. 正木英一：特集 神経芽腫治療の進歩と問題点－症例から学んだ教訓を中心として－ 進行神経芽腫における術中照射療法. *小児外科* 27(5):557-563.1995.

7. Haas-Kogan DA, Fisch BM, Wara WM, et al: Intraoperative radiation therapy for high-risk pediatric neuroblastoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 47(4):985-992,2000.

8. Matthay KK, Atkinson JB, Stram DO, et al: Patterns of relapse after autologous purged bone marrow transplantation for neuroblastoma: a Children's Cancer Group pilot study. *J Clin Oncol.* 11(11):2226-33. 1993.

3. 適応

- 1) このガイドラインは組織型が明らかな神経芽腫で、遠隔転移を有する(INSS stage4)1歳以上あるいは遠隔臓器転移は無い(stage 1, 2, 3)がMYCN遺伝子増幅を有する1歳以上の患者に適応される。
- 2) 放射線診断医および放射線腫瘍医が適切な staging の決定に参画し、その後の放射線による局所制御治療のために画像診断が適切であるかどうかを確認する必要がある。原発巣および所属リンパ節転移を検索するためには単純・造影 CT を行うべきである。進展範囲と血管系、脊柱管、神経孔との関係を評価するために MRI を行う。造影は必ずしも必要ではないが、脂肪抑制後の造影 T1 強調像で神経孔への腫瘍の入り込みがよくわかる場合がある。遠隔転移の検査には、MIBG シンチグラフィ早期像（4～6 時間）、晚期像（24 時間）を撮像する。陽性病変には単純 X 線撮影、骨シンチグラフィにて骨髄転移と骨皮質転移を区別することが推奨される。
- 3) 根治を目指す放射線治療であれば、照射野に含まれる正常組織（骨格系、軟部組織）の晩発合併症である骨発育障害、軟部組織線維化などによる変形が発生することを患者および家族に説明しておく必要がある。

4. 装置

6) 方法：4 MV-20 MV の高エネルギーX線。

術中照射には電子線を用いる。

陽子線を本研究に使用しても差し支えない。

7) 線量校正：このプロトコールで使用される全ての治療機器は、直接または間接的に日本医学放射線学会医療用線量標準センターでの線量校正を受けなければならない。

5. 標的体積の定義

各施設は標準法または volume-based (3-D conformal) 法を用いて治療を行うこととする。

すべての治療計画は標準法または volume-based (3-D conformal) 法にかかわらず、以下の標的に関する定義に準ずるものとする。治療は以下に記載されている GTV と CTV によって決定される PTV によって規定される。

肉眼的腫瘍体積 (GTV) は肉眼または触診により診断される腫瘍体積。

臨床標的体積 (CTV) は GTV に潜在的腫瘍の可能性があるために照射されるべき部位を加えた体積。

計画標的体積 (PTV) は CTV に設定誤差や治療時の呼吸や体動による誤差を補償するためのマージンを加えたもので、PTV が治療計画のために用いられる体積となる。

6. 標的体積に関するプロトコール

1) GTV (Gross Tumor Volume) 肉眼的腫瘍体積

GTV は寛解導入化学療法後 (大量化学療法前) の理学的所見や CT・MRI 所見 により定められる、切除術 (遅延一期的手術あるいは二期的手術) にて確認される肉眼的または触知しうる病変を参考にする。この領域には初発時に認められた所属転移リンパ節も含まれる。

2) CTV (Clinical Target Volume) 臨床標的体積

潜在的腫瘍が存在する可能性が他にない場合には、CTV は $GTV + 1.5\text{ cm}$ (但し患者の体外にまでは延長しない) と定められる。CTV には初診時に認められた所属転移リンパ節領域が含まれる。

3) PTV (Planning Target Volume) 計画標的体積

PTV は CTV に患者の体位固定などに伴う各施設の毎日の設定誤差と、生理学的な動きの誤差を加えたものと定める。

4) リンパ節転移が明らかでない腫瘍の場合 (N0)、所属リンパ節領域には予防的照射は行わない。

5) 体積の減量：いかなる症例においても原則として GTV を治療体積からはずしてはならない。

しかし、表 1 を参照し正常組織耐容線量遵守を行う場合は PTV 内の対象組織に対して遮蔽を用いる。その際、局所再発のリスクが高まることを主治医および家族に説明しておかねばならない。(11. 参照)

右副腎原発腫瘍において肝臓全体が照射野に含まれる際には注意が必要である。強化された化学療法を行う本プロトコールにおいて肝臓全体を 19.8Gy 照射することは肝障害を来す危険性が高く、これを行うべきではない。また、病側腎臓全体に 19.8Gy 照射せざるを得ないときは、主治医および家族と良く話し合い、照射された腎臓は機能不全に陥ることの了解を取っておく必要がある。

- 6) 局在：治療計画用 MRI や CT は標準的 2D 治療計画では強く推奨され、volume-based 治療計画には必須である。照射野は 2D 治療計画にはシミュレーターによって volume-based 治療計画には virtual シミュレーターによって決定すべきである。
- 7) 術中照射野に関しては術後照射法と同様な GTV、CTV、PTV とする。しかし、術中照射野に限りがあることから、転移リンパ節領域が照射野外となった場合には術後照射としてその部位を照射する。その際、術中照射野と術後照射野との重なりを避けることが出来ない場合は、これを許容する。
- 8) 椎体が照射野に含まれる場合は、必ず椎体全幅を照射野に入れるべきである。

7. 放射線治療のタイミング

放射線治療の時期は治療プロトコールを参照のこと。それぞれ遅延一期的手術あるいは二期的手術後に術後放射線治療あるいは術中照射を行う。

脊髄神経などの圧迫症状を取るための緊急照射は許容される。これは、golden time (72 時間以上完全脊髄障害があれば回復の望みがない) を超えずに緊急照射を開始することにより不可逆的变化を来たさずにすむことによるものである。その際には、症状の緩和があっても予定された照射線量を全量投与することになる。

骨転移に対する症状緩和目的の照射は姑息的治療として許容されるが、この際の照射線量は適宜決定してよい。

8. ターゲット線量

- 1) 基準点 (prescription point)：PTV の基準点は体積の中心または中心近辺である。集光照射 (multi convergent beams) での基準点は通常、線束軸のアイソセンターの交差点である。
- 2) 線量定義 (Dose Definition)：吸収線量は水-Gy (Gy-to-water) とする。
組織不均質性：密度補正は必要ない；ただし肺減衰による補正はすべきである。
- 3) 原発部位ならびにリンパ節に対する基準線量と分割法

肉眼的残存腫瘍が認められない場合には総線量は術後外照射では 19.8Gy、照射はすべて 1 日 1 回 1.80 Gy で週 5 回行なう。術中照射では総線量 10Gy とし、電子線エネルギーは放射線腫瘍医が手術所見を勘案し、腫瘍背側が 95% 領域に入るように決定する。

領域リンパ節転移 (N1) がある患者はすべて、化学療法の反応や遅延一期的手術あるいは二期的手術の結果に関係なく初診時に認められていた範囲に対して放射線治療を受けなければならない。

肉眼的残存腫瘍が認められる場合、あるいは手術不能にてのプロトコール逸脱例ではブーストとして 10.6Gy 追加照射を行う。

4) 転移巣に対する基準線量と分割法

骨転移巣は放射線治療を必要とする。化学療法評価以前の MIBG シンチグラフィ、単純写真、骨シンチグラフィで陽性を呈している部位で、寛解導入化学療法後（超大量化学療法前）の再評価 MIBG シンチグラフィにて陽性所見が認められている骨転移部位に行く。寛解導入化学療法後の再評価 MIBG シンチグラフィで陽性所見の残存する骨髄転移は骨転移と同様に局所照射の対象とする。5箇所以上の多発骨転移に照射する場合において、骨髄機能に影響を与えると心配された場合には放射線治療委員会に相談すること。

骨転移部位に対する総線量は、1回 1.80 Gy、19.8Gy とする。

- 5) 線量の均質性：2D治療計画では PTV 内の線量差は、基準点の+7%から-5%の範囲とする。Volume-based 治療計画ではすべての PTV は DVH により評価され、95%の等線量面で囲まれ、基準点の 110%を越える線量を照射される体積は等線量面内体積の 10%未満とする。

9. 中断、変更および中止：放射線治療の中断、変更および中止が必要とされる場合（血球減少や感染、毒性などによって）は照射録に何故中断・変更が生じたのかを記載すること。

- 1) 血球減少による放射線治療の修正：放射線治療中の血球減少は多くの場合は化学療法に起因するものである。普通は血球減少により放射線治療を中断および変更する必要はない。血球数に問題がある場合には、放射線治療が完遂するまで、小児腫瘍医の判断を尊重すべきである。
- 2) 総治療期間の延長（70日間）、放射線治療による毒性の出現時には放射線治療を中止すべきである。

10. 治療技術

CTを用いた volume-based（三次元）治療計画がこの研究では推奨される。正常組織を遮蔽する技術は意図された PTV の実現には必要不可欠である。

- 1) 患者の体位：背臥位、仰臥位、側臥位で治療する。適切な鎮静や頭頸部腫瘍に対してはシエル作成し、体幹部・骨盤腫瘍に対しても体位を固定する道具を使用することが望ましい。
- 2) 照射野の作成：照射野は最低 5 HVL 厚のブロックを用いて作成すること。またはマルチリーフコリメーターを使用すること。

11. 正常組織の遮蔽

可能であれば常に正常組織を遮蔽することが重要である。既知の腫瘍床に対する治療が不足する可能性よりも、こうした正常組織の遮蔽に重きを置くべきである。

諸臓器の上限線量は表 1 に示すごとくである。この上限値は、化学療法と併用した場合に毒性が増強することを考慮していない。今回のように、より強い化学療法が採用される場合には、小児腫瘍医と耐容線量を検討するべきである。しかし、眼レンズ（水晶体）の耐容線量を越えて治療を行わねばならない時は、白内障が発症しても手術的処置が可能であることより、その旨を小児腫瘍医

とともに患者本人あるいは家族にインフォームド・コンセントを取ってある場合には、この限りではない。

骨格系においてガイドラインに示された放射線線量は成長障害を来す線量であり、軟部組織においても線維化を来し患者の変形をもたらす線量であることを患者および家族に説明しておく必要がある。

表1 正常組織の耐容線量

リスク臓器—最大線量（処方線量でなく線量分布計算による線量）：リスク臓器に対する線量上限および、volume-based（三次元）治療計画でDVH が必要な正常組織について記載する。

照射野	組織	通常照射による上限	DVH
頭部	脳	全脳 3歳未満 23.4Gy	不要
		全脳 3歳以上 30.6Gy	不要
	左右網膜		不要
	左右視神経	46.8Gy	不要
	視神経交叉	46.8Gy	不要
	下垂体		不要
	角膜	41.4Gy	不要
	眼レンズ	14.4Gy	不要
	涙腺	41.4Gy	不要
	蝸牛		不要
	頸部	甲状腺	
胸部	肺	両肺 14.4Gy	必要
	心臓	全心臓 30.6Gy	不要
腹部	肝臓	全肝 23.4Gy	必要
	腎臓	両腎 14.4Gy	必要
	消化管	一部 45Gy	不要
	全腹—骨盤	30Gy (1.5Gy/回)	不要
骨盤	膀胱		不要
	直腸		不要
脊髄	脊髄	45Gy	不要

注：この耐容線量は、化学療法と併用した場合に毒性が増強することを考慮しておらず、大量化学療法併用時は耐容線量はさらに低いことが予想される。従って両側腎、全肝臓、両側肺、全脳、脊髄、全心臓への照射はさらに5 Gy 程度低い線量を上限とすることが望ましい。

1.2. 線量計算と記載

- 1) volume-based 治療計画法を用いる場合、三次元治療計画基準が必要である。
- 2) 基準点：基準点に対して処方線量を投与するために必要なモニターユニットや照射時間は、二次元治療および三次元治療では「外部放射線治療における線量の評価と統一」（日本放射線腫瘍学会研究調査委員会編 1995年9月）に準拠して計算される必要がある。

- 3) 線量の均一性：標的体積に対する最大・最小線量は計算され、二次元治療、原体治療では各施設で使用している照射録用紙を用いて報告する。これらは isodose diagrams から抽出されるか、計算されるか、DVH から導かれる。
- 4) 決定臓器 (Critical Organ)：表 1 に示された決定臓器への毎日の照射線量は、照射野に含まれるときは常に計算されるべきである。必要に応じて照射線量が委員会から要求されることがある。
- 5) 等線量分布：一門照射 (電子線や光子) や線量比を変えない対向二門照射では等線量分布図は必要としない。その他の場合では計画標的体積の中心横断面の線量分布図を提示すること。基準点ならびに計画標的体積と決定臓器を表示すること。当線量値は明確に表示すること。遮蔽ブロックの効果も記載すること。不均質補正はしないこと。

Volume-based 治療計画の場合、PTV のアイソセンターの横断面、矢状断面、冠状断面の等線量分布が表示されていなければならない。矢状断面・冠状断面を表示出来ない場合は、横断面 5 枚でもかまわない (中心軸と 2 枚の上方面、2 枚の下方面)。これらの等線量分布には以下のものが含まれなければならない。

- a) 等線量分布図では、十分な数の当線量輪郭線が放射線治療ガイドラインにのっとり表示されていなければならない。
- b) これらの等線量は治療計画 CT 像または治療計画 MRI 像に重ねて表示すること。ただし、標的体積と重要正常臓器に関して線量分布を確認する上で十分な輪郭線が描ければ、グレースケール画像なしでプロットしてもかまわない。つまり、dose volume histogram のための情報を含むこと。

1 3. 精度保証に関する記載

- 1) 放射線治療開始後 3 日以内に、以下のデータを準備し、委員会からの問い合わせに答えられるようにしなければならない。なお、不明な点に関しては問い合わせ先へ連絡して頂きたい。
- 2) 標的体積を決定するために使用したすべての診断材料と手術記録。初期 (治療前) 画像も必要である。
- 3) シミュレーションフィルムまたはそれぞれの照射野のデジタル再構成画像 (DRR)
- 4) それぞれの照射野の確認写真 (リニアックグラフィ) (体軸断でない照射野では不可能なことがある)
- 5) それぞれの標的体積における等線量分布図
- 6) 処方線量 (prescribed dose) を投与するためのモニター設定の計算を行った各施設で使用している照射録用紙
- 7) 線量分布が設定内であることを証明する等線量分布図。標的体積と基準点が明確に示されていること。

1 4. Volume-based 治療計画では以下のデータも加えて準備すること。

1) 処方線量の 10%を越える線量を受けた正常組織の全治療に対する Dose Volume Histogram (DVH)。どの DVH のデータが考慮されるかについては表 1 に列挙されている。

1 5. 放射線治療終了後 1 週間以内にこれらのデータを提出すること。

- 1) 大きな照射の修正を行った場合を含む治療を行った位置決め写真や照射野写真（リニアックグラフィあるいはポータルイメージ）のコピー。
- 2) 進行神経芽腫放射線治療報告用紙
- 3) 必要な部位及び基準点における投与線量、毎日の線量、累積線量を含む患者の放射線治療記録のコピー（各施設で使用している照射録用紙）。

1 6. データの送り先

データセンターの予定

線量分布や物理学的疑問の問い合わせ先

〒160-8582 東京都新宿区信濃町 35 慶応義塾放射線科学教室

國枝 悦夫

TEL 03-3353-1211 FAX 03-3359-7425 E-mail: kunieda@sc.itc.keio.ac.jp

この放射線治療ガイドラインに関する疑問あるいはコンサルテーションの問い合わせ先

〒157-8535 東京都世田谷区大蔵 2-10-1 国立成育医療センター放射線診療部

正木 英一

TEL 03-5494-7149 FAX 03-03-5494-8269 E-mail: masaki-h@ncchd.go.jp

FAX 03-5494-8269

国立成育医療センター放射線診療部 正木英一

この調査に関するお問い合わせは masaki-h@ncchd.go.jp まで

「神経芽腫放射線治療ガイドライン」に関する調査

【基本データ】

●病院名： [_____]

●病床数： 全体 _____ 床
小児科 _____ 床

●年間の放射線治療件数（概算）
症例数 : _____ 件
小児（新患） : _____ 名

●最近 10 年間の小児神経芽腫の放射線治療件数（概算）
NB 治療件数 : _____ 件

●最近 10 年間の小児神経芽腫の「術中照射」件数（概算）
術中照射 : _____ 件

●放射線治療医師 氏 名 : _____
E-mail : _____
常勤 非常勤

※非常勤の場合
連絡先の施設名 :

[_____]
連絡先電話 : _____

●インターネットメール環境が病院に _____ ある _____ ない

上記、基本データと質問表（問1-7）にご記入の上、FAX ないし返信用封筒にてご回答頂きますようお願い申し上げます。

FAX 03-5494-8269

【問 1】 進行神経芽腫の全国プロトコールにおいて、放射線治療は、超大量化学療法と骨髄移植の後に行われることになりましたが、いかがでしょうか？

了承する 反対する

コメント

【問 2】 切除術後の照射野について、従来は「初診時の腫瘍床をもとに照射野を決定する」となっていますが、広すぎる場合が少なくないとの指摘があり、文献※を参考にして、今回は「化学療法で縮小した場合は、切除術直前の腫瘍床をもとに照射野を決定する」と致しましたが、いかがでしょうか？

了承する 反対する

コメント

【問 3】 超大量化学療法後の術後照射として、総線量 19.8Gy (1.8Gy/回, 11回)を採用しましたが、いかがでしょうか？

了承する 反対する

コメント

【問 4】 術中照射の線量は、電子線による 10Gy (1 回)を採用しましたが、いかがでしょうか？

了承する 反対する

コメント

【問 5】 術中照射の電子線エネルギーは、顕微鏡的残存を前提に 6MeV を考えていますが、いかがでしょうか？

了承する 反対する

コメント

【問 6】 化学療法後に MIBG シンチ陽性残存の骨転移に照射 19.8Gy (1.8Gy/回, 11 回)を行うことにしましたが、いかがでしょうか？

了承する 反対する

コメント

【問 7】 その骨転移への照射範囲の決定は、超大量化学療法「前の」MIBG シンチ残存病変に行うべきか、超大量化学療法「後の」MIBG シンチ残存病変に行うべきか、いかがでしょうか？

前の	後の
残存病変	残存病変

コメント

全体に対するご意見

進行神経芽腫に対する標準的治療確立および新規治療開発のための研究

分担研究者 田尻 達郎 九州大学病院 講師

研究要旨 マイクロアレイにて神経芽腫予後不良群、予後良好群の2群間の異なる遺伝子発現を解析し、神経芽腫における新規予後因子の検討を行った。予後良好群に優位であった *Neuronatin* 遺伝子に着目し、定量的 PCR にて発現の解析を行った結果、*Neuronatin* の α と β のアイソフォームでは、 β フォームの方がより他の予後因子に関連して発現差が認められた。*Neuronatin* の新規予後関連遺伝子としての可能性が示唆された。

A. 研究目的

マイクロアレイにて神経芽腫予後不良群、予後良好群の2群間の異なる遺伝子発現を解析し、神経芽腫における新規予後因子の検討を行うことを目的とする。

B. 研究方法

1) 腫瘍検体

用いた神経芽腫検体は、九州大学小児外科および関連施設において、1979年から2004年の間に化学療法前に採取し、 -80°C で凍結保存した。これらの検体に関しては、あらかじめ患者の家族から研究用検体の保存、遺伝子解析の同意を得ている。また、これらの検体は、以前にサザンブロットによる *MYCN* 増幅(3コピー以上)の有無、フローサイトメトリーによる DNA ploidy の解析を行っている^{6,7)}。

2) RNA 抽出

RNA は、凍結検体および培養細胞から、Isogen (ニッポンジーン) を用いて、プロトコールに従い抽出を行った。

3) cDNA マイクロアレイ

マイクロアレイに用いた検体は、1歳以上、*MYCN* 増幅あり、diploid、Shimada unfavorable histology の3検体を予後不良群 (Unfavorable 群)、1歳未満、

MYCN 増幅なし、aneuploid、Shimada favorable histology の3検体を予後良好群 (Favorable 群) と設定した。

この6検体から抽出した RNA を、1検体あたり $7\ \mu\text{g}$ 、Favorable 群、Unfavorable 群を各々3検体ずつプールし (各群 $21\ \mu\text{g}$)、解析に使用した。各群をそれぞれ Cyanine-3、Cyanine-5 でラベル化した cDNA に合成し、競合的にマイクロアレイ (Human1; アジレント社、12,814 遺伝子) にハイブリダイゼーションさせた。なお、各々もう一方の蛍光色素で標識した裏試験も行った。ハイブリダイゼーション後、スライドガラスの洗浄を行い、スキャナー (Gsi Lumonics ScanArray 4000s) にて蛍光色素を取り込み、解析を行った。

4) cDNA 合成

臨床検体から抽出した RNA から、First-Strand cDNA Synthesis Kit (Amersham Biosciences) を用いて、プロトコールに従い cDNA を合成した。

F. 5) 半定量的 RT-PCR

Neuronatin 遺伝子の mRNA には、 α と β の2つのアイソフォームがあり、 α は、3つのエクソンからなり、 β はそのうち真ん中のエクソンを除く2つのエクソンからなる (図1)⁸⁾。この2つのアイソフ

フォームを捕らえるように、半定量的RT-PCRのprimerを設定した。コントロールには、 β アクトチンを用いた。0.5 μ l (100ng) のcDNAを鋳型として用い、94°C 5分を1サイクル、94°C30秒、60°C30秒、72°C30秒を35サイクル、72°C7分を1サイクルでPCR反応を行った。PCR産物は、1%アガロースゲルにて電気泳動を行い、エチジウムブロマイドにて標識した。

6) 定量的PCR

定量的PCRに用いた *Neuronatin* α 、 β のプライマー、TaqManプローブは、ABI PRISM Primer Express (Applied Biosystems) を用いて設計した。TaqManプローブの標識は、5'にFAM、3'にTAMRAの蛍光色素を用いた。内在性コントロールとして、18S rRNA TaqMan プローブ/プライマー (Applied Biosystems) を用いた。5 μ l (50-100ng) のcDNAを鋳型とし、50°C2分を1サイクル、95°C10分を1サイクル、95°C15秒、60°C1分を40サイクルでABI PRISM 7000 (Applied Biosystems) にてPCR反応を行った。標準曲線から、各々の検体の測定値を検出し、内在性コントロールに対する比の値を算出、各検体の値とした。

7) 統計学的解析

定量的PCRの結果と既知の予後因子である年齢、病期 (INSS)、ploidy、Shimada分類、*MYCN*増幅の有無および転帰との関連を、Mann-Whitney解析を用いて統計学的に検討した。

C. 研究結果

1) cDNA マイクロアレイによる、2群間の遺伝子発現解析

マイクロアレイのデータから、測定値が規定値以上であり、2群間で差が2倍以上である遺伝子を有意なものとした。これにより、Unfavorable 優位な遺伝子を約400、Favorable 優位な遺伝子を約40選別した。このうちの一部を表1に示す。Unfavorable

群に優位であった遺伝子で、最も発現差が大きかったものは、*MYCN*遺伝子であり、Favorable群の約18倍の発現差が認められた。その他、*RAN*などのがん関連遺伝子や、細胞周期関連遺伝子、*IGF-2*、*Heat shock protein*群等が高発現であった。Favorable群に優位であったものは、最大でも約4倍の発現差であった。Favorable群に優位であった遺伝子の中から、Unfavorable群の約3倍の発現が認められ、胎生期の脳神経系に特異的に発現が認められることが報告されている *Neuronatin* という遺伝子に着目し、以下の解析を行った。

2) 半定量的RT-PCRによる *Neuronatin* 遺伝子の発現パターン解析

半定量的RT-PCRにて、マイクロアレイに用いた各々の検体に関して *Neuronatin* の発現解析を行った (図2)。全体的にFavorable群において、Unfavorable群に対して β の発現が高い傾向にあったが、 α は全体的に発現が低かった。3例ずつの検体間においても、差異が認められた。

3) 定量的PCRによる *Neuronatin* 遺伝子アイソフォームの発現解析

Neuronatin α 、 β のそれぞれのアイソフォームの発現について、臨床検体を用いて α は69検体、 β は70検体で発現の定量的解析を行った (表2)。 α 、 β のいずれも予後不良因子を有する群で予後良好因子を有する群に対し、低発現であったが、 β において、その差は顕著であり、年齢、病期 (INSS)、ploidy、Shimada分類、*MYCN*増幅の有無および転帰のいずれの項目における解析でも、有意差が認められた。マス症例を除いた解析でも、予後不良因子を有する群に低発現の傾向であり、特に *MYCN* 増幅の有無に関して α (N=32)、 β (N=22) のいずれにおいても、有意差が認められた。

D. 考察