

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。

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

1. 正木英一、北村正幸：K. 小児腫瘍 1. 白血病 2. 小児ホジキン病 3. 小児非ホジキンリンパ腫 4. ウイルムス腫瘍 5. 神経芽腫 6. 横紋筋肉腫 7. ユーイング肉腫 (PNET を含む) 8. 網膜芽細胞腫 コラム全身照射 (TBI) 久保敦司、土器屋卓志、安藤裕 編著：放射線治療グリーンマニュアル. pp274-298. 金原出版. 2005. 3. 20.

2. 正木英一、北村正幸、宮寄治、堤義之、鹿島恭子、宮坂実木子、佐藤宏朗、大楠郁子、黒崎仁寛、野坂俊介、岡田良行、松岡健太郎：小児 A. 悪性腫瘍の臨床. 田中良明、吉田祥二編著：癌・治療効果判定の画像診断. pp257-270. 医療科学社. 2005. 10. 20.

3. 正木英一、北村正幸、野坂俊介、岡田良行、宮寄治、堤義之、鹿島恭子、宮坂実木子、大楠郁子、岡本礼子：国立成育医療センターでの取り組み－標準的な小児がんの診断、治療構築を目指す. 新医療 372:43-47.2005.

2. 学会発表

1. 正木英一：神経芽細胞腫の放射線治療－小児がん治療研究における放射線治療の役割. 第 5 回 拡大 Pediatric Oncology Conference. 2005. 11. 11. 仙台

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

7.6 放射線療法ガイドライン

7.6.1 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、遠隔臓器転移を有する（INSS stage4）の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、神経孔との関係の評価するために 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。

7.6.2 装置

- (1) 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。
- (2) 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。

7.6.3 標的体積の定義

- (1) 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。
- (2) 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。
- (3) 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。
- (4) 計画標的体積（PTV）は CTV に設定誤差や治療時の呼吸や体動、または固定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。

7.6.4 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。なお、手術中に確認される肉眼的または触知しうる病変を併せて考慮する。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 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 7-1 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。
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 19.8 Gy 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 19.8 Gy 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複は各臓器の耐容線量を超えない限りこれを許容する。
- (8) 前後 2 門照射時に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。

7.6.5 放射線治療のタイミング

- (1) 放射線治療の開始時期は、外科療法後の患者の全身状態および手術創の治癒が放射線治療の施行に十分であると、外科担当医によって判断された時点で、できるだけ速やかに開始する。種々の理由により、外科療法が施行できなかった場合には、大量化学療法および造血幹細胞救援療法終了後の血球回復後に、小児腫瘍医と放射線治療担当医との協議の上で時期を決定する。術中照射の場合は、外科療法中に施行する。
- (2) 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変化を来たさずにすむという報告によるものである。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。
- (3) 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。

7.6.6 ターゲット線量

- (1) 規準点 (prescription point)：PTV の規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) での規準点は通常、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が、volume-based (三次元) 治療計画にて可能であれば補正を行うこと；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規準線量と分割法

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 19.8 Gy、照射はすべて 1 日 1 回 1.80 Gy で週 5 回行なう。

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ではブーストとして体外照射で 10.8 Gy 追加照射を行う。この肉眼的残存の GTV は手術時のマーキングあるいは術後 CT で確認できるものとし、GTV は GTV+0.5cm とする。

(4) 転移巣に対する規準線量と分割法

骨転移巣は放射線治療を必要とする。化学療法開始以前の I-123 MIBG シンチグラフィ、単純写真、骨シンチグラフィ（骨シンチは MIBG で陰性の場合に初診時に必須で行う検査である。MIBG で陽性であれば骨シンチは省略できる）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。この骨転移・骨髄転移における GTV は MIBG 陽性部位とし、CTV および PTV は原発巣と同様の考えを採用するが、骨転移・骨髄転移の進展形式を勘案し、軟部組織への側方進展が無い場合は骨膜までを CTV とすること。MIBG シンチグラフィで初診時陰性であった骨転移部へは、他の検査で得られた初診時転移部を GTV 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、合計 19.8 Gy とする。

(5) 線量の均質性

2D 治療計画では PTV 内の線量差は、規準点の+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、規準点の 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。

(6) 術中照射

術中照射では総線量 10.0Gy 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。顕微鏡的残存腫瘍では電子線エネルギー 4~6 MeV を用いる。肉眼的残存腫瘍の場合は、残存部位に対してのみブーストとして 5.0Gy 追加とし、総線量 15.0Gy を肉眼的残存部へ照射する。その際の電子線エネルギーは 4~12MeV の幅で残存腫瘍の予想厚に応じた適切なものを用い、また脊髄神経への影響を勘案する必要がある。

なお、照射野には腸管、尿管などが含まれないようにし、必要なら鉛板で遮蔽する。

転移リンパ節領域が照射野外となった場合は、7.6.4(7)を参照のこと。

7.6.7 中断、変更および中止

- (1) 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。
- (2) 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。
- (3) 総治療期間 40 日間以上にわたる延長、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。

7.6.8 治療技術

- (1) 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。
- (2) 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ェル作成し、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。

(3) 照射野の作成：照射野は最低5HVL 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。

7.6.9 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 7-1 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 7-1 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		不要
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 45.0Gy	不要
	全腹—骨盤	30.0Gy (1.5Gy/回)	不要
骨盤	膀胱		不要
	直腸		不要
脊髄	脊髄	45.0Gy	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5.0 Gy 程度低い線量を上限とすることが望ましい。

7.6.10 線量計算と記載

- (1) volume-based 治療計画法を用いる場合、三次元治療計画規準が必要である。
- (2) 規準点：規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。規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。

- ① 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。
- ② 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。

7.6.11 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。標的体積と規準点が明確に示されていること。
- (8) Volume-based 治療計画では以下のデータも加えて準備すること：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 7-1 に列挙されている。

7.6.12 放射線治療終了後2週間以内に提出すべきデータ

〔「10.1 記録用紙の種類と提出期限」を参照のこと〕

- (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（リアックグラフィあるいはポータルイメージ）のコピー〔個人情報をもスクする事〕。
- (2) 放射線治療報告用紙
- (3) 必要な部位及び規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（各施設で使用している照射録用紙）のコピー〔個人情報をもスクする事〕。

7.13 治療に関する相談

治療に関する疑問点がある場合には、以下の研究事務局に問い合わせること。

研究事務局

（プロトコール全般、寛解導入化学療法、大量化学療法・自家造血幹細胞採取）

七野浩之（しちの ひろゆき）

日本大学医学部小児科

住所：〒173-8610 東京都板橋区大谷口上町30-1

電話：03-3972-8111（8964 院内PHS）

FAX：03-3957-6186

e-mail：shichino@palette.plala.or.jp

hshichno@med.nihon-u.ac.jp

外科療法研究事務局（外科療法）

金子道夫（かねこ みちお）

筑波大学臨床医学系小児外科

住所：〒305-8575 茨城県つくば市天王台1-1-1

電話：029-853-3086

FAX：029-853-3149

e-mail：mkaneko@md.tsukuba.ac.jp

放射線療法研究事務局（放射線療法）

正木 英一（まさき ひでかず）

国立成育医療センター放射線診療部

住所：〒157-8535 東京都世田谷区大蔵2-10-1

電話：03-5494-7149

FAX：03-5494-8269

e-mail：masaki-h@ncchd.go.jp

線量分布や物理学的疑問の問い合わせ先

國枝 悦夫（くにえだ えつお）

慶応義塾放射線科学教室

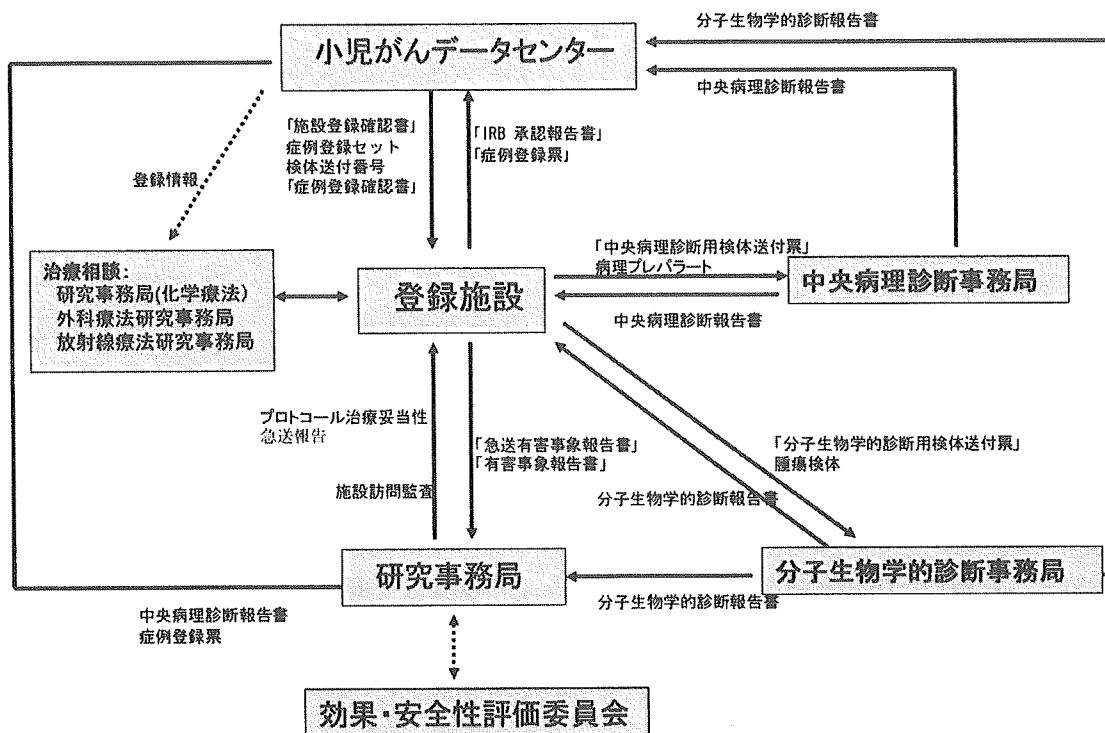
住所：〒160-8582 東京都新宿区信濃町35

電話：03-3353-1211

FAX：03-3359-7425

e-mail：kunieda@sc.itc.keio.ac.jp

早期第II相臨床試験 症例登録とデータの流れ



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「神経芽腫における外科療法の最適化」

（進行神経芽腫に対するセンダイウィルスを用いた樹状細胞療法についての研究）

分担研究者 田尻 達郎 九州大学病院 講師

研究要旨

神経芽腫のマウス皮下担癌モデルを作成し、センダイウィルス(SeV)により活性化させた樹状細胞(DC)を腫瘍内に投与してその有効性を検討した。無治療群、tumor lysate のみで刺激した樹状細胞、LPS+tumor lysate で刺激した樹状細胞、tumor lysate+SeV で刺激した樹状細胞をそれぞれ用いて腫瘍抑制効果を比較した。その結果無治療群に比べて tumor lysate+SeV で刺激した樹状細胞を用いた群において最も腫瘍抑制効果を認めた。また MHC class I 発現増強効果をもつ IFN- β を搭載した SeV-IFN β を用いると腫瘍抑制効果はさらに増強された。

A. 研究目的

神経芽腫に対して、SeV によって活性化した樹状細胞を用いた免疫遺伝子療法の有効性の検討を行うことを目的とする。

B. 研究方法

1) IFN- β による MHC class I 発現の増強についての検討

IFN- β を $0\sim 1\times 10^4$ U/ml の濃度で培養上清液に加えた状態で腫瘍細胞を 48 時間培養し、FACS analysis により MHC class I 発現の評価を行う。

2) 皮下担癌マウスの作成

マウス神経芽腫細胞株(C1300:A/J マウス由来)を 1×10^7 /ml に調節し、100 μ l (1×10^6) を単径部近くの腹部に接種する。

3) 樹状細胞の作成

A/J マウスの大腿骨、脛骨より採取した骨髓前駆細胞

を IL-4 (12.5u/ml), GM-CSF (25u/ml) 存在下に 6 日間培養することにより immature DCs へと分化させる。

4) 樹状細胞の活性化

immature DC に腫瘍抗原として tumor lysate を pulse した。その後、LPS (2ug/ml)、SeV-GFP (MOI 40)、SeV-IFN β (MOI 40) で樹状細胞を培養し、活性化させた。活性化の評価を樹状細胞の表面マーカーである CD40、CD80、CD86、MHC class II を FACS analysis にて評価した。

5) 樹状細胞の投与

作成した DC を腫瘍接種日より 10 日目、17 日目、24 日目に 1×10^6 /100 μ l/head で腫瘍内及び周囲に接種し、それぞれのグループの腫瘍体積を測定し、腫瘍増殖抑制効果を判定した。(図 1)

C. 研究結果

1) IFN- β による MHC class I 発現の増強についての検討

神経芽腫の MHC class I の発現は低いとされているが、今回用いたマウス神経芽腫細胞株 (C1300) においても MHC class I の発現は低かった。これに IFN- β を各濃度下で培養すると、MHC class I 発現の増強を認めた。(図 2)

2) 樹状細胞の活性化

コントロール樹状細胞、LPS、SeV で活性化させた樹状細胞の表面マーカーを FACS analysis で評価した。SeV で活性化させた樹状細胞は LPS で活性化させた樹状細胞とほぼ同等の活性化を示した。(図 3)

3) 腫瘍増殖抑制効果

マウス皮下に腫瘍を接種した後、10 日目、17 日目、24 日目に樹状細胞を投与し、その腫瘍体積を計測した。コントロールと比較し、SeV/DC では有意に腫瘍増殖抑制効果を認め、SeV-IFN β /DC では更に強い腫瘍増殖抑制効果を認めた。(図 4)

D. 考察

今までに悪性腫瘍に対する樹状細胞を用いた免疫治療は数多く報告され、2005 年には神経芽腫に対する Phase I study が行われているが、その効果については一定の見解は得られていない。神経芽腫に対しては樹状細胞と腫瘍細胞を電気融合させ、腫瘍ワクチンとして用いた動物実験や、アデノウィルスをベクターとして IL-12 を樹状細胞に導入し腫瘍内に投与した動物実験が報告されている。2004 年に Rosenberg らがまとめた報告ではその clinical response は 7.1%と低いものであった。この低い clinical response の原因として、悪性腫瘍の抗原性が低く、免疫機能を抑制する液性因子を産生していることなどが考えられる。神経芽腫においては腫瘍の産生する液性因子 (TGF- β 、VEGF、ガングリオシドース) などによって抗原提示細胞の活性化、産生が抑制され、MHC class I の発現が低いため抗原

性が低いとされている。我々が使用しているセンダイウィルスは細胞質型 RNA であるため、宿主への染色体への安全性が高く、また高い導入効果が特徴であるが、更に樹状細胞に感染させるだけで、高い活性化を引き起こすことが分かってきた。これにより今回の実験において SeV/DC が腫瘍抑制効果を示したと考えられる。さらに SeV-IFN β では腫瘍細胞の MHC class I を増強することで、樹状細胞への認識が容易になりさらに腫瘍抑制効果が高まったと考えられる。

E. 結論

センダイウィルスを用いた樹状細胞療法はマウス神経芽腫皮下モデルにおいて有効であった。今後特異的 T 細胞誘導の検討、遠隔転移モデルでの検討、投与部位の検討を行い、臨床へ応用していきたく考えている。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 田尻達郎、木下義晶、高橋由紀子、東真弓、竜田恭介、田口智章、水田祥代：神経芽腫治療における外科治療の役割（一施設症例の解析からの考察）。小児がん 42: 64-68, 2005
2. Tajiri T, Tanaka S, Suita S, et al: Biological diagnosis for neuroblastoma using a highly sensitive analysis of prognostic factors. J Pediatr Surg (in press), 2006
3. Suita S, Tajiri T, et al: Insights into infant neuroblastomas based on an analysis of neuroblastomas detected by mass screening at 6 months of age in Japan. Eur J Pediatr Surg (in press), 2006

2. 学会発表

① 第 21 回日本小児がん学会

センダイウィルスにより活性化された樹状細胞による抗腫瘍免疫遺伝子治療の開発

竜田恭介、田尻達郎、田口智章、他

② 第42回小児外科学会

センダイウイルスにより活性化された樹状細胞を用いた抗腫瘍免疫遺伝子治療の開発

竜田恭介、田尻達郎、田口智章

図1

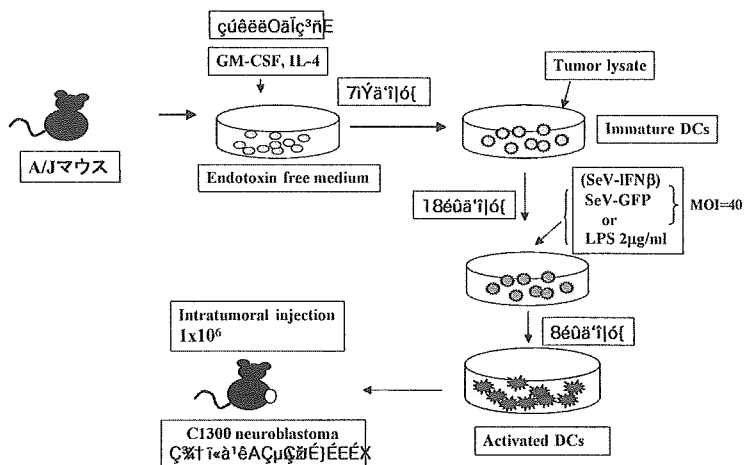


図2

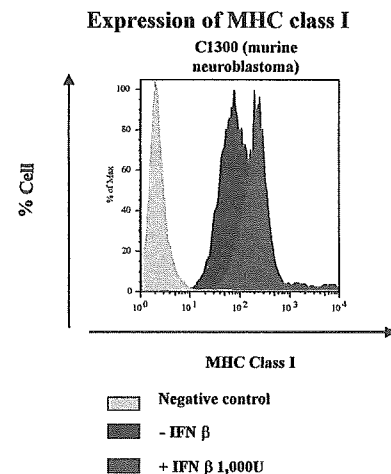


図3

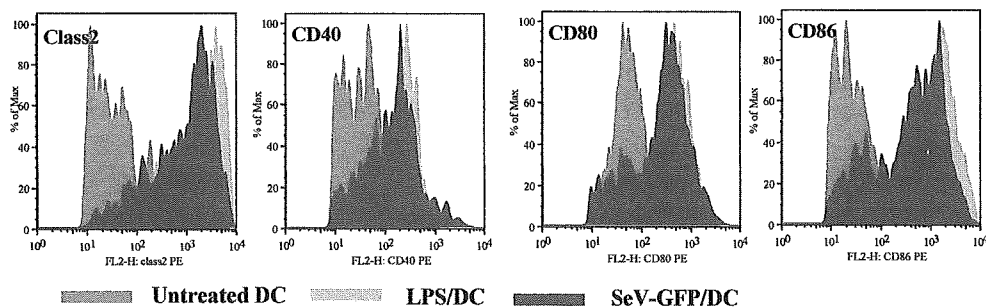
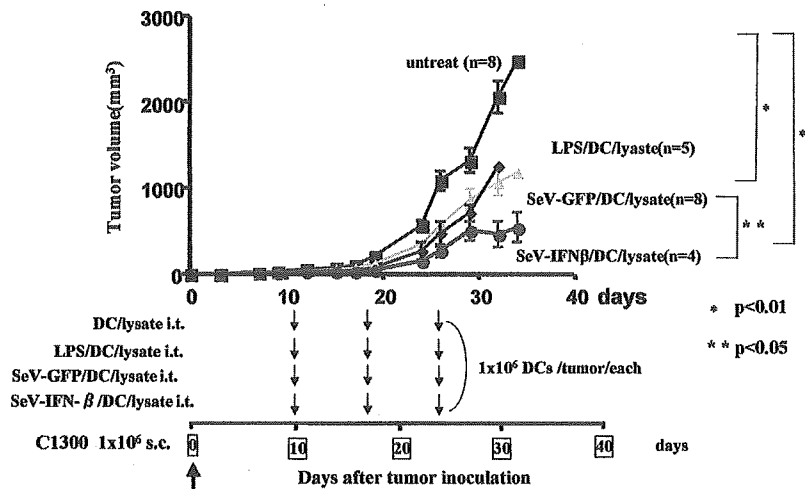


図4



進行神経芽腫に対する標準治療確立および新規治療開発のための研究

分担研究「リスク層別化と病態解明のためのトランスレーショナル研究」

分担研究者 中川原 章 千葉県がんセンター研究所長

研究要旨 近年の小児がんに対する治療法の進歩にもかかわらず、進行神経芽腫の治癒率は今なお約 30% に止まっている。そこで本研究では、個々の神経芽腫の進行度を予測し、適切な治療方針の選択につなげることを目的に、網羅的遺伝子発現プロファイリングに基づいた新しい神経芽腫のリスク分類システムの構築を目指す。これまでに神経芽腫に特化した約 5000 遺伝子からなる in-house cDNA マイクロアレイを作製し、遺伝子発現解析に用いることにより、約 90% の高い効率で症例の予後予測が可能であることを示した。特に従来予測が困難であった中間型についても高い予測率を示したことから、その臨床における有用性が期待された。そこで本年度は、予後と特に強く相関する 200 個の遺伝子を搭載した診断用のマイクロアレイを作製し、臨床発見例 40 症例の神経芽腫についてさらに検討を行った。その結果、我々の遺伝子発現解析システムは、各症例の治療戦略の決定において有用な情報を提供できることが示された。

A. 研究目的

近年の治療法の進歩により小児悪性腫瘍の治癒率は著しく改善したが、小児悪性固形腫瘍の中で最も発生頻度の高い神経芽腫は発見時に既に進行したものが多く、その治癒率は今なお約 30% に止まっている。しかも一方では神経芽腫には自然治癒するものや、長期にわたって再発を繰り返し予後の予測が困難なサブセットも存在する。そこで本研究は、個々の神経芽腫に適した個別化医療を確立するために、神経芽腫に特化した cDNA マイクロアレイを作製し、神経芽腫の新しいリスク分類を行うことを目的とする。また、新たな前向き治療試験研究に組み込むための新しい網羅的発現解析用の cDNA マイクロアレイの作製も行う。

B. 研究方法

1) 神経芽腫解析用 cDNA マイクロアレイの作製とハイブリダイゼーション

チップ作製には、神経芽腫由来 cDNA ライブラリーからのクローン約 5300 個の挿入断片（平均約 2.5kb）を LA-PCR により増幅し、精製したものをを用いた。スポットティングにはスポット毎の均一性の高いインクジェット方式を採用した。チップ解析に用いるサンプルとして凍結腫瘍組織から total RNA を調製し、アジレントバイオアナライザーによる RNA クオリティの確認を行った。ハイブリダイゼーションには、5

〜10ug のサンプルおよびコントロール（神経芽腫細胞株 4 種類の混合物）の total RNA を用い、それぞれ Cy3、Cy5 で標識したものを等量混合し用いた。上記の網羅的解析用マイクロアレイに加え、昨年度までに抽出した神経芽腫の予後に強く関わる遺伝子の上位 200 個を搭載した cDNA マイクロアレイも上記の方法と同様に作製した。

2) マイクロアレイデータの数値化と統計解析による神経芽腫予後予測値の算出

ハイブリダイゼーション後の各遺伝子スポットの蛍光強度をアジレント社製スキャナーで読み取り、数値化を行った。LOWESS 法によるデータノーマライゼーションの後、特に予後と強く関わる遺伝子についてペアワイズ法と leave-one-out 法の 2 重化法の組み合わせによる予後予測アルゴリズム処理を行い、各腫瘍の進行度を算出した。得られた結果について各症例の臨床経過との比較検討を行った。

＜倫理面の配慮＞遺伝子発現解析に用いる神経芽腫サンプルは、全て組織供与施設においてインフォームドコンセントを得、匿名化された後に当研究室に供与されたものをを用いた。本研究は「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に則って行い、研究実施にあたっては、千葉県がんセンター倫理審査委員会の承認を得た。

C. 研究結果

1) 神経芽腫特異的マイクロアレイを用いた神経芽腫の予後予測の試み

これまでに当研究室では、神経芽腫解析用 cDNA マイクロアレイを用いて、既に 136 症例の神経芽腫について網羅的遺伝子発現解析を進め、患者予後情報と発現データを組み合わせた統計解析とマシン学習を行い、患者の予後と強く相関する遺伝子の抽出とそれを用いた予後予測アルゴリズムの構築を行った。その高い予後予測能（約 90%）から、我々のマイクロアレイを用いた遺伝子発現プロファイルによるがんの層別化が実際に可能であることが示された。特に従来の予後因子では予測が困難であった中間型（stage 3 または 4、MYCN 増幅なし）について、高い予測率を示したことから、その臨床における有用性が期待された。そこで本年度は、予後と特に強く相関する 200 個の遺伝子を搭載した診断用のマイクロアレイを作製し、本年度中に外科的手術により採取された臨床発見例 40 症例の神経芽腫についてさらに検討を行った。これらには再燃をきたした初発時 stage 1 の腫瘍や、診断 1 ヶ月後に死亡した stage 4s 症例などが含まれていたが、これらの初発時の腫瘍の遺伝子発現解析を行ったところ、予後不良の確率が高いという結果を得た。最終的な評価をするためには長期のフォローアップが待たれるものの、以上のことから、我々の遺伝子発現解析システムは各症例の治療戦略の決定において非常に有効な情報を提供できることが期待された。

2) 前向き試験用マイクロアレイの作製

全国統一神経芽腫グループスタディの遺伝子解析部門の充実を図るため、より網羅的な遺伝子発現解析を実現するためのチップ作製を進めた。約 11,000 個の遺伝子の断片を PCR により大量に調製し、小児がん DNA チップ (CCC-NHR11000-Chip) を作製した。現在さらに遺伝子ソースを増やすため、神経組織由来の遺伝子断片の調製を進めている。

D. 考察

従来診断に用いるには様々な克服すべき問題があった cDNA マイクロアレイであるが、当研究室の手法を用いて作製することにより、高い再現性をもって遺伝子発現プロファイリングに利用できることが示された。今後は診断用の 200 遺伝子のマイクロアレイについての評価を進め、精度の高い診断システムの実現を目指したい。また並行して、11,000 個の小児がん由来遺伝子を搭載したマイクロアレイを用いて、

臨床試験に付随した遺伝子発現解析を行い、治療感受性等に関わる遺伝子の同定と、それを含めたより充実した診断システムの構築につなげたい。

E. 結論

マイクロアレイを用いた遺伝子発現解析に基づく神経芽腫予後予測の手法を確立した。本成果は神経芽腫の新しいリスク分類の構築に重要な役割を果たすことが期待される。

F. 健康危険情報

該当事項無し

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Nakagawara A. Chapter 5. Molecular and developmental biology of neuroblastoma. In Neuroblastoma, Eds. N-K. Cheung & S. Cohn, 2005, Springer-Verlag, Heidelberg, pp41-53.
2. Kramer S, Ozaki T, Miyazaki K, Kato C, Hanamoto T, Nakagawara A. Protein stability and function of p73 are modulated by a physical interaction with RanBPM in mammalian cultured cells. *Oncogene* 24:938-944, 2005
3. 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.* 65:828-834, 2005
4. Ohira M, Oba S, Nakamura Y, Hirata T, Ishii S, Nakagawara A. A review of DNA microarray analysis of human neuroblastomas. *Cancer Lett.* 228:5-11, 2005
5. Lin L, Ozaki T, Takada Y, Kageyama H, Nakamura Y, Hata A, Zhang J-H, Simonds W, Nakagawara A, Koseki H. Topors, a p53 and topoisomerase I-binding RING finger protein, is a co-activator of p53 in growth suppression induced by DNA damage. *Oncogene* 24:3385-3396, 2005
6. 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.* 228:29-35, 2005
7. Ohira M, Oba S, Nakamura Y, Isogai E, Kaneko S, Nakagawa A, Hirata T, Kubo H, Goto T, Yamada 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* 7:337-350, 2005

8. Hanamoto T, Ozaki T, Furuya K, Hosoda M, Hayashi S, Nakanishi M, Yamamoto H, Kikuchi H, Todo S, Nakagawara A. Identification of protein kinase A catalytic subunit beta as a novel binding partner of p73 and regulation of p73 function. *J. Biol. Chem.* 280:16665-16675, 2005
9. Gotoh T, Hosoi H, Iehara T, Kuwahara Y, Osone S, Tsuchiya K, Kuroda H, Ohira M, Nakagawara A, Sugimoto T. Prediction of MYCN amplification in neuroblastoma using serum DNA and real-time quantitative PCR. *J. Clin. Oncol.* 23: 5205-5210, 2005
10. Osajima-Hakomori Y, Miyake I, Ohira M, Nakagawara A, Nakagawa A, Sakai R. Biological role of anaplastic lymphoma kinase in neuroblastoma. *Am J Pathol.* 167:213-222, 2005
11. Aoyama M, Ozaki T, Inuzuka H, Tomotsune D, Hirato J, Okamoto Y, Tokita H, Ohira M, Nakagawara A. LMO3 interacts with neuronal transcription factor, HEN2, and acts as an oncogene in neuroblastoma. *Cancer Res.* 65:4587-4597, 2005
12. Chen H, Suzuki M, Nakamura Y, Ohira M, Ando S, Iida T, Nakajima T, Nakagawara A, Kimura H. Aberrant methylation of *FBN2* correlates with progression of human non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 50:43-49, 2005
13. Nakagawara A, Sawada T, Brodeur GM, Matthay KK. Professor Yoshiaki Tsuchida, MD, PhD (1936-2005). *Pediatr. Blood Cancer.* 45:609-610, 2005
14. Okabe-Kado J, Kasukabe T, Honma Y, Hanada R, Nakagawara A, Kaneko Y. Clinical significance of serum NM23-H1 protein in neuroblastoma. *Cancer Sci.* 96:653-660, 2005
15. Ozaki T, Nakagawara A. p73, a sophisticated p53 family member in the cancer world. *Cancer Sci.* 96:729-737, 2005
16. Koshikawa N, Maejima C, Miyazaki K, Nakagawara A, Takenaga K. Hypoxia selects for high-metastatic Lewis lung carcinoma cells overexpressing Mcl-1 and exhibiting reduced apoptotic potential in solid tumors. *Oncogene* (in press)
17. Hosoda M, Ozaki T, Miyazaki K, Hayashi S, Furuya K, Watanabe K, Nakagawa T, Hanamoto T, Todo S, Nakagawara A. UFD2a mediates the proteasomal turnover of p73 without promoting p73 ubiquitination. *Oncogene* (in press)
18. Kaneko Y, Kobayashi H, Watanabe N, Tomioka N, Nakagawara A. Biology of neuroblastomas that were found by mass screening at 6 months of age in Japan. *Pediatr. Blood Cancer* (in press)
19. Machida T, Fujita T, Ooo M L, Ohira M, Isogai E, Mihara M, Hirato J, Tomotsune D, Hirata T, Fujimori M, Adachi W, Nakagawara A. Decreased expression of pro-apoptotic *BMCC1*, a novel gene with the *BNIP2* and *Cdc42GAP* homology (BCH) domain, is associated with poor prognosis in human neuroblastomas. *Oncogene* (in press)
20. Chen H, Suzuki M, Nakamura Y, Ohira M, Ando S, Iida T., Nakajima T, Nakagawara A, Kimura H. Aberrant methylation of RASGRF2 and RASSF1A in human non-small cell lung cancer. *Oncol. Rep.* (in press)
21. Inamori K, Gu J, Ohira M, Kawasaki A, Nakamura Y, Nakagawa T, Kondo A, Miyoshi E, Nakagawara A, Taniguchi N. High expression of N-acetylglucosaminyltransferase V in favorable neuroblastomas: Involvement of its effect on apoptosis. *FEBS Lett.* (in press)
22. Isono K, Nemoto K, Li Y, Takada Y, Suzuki R, Katsuki M, Nakagawara A, Koseki H. Overlapping roles for homeodomain-interacting protein kinases Hipk1 and Hipk2 in the mediation of cell growth in response to morphogenetic and genotoxic signals. *Moll. Cell. Biol.* (in press)
23. Niizuma H, Nakamura Y, Ozaki T, Ohira M, Isogai E, Kageyama H, Imaizumi M, Nakagawara A. Bcl-2 is a key regulator for the retinoic acid-induced apoptotic cell death in neuroblastoma. *Oncogene* (in press)

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

進行神経芽腫に対する標準的治療法の確立および新規治療法開発のための研究

分担研究 「中央病理診断と検体二次利用システムの確立」

分担研究者 秦 順一 国立成育医療研究センター 総長

研究要旨 昨年度、神経芽腫の治療改善のための大規模臨床研究を試行するための基盤整備のうち、症例登録、中央病理診断、遺伝子解析など治療選択に必須な基盤システムの構築について検討を行ったが、今年度はその運用段階に入った。INPC 分類とともに、そのリスク分類、予後判定にインパクトが高い MYCN をホルマリン固定パラフィン切片を用いた FISH 法で安定して同定する方法が実用段階に入った。

A. 研究目的

小児がんの中でも極めて難治性である進行神経芽腫の治療成績向上には大規模な多施設臨床研究(日本神経芽腫多施設臨床研究グループ、以下 JNBSG)の推進が必須である。このような臨床試験の遂行には先ず、その根拠となる腫瘍診断の標準化が必須である。同時にこれら診断を新たな診断や治療開発のためのトランスレーショナルリサーチに再利用する仕組みを確立する必要がある。本研究では昨年度に引き続き、神経芽腫の中央病理診断体制の確立のため、病態を含めた予後予測が可能な神経芽腫の病理組織分類を定め、且つこれら診断の標準化のためのシステム構築とその運用について問題点を整理し、実行することにある。

B. 研究方法

本年度は進行神経芽腫の臨床研究に資するための中央病理診断の体制に関して以下の検討を行った。

1) 昨年度に引き続き、客観的で再現性の高い病理診断と同時に病態を反映する遺伝子解析の結果を臨床試験の実施機関と関連部門(リスク分類委員会、データセンターなど)伝達する方法を確立するために必要な症例登録の仕組みをより具体的に検討する。

2) 昨年度 JNBSG において用いることとなった国際神経芽腫組織分類(International Neuroblastoma Pathology Committee Classification, INPC)に加えて、リスク分類や予後に強いインパクトがある MYCN 遺伝子の組織切片上での検出法を確立し、組織像と併せて報告することができるよう体制を整備する。

C. 研究結果 および D. 考察

(1) JNBSG の症例登録から病理診断結果および遺伝子解析の結果を関連各所に伝達する方法については昨年度、その概要を決定し本年度施行段階に入り、その運用に問題ないことが確認できた。

②神経芽腫新国際分類 INPC に関しては昨年度確定したが概要は以下のとおりである

A) INPC組織学的分類の方針と病理組織分類

1) Neuroblastoma/subgroup

- a) undifferentiated
- b) poorly differentiated
- c) differentiating

2) Ganglioneuroblastoma, intermixed

3) Ganglioneuroma/subgroup

- a) maturing
- b) mature

4) Ganglioneuroblastoma, nodular

神経芽腫の組織像は、腫瘍性神経芽細胞と反応性に増生するシュワン様細胞から成る間質によって構成される。本組織学的分類は、1)シュワン様細胞の量、腫瘍細胞である神経芽細胞の増殖巣との関連、2)増殖している神経芽細胞の分化・成熟程度、3)腫瘍細胞の増殖性の目安となる Mitosis-Karyorrhexis-Index(MKI)を取り入れる、4)神経芽腫の腫瘍細胞の分化・成熟度は年齢と極めて高い相関があるので、発生年齢と組織像によって腫瘍の予後を推定する。

1) Neuroblastoma

Neuroblastoma は以下の 3 亜型に分類する。

a) Undifferentiated type

小型ないし中型の裸核状の未熟な神経芽細胞で核小体の明瞭な細胞からなる。腫瘍細胞間に神経細線維は認められない。この亜型に診断されると年齢に関連なく予後不良群分類される

b) Poorly differentiated type

腫瘍細胞は小型、裸核状であるが神経細線維が腫瘍細胞間に明らかに介在する腫瘍を指す。

c) Differentiating type

腫瘍細胞の多くは、なお未熟な神経芽細胞であるが交感神経節細胞へ分化傾向を示す細胞(核面積の2倍以上の好酸性胞体、核小体の明瞭化)が5%以上占める

d) Mitosis Karyorrhexis-Index (MKI)

腫瘍細胞の増殖性を示し、予後とも密接に関連する。最近 MYCN との関連も明らかにされた。MKI はその出現頻度に従って高度 (high、>4% : >200 個/5000 細胞)、中等度 (intermediate、2-4% : 100-200 個/5000 細胞)、軽度 (low、<2% : 100 個/5000 細胞)に分類される。High は組織型にかかわらず予後不良

2) Ganglioneuroblastoma (GNB), intermixed

3) Ganglioneuroma (GN)

一連の腫瘍で成熟したシュワン様細胞が腫瘍組織の50%以上を占め、その中に神経節細胞様の大型な腫瘍細胞や小型で未熟な神経芽細胞の増殖巣が混じる。常に予後良好。

4) Ganglioneuroblastoma, nodular type (GNB, nodular)

神経節腫様組織から成る腫瘍で、その中に出血を伴う未熟神経芽細胞の増殖巣が肉眼的に結節状にみとめられる腫瘍。すなわち、後者は腫瘍細胞の clonal evolution の結果として結節が形成される。なお、予後の判定は未熟神経芽細胞から成る結節の所見に応じて判定される。

C) 発生年齢と組織分類から判断(推定)される神経芽腫の予後 (Prognostic risk grouping)

- i) High MKIを示す腫瘍は、腫瘍細胞の分化度、年齢に拘わらず常に予後不良グループ
- ii) Undifferentiated NBは年齢に関連なく予後不良グループ
- iii) 1.5 歳以上の Poorly differentiated NBは予後不良グループ。
- iv) 1.5 歳以上で発生した中等度 MKI を示す神経芽腫は予後不良グループ
上記以外の腫瘍は予後良好
- v) GNB・nodular は発生年齢と結節を形成する神経芽腫成分の分化度および MKI の程度によって予後が決定される

る。

(2)組織切片による MYCN-FISH

神経芽腫の治療の層別化に当たって(リスク分類)、インパクトが高いのは年齢を加味した INPC 分類および MYCN の増幅である。神経芽腫は神経節芽腫、結節型をはじめとして同一腫瘍であっても組織成分が均一でないことが最近明らかになり、MYCN を fluorescence in situ hybridization(MYCN-FISH)法で同定する際はそのサンプリングに十分注意する必要がある。これらに鑑み、より広い範囲の組織を観察することができるように MYCN-FISH を組織切片で同定することを試みた。第2染色体長腕(2p25)に存在する MYCN 遺伝子と第2染色体セントロメア近傍に存在するサテライト配列をプローブとした FISH 法により通常のホルマリン固定パラフィン切片で、蛍光色素をラベルしたプローブを用いる直接法とジゴキシゲニンあるいはビオチンによって標識されたプローブを用いる間接法の両方を行ない、両者において MYCN の増幅、非増幅が明瞭に判定可能となった。極めて実際的な方法でスク分類に応用可能である。

E. 結論

神経芽腫国際分類 INPC による神経芽腫の診断を基にした、予後判定およびホルマリン固定パラフィン切片による MYCN-FISH 法の組み合わせでより正確なリスク分類が可能となった。これらのシステムを多施設臨床研究に導入することによってより正確な治療法の選択が可能となる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1, Miyauchi J, Kiyotani C, Shioda Y, Kumagai M, Honna T, Matsuoka K, Masaki H, Aiba M, Hata

J, Tsunematsu Y: Unusual chromaffin cell differentiation of a neuroblastoma after chemotherapy and radiotherapy: Report of an autopsy case with immunohistochemical evaluations. *Am. J. Surg. Pathol.* 28:548-553, 2004

2, Hino, S, Yamaoka, T, Yamashita, Y, Yamada, T, Hata, J, Itakura, M: In vivo proliferation pancreatic islet beta cells in transgenic mice expressing mutated cyclin-dependentkinase 4. *Diabetologia* 47: 1819-1830, 2004.

3, Moritani, M, Yamasaki, S, Kamagi, M, Suzuki, T, Yamaoka, T, Sano, T, Hata, J, Itakura, M: Hypoplasia of endocrine and exocrine pancreas in homozygous transgenic TGF- β 1. *Molec Cellular Endocrinol* 229:175-184, 2005.

4, Mori, T, Kiyono, T, Imabayashi, H, Takeda, Y, Tsuchiya, K, Miyoshi, S, Makino, H, Matumoto, K, Saito, H, Ogawa, S, Sakamoto, M, Hata, J, Umezawa, A: Combination of hTERT and Bmi-1, E6 or E7 induce prolongation of the life span of bone marrow stromal cells from elderly donor without affecting their neurogenic potential. *MCB* 5183-5195, 2005

5, Ukiyama, E, Endo, M, Tezuka, T, Kudo, K, Sato, S, Akatsuka, S, Hata, J: Recurrent yolk sac tumor following resection of a neonatal immature gastric teratoma. *Pediat Surg Int* 2005 Jun 1 s00383-005-1404-y

6, Shiozawa, Y, Kiyokawa, N, Saito, M, Fujimoto, J, Hata, J, Yamashiro, Y: Granulocytic sarcoma of the spine in a child without bone marrow involvement: a case report and literature review. *Eur J Pediat* 164:616-620, 2005

H. 知的財産権の出願・登録

なし

進行神経芽腫に対する標準治療確立および新規治療開発のための研究

分担研究「神経芽腫の臨床試験デザインおよびデータマネージメント」

分担研究者 牧本 敦 国立がんセンター中央病院 第二領域外来部・小児科 医長

研究要旨 当該研究班の第一号試験である「進行神経芽腫に対する術前化学療法としての大量化学療法併用自家造血幹細胞移植および遅延局所療法（delayed local therapy）の早期第 II 相臨床試験」について、前年度作成済みのプロトコールに基づいた症例登録票および症例報告書の作成、それに沿った症例登録システムと臨床試験データベースの作成を行い、11月18日に10施設（7グループ）を集めたキックオフミーティングを行った。また、当該研究班の第二号試験である「進行神経芽腫に対する多剤併用化学療法、局所療法および自家造血幹細胞救援療法を併用した大量化学療法を含む集学的治療法の後期第 II 相試験」のプロトコールを確定した。

A. 研究目的

ヘルシンキ宣言と臨床研究倫理指針を遵守した臨床試験を実施するためには、倫理性の確保と同様に、科学的に証明可能な仮説に基づく臨床試験計画が必須である。データセンターと生物統計家を巻き込んで仮説証明のためのデザインを行うと同時にデータ管理を最適化し、当該臨床試験における倫理性と科学性を最大限に保証することを本研究の目的とする。

B. 研究方法

今年度は、以下の1～3の活動を行った。

1. 前年度作成済みの「進行神経芽腫に対する術前化学療法としての大量化学療法併用自家造血

幹細胞移植および遅延局所療法（delayed local therapy）の早期第 II 相臨床試験」プロトコールに基づいた症例登録票および症例報告書の作成、それに沿った症例登録システムと臨床試験データベースの作成を行った。

2. 上記 1. に基づいて、11月18日に10施設（7治療チーム）を集めたキックオフミーティング（全体説明会）を行った。
3. 当該研究班の第二号試験である「進行神経芽腫に対する多剤併用化学療法、局所療法および自家造血幹細胞救援療法を併用した大量化学療法を含む集学的治療法の後期第 II 相試験」について、そのエンドポイントと統計学的手法を検討し、プロトコールを確定した。

C. 研究結果

1. 「進行神経芽腫に対する術前化学療法としての大量化学療法併用自家造血幹細胞移植および遅延局所療法 (delayed local therapy) の早期第 II 相臨床試験」プロトコールに基づいた症例登録票および症例報告書の作成、それに沿った症例登録システムと臨床試験データベースの作成を行った。

(1) 症例登録の手続きと症例登録票

登録適格規準と除外規準を設定し、各候補症例の適格性をチェックする症例登録票とそれが FAX 送付された後のデータセンター内の手続き、および、適格性のロジカルチェックのためのプログラムを統計ソフトウェアの SAS をベースに作成した。

(2) 症例報告書の作成

患者背景情報、治療内容、実際に投与された薬用量およびスケジュール、有害事象、腫瘍縮小効果、転帰、等、臨床試験のエンドポイントを算出するのに必要な項目を網羅した症例報告書を作成した。また、これらの症例報告書のタイムリーな送付、回収状況のチェック等の進捗管理ができる進捗管理プログラムを作成した。

(3) 臨床試験データベースの作成

症例報告書がデータセンターに送付された後に、症例報告書の項目に合わせて、データを入力するためのデータベースを作成した。データベース管理システムは (有) 電助システムズの「DEMAND」を用いてカスタマイズした。

2. キックオフミーティング

平成 17 年 11 月 18 日、参加施設 10 施設 (7 治療チーム) から、化学療法、手術、放射線治療の各専門家を集めたキックオフミーティング (全体説明会) を行った。この会議では、本臨床試験のプロトコール、症例報告書、各種手続きにかかる文書などが配布され、臨床試験の目的、エンドポイント、治療スケジュール、症例報告書の書き方、施設の手順、今後の予定等について説明された。この会議の後、配布された資料を用いて、各施設で倫理委員会への申請がなされた。

3. 第二号臨床試験である「進行神経芽腫に対する多剤併用化学療法、局所療法および自家造血幹細胞救援療法を併用した大量化学療法を含む集学的治療法の後期第 II 相試験」に関して、最終プロトコールを確定した。

(倫理面への配慮)

本研究では、臨床試験を受ける患者権利に関する啓蒙活動を推進し、治療施設における倫理面への配慮を徹底させると同時に、各方面からの委員を糾合して適正な指針の確立を目指す。具体的には、ヘルシンキ宣言や米国ベルモントレポート等の国際的倫理原則に従って以下を遵守すると同時に、我が国の実情にあった指針を策定する。

試験プロトコールについては、倫理審査委員会の承認が得られた施設からしか患者登録を行わない。すべての患者について登録前に十分な説明と理解に基づく自発的同意を本人または代諾者より文書で得る。データの取り扱い上、患者氏名等直接個人が識別できる情報を用いず、かつデータベースのセキュリティを確保し、個人情報 (プ