

10 歳以上 18 歳未満：1.5mg/dl

5) 心機能

治療が必要な心疾患がないこと。

(6) 感染症

活動性感染症がないこと。

(7) 文書による同意

患者または代諾者により、試験参加について文書による同意が得られていること。また、患者本人にも理解力に応じた説明を行い、アセントを取得するように努力する。

ii. 除外規準

(1) 活動性の重複がん（同時性重複がんおよび無病期間が 5 年以内の異時性重複がん）。

(2) 妊娠中の女性・妊娠している可能性がある女性・授乳中の女性。

(3) 精神病または精神症状を合併しており試験への参加が困難と判断される。

(4) その他、本試験のプロトコール治療に耐えられないことが予想される疾患を合併している。

③治療計画

プロトコール治療の概要

以下の(1)～(5)の順序で行う一連の治療をプロトコール治療と規定する。

(1) 寛解導入化学療法として 05A3 療法を 5 コース繰り返す。

(2) 05A3 療法 3 コース目が終了した後の骨髄回復期に自家造血幹細胞採取を施行する。

(3) 寛解導入療法終了後、大量化学療法+自家造血幹細胞移植療法を施行する。

(4) 大量化学療法後に状態が安定した後、外科療法を施行する。

(5) 術中放射線照射または外科療法後に局所放射線療法を施行する。

寛解導入化学療法（詳細はプロトコール参照）

4 週（28 日）ごとに定期的に 5 回（第 0 週、第 4 週、第 8 週、第 12 週、第 16 週にそれぞれ開始する）繰り返す。

《05A3 療法》（投与量は非公開）

シクロホスファミド（CPA）

***mg/m²/日：第 1, 2 日；点滴静注

ビンクリスチン（VCR）

**mg/m²/日：第 1 日；静注（緩徐に静注）

ピラルビシン（THP）

** mg/m²/日：第 3 日；静注

シスプラチン（CDDP）

** mg/m²/日：第 1-5 日；24 時間持続点滴静注

大量化学療法（詳細はプロトコール参照）

《MEC 療法》

メルファラン（L-PAM）

*** mg/m²/日：第-5, -4 日；静注 or 点滴静注

エトポシド（VP-16）

*** mg/m²/日：第-7, -6, -5, -4 日；点滴静注

カルボプラチン（CBDCA）

*** mg/m²/日：第-7, -6, -5, -4 日；24 時間持続点滴静注

外科療法

原発部位に関わらず、原則として周囲臓器をできるだけ温存して原発巣を全摘出する。原発巣と一塊になったリンパ節は原発巣とともに切除を目指す。

放射線療法

原発部位ならびにリンパ節に対する規準線量と分割法を以下のように計画する。

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**Gy、照射はすべて 1 日 1 回**Gy で週 5 回行なう。

術中照射では総線量**Gy とし、電子線エネルギー

一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。

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** Gy 追加照射を行う。

骨転移巣は放射線治療を必要とする。

④中止基準

プロトコール治療中止の規準

以下のいずれかの場合、プロトコール治療を中止する。治療中止の判断に迷う場合は研究事務局に相談する。

(1) 治療開始後に進行病変(PD)と判定された場合

(2) 有害事象などによりプロトコール治療が継続できない場合

① Grade4 の非血液毒性によりプロトコール治療が継続できない場合

(非血液毒性：CTCAEver3.0「血液/骨髄」区分以外の有害事象)

② 有害事象により次コース開始が29日以上遅延した場合

③ 造血幹細胞採取が不可能などの理由により大量化学療法・自家造血幹細胞救援の施行が不可能な場合

④ 治療変更規準でのプロトコール治療中止の規定に該当した場合

⑤ 治療変更規準以外で、有害事象により、担当医が中止の必要性ありと判断した場合

(3) 有害事象と関連する理由により、患者がプロトコール治療の中止を申し出た場合

(4) 有害事象と関連しない理由により、患者がプロトコール治療の中止を申し出た場合

(5) プロトコール治療中の死亡

(6) その他、登録後治療開始前の増悪(急速な増悪によりプロトコール治療が開始できなかった)、プロトコール違反が判明、登録後の病理診断変更

などにより不適格性が判明した場合など

プロトコール治療中止/終了日は、(1)～(4)と(6)の場合プロトコール治療中止と判断した日、(5)の場合死亡日とする。

⑤実施期間

登録期間：2年。観察期間：15か月。総研究期間：3年3か月

⑥目標症例数

この臨床研究を行う全施設で16例

⑦評価方法(主たる評価項目・有効性の評価基準)

(1) Primary endpoint：治療第12週を起点とした1年無増悪生存割合

(2) Secondary endpoints：2年無増悪生存割合および全生存割合、治療第12週および外科療法前における奏効割合、有害事象発生割合

⑧本臨床研究施行中に予測される副作用

主な副作用として、本試験において予期される有害反応については以下のとおりである。薬剤別の予期される薬物有害反応については割愛する。それらも予期される有害反応として扱う。

化学療法により予期される薬物有害反応

骨髄抑制、脱毛、感染/発熱性好中球減少、悪心・嘔吐、イレウス(神経性便秘)、下痢、口内炎、血尿(出血性膀胱炎)、肝機能障害、腎機能障害、電解質異常、神経障害、けいれん、意識障害、不随意運動、聴器障害、心筋障害、不整脈、SIADH、尿細管性アシドーシス、Fanconi症候群、肝中心静脈閉塞症、播種性血管内凝固症候群、腫瘍崩壊症候群、血栓性微小血管炎、溶血性尿毒症症候群

外科的切除術により予期される有害反応/手術合併症

手術部位の機能障害、出血、臓器損傷、合併切除、
低血圧、高血圧、換気障害、無呼吸、悪性高熱症、
低体温、無気肺、嘔吐・誤嚥、過剰輸血、過少輸
血、創感染、イレウス、術後出血、消化管の瘻孔、
消化管縫合不全、消化管穿孔、血腫、疼痛、水腎・
尿管、無機能腎

放射線照射により予期される急性期有害反応
粘膜炎、神経障害、放射線皮膚炎、肝機能障害、
腎機能障害、イレウス、心筋障害、血栓性微小血
管炎、溶血性尿毒症症候群

大量化学療法により予期される急性期有害反
応

発疹・皮膚炎、感染/発熱性好中球減少、便秘、
下痢、口内炎・咽頭炎、悪心・嘔吐、肝機能障害、
腎機能障害、心機能障害、肝中心静脈閉塞症、血
栓性微小血管炎、溶血性尿毒症症候群、造血細胞
生着症候群

⑨遺伝子情報の場合、研究終了後の管理方法
別に定める実施計画書の腫瘍検体の取扱いに従
って、分子生物学的診断事務局に集積された腫瘍
検体のうち、附随研究プロトコールに定める附随
研究の同意が得られたものに関しては、プロトコ
ールに基づいた研究に利用される。また、説明文
書によって検体保存と二次利用の同意が得られ
た検体については、検体保存と二次利用の規定に
基づき、国立成育医療センター研究所内の組織バ
ンクへ移送、保存される。附随研究を含む保存・
二次利用に対する同意の得られなかった検体に
関しては、研究事務局の指示に従って、分子生物
学的診断事務局がこれを破棄する。

⑩ 倫理的事項

(1) 患者の保護

本臨床試験に関係するすべての研究者はヘルシ
ンキ宣言に従って本臨床試験を実施する。

(2) インフォームドコンセント

患者および代諾者への説明

登録に先立って、担当医は患者本人および/また
は代諾者に施設の IRB 承認が得られた説明文書
(付表 7) の説明文書または施設で改変を加えた説
明文書を渡し、以下の内容を口頭で詳しく説明す
る。

(1) 病名、病期、推測される予後に関する説明

(2) 本試験が厚生労働省の公的班研究として行
われる臨床試験であること。

臨床試験 (Clinical trial) と一般
診療 (Clinical practice) との違い

(3) 本試験のデザインおよび根拠 (rationale :
意義、登録数、必要性、目的など)

(4) プロトコール治療の内容

(5) 病理中央診断や研究用の検体採取について

(6) プロトコール治療により期待される効果

(7) 予期される有害事象、合併症、後遺症とそ
の対処法について

(8) 費用負担と補償

治療にかかる費用は保険制度でまかなわれるこ
と、健康被害が生じた場合の補償は一般診療での
対処に準ずることなど、一般診療と同様であるこ
との説明

(9) 代替治療法

現在の一般的治療法や標準治療法の内容、効果、
毒性等代替治療を選択した場合の利益と不利益

(10) 試験に参加することで患者に予想される
利益と可能性のある不利益

(11) 病歴の直接閲覧について

「精度管理のため他施設の医療関係者が施設長
の許可を得て病歴等を直接閲覧すること」など監
査の受け入れに関する説明

(12) 同意拒否と同意撤回

試験参加に先立っての同意拒否が自由であることや、いったん同意した後の同意の撤回も自由であり、それにより不当な診療上の不利益を受けないこと

(13) 人権保護

氏名や個人情報は守秘されるための最大限の努力が払われること

(14) データの二次利用

本研究班主任研究者が承認した場合に限り、個人識別情報とリンクしない形でデータを二次利用する（メタアナリシスなど）可能性があること

(15) 質問の自由

担当医の連絡先のみでなく、施設の研究責任者、試験の研究代表者（または研究事務局）の連絡先を文書で知らせ、試験や治療内容について自由に質問できることを説明する

同意

試験についての説明を行った後に、患者が試験の内容をよく理解したことを確認した上で、試験への参加について依頼する。患者本人および/または代諾者が試験参加に同意した場合、付表 7 の同意書または施設で定められた書式の本試験の同意書を用い、説明をした医師名、説明を受け同意した患者名、同意を得た日付を記載し、医師、患者各々が署名する。

同意文書は 2 部コピーし、1 部は患者本人に手渡し、1 部は実務担当者が保管する。原本はカルテに保管する。

プライバシーの保護と患者識別

登録患者の氏名は参加施設からデータセンターへ知らされることはない。登録患者の同定や照会には、登録時に発行される登録番号を用いて行われる。患者名など、第三者が当該施設の職員やデー

タベースへの不正アクセスを介さずに直接患者を識別できる情報が、データセンターのデータベースに登録されることはない。個人情報漏洩の危険は常に存在するが、本研究班のすべての研究者は、こうしたリスクを踏まえた上で、個人情報保護のため最大限の努力を払う。施設、データセンター、研究事務局間の患者データのやりとりは、紙、電子媒体のいかににかかわらず、患者登録を除き、郵送あるいは直接手渡しすることを原則とする。

プロトコールの遵守

本試験に参加する研究者は、患者の安全と人権を損なわない限りにおいて本研究実施計画書を遵守する。

施設の倫理審査委員会（機関審査委員会）の承認 試験参加開始時の承認

本試験への参加に際しては、本研究実施計画書および患者への説明文書が各施設の倫理審査委員会または IRB（機関審査委員会：Institutional Review Board）で承認されなければならない。IRB 承認が得られた場合、各施設の施設実務担当者は IRB 承認文書のコピーを研究事務局へ送付する。IRB 承認文書原本は施設実務担当者が保管、コピーは研究事務局が保管する。

IRB 承認の年次更新

本研究実施計画書および患者への説明文書の各施設倫理審査委員会または IRB の審査承認の年次更新の有無は各参加施設の規定に従う。IRB の年次更新承認書の提出は求めない。

C. 研究結果

上記のごとく多施設共同早期第 II 相臨床試験を計画立案し、施設限定 10 施設 7 グループに周知

徹底したのちに、平成 17 年 11 月より臨床研究を開始した。直ちに全施設で IRB 承認が得られ、登録が開始された。平成 18 年度 2 月 1 日現在これまでに登録候補症例は 7 例発生し、実際の登録例は 4 例である。進行神経芽腫は、発見時すでに症状が相当に重篤な症例が少なくないため、臨床試験には登録できず、救命を優先して臨床実践を行わざるを得なかった症例が少なからず認められた。

また、治療中死亡例が発生したため、研究代表者、グループ代表者、データセンター、研究事務局で直ちに協議し、効果安全性評価委員会への諮問を行った。効果安全性評価委員会が開催され協議の結果、本有害事象は当該症例に特異的な事象であり、本臨床試験を今後続行していくことに問題はないと思われると結論された。また今後、研究事務局はこのような有害事象発生時の治療中止規準、変更規準を具体的に検討すべきであることが勧告された。研究事務局は血液毒性以外の Grade4 の有害事象発生時には当該施設担当者は直ちに事務局に報告するとともに両方でプロトコール治療継続の可否などについて討議することを周知した。

D. 考察

本臨床試験の開始は、日本における進行神経芽腫に対する標準治療の確立を目指す初めての本格的 controlled clinical trial として行うものであり、その意義は以下の 4 つである。

1) 1985 年以來、我が国の地域標準として行われてきた化学療法レジメンを基本としながら、既に分かっている毒性のプロファイルを基に修正を施した 05A3 レジメンの安全性評価を行い、寛解導入療法の最適化を図る。

2) 局所遅延療法という新たな概念を適用する事によって、化学療法の治療強度を上げるという

戦略の実行可能性を検討し、可能であれば「2.7 検討中の次期試験」に記載するように、検証的デザインの試験によってこの有効性を評価する事を目指す。

3) 外科療法および放射線療法などの治療方針を可能な限り統一したガイドラインを設定し、施設間の手技格差によるバイアスを最小化するとともに、従来、臨床試験に慣れていなかった当該分野の専門医師の意識を高め、今後の臨床試験の礎とする。

4) 欧米諸国と同等レベルの整備された臨床研究体制の確立を行う。

E. 結論

今後登録例が増え研究結果が得られた時点で有効性および安全性が評価されるが、臨床研究遂行の上での安全性の確保の体制は順調に起動していると評価できる。

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

①Shitara T, Shimada A, Hanada R, Matsunaga T, Kawa K, Mugishima H, Sugimoto T, Mimaya J; Manabe A, Tsurusawa M, Tsuchida Y. Irinotecan for children with relapsed solid tumors. *Pediatr Hematol Oncol*. 2006;23:103-10

②七野浩之. 神経芽腫. 小児内科 38 増刊号. 568-570

2. 学会発表

①佐々木孝江, 浅見覚, 大塚進, 田畑恵市, 七野浩之, 小野真一, 陳基明, 吉田善一, 麦島秀雄, 鈴木孝 神経芽腫における腫瘍マーカー遺伝

子発現の検索とその臨床応用. 日本薬学会 126, 99

②井上幹也, 浅井陽, 星野真由美, 杉藤公信, 池田太郎, 萩原紀嗣, 越永従道, 梁尚弘, 七野浩之, 陳基明, 麦島秀雄, 原田研介, 草深竹志. 2年9ヵ月の無治療経過観察中に腫瘍増大をみとめ摘出治療を行ったマススクリーニング発見神経芽腫の一例. 日本小児血液学会雑誌 20, 378

③七野浩之, 麦島秀雄, 梁尚弘, 中村昌徳, 陳基明, 稲毛康司, 原田研介, 星野真由美, 井上幹也, 杉藤公信, 池田太郎, 萩原紀嗣, 越永従

道, 草深竹志, 斎藤勉, 田中良明. 全身放射線照射を併用した大量化学療法後の進行性神経芽腫患者の晩期障害. 日本小児血液学会雑誌 20, 307

④Mugishima H., Chin M., Suga M., Shichino H., Ryo N., Nakamura M., Harada K. : Hypercalcemia Induced by 13-cis-Retinoic Acid in Patients with Neuroblastoma, *Pediatrics international*, 50(2) 2008. (in press)

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

神経芽腫に対する gefitinib のアポトーシス誘導能

分担研究者 杉本 徹 京都府立医科大学小児科学教室 教授

研究要旨 神経芽腫（NB）の予後は各種治療法の進歩によって改善してきたが、進行神経芽腫の予後は以前不良である。近年、分子標的薬が臨床的に使用されるようになって来た。例えば、imatinib は慢性骨髄芽球性白血病や消化管腫瘍に使用されている、また、選択的な EGFR チロシン・キナーゼ抑制剤である gefitinib は非小細胞性肺癌に使用されている。以上のことから、神経芽腫（NB）における上皮成長因子受容体（EGFR）の発現を調べ、その特異的リン酸化阻害剤である gefitinib の NB に対する抗腫瘍効果を検討した。2種の NB 細胞株について EGFR の発現を RT-PCR 法、免疫染色法、ウエスタンブロット法で検討した。細胞増殖抑制とアポトーシスの効果は細胞増殖アッセイ法と TUNEL 法で検討した。Caspase 3/7 の活性は酵素分析法とウエスタンブロット法で検討した。

NB 細胞株は EGFR を発現していた。gefinitinib が NB 細胞株に対して腫瘍増殖抑制効果を示し、高濃度ではアポトーシス誘導効果を持つことが確認された。さらに gefinitinib は濃度依存的に caspase 3/7 の活性を促進した。我々の結果は gefinitinib が NB に対して腫瘍増殖抑制効果と apoptosis 誘導能を持つことを示している。Gefinitinib は進行神経芽腫に対して有効な抗腫瘍剤として、予後の改善に役立つことが予想される。

[Abstract] The prognosis of neuroblastoma (NB) has been improved by the development of improved therapy. However, the prognosis of advanced cases is still poor. Recently, some molecularly targeted drugs have been used clinically. For example, imatinib has been used for chronic myeloblastic leukemia and gastrointestinal stromal tumors, and gefitinib, a selective epidermal growth factor receptor (EGFR)-tyrosine kinase inhibitor, has been used for non-small cell lung cancer. These results led us to investigate whether gefitinib has anti tumor effect on NB cells. Two NB cell lines (KP-N-TK and KP-N-SIFA), established in our laboratory, were used. Expression of EGFR by the two NB cell lines was examined by RT-PCR, immunofluorescence, and western blot analysis. The effects of gefitinib on cell growth and apoptosis were examined by cell growth assay and terminal deoxynucleotidyl transferase mediated nick and labeling (TUNEL) assay. Caspase-3/7 activities were examined using an enzymatic assay and western blot analysis. Expression of EGRF was detected in both NB cells. Gefitinib inhibited cell growth, and a high concentration of gefitinib induced apoptosis in vitro. At 20 μ M, gefitinib also elevated caspase-3/7 enzymatic activity. Moreover, at 30 μ M, gefitinib induced the degradation of pro caspase-3/7 and the cleavage of caspase-3. Our results demonstrate that gefitinib has anti-tumor

effects and induced apoptosis cell death in NB. Gefitinib might be a novel therapeutic agent for improving the prognosis of advanced NB cases.

研究協力者

京都府立医科大学小児科学教室

田村真一、後藤高弘、家原知子、細井 創

A. 研究目的

神経芽腫 (NB) の治療成績は幹細胞移植を併用した大量治療の導入により改善されつつある。しかし、進行性の神経芽腫の予後は未だ不良であり、新規治療法の開発が望まれる。一方で、様々な分子標的薬が臨床的に使用されるようになって来た。例えば、imatinib は慢性骨髄芽球性白血病や消化管腫瘍に使用され、また、選択的な EGFR チロシン・キナーゼ抑制剤である gefitinib は非小細胞性肺癌に使用されて、有効性が示されている。我々は、NB の上皮成長因子受容体 (EGFR) の特異的リン酸化阻害剤 gefitinib による治療の可能性を探るため、NB 腫瘍と細胞株での EGFR 発現を比較し、gefitinib の NB に対する抗腫瘍効果を検討した。

B. 研究方法

EGFR の発現は、NB 腫瘍 (当施設で診断、治療した NB2 例) では免疫組織化学染色法を、細胞株 (上記 2 例の患児から樹立した細胞株、KP-N-TK と KP-N-SIFA を含む 10 種) では定量 RT-PCR 法、Western Blot 法を用いて比較した。また、KP-N-TK と KP-N-SIFA を用い、gefitinib の細胞増殖抑制能 (WST-8 法) とアポトーシス誘導能 (TUNEL 法、Western Blot 法) を検討した。Caspase 3/7 の活性は酵素分析法とウェスタンブロット法で検討した。

C. 研究結果

NB 腫瘍は共に EGFR 蛋白を発現し (2/2)、細胞株も KP-N-TK と KP-N-SIFA を含む 8 種が EGFR 蛋白を発現していた (8/10)。KP-N-TK は EGF により細胞増殖が促進され、gefitinib により EGFR のリン酸化が抑制された ($<0.01 \mu\text{M}$)。また両細胞株で、濃度依存的な細胞増殖抑制効果が認められ (IC₅₀: 10-12 μM)、アポトーシスも誘導した (%TUNEL 陽性細胞: 18-40%, caspase-3/7 活性化 (20 μM gefitinib))。

D. 考察

NB 腫瘍と細胞株は EGFR を発現し、gefitinib が NB 細胞株に対し腫瘍増殖抑制効果とアポトーシス誘導効果を持つことが確認された。今後は gefitinib の NB に対する抗腫瘍効果について研究を進め、臨床応用の可能性について検討していく予定である。

E. 結論

以上の結果から、gefitinib が NB に対して腫瘍増殖抑制効果と apoptosis 誘導能を持つことが明らかとなった。Gefitinib は進行神経芽腫に対して有効な抗腫瘍剤として、予後の改善に役立つことが予想される。

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

論文発表

1) Iehara T, Hosoi H, Akazawa K, Matsumoto Y,

Yamamoto K, Suita S, Tajiri T, Kusafuka T, Hiyama E, Kaneko M, Sasaki F, Sugimoto T, Sawada T. MYCN gene amplification is a powerful prognostic factor even in infantile neuroblastoma detected by mass screening. Br J Cancer. 2006, 94(10):1510-5.

2) 桑原康通, 杉本徹. EGFR 阻害剤(gefitinib/イレッサ)の小児固形腫瘍における臨床応用への可能性、京都府立医科大学雑誌 2006, (0023-6012)115 巻 10 号:739-748.

3) 杉本 徹、家原知子、細井 創. 神経芽腫. よく理解できる子どものがん、別所文雄、横森欣司編、永井書店、東京、243-257、2006.

2. 学会発表

1) Serum level of MYCN amplification in neuroblastoma using serum DNA by real-time quantitative PCR, T Sugimoto, T Gotoh, T Iehara, et al. 2nd Congress of Asian Society for Pediatric Research, 12月8日ー10日, (Yokohama, Japan), 2006

2) MYCN-amplified Neuroblastoma Cell line Established from a Patient with Long-term-survival and Serum Levels of MYCN DNA during the Clinical Course, T Sugimoto, T Gotoh, S Tamura, et al. ANR, 5月17日ー20日, (USA), 2006

3) Gefitinib induced apoptotic cell death in neuroblastoma cells, Tamura S, Kuwahara Y, Gotoh T, Iehara T, Hosoi H, Sugimoto T, ANR, 5月17日ー20日, (USA), 2006

4) Comparison of clinical feature between neuroblastoma in infants detected through mass screening and non-mass screening, Iehara T, Sugimoto T, Sawada T, et al. ANR, 5月17日ー20日, (USA), 2006

5) Relapsed neuroblastoma in infants registered in the Japanese Infantile Neuroblastoma Cooperative Study, Iehara T, Sugimoto T, Sawada T, et al. SIOP, 9月19日ー21日, (Switzerland), 2006

6) 神経芽腫に対する gefitinib のアポトーシス誘導, 田村真一, 家原知子, 後藤高弘, 細井創, 杉本徹、他、小児がん学会, 11月24日ー25日 (大阪), 2006

7) 日本における神経芽腫リスク分類の提案ー全国登録症例の解析よりー, 家原 知子・杉本徹・檜山 英三、他, 小児がん学会, 11月24日ー25日 (大阪), 2006

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

名称；神経芽腫の体液による検査方法
特許第3901684号

厚生労働省科学研究費補助金（がん臨床研究事業）
分担研究報告書
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

「小児の臨床試験における放射線治療の品質管理に関する研究」

分担研究者 正木英一 国立成育医療センター放射線診療部長

研究要旨 小児がん臨床試験を遂行する上で、局所療法としての放射線治療が重要な位置にあることは論を待たない。しかし、小児がん放射線治療経験のある施設および放射線腫瘍医（放射線治療医）はごく僅かである。このような施設に対して、精度良くプロトコールに記載されているガイドライン通りの放射線治療を行うことを保証するには Quality Assurance Review Center を担当する放射線治療セントラル レビュー・センターが必要である。

この検証作業として、放射線治療相談システムを国立成育医療センター放射線診療部におき、そこに寄せられた小児がん放射線治療相談 1 年間 46 症例（日本横紋筋肉腫研究グループ JRSG2006 年登録 23 症例を除く）を分析したところ、小児がん患者のうち 6 歳以下の小児に対する相談が多く、放射線科、小児科とも、更に大学病院、小児医療施設であろうとも適切な助言を必要としていることが明らかであった。

A. 研究目的

日本における小児がん治療は、全国レベルでの統一治療プロトコールがなかったが、平成 16 年になって初めて日本横紋筋肉腫研究グループが 4 年の歳月をかけての統一プロトコールによる治療研究を開始した。

更に、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）による治療研究が平成 18 年 9 月 2 日キックオフ・ミーティング開催され、その治療研究が開始されようとしている。

この JNBSG 治療研究における局所療法としての放射線治療に関して神経芽腫放射線治療ガイドラインを小児放射線治療委員会（日本放射線腫瘍学 研究グループ（Japanese Radiation Oncology Study Group: JRSG）小児腫瘍グループ）により策定した。

その神経芽腫放射線治療ガイドラインに関して周知徹底させる目的と、ガイドライン遵守ができる施設環境を得ることを研究目的として、全

国治療研究における放射線治療の精度管理に必要な小児放射線治療セントラル レビュー・センター構想を参加施設に紹介し、その意義を確認する。

B. 研究方法

本邦に於いて小児がん治療が適切に行われるためには、集学的治療の中での放射線治療の役割を各施設の小児腫瘍医、小児外科医および放射線腫瘍医に認識していただく必要がある。

しかしながら、小児がん治療の経験が少ない施設に於いて、集学的治療の際に必要な放射線治療に関して問題を抱えている施設が多いことが問題となっている。これは、成長する小児に放射線治療を選択するという行為が、即ち放射線により晩期合併症を必ずもたらすという認識により小児科医、放射線治療医に放射線治療を選択することを躊躇させることとなっている。小児がん治療に際し、手術とならぶ局所療法としての放射線治療が重要であることは小児がんの教科書にも記載されているが、その実際の詳細に関しては記載されていない現実がある。

そのような現状に於いて、小児がん集学的治療を推進する治療研究において最適な放射線治療法をその治療初期からアドバイスするシステム、即ち「小児がん放射線治療セントラル レビュー・センター」機能が重要と考え、このセントラル レビュー・センターが本邦でどのような小児がん、どのような施設、どのような臨床医に必要なかを国立成育医療センター放射線診療部放射線治療科に寄せられたコンサルト・ケース

から分析する。

(倫理面への配慮)

小児放射線治療セントラルレビュー・センター構築に関する研究として、当科に寄せられたコンサルト・ケースから病院名、主治医名、患者名など個人情報を除いた情報であり、患者個人情報は取り扱わない。

C. 研究結果

本邦において小児がん治療を行っている施設の概要を把握するために行った施設調査をまず紹介する。

1) 小児放射線治療セントラルレビュー・センター構築に向けて

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10月現在）認定施設 105 施設、準認定施設 19 施設、認定協力施設 76 施設、総計 200 施設である。

この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となっている。

小児専門施設としては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ため、認定施設となっていない。

このような現状において、神経芽腫早期第 II 相臨床試験に参加予定の 7 施設、および今後全国的な神経芽腫治療研究として JNBSG 参加予定施設では小児がんおよび神経芽腫の放射線治療経験がどのような状況であるのかを調査した。

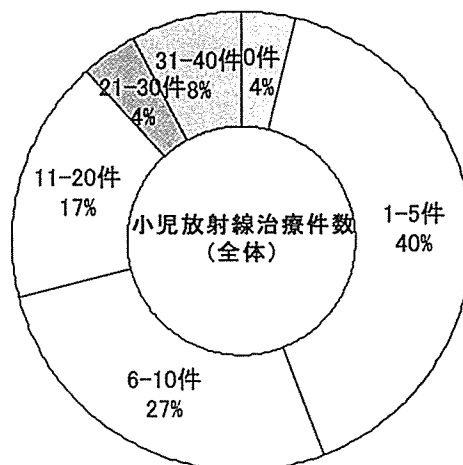
小児横紋筋肉腫治療研究(JRSG)参加登録施設 121 施設が今後 JNBSG 神経芽腫全国治療研究に参加する施設と考えての調査では、53 施設からの調査回答があった。

回答率 53/121=43.8%

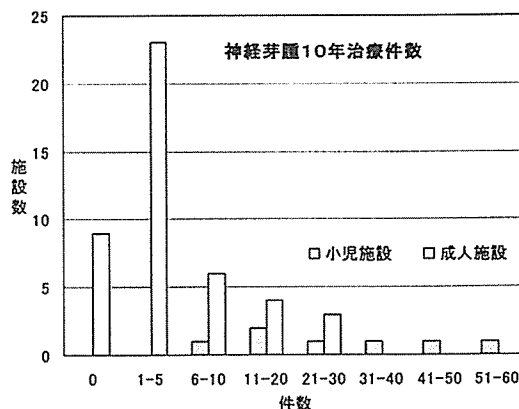
調査協力頂いた施設として、小児専門施設 7 施設、がんセンター・大学病院を含む成人施設 46

施設であった。

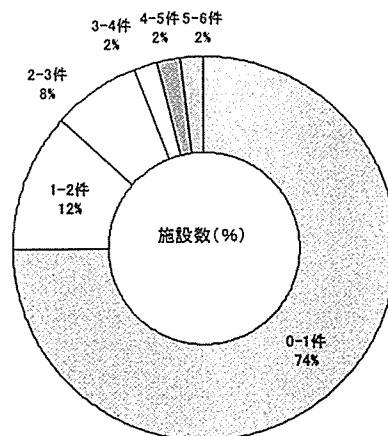
年間の放射線治療件数（概算）小児（新患）



最近 10 年間の小児神経芽腫の放射線治療件数（概算）



年間神経芽腫初診症例数（施設毎の分析）



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%であり、神経芽腫においては年間1件以下の施設が大半を占めている(74%)ことが判明している。

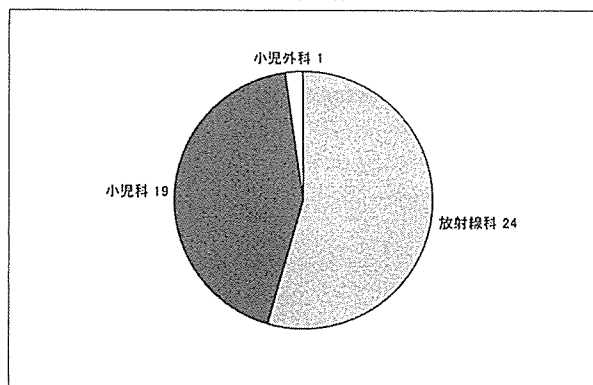
このような施設に対して、精度良く、小児放射線治療を行うことは、我々が模索しているQuality Assurance Review Center(QARC)および放射線治療セントラルレビュー・センターが必要であることが多くの施設放射線治療医に理解された。

その準備として国立成育医療センター放射線診療部に放射線治療相談システムを置くこととなった。

2)「放射線治療相談システム」の実際

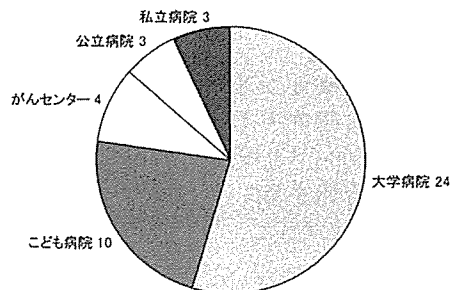
2005年11月～2006年10月の1年間に国立成育医療センター放射線診療部放射線治療科に寄せられた相談メールは46症例(JRSG2006年登録23症例を除く)であった。

診療科別相談症例数(年間)



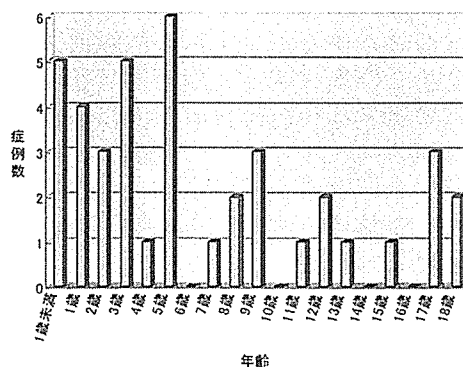
放射線科24症例、小児科19症例、小児外科1症例であり、本来は放射線科(放射線腫瘍医)からの相談であって欲しいが、現在の日本では主治医である小児科医がその治療の全権を握っていると考えられるために小児科医の相談件数が多いと考えられる。

施設別相談症例数(年間)



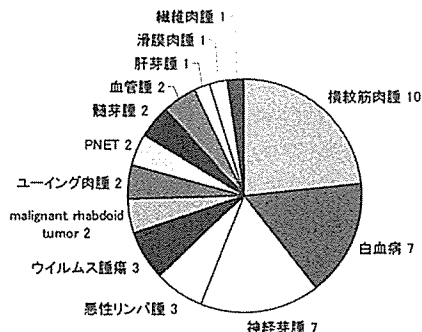
先の全国調査でも明らかなように大学病院、小児専門施設であろうとも小児がん放射線治療の経験が少なく、その対処にとまどっていることが明らかである。

年齢別相談症例数(年間)



年齢別に相談症例をみると明らかに6歳以下が多いことが判明した。これは乳幼児において、放射線治療が成長などに影響を与えることが判明しており、これを避けることが必要との認識があるが、小児がんには放射線治療が必要との認識もあり、その為どう対応して良いか分からないことに因るものと考えられる。

疾患別相談症例数(年間)



小児がんは希少疾患であり、その治療法にも絶対的な標準治療があるわけではない。各国で小児がんに対する治療研究が行われており、未だ安全で有効な標準治療が確立されていないが、その「標準的治療法」が一部に randomized clinical trial の成果として公表されてはいる現状である。その小児がん集学的治療法において放射線治療の complication (晩期合併症) が報告されており、これに対して放射線治療を避けたいと考える臨床医が多い。しかし、局所療法である放射線治療なしでは局所コントロールが難しい腫瘍が多いのが小児がんの実情でもある。そこで、小児がん治療経験の少ない施設に対して、全ての小児がん疾患に適切なアドバイスを行う中核施設が必要であることが、このような多種の相談疾患から見る事ができる。

このような小児がん放射線治療の相談は、国立小児病院時代から国立成育医療センターに至るまで学会などでのシンポジウム、教育講演の際に、「小児がん放射線治療において不明な点があれば E-mail にて相談を受け付ける」ということを繰り返し言ってきており、また常にリアルタイムに回答をしてきたことより、信頼を得てきた経緯から、現在多くの施設のさまざまな診療科からの相談メールが届いているという現状である。

今までに行ってきたシンポジウム・教育講演などは下記のごとくである。

シンポジウム

正木英一、本名敏郎、黒田達夫、中野美和子、古村眞、恒松由記子、熊谷昌明、宮内潤：骨軟部腫瘍の放射線治療。第 17 回日本小児がん学会。2001. 12. 4. 東京

正木英一：放射線治療後の問題と対策。第 17 回日本小児がん学会。2001. 12. 5. 東京

正木英一、北村正幸、野坂俊介、岡田良行、堤義之、宮寄治、宮坂実木子、鹿島恭子、本名敏郎、黒田達夫、中野美和子、北野良博、森川信行、田中潔：小児悪性腫瘍の集学的治療における放射線治療。第 103 回日本外科学会定期学術集会。2003. 6. 5. 札幌

教育講演

正木英一：小児腫瘍に対する放射線治療の役割と実際。日本放射線腫瘍学会第 9 回学術大会 1996. 11. 28. 京都市

正木英一：小児放射線治療。第 150 回広島県放射線医学会 1997. 10. 11. 広島市

正木英一：小児がん放射線治療最近の動向。第

58 回日本医学放射線学会総会 1999. 4. 7. 東京都
正木英一：Practical radiation therapy planning: How I do it. 小児。第 59 回日本医学放射線学会総会 2000. 4. 9. 東京都

正木英一：小児腫瘍 (小児がん)。日本放射線腫瘍学会第 15 回学術大会。2002. 11. 23. 東京都

正木英一：神経芽腫の放射線治療。第 9 回西日本小児がんセミナー。2003. 2. 15. 京都

正木英一：小児放射線治療。2003 年中四国放射線科夏季セミナー。2003. 8. 3. 広島

正木英一：小児がんの放射線治療。第 349 回放射線治療談話会 2003. 4. 16. 東京

正木英一：【特別講演】小児悪性腫瘍に対する放射線治療。第 16 回京都放射線腫瘍研究会。2003. 9. 20. 京都

正木英一：【特別講演】小児がんの放射線治療。第 15 回筑後放射線腫瘍談話会。2004. 2. 20. 久留米市

正木英一：「小児腫瘍に対する多施設共同試験の現状」。第 88 回関西がんセラピストの会。2004. 9. 1. 大阪

正木英一：【リフレッシャーコース放射線治療 2.】小児腫瘍。第 40 回日本医学放射線学会秋期臨床大会。2004. 10. 30. 東京

正木英一：小児がんの放射線治療。第 7 回埼玉県放射線腫瘍研究会。2005. 9. 10. 大宮

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

正木英一：小児腫瘍の放射線治療プロトコールについて—横紋筋肉腫・神経芽腫—。放射線治療談話会第 373 回 2006. 2. 14. 東京

正木英一：小児がんの放射線治療。第 48 回中国・四国放射線治療懇話会。2006. 6. 24. 宇部市

正木英一：小児がんの放射線診断と放射線治療—全国的治療研究について—。がんの子供を守る会平成 18 年度定期総会全体会。2006. 6. 25. 東京

正木英一：小児がん放射線治療。第 4 回福島小児腫瘍研究会。2006. 7. 1. 福島市

正木英一：小児がん放射線治療。九州山口小児がん研究グループ (KYCCSG) 学術講演会。平 2006. 8. 19. 別府

正木英一：小児放射線治療の基本。第 42 回日本医学放射線学会秋季臨床大会。2006. 10. 27. 福岡

D. 考察

JNBSG 小児神経芽腫治療研究に参加予定である施設として JRSG 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。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。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。

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) による治療研究が開始された。

この治療研究において、必要なことは精度管理で、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。

本邦における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。ここでは、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。

ここに至り、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・センターを構築する必要があることが理解され、その準備として放射線治療相談システムを国立成育医療センター放射線診療部に設置することとなった。

平成18年度に行った「放射線治療セントラル レビュー・センター機能としての予備調査」としての「小児放射線治療放射線治療相談」の分析において、18歳以下の小児がん患者のうち特に6歳以下の小児に対する相談が多く、放射線科、小児科ともに適切な助言を必要としていることが明らかであった。

また、施設としては大学病院、小児医療施設であろうとも、その必要性が大なるものであった。

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極めて少ない。

そこで日本神経芽腫研究グループ (Japan Neuroblastoma Study Group: JNBSG) 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

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治療部

角美奈子 国立がんセンター中央病院放射線治療部

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 埼玉医科大学放射線科（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

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した。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。このセンターには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。

その放射線治療相談システムを国立成育医療センター放射線診療部に設置し、平成 18 年度に行った「放射線治療セントラル レビュー・センター機能としての予備調査」としての「小児放射線治療放射線治療相談」の分析において、18 歳以下の小児がん患者のうち 特に 6 歳以下の小児に対する相談が多く、放射線科、小児科ともに適切な助言を必要としていることが明らかであった。

また、施設としては大学病院、小児医療施設であろうとも、その必要性が大なるものであった。

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

正木英一：小児．平岡真寛，笹井啓資，井上俊彦編：放射線治療マニュアル．改訂第 2 版 PP. 506-525. 中外医学社. 2006. 4. 10.

正木英一：放射線療法（治療方針、合併症）．別所文雄，横森欣司編集：よく理解できる子どものがん－診療を深めるための最新の知識とケア－. pp96-103. 永井書店. 2006. 11. 10.

2. 学会発表

正木英一：小児がんの放射線治療．第 48 回中国・四国放射線治療懇話会．2006. 6. 24. 宇部市
 正木英一：小児がんの放射線診断と放射線治療－全国的治療研究について－．がんの子供を守る会平成 18 年度定期総会全体会．2006. 6. 25. 東京
 正木英一：小児がん放射線治療．第 4 回福島小児腫瘍研究会．2006. 7. 1. 福島市
 正木英一：小児がん放射線治療．九州山口小児がん研究グループ（KYCCSG）学術講演会．平 2006. 8. 19. 別府
 正木英一：小児放射線治療の基本．第 42 回日本医学放射線学会秋季臨床大会．2006. 10. 27. 福岡
 正木英一：放射線治療説明．日本神経芽腫研究グループ「高リスク神経芽腫に対する標準的集学的治療の後期第Ⅱ相臨床試験」キックオフミーティング（開始前全体会議）．2006. 9. 2. 東京

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

「進行神経芽腫に対するセンドラ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 九州大学病院小児外科助教授

研究要旨

今までの研究において、マウス皮下担癌モデルにおいて、センドライウィルスベクター(SeV)導入樹状細胞(DC)は有意に腫瘍増殖を抑制し、さらに搭載する遺伝子として IFN- β を用いることで更にその効果を増強することが示された。今回、臨床における実施を想定し、樹状細胞療法と放射線療法の併用療法の有効性について検討した。またマウス神経芽腫(C1300)において IFN- β が MHC class I 発現増強効果のあることをしめしたが、今回ヒト神経芽腫(IMR32, SK-N-SH)においても同様の結果を認めることができた。

研究協力者

竜田恭介 九州大学病院小児外科講師

1×10⁷/ml に調節し、100 μ l (1×10⁶)を右大腿皮下に接種する。

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。

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, GM-CSF 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、ts-SeV、ts-SeV IFN β を MOI 100 で感染させた。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 で確認した。

B. 研究方法

IFN- β による MHC class I 発現の増強についての検討

IFN- β を 0~1×10⁴ U/ml の濃度で培養上清液に加えた状態で腫瘍細胞(IMR32, SK-N-SH)を 48 時間培養し、FACS analysis により MHC class I 発現の評価を行う。

放射線照射

マウス右大腿部の腫瘍に対して、4Gy/day の放射線を腫瘍接種後 7 日目、8 日目、9 日目の 3 日間照射した。

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

樹状細胞の投与

作成した DC を腫瘍接種後 10 日目、17 日目、24 日目に $1 \times 10^6/100\mu\text{l/head}$ 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

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 IMR32(N-myc 増幅あり)、SK-N-SH(N-myc 増幅なし)は共に MHC class I の発現は低かった。MHC class I の発現は IFN- β の投与量に比例して増強を認めた。(図 2)

腫瘍増殖抑制効果

マウス右大腿皮下に腫瘍を接種した後、7, 8, 9 日目に $4\text{Gy} \times 3\text{days}$ の放射線照射を行い、その後 10, 17, 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、放射線照射単独、ts-SeV/DC 単独治療と比較して、放射線照射と ts-SeV/DC 樹状細胞療法の併用療法において有意に腫瘍増殖を抑制することができた。(図 3)

D. 考察

神経芽腫は、ガングリオシドの産生、ケモカインの産生抑制、MHC class I 発現抑制などによって宿主免疫より逃れていると考えられる。昨年の研究において、IFN- β の使用によりマウス神経芽腫細胞株における MHC class I 発現増強を認めることができ、更に IFN- β を導入した SeV を樹状細胞に感染させることによって、強い抗腫瘍効果を発揮することができた。今回、臨床における応用を考え、放射線照射をした後に、樹状細胞の投与を行った。放射線照射と樹状細胞療法の組み合わせによる利点には、放射線照射による直接的な細胞傷害はもとより、腫瘍細胞がネクロシスに陥り、

これにより樹状細胞が腫瘍抗原を捕捉しやすくなることが報告されていた(Int J Cancer 109 685-90, 2004)。また近年になり放射線照射により腫瘍細胞の MHC class I の発現が増強することが報告されている(JEM 203 1259-71, 2006)。これらの機序により今回、放射線照射と樹状細胞療法の組み合わせにおいて強い抗腫瘍効果を認めることができたと考えている。我々は今後、臨床への応用を考えているが、その際に SeV の安全性が問題となってくる。SeV は細胞質において、遺伝子発現、蛋白合成を行うため染色体への影響はなく、ヒトへの病原性は報告されていないため安全と考えられる。さらに九州大学消化器総合外科学において、重症虚血肢に対して FGF-2 搭載 SeV による遺伝子治療が開始されており、高い安全性が示されている。

E. 結論

ヒト神経芽腫細胞に対しても IFN- β は MHC class I の発現を増強させた。マウス神経芽腫細胞に対して、SeV 導入樹状細胞療法のみでも腫瘍抑制効果は認めるが、放射線療法と併用することによりその効果は更に増強された。

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

Tajiri T, Tanaka S, et al Biological diagnosis for neuroblastoma using a highly sensitive analysis of prognostic factors.

J Pediatr Surg 41;560-566, 2006

Tajiri T, Iehara T, et al. MYCN gene amplification is a powerful prognostic factor even in infantile neuroblastoma detected by

mass screening. Eur J Cancer 94;1510-15, 2006
Tajiri T, Suita S, et al. Clinical characteristics and outcome of Wilms tumors with a favorable histology in Japan: A report from the Study Group for Pediatric Solid Malignant Tumors in the Kyushu Area, Japan. J Pediatr Surg 41;1501-1505, 2006

Tajiri T, Suita S, 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

Tajiri T, Salem S, et al. Association between Her2 expression and histological differentiation of Wilms tumor. Pediatr Surg Int 22;891-896, 2006

Tajiri T, Suita S, et al. Implications of MYCN amplification in patients with stage 4 neuroblastoma who undergo intensive chemotherapy. J Pediatr Surg, in press

田尻達郎、孝橋賢一、他 HSNF5/INI1 遺伝子の全欠損を認めた腎悪性ラブドイド腫瘍の一例。診断病理 23;132-35, 2006

田尻達郎、竜田恭介、他 膝 solid and pseudopapillary tumor の一例。小児がん 43;26-31, 2006

2. 学会発表

第 22 回日本小児がん学会

小児腎細胞癌に対する樹状細胞による免疫治療の経験

竜田恭介、田尻達郎、田口智章、他
難治性小児固形悪性腫瘍に対する新規ペクターを用いた免疫遺伝子治療の開発

竜田恭介、田尻達郎、田口智章、他

第 43 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による抗腫瘍免疫遺伝子治療の開発(続報)。竜田恭介、田尻達郎、田口智章、他

第 106 回日本外科学会

センダイウイルスにより活性化された樹状細胞による抗腫瘍免疫治療の開発
竜田恭介、田尻達郎、田口智章、他

④第 65 回日本癌学会

小児腎細胞癌に対する樹状細胞による免疫治療の経験。竜田恭介、田尻達郎、田口智章、他

⑤Advanced in neuroblastoma research 2006

Immunotherapy for neuroblastoma using dendritic cell stimulated by Sendai Virus Vector. K Tatsuta, T Tajiri, T Taguchi

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

図 1

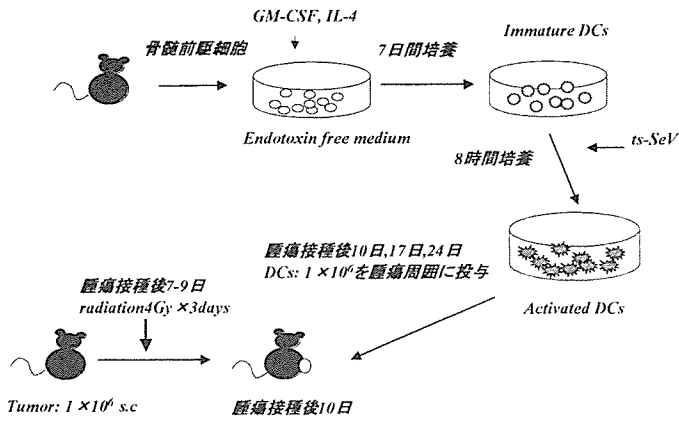


図 2

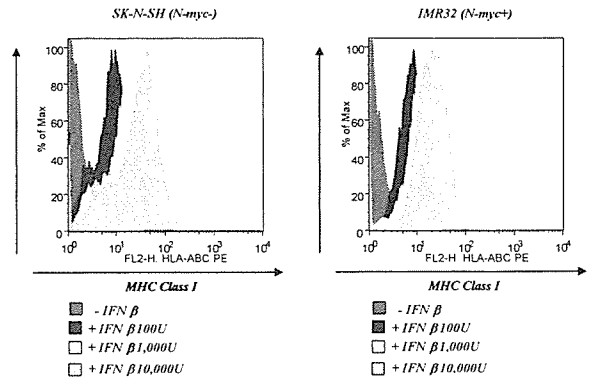
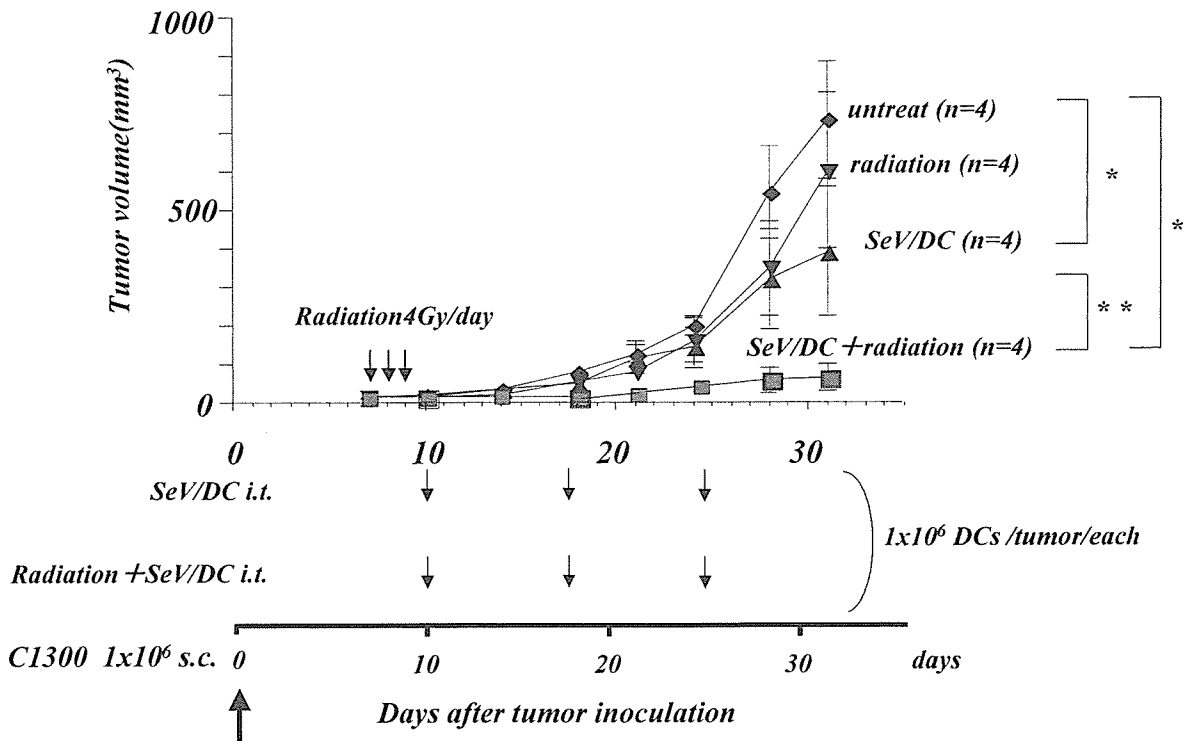


図 3



「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、散発性進行神経芽腫の予後は極めて不良であり、その頻度も全症例の60%を占めている。この状況を打破するために、平成18年度には日本神経芽腫スタディグループ（JNBSG）が実働しだし、国際的にも新しいリスク分類がほぼ完成した。この国内外の動きを受け、本年度は、（1）新しい国際神経芽腫リスク分類（INR）を満たすための診断システムの改良し、（2）我々が開発した次世代リスク分類用 DNA ミニチップのカスタム化による臨床評価をさらに発展させた。前者については、MYCN 増幅測定システムに関し FISH 法と real-time PCR 法の併用法に転換しより迅速で正確な測定系に転換した。また、11q 欠失の測定系も完成しつつある。また、DNA ミニチップ検査については、臨床評価対象症例数が80例に達し、これまでのところ良好な結果が得られている。これらの研究により、JNBSG の分子診断によるリスク層別化の具体的基盤が確立され、次世代トランスレーショナルへの展開を可能にした。

A. 研究目的

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、近年の治療法の進歩により小児悪性腫瘍の治癒率が著しく改善したにもかかわらず、その治癒率は今なお約30%に止まっている。したがって、このような難治性神経芽腫の根治を目指した新しい診断法や治療法の開発が緊急の課題である。そこで本研年度は、これまでに我々が開発しカスタム化に成功した神経芽腫予後予測用 DNA ミニチップの臨床評価をさらに展開し、平成18年に新しく発足した日本神経芽腫スタディグループ（JNBSG）の遺伝子診断および中央検体センターとしての機能およびシステムの確立を目的とした。

B. 研究方法

1) 神経芽腫予後予測用 cDNA マイクロアレイ（ミ

ニチップ）のカスタム化と臨床評価系

In-house cDNA マイクロアレイの作製には、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を基に、これ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（ミニチップ）を作製し、大手臨床