

厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）  
分担研究報告書

神経芽腫におけるリスク分類にもとづく標準的治療の確立と均てん化  
および新規診断・治療法の開発に関する研究

分担研究者 菊地 陽 埼玉県立小児医療センター 血液・腫瘍科

研究要旨  
中間リスク標準的治療確立のための臨床試験

A. 研究目的

神経芽腫の中間リスクに分類される症例に対する標準治療確立のため、全国規模の臨床試験が必要であり、その研究計画を策定する。

B. 研究方法

日本神経芽腫研究グループ(JNBSG)内に低・中間リスクグループの治療に関する作業部会を設け、そこで臨床試験の計画策定を行った。

(倫理面への配慮)

臨床試験開始にあたっては登録の際に十分な説明同意を行い、臨床情報や検体の送付は匿名化して行い、人権保護に留意する。

C. 研究結果

いままで計6回の作業部会の会議とメールカンファレンスを行い、臨床試験の策定を開始した。諸外国及び本邦のデータから中間リスク群の症例の生存率は60-80%と考えられた。リスク分類は米国のCOGグループのものを参考にしたが、日本での成績を考慮して一部改変を行い、最終的にいずれもMYCN遺伝子増幅(-)で、病期3 12か月以上の良好組織群、病期3 12-18か月の不良組織群、病期4の12か月未満、病期4の12-18か月 DNA index >1, 病期4sの不良組織群/DNA index=1と決定した。手術療法の際には画像所見から手術危険性を評価するImage Defined Risk Factor(IDRF)を用いて手術合併症の軽減を目指すこととした。

化学療法は病期3, 病期4で層別化して施行することとし、病期3ではcyclophosphamide(CPA), vincristine(VCR), carboplatinum(CBDCA)を用いた初期治療を行い、病期4にはCPA+VCR+pirarubicin, cis-platinumを併用した初期治療を行うこととした。

D. 考察

中間リスク群は神経芽腫全体の25-30%と症例数が少なく、生物学的に多様性に富んだ群と考えられるが、欧米と本邦で治療成績に大きな差はなく、海外で得られているような治療成績は本邦でも達成可能であると考えられた。ただ、その検証のためには臨床試験の実施が不可欠であり、臨床試験計画の策定が急務であると考えられた。しかし、症例数の少ない疾患群であるため、その研究の完了までにはかなり長い研究期間を要するものと考えられた。

E. 結論

神経芽腫の中間リスク症例に対する標準治療確立のため、全国規模の臨床試験が急務であると考えられた。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

神経芽腫におけるリスク分類にもとづく標準的治療の確立と均てん化  
および新規診断・治療法の開発研究

（分担）研究者 小川 淳 新潟県立がんセンター新潟病院小児科部長

研究要旨

小児がん医療の均てん化を進めるため特に医療機関の役割分担とネットワークの構築を計ることが重要である。本年度は均てん化の観点よりの小児がん医療の現状を把握するためアンケート調査を施行した。

A. 研究目的

成人がん領域では「均てん化」- 全国どこでもがんの標準的な専門医療が受けられるよう、医療技術などの格差是正を図ること- に向けた取り組みを推進することが、政府のみならず、医療関係者や研究者、教育機関の重要な課題となっている。具体的方策としては以下の5項目が検討されている。

1. がん専門医等の育成
2. がんの早期発見に係わる体制等の充実
3. 医療機関の役割分担とネットワークの構築

4. がん登録制度

5. 情報の提供普及

一方小児がん領域においても- 全国どこでもがんの標準的な専門医療が受けられるよう、医療技術などの格差是正を図ること- 「均てん化」への取り組みの重要性は同様と思われる。具体的方策のうち、当班会議では特に3. 医療機関の役割分担とネットワークの構築に相当する部分に重点をおき小児がん医療提供体制の充実を目指していきたいと考えている。成人がん領域では二次医療圏のがん診療拠点病院において標準的な専門医療が提供できる事を目指しているが、小児がんの場合全てが希な疾患に当たることから比較的専門的な医療提供体制が必要と思われる。また小児医療提供体制の観点から考えると小児がん領域は所謂専門医療に属し、小児科・小児外科のみならず院内の他科・診療部との連携が欠かせないことから一般的には都道府県単位での医療提供体制の集約化・重点化を図りそこへ患児を集めるようなシステム造りが不可欠です。

この様に都道府県レベルで小児がん医療を集約させることにより結果的に全国どこでも小児がんの標準的な専門医療が受けられるよう、医療技術などの格差是正を図ること- 「均てん化」を目指していく。

B. 研究方法

本年度は均てん化の観点よりの小児がん医療の現状を把握するためアンケート調査を施行した。（別紙の内容。）調査結果より本邦での小児がん診療施設の必要要件を決めていく。

C. 研究結果

現在アンケート調査中である。

D. 考察

調査中。

E. 結論

調査中。

F. 健康危険情報

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  
（予定を含む。）

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

## 小児がん診療施設現状調査のアンケートのお願い

はじめに

成人がん領域では「均てん化」—全国どこでもがんの標準的な専門医療が受けられるよう、医療技術などの格差是正を図ること—に向けた取り組みを推進することが、政府のみならず、医療関係者や研究者、教育機関の重要な課題となっています。具体的方策としては以下の5項目が検討されています。

1. がん専門医等の育成
2. がんの早期発見に係わる体制等の充実
3. 医療機関の役割分担とネットワークの構築
4. がん登録制度
5. 情報の提供普及

一方小児がん領域においても—全国どこでもがんの標準的な専門医療が受けられるよう、医療技術などの格差是正を図ること—「均てん化」への取り組みの重要性は同様と思われます。具体的方策のうち、当班会議では特に 3. 医療機関の役割分担とネットワークの構築に相当する部分に重点をおき小児がん医療提供体制の充実を目指していきたいと考えています。成人がん領域では二次医療圏のがん診療拠点病院において標準的な専門医療が提供できる事を目指しておりますが、小児がんの場合各都道府県に一カ所設置される都道府県がん診療拠点病院レベルの比較的専門的な医療提供体制が必要と思われます。また小児医療提供体制の観点から考えると小児がん領域は専門医療に属し、小児科・小児外科のみならず院内の他科・診療部との連携が欠かせないことから都道府県単位での医療提供体制の集約化・重点化を図りそこへ患者を集めるようなシステム造りが不可欠です。この様に都道府県レベルで小児がん医療を集約させることにより結果的に全国どこでも小児がんの標準的な専門医療が受けられるよう、医療技術などの格差是正を図ること—「均てん化」を目指すことが重要です。

以上の観点から小児がんの診療に当たる医療機関が満たすべき要件として現時点では下記の項目を想定しています。これを基準に全国の小児がん診療提供施設の現状を調査することにより厚生労働省がん臨床研究事業「神経芽腫におけるリスク分類にもとづく標準的治療の確立と均てん化および新規診断・治療法の開発研究班」が提唱する「小児がん診療提供体制の均てん化」を推進するための基礎データといたします。

### 小児がんの診療に当たる医療機関が満たすべき要件

- a. 小児科と小児外科の連携がとられている。(定期的な tumor board が開かれている。)
- b. 症例により臨床各科（整形外科、脳外科、耳鼻科、泌尿器科、眼科、放射線科など）との連携が容易に出来る。また小児腎臓専門医、小児循環器専門医などとの連携が可能である。
- c. 放射線診断・治療部門、病理部門に小児がん担当者がいる。
- d. 放射線治療・診断、病理・遺伝子診断について院外にもコンサルテーションシステムを持っている。
- e. 臨床試験や治験に積極的に参加するまたその体制がある。
- f. 小児がん登録を確実に行う。
- g. 小児がん専門医が診療に従事している。小児がん専門医の研修指導体制が整っている。
- h. 長期フォローの体制が調っている。
- i. 院内学級・保育、宿泊施設など患者さんの QOL に関わる体制が調っている。

## I. 目的

- 1.この調査は、全国の小児がん診療提供施設の現状を調査することを目的としています。
- 2.あわせて厚生労働省がん臨床研究事業「神経芽腫におけるリスク分類にもとづく標準的治療の確立と均てん化および新規診断・治療法の開発研究班」が提唱する「小児がん診療提供体制の均てん化」を推進するための基礎データを作成することを目的にしています。

## II. 本調査の対象

- 1.小児腫瘍科、小児外科を標榜する診療科。
- 2.JNBSG参加施設。
- 3.その他、小児がん学会会員の属する施設など。

## III. 締め切り

年月日です。同封筒を用いて新潟県立がんセンター新潟病院小児科へご返送下さい。

## IV. 記入方法

当てはまる番号に○を、空欄には文字、数字を記入してください。

## V. 調査実施者の義務等

調査内容は本事業目的の集計・解析にのみ用い、他に流用してはなりません。

知り得た情報を本事業の目的以外に記録し、用い、伝達してはなりません。

回答用紙を含む諸記録、電子データは厳密に守秘・保管する責任があります。

集計・解析した結果を医療機関名・個人を特定できない形で班会議・学会等で公表することがあります。

I. 貴院・貴科の現状についてお伺いします。

I-1. 病院の背景について

I-1-1. 所在地

1. 北海道
2. 東北地区
3. 関東甲信越地区(東京を除く)
4. 東京地区
5. 北陸地区
6. 中部東海地区
7. 近畿地区
8. 中国地区
9. 四国地区
- 10.九州沖縄地区

I-1-2. 設立主体

1. 国公立
2. 私立
3. その他(具体的に )

I-1-3. 病院の性格(複数回答可)

1. 一般病院
2. 大学病院
3. 小児専門病院(または匹敵する各種部門を含む病院)
4. 特定機能病院
5. 国立がんセンター・都道府県がん診療拠点病院
6. 地域がん診療拠点病院

I-1-4. 貴科の標榜名

1. 小児科
2. 小児腫瘍科(小児血液腫瘍科)
3. 小児外科
4. その他(具体的に )

I-1-5. 貴科責任者は次の資格のうちどれに該当しますか？

1. 小児科専門医
2. 小児外科専門医

3. 小児がん学会評議員

4. いずれでもない

I-1-6. 新医師臨床研修制度の臨床研修病院ですか？

1. はい 2. いいえ

I-1-7. 貴施設は地域の小児がん医療についての医療計画を策定し推進する中核  
となっているとお考えですか？

1. はい 2. いいえ

I-2. 貴科の「施設規模および患者数」(診療量)についてお伺いします。

I-2-1. 貴科病床数

\_\_\_\_\_床

そのうち、クリーンルーム加算可能病床

\_\_\_\_\_床

I-2-2. 年間新規発症患者数について

	2005年	2006年	2007年
血液悪性疾患(悪性リンパ腫を含む)	____例	____例	____例
固形腫瘍	____例	____例	____例

I-2-3. 小児固形腫瘍に対する自己末梢血幹細胞輸注併用大量化学療法、同種造血幹細胞移植施行例

	2005年	2006年	2007年
自己末梢血幹細胞輸注併用大量化学療法	____例	____例	____例
同種造血幹細胞移植	____例	____例	____例

I-2-4. 医師のポストについて

A. 常勤医師(施設に専従で週に30時間以上勤務する者。)

	性別	年齢
		10歳階層
1	男・女	歳代
2	男・女	歳代
3	男・女	歳代
4	男・女	歳代
5	男・女	歳代
6	男・女	歳代

- 7 男・女 歳代  
8 男・女 歳代

B.パート医師(パート勤務の医師、または週30時間未満勤務する者。)

\_\_\_\_\_名

II. 貴院・貴科の小児がん診療体制についてお伺いします。

II-1-1. 貴科では小児外科(あるいは小児科)と定期的院内小児がん検討会  
(tumor board)を行っていますか。

1. はい 2. いいえ 3. 非定期的に開催

コメント

---



---

II-1-2. 貴科では化学療法を行っていますか(複数回答可)

1. 通常量の化学療法  
2. 自己末梢血幹細胞輸注併用大量化学療法  
3. 固形腫瘍に対する同種造血幹細胞移植  
4. 行っていない場合の対応

---



---

II-2-1. 院内各科と共同で小児がん患者の診療に当たることが可能ですか

- |              |       |        |
|--------------|-------|--------|
| A.整形外科       | 1. 可能 | 2. 不可能 |
| B.脳外科        | 1. 可能 | 2. 不可能 |
| C.耳鼻咽喉科      | 1. 可能 | 2. 不可能 |
| D.泌尿器科       | 1. 可能 | 2. 不可能 |
| E.眼科         | 1. 可能 | 2. 不可能 |
| F.放射線科(治療)   | 1. 可能 | 2. 不可能 |
| F.小児科或いは小児外科 | 1. 可能 | 2. 不可能 |

コメント

---



---

II-2-2. 小児の臓器別専門医の診察を受けることは可能ですか

- |          |       |        |
|----------|-------|--------|
| A.腎臓     | 1. 可能 | 2. 不可能 |
| B.循環器    | 1. 可能 | 2. 不可能 |
| C.神経     | 1. 可能 | 2. 不可能 |
| D.内分泌    | 1. 可能 | 2. 不可能 |
| E.呼吸器    | 1. 可能 | 2. 不可能 |
| F.感染症    | 1. 可能 | 2. 不可能 |
| F.歯科口腔外科 | 1. 可能 | 2. 不可能 |

コメント

---

---

II-3-1. 院内の臨床部門に小児担当者がいますか

- |           |       |        |
|-----------|-------|--------|
| A.病理部門    | 1. いる | 2. いない |
| B.放射線診断部門 | 1. いる | 2. いない |
| C.放射線治療部門 | 1. いる | 2. いない |
| D.麻酔科     | 1. いる | 2. いない |

コメント

---

---

II-4-1. 病理診断の院外コンサルテーションはどの様にされていますか(複数回答可)

1. 行っていない、行えない
  2. 病理部門が独自に行っている
  3. 生育医療センターに依頼している
  4. 国立がんセンターのがん診療拠点病院病理診断コンサルテーション・サービスを利用している
  5. その他
- 
- 

II-4-2. 細胞学的・遺伝子診断はどの様にされていますか(複数回答可)

1. 行っていない、行えない
2. 院内の病理部門・研究部門が独自に行っている
3. 疾患により特定の研究機関に依頼している  
千葉がんセンター等

4. 外注の検査機関に依頼している
  5. その他
- 

II-4-3. 放射線治療の院外コンサルテーションはどの様にされていますか  
(複数回答可)

1. 行っていない、行えない
  2. 放射線治療部門が独自に行っている
  3. 生育医療センターに依頼している
  4. その他
- 

II-5-1. 臨床試験への対応

1. 基本的にすべての臨床試験へ積極的に参加している
  2. 趣旨を検討した上で特定の臨床試験に参加している
  3. 積極的には臨床試験に参加していない
  4. 基本的に臨床試験には参加しない
  5. 臨床試験へ参加する意志はあるが体制的に参加しにくい
  6. その他
- 

II-5-2. 臨床試験への対応2 II-5-1.で5と回答された施設へ  
臨床試験へ参加しにくい要因は何ですか(複数回答可)

1. 日常診療が多忙で余裕がない
  2. 倫理審査、IRBの手続きが煩雑である
  3. CRC等の支援体制がない
  4. 臨床試験のインフォメーションが入りにくい
  5. その他
- 

II-5-3. 治験への対応

1. 基本的にすべての治験へ積極的に参加している
2. 趣旨を検討した上で特定の治験に参加している
3. 積極的には治験に参加していない
4. 基本的に治験には参加しない

5. 治験へ参加する意志はあるが体制的に参加しにくい
  6. その他
- 
- 

#### II-5-4. 臨床試験・治験への院内支援体制

1. 治験を支援する部門が院内にあり協力が得られる
  2. 臨床試験を支援する部門が院内にあり協力が得られる
  3. その他
- 
- 

#### II-6-1. 小児がん登録制度(複数回答可)

1. 2005年より始まった新制度には全例登録している
2. なるべく登録している
3. 積極的には登録していない
4. 登録制度には参加しない
5. 院内各科にも積極的に登録を呼びかけている

#### II-6-2. 小児がん登録制度2 II-6-1.で3.4.と回答された施設へ その理由をお聞かせください (複数回答可)

1. 日常診療が多忙で余裕がない
  2. メリットがない
  3. 必要性が理解できない
  4. 他の登録制度と重複している
  5. 制度の存在を知らなかった
  6. その他
- 
- 

#### II-7-1. 小児がん専門医制度

1. 常勤医は今後小児がん専門医を取得していく予定である
  2. 小児がん専門医研修施設に登録する予定である
  3. 専門医を取得する予定はない
  4. その他
- 
-





神経芽腫におけるリスク分類にもとづく標準的治療の確立と均てん化  
および新規診断・治療法の開発研究

分担研究者 松本 公一 名古屋第一赤十字病院小児医療センター副部長

### 研究要旨

進行神経芽腫の予後は、超大量化学療法に自家造血細胞移植を併用した治療法の進歩により改善しつつある。しかし、現在のところ、合併症が低くかつ有効性の高い理想的な超大量化学療法は明確ではない。次期超大量化学療法プロトコルの候補として考えられているTT(thiotepa)+LPAM(Melphalan)の合併症について検討した結果、double conditioning(TT 200mg/m<sup>2</sup>/day、LPAM 70mg/m<sup>2</sup>/dayを2日間続ける治療法を、2週間繰り返すもの)で治療した場合は、減量した群と比較して重篤な合併症が発症する可能性が高くなる。また、造血細胞移植前に寛解導入に成功した症例の予後は、超大量化学療法を併用した自家造血細胞移植により期待できる。今後は、移植前処置の検討とともに、移植前に寛解できない症例の新規治療の開発も必要である。

### A.研究目的

進行神経芽腫に対する新規治療戦略の開発を目的とする。特に移植前処置について後方視的な解析を行い、今後の治療戦略の基礎データとすることを目的とした。

### B.研究方法

高リスク群の治療戦略として、現在次期超大量化学療法プロトコルの候補として考えられているTT(thiotepa)+LPAM(Melphalan)の合併症について検討した。対象は、1998年から2007年までに東海小児がん研究会参加5施設において行われた、小児固形腫瘍に対する自家造血細胞移植のうち、TT+LPAMを用いた43例である。疾患の内訳は、横紋筋肉腫15例、神経芽腫12例、肝芽腫6例、髄芽腫5例、胚細胞腫瘍3例、その他2例であり、末梢血幹細胞移植が38例、骨髄移植が4例、末梢血幹細胞移植と骨髄移植の併用が1例であった。TT+LPAMはdouble conditioning(TT 200mg/m<sup>2</sup>/day、LPAM 70mg/m<sup>2</sup>/dayを2日間続ける治療法を、2週間繰り返すもの)でおこなった場合をfull dose群(10例)とし、それ以下に減量した場合をreduced dose群(33例)として検討を行った。

### C.研究結果

全43例で生着が認められ、白血球数>1000/ $\mu$ lは移植後中央値11.5日(9-27日)、好中球数>500/ $\mu$ lは移植後中央値12日(9-53日)、網状赤血球数>10/%は移植後中央値20日(7-69日)、血小板数>50000/ $\mu$ lは移植後中央値35日(11-372日)であった。

NCI-CTCによる非血液学的毒性の評価では、下痢(7例)、感染症(3例)、その他(ビリルビン上昇、肺障害、膀胱炎がそれぞれ1例ずつ)でgrade IVの毒性を認めた(表1)。

表1 TT+LPAMによる非血液学的毒性

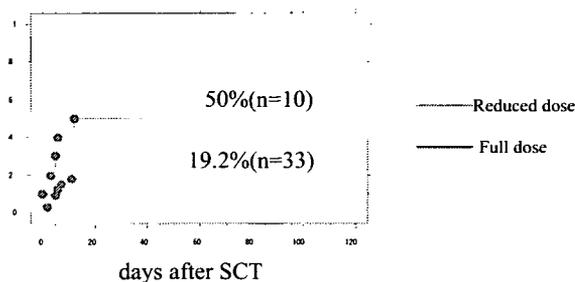
	0	I	II	III	IV	V
diarrhea	1	1	5	29	7	0
mucositis	2	2	16	23	0	0
vomiting	1	6	11	25	0	0
TP/Alb	20	8	10	5	0	0
BUN/Cr	41	2	0	0	0	0
T-Bil	37	1	4	0	1	0
AST/ALT	27	11	5	3	0	0
Amy	34	9	0	0	0	0
Na/K/CL	20	19	0	4	0	0
infection	0	1	9	30	3	0
lung	40	0	0	2	1	0
cystitis	41	0	1	0	1	0
vacular	42	0	0	1	0	0

このうち、感染症に関して、38℃以上の発熱期間は全体で8.1±5.07日であった。38℃以上の発熱期間をLPAMの量の差で検討したところ、full dose群で11.8±6.05日であったのに対して、reduced dose群で6.83±4.67日と有意差を認めた(p=0.0058)。細菌感染症は14例に認めら

れ、Staphylococcus属感染症が4例と最も頻度が高かった。また、1例に真菌感染症、3例でウイルス感染症（CMV、HSV、VZVそれぞれ1例）を認めた。

NCI-CTCのgrade IV以上の毒性は、full dose群で50%に認められたのに対して、reduced dose群で19.2%と低く、有意差を認めた(p=0.03; 図1)。

#### 図1 Cumulative incidence of severe complication (>IV NCI-CTC)



P=0.03(log rank test)

再発は43例中22例に認められ、15例が再発で死亡した。死亡例16例のうち、1例が移植後合併症であった。全体の無病生存率は46.5%であった。単変量解析では、死亡に最も影響を与える因子は、移植前の寛解状態であり、RR=4.292(p=0.0008)であった。移植前に腫瘍の残存している症例(17例)の予測生存率は17.6%であるのに対して、移植前に腫瘍残存のない症例(26例)の予測生存率は65.4%であった(p=0.002)。

#### D. 考察

進行神経芽腫に対する治療戦略として、全身放射線療法を用いない超大量化学療法の採用が世界の趨勢である。これは、全身放射線療法による長期の合併症が大きな問題となるからである。COG-A3973研究やGPOH研究、さらにJNBSGでは、melphalan + etoposide + carboplatin による超大量化学療法(HIMEC療法)が現在まで行われ、成果を上げてきている。しかし、このHIMEC療法も、腎機能障害などの問題があり、より有効性の高い治療法の開発が望まれている。そのなかで、TT+LPAMによる超大量化学療法は、比較的安全に施行可能

であり、有効性も高いことが報告されている。今回、少ない症例数ではあるが、TT+LPAMの安全性、有効性を検討した。報告されているようなfull doseで治療を行った場合、下痢などの重篤な合併症が高くなることが示された。進行神経芽腫の次期治療プロトコールでは、安全性を担保するために、従来から報告されているfull doseではなく、特にmelphalanの減量を行う必要があると考えられた。また、今後全国の移植データを元に、より適切な移植前処置を検討する必要があると思われた。

#### E. 結論

進行神経芽腫に対する超大量化学療法として、TT(thiotepa)+LPAM(Melphalan)を用いる場合は、TT 200mg/m<sup>2</sup>/day、LPAM 70mg/m<sup>2</sup>/dayを2日間ずつで、2週間繰り返す使用方法では、重篤な下痢などの合併症が高くなる危険がある。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

1) 東海地区におけるTEPA+LPAM前処置による自家造血幹細胞移植の合併症についての解析  
渡辺修大,松本公一,土居崎小夜子,坂口大俊,堀部敬三,小島勢二,堀浩樹,堀越泰雄,加藤剛二  
第23回日本小児がん学会 2007.12.14-16 仙台

2) 小児固形腫瘍に対するTEPA+LPAM前処置による自家造血細胞移植についての解析  
渡辺修大,松本公一,加藤俊一,足立壮一,磯山敬一,土屋滋,渡辺新,河野嘉文,堀越泰雄,東英一,小池健一,小島勢二,麦島秀雄,加藤剛二  
第30回日本造血細胞移植学会 2008.2.29-3.1 大阪

分担研究報告書

神経芽腫に対する外科療法と併用した樹状細胞治療の開発についての研究

分担研究者 田尻達郎 九州大学大学院医学研究院 准教授

研究要旨

神経芽腫に対する外科療法と併用した樹状細胞治療の開発を目的に、前臨床試験としてマウス皮下担癌モデルにおいて、センダイウイルスベクター導入樹状細胞 (SeV/DC) は有意に腫瘍増殖を抑制し、さらに SeV に搭載する遺伝子として IFN- $\beta$  を用いること、また放射線療法の併用療法で抗腫瘍効果が増強することを確認した。さらに、新たな知見として、放射線前照射により SeV/DC が誘導する抗腫瘍免疫は、CTL 活性を増強し長期メモリーを成立させることが分かった。また、抗腫瘍効果を担う主な免疫細胞は、治療開始後早期では CD4 陽性 T 細胞であり、後期では CD8 陽性 T 細胞であることが示唆された。現在、外科療法に併用した臨床試験のプロトコールを作成中である。

A. 研究目的

神経芽腫に対する外科療法と併用した樹状細胞治療の開発を目的とする。

5) 局所放射線照射

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

B. 研究方法

1) 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  $1 \times 10^7$ /ml に調節し、100 $\mu$ l ( $1 \times 10^6$ ) を右大腿皮下に接種する。

6) SeV で活性化した樹状細胞の投与

作成した SeV/DC を腫瘍接種後 10 日目、17 日目、24 日目に  $1 \times 10^6$ /100 $\mu$ l/head で腫瘍内に投与し、腫瘍体積を測定し、腫瘍増殖抑制効果を判定した。(図 1)

2) 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。

7) CTL 活性の測定

腫瘍接種後 31 日目の CTL 活性を  $^{51}\text{Cr}$  リリーシングアッセイにて測定した。

3) 樹状細胞の活性化

immature DC に、ts-SeV、ts-SeV-IFN $\beta$  を MOI 100 で感染させた。活性化の評価として樹状細胞の表面マーカーである CD40、CD80、CD86、MHC class II を、SeV 導入効率として GFP 発現レベルを FACS analysis で確認した。

7) 抗腫瘍効果を担う免疫細胞の確認

抗体を用いて NK 細胞、CD4 陽性 T 細胞、CD8 陽性 T 細胞を除去した状態で、抗腫瘍効果を確認した。

C. 研究結果

1) 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 4Gy/day の X 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 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、8 頭中 5 頭において腫瘍が完全に消失した。(図 2) また、放射線前照射により SeV/DC が誘導する抗腫瘍免疫は、CTL 活性を増強し長期メモリーを成立させることが分かった。(図 3)

## 2) 抗腫瘍効果を担う免疫細胞

抗体を用いて NK 細胞、CD4 陽性 T 細胞、CD8 陽性 T 細胞を除去した状態で、抗腫瘍効果を確認したところ、マウス神経芽腫 C1300 における免疫担当細胞は、治療開始後早期では CD4 陽性 T 細胞であり、後期では CD8 陽性 T 細胞であることが示唆された。

## 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 1 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。これまでの研究において、IFN- $\beta$  の使用によりマウス神経芽腫細胞株における MHC class 1 発現増強を認めることができ、更に IFN- $\beta$  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。また放射線照射と樹状細胞療法の併用により、高い抗腫瘍効果を得ることができた。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、腫瘍細胞がネクローシスに陥り、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 1 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。今回新たな知見として、放射線前照射により SeV/DC が誘導する抗腫瘍免疫は、CTL 活性を増強し長期メモリーを成立させることが分かった。また、抗腫瘍効果を担う免疫細胞は、治療開始後早期では CD4 陽性 T 細胞であり、後期では CD8 陽性 T 細胞であることが示唆された。今後、臨床応用を考えた際に SeV の安全性が問題となってくるが、SeV は細胞質内において、遺伝子発現、蛋白合成を行うため宿主染色体への影響はなく、またヒトへの病原性は報告されていないため安全性は高いと考えられる。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、その安全性が確認されている。

現在、外科療法に併用した臨床試験のプロトコールを作成中であり、今後、学内の IRB 審査の承認後に厚生労働審議会に提出し、承認後の早期の臨床応用を目指している。

## E. 結論

マウス神経芽腫細胞に対して、SeV 導入樹状細胞療法と放射線療法と併用することにより、高い抗腫瘍効果が得られた。放射線前照射により SeV/DC が誘導する抗腫瘍免疫は、CTL 活性を増強し長期メモリーを成立させることが分かった。また、抗腫瘍効果を担う免疫細胞は、治療開始後早期では CD4 陽性 T 細胞であり、後期では CD8 陽性 T 細胞であることが示唆された。現在、外科療法に併用した臨床試験のプロトコールを作成中であり、今後、学内の IRB 審査の承認後に厚生労働審議会に提出し、承認後の早期の臨床応用を目指している。

## F. 健康危険情報

特になし。

## G. 知的財産権の出願、登録状況

### 1. 論文発表

- 1 Suita S, Tajiri T, Kaneko M, Hirai M, Mugishima H, Sugimoto T, Tsuchida Y: Implications of MYCN amplification in patients with stage 4 neuroblastoma who undergo intensive chemotherapy. J Pediatr Surg 42:489-493, 2007
- 2 Suita S, Tajiri T, Higashi M, Tanaka S, Kinoshita Y, Takahashi Y, Tatsuta K: 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 17:23-28, 2007
- 3 Tajiri T, Higashi M, Souzaki R, Tatsuta K, Kinoshita Y, Taguchi T: Classification of neuroblastomas based on an analysis of the expression of genes related to the prognosis. J Pediatr Surg 42:2046-2049, 2007
- 4 Higashi M, Tajiri T, Kinoshita Y, Tatsuta K, Souzaki R, Maehara Y, Suita S, Taguchi T: High expressions of neuronatin isoforms in favorable neuroblastoma. J Pediatr Hematol/Oncol 29:551-556, 2007

### 2. 学会発表

第44回日本小児外科学会

#### 1. 神経芽腫における外科治療の役割

田尻達郎、田口智章

第96回日本病理学会

#### 2. センダイウイルスによる活性化樹状細胞 (DC/SeV) を用いたマウス神経芽腫に対する抗腫瘍効果の検討

田中桜、田尻達郎、田口智章、他

American Society of Gene Therapy 10<sup>th</sup> Annual Meeting

#### 3. Induction of efficient antitumor immunity to murine neuroblastoma using dendritic

cells highly activated by temperature-sensitive mutant SeV/dF: a preclinical efficacy study

S Tanaka, T Tajiri, T Taguchi

第13回日本遺伝子治療学会

#### 4. Dendritic cell-based immunostimulatory virotherapy using temperature-sensitive mutant SeV/dF: an advanced report of preclinical efficacy study against neuroblastoma

S Tanaka, T Tajiri, T Taguchi

第23回日本小児がん学会

#### 5. (教育講演) 小児固形悪性腫瘍におけるトランスレーショナルリサーチ

田尻達郎、田口智章

#### 6. センダイウイルスによる活性化樹状細胞を用いたマウス神経芽腫に対する抗腫瘍効果の検討-臨床応用に向けて

田中桜、田尻達郎、田口智章、他

## H. 知的財産権の出願、登録状況

特になし

図 1

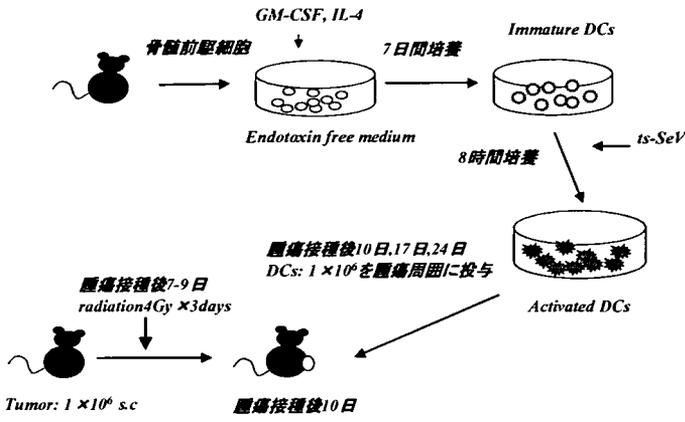


図 2

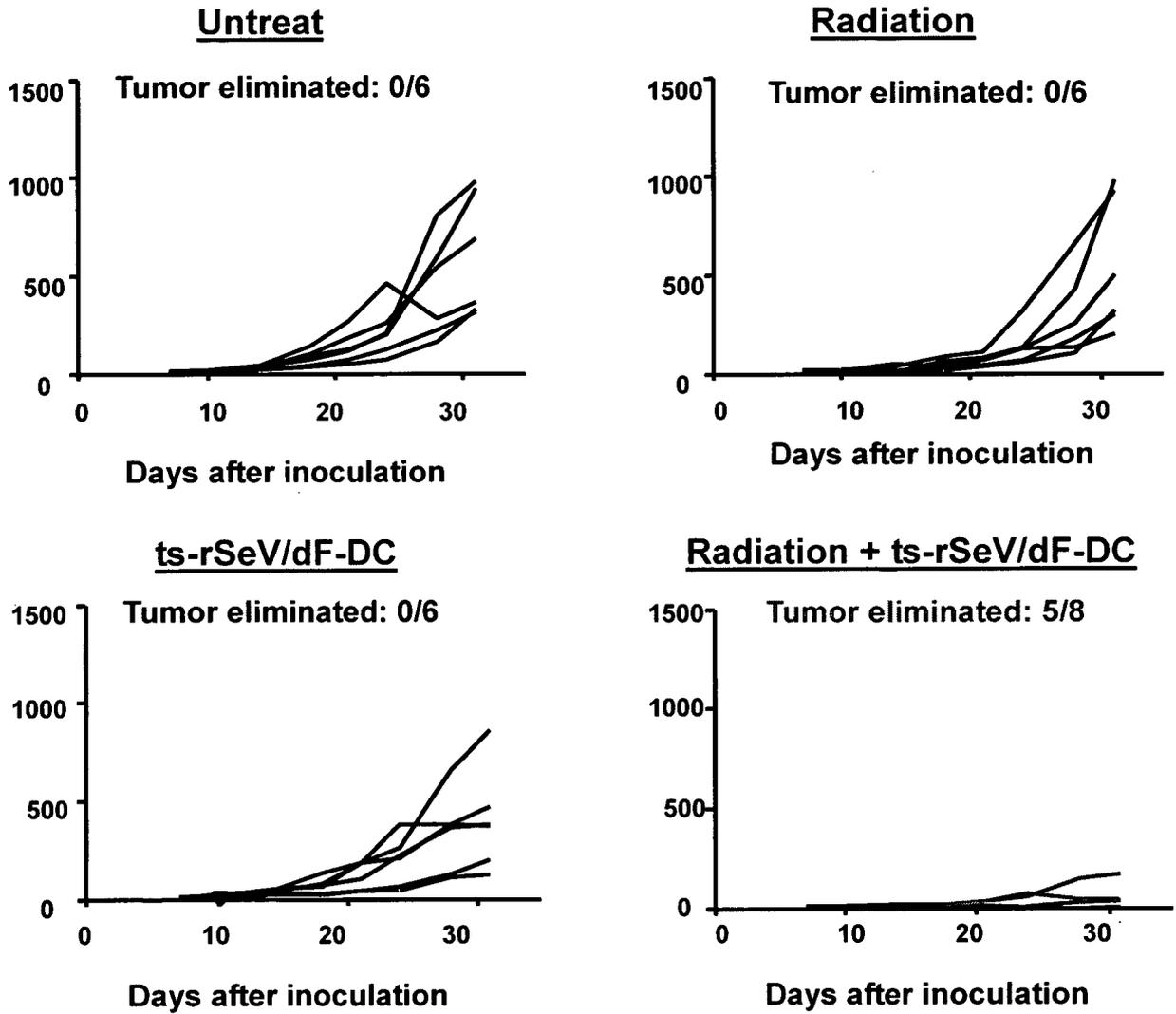


图 3

### CTL activity on day 31

