

最近の主な小児 *de novo* AML臨床試験の治療成績

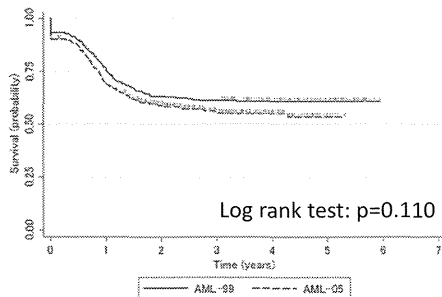
試験名	期間	N	年齢	CR率	コース数	CR1での同種移植	EFS(年)	OS(年)
AML99	2000-2002	240	0-18	94 %	6	19 %	61 % (5)	75 % (5)
CCLSG AML9805	1998-2002	101	0-18	90 %	8	19 %	53 % (5)	74 % (5)
AML-05	2006-2010	444	0-18	86 %	5	12 %	55 % (3)	73 % (3)
SJCRH AML02	2002-2008	230	0-21	94 %	5	27 %	63 % (3)	71 % (3)
NOPHO-AML 2004	2004-2009	151	0-15	92%	6-7 ±GO	14 %	57 % (3)	69 % (3)
MRC AML12	1995-2002	455	0-16	92 %	4-5	7 %	56 % (5)	66 % (5)
BFM98	1998-2003	473	0-18	88 %	5, 維持療法	NA	49 % (5)	62 % (5)
CCG2961	1996-2002	901	0-21	88 %	3	18 %	42 % (5)	52 % (5)

CR1 : 第1寛解期、GO: Gemtuzumab Ozogamicin

AML-05 vs AML99 : 3y-pEFS & pOS

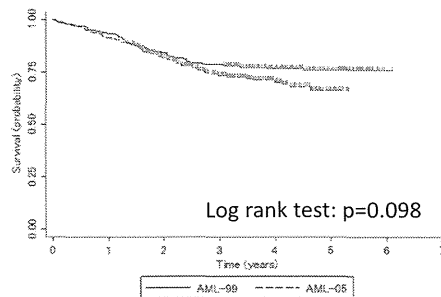
3y-pEFS

AML99: 61.2% (95%CI, 54.7-67.0%)
AML-05: 55.2% (95%CI, 50.1-60.0%)



3y-pOS

AML99: 78.7% (95%CI, 73.0-83.4%)
AML-05: 73.2 % (95%CI, 68.3-77.4%)



OSCR DATA CENTER
NPO法人 臨床研究支援機構

Tomizawa et al. Leukemia 2013, 27: 2413-6

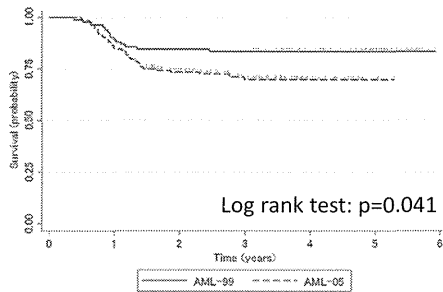


Low risk group (in AML-05 definition)

AML-05 vs AML99 : 3y-pEFS & pOS

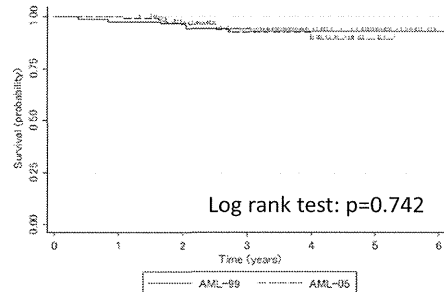
3y-pEFS

AML99: 83.1% (95%CI, 73.1-89.6%)
AML-05: 69.6% (95%CI, 60.6-77.0%)



3y-pOS

AML99: 93.9% (95%CI, 86.1-97.4%)
AML-05: 92.6% (95%CI, 85.6-96.2%)



OSCR DATA CENTER
NPO法人 臨床研究支援機構

Tomizawa et al. Leukemia 2013, 27: 2413-6

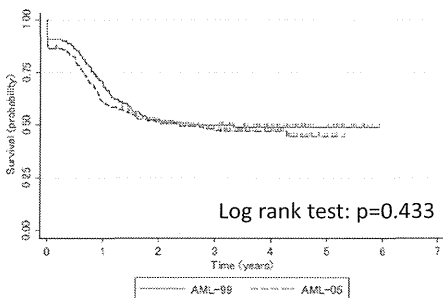


Non CBF-AML

AML-05 vs AML99 : 3y-pEFS & pOS

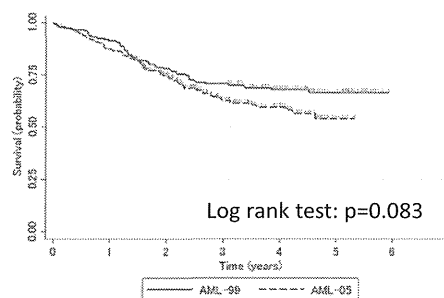
3y-pEFS

AML99: 49.6% (95%CI, 41.4-57.3%)
AML-05: 47.5% (95%CI, 41.1-53.5%)



3y-pOS

AML99: 70.8% (95%CI, 62.9-77.4%)
AML-05: 62.8% (95%CI, 56.2-68.6%)



移植遂行率 AML99; 26%
AML-05; 16%

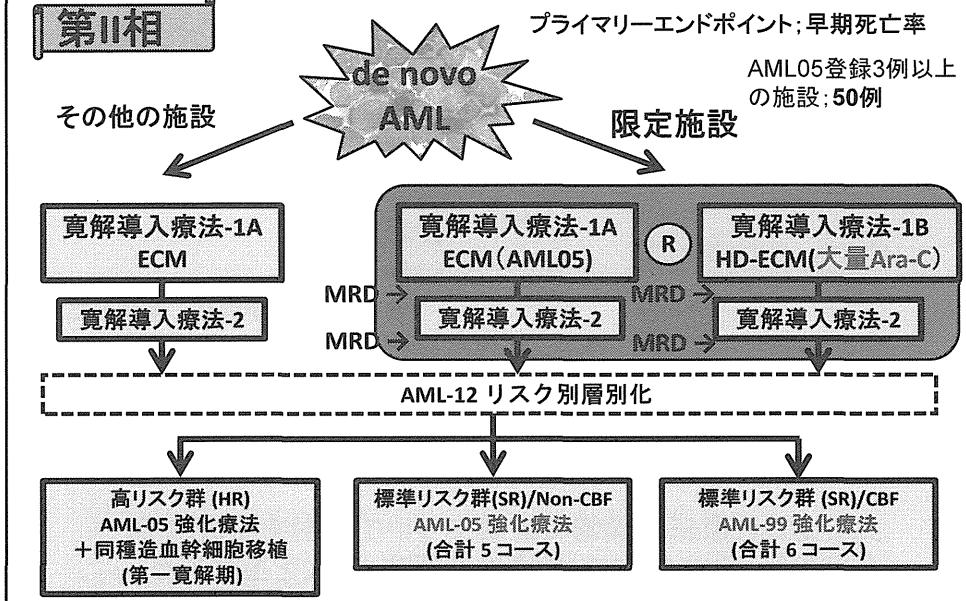
OSCR DATA CENTER
NPO法人 臨床研究支援機構





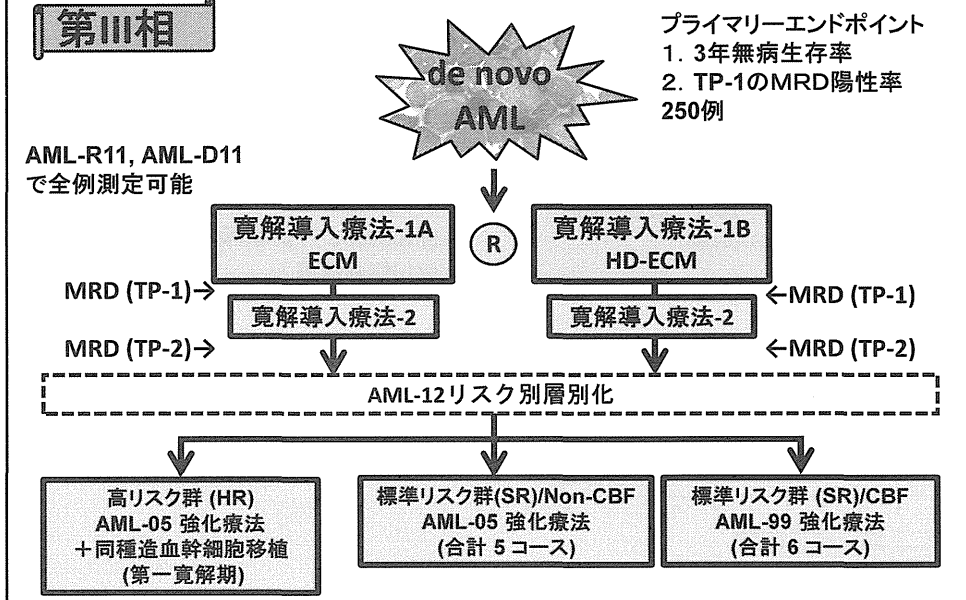
AML-12: シームレスII/III相臨床試験

第II相

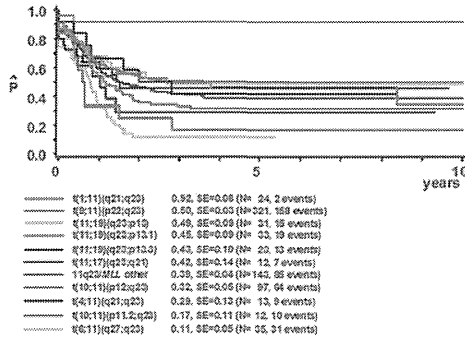


AML-12: シームレスII/III相臨床試験

第III相



t(6;11)(q27;q23)/MLL-MLLT4(AF6)



(Balgobind BV. *Blood* 2009;114:2489-96)

【AML99】

- 2例
- 1例は1CRで移植も腫瘍死
- 1例はIRで化学療法、再発死亡

【AML-05】

- 2例
- 2例ともIRで化学療法、再発死亡

※MLL-AF10: AML-05で8例中5例が無イベント生存(7例IR、1例リスク違いで中止)

11q23/MLL遺伝子異常の意義について検討する目的で、
全例診断時にMLL-FISH検査を施行することを推奨する。

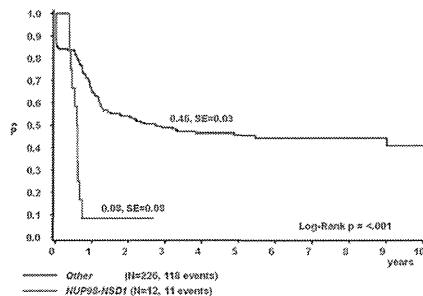
NUP98-NSD1

- Ch11p15のNucleoporin 98kD (NUP98) とCh5q35のnuclear receptor binding SET domain protein 1 (NSD1)の転座

- Crytic translocations

- Ped AML (DCOG/BFM/Paris):
13/313 (4.2%) , 16.1% in CN-AML

(B) Pediatric cohort: event-free survival at 4-years



(Hollink IH. *Blood* 2011;118:3645-3656)

【AML99】

- 6例 (3.8%)
- 4y-OS=33%

【AML-05】

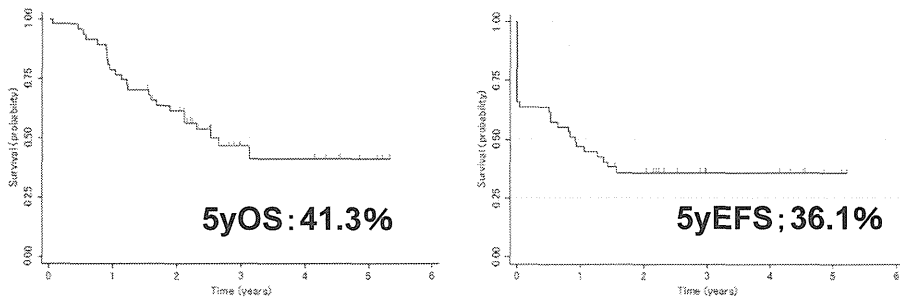
- 10例 (2.9%)
- 8/10例死亡 (7例は再発死亡)
- 6/10例非寛解

Multivariate Analysis of OS

P 0.005, HR 2.945

Lower CI 1.394 Upper CI 6.225

AML-05におけるFLT3-ITD症例の成績

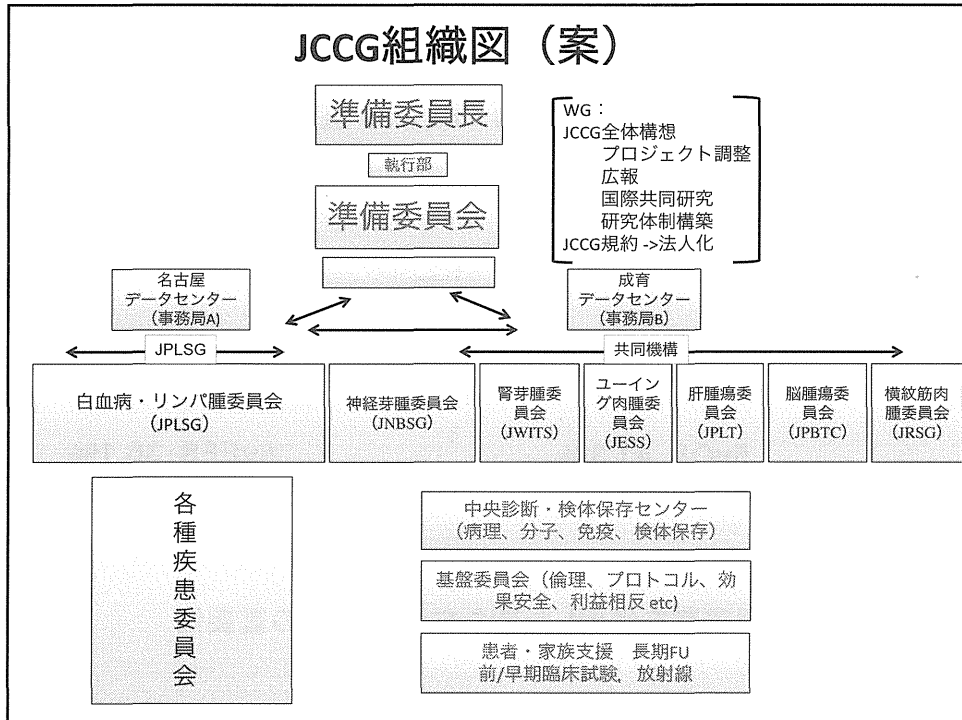


FLT3阻害剤を併用した新たな治療戦略の重要性

臨床研究基盤のあり方に関する研究

水谷修紀（東京医科歯科大学）；臨床研究基盤のあり方に関する研究の総括
福澤正洋（大阪府立母子保健医療センター）；ウイلمス腫瘍研究グループ 代表
河野嘉文（鹿児島大学）；白血病研究グループ（KCLSG）代表
真部淳（聖路加国際病院）；白血病研究グループ（TCCSG）代表
麦島秀雄（日本大学）；ユーイング肉腫研究グループ代表
森川康英（慶應義塾大学）；横紋筋肉腫研究グループ代表
堀浩樹（三重大学）；白血病研究グループ(JACLS)代表

JCCG組織図 (案)



Ⅱ. 分担研究報告

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

小児がん拠点病院を活用した臨床研究基盤のあり方及び新規治療開発に関する研究
(H25-がん臨床-指定-002)

研究分担者 田尻 達郎 京都府立医科大学大学院医学研究科小児外科学教授
研究協力者 文野 誠久 京都府立医科大学大学院医学研究科小児外科学講師

神経芽腫新規治療開発に関する研究
-神経芽腫新規治療開発に関する研究の統括-

研究要旨

神経芽腫は、小児悪性固形腫瘍の中で最も発生頻度が高く、年間150～200例が発生する。しかし、半数以上を占める高リスク群の治療率は未だ生存率20～40%であり、その新規治療法開発が国際的にも喫緊の重要課題となっている。一方、低・中間リスク群では、治療の軽減、合併症回避を行いながら治療成績の向上を図ることが求められ、新規リスク因子や個別化治療法の開発が必要である。

そこで、我々は2006年に全国統一の日本神経芽腫研究グループ（JNBSG）を設立し、データセンター、中央病理・分子診断、検体センター等の基盤整備を行い、わが国の全神経芽腫を対象に多施設臨床試験を推進してきた。その結果、平成19年から、高リスク群に対する「標準的治療法第II相試験」開始、平成23年に「遅延局所療法試験」は第II相試験へ移行した。中間解析における有効性、安全性ともに問題なく、予定通り平成26年度に登録終了の見込みである。また、低・中間リスク群では「IDRFに基づく治療合併症の軽減を目的とする観察研究（低リスク群）と臨床試験（中間リスク群）」を開始し、低リスク群観察研究は、ほぼ予定通りに登録終了し、中間リスク群は、登録継続中である。

臨床試験（研究）に付随した腫瘍検体を用いて、わが国独自に開発した神経芽腫ゲノム・病理リスク分類（INPC分類）による評価系の確立と次世代シーケンシングによる治療の有効性と抵抗性に関わる遺伝子の同定と分子標的治療薬の開発と臨床導入を検討中であり、平成25年度はトランスレーショナルリサーチの実践による非侵襲的な治療層別化体制を正確、かつ、迅速に行う体制を整備した。新規リスク分類の確立のため、現在、1) ALK経路の解析および新規分子診断への応用、2) 高リスク神経芽腫患者における血液中・骨髄中・自己末梢血幹細胞採取液中の微小残存病変の経時的評価、3) 神経芽腫4S症例において11q LOH解析などが進行中である。

このようにJNBSGを研究基盤としたグループ研究により、本格的にわが国の特色を活用した新たな治療技術の開発が進んでおり、神経芽腫患者の予後とQOLの改善に大きく貢献するものと思われる。

A. 研究目的

2006年に日本神経芽腫研究グループ（JNBSG）を設立し、データセンター、中央病理・分子診断、検体センター等の基盤整備を行い、わが国の全神経芽腫を対象に多施設臨床試験を行ってきた。神経芽腫の特徴はその生物学的多様性にある。したがって、高リスク群では予後改善のための新規治療戦略が求められ、低・中間リスク群ではリスク因子にもとづく治療軽減、合併症回避、そして治療成績の向上を図る必要がある。そこで、神経芽腫患者の質の高い予後改善を目指し、トランスレーショナルリサーチを導入した有効かつ安全な

治療法の開発を目的とする。

B. 研究方法

①高リスク群の治療開発：

2011年5月26日から「遅延局所療法試験の第II相試験」に登録開始した。対象は、COG高リスク群で、診断時原発腫瘍切除不適切、かつ180日以上18歳0日以下の患児であり、寛解導入化学療法及び骨髄破壊的大量化学療法を外科療法及び放射線療法より先行して行うことにより、化学療法の時間強度と全体の治療強度を増し、それにより治療成績を向上させることを目的とした。予定登録数は3年間

で66例（適格例59例）と設定した。この解析結果を、前班研究において解析終了した「標準的治療法の第II相試験」の結果と比較し、発表する。また、「遅延局所療法試験の第II相試験」の中間解析結果と「再発例調査研究の後視方的解析」から得られた調査研究に基づき、次期臨床試験である「ICE療法にブスルファン／メルファラン大量化学療法を組み込んだ第II相試験」の準備を行う。

②低・中間リスク群の臨床研究：

低リスク群に関しては、これまで本邦で施行されてきた化学療法に加え、IDRF (Image Defined Risk Factors) に基づく手術適応決定の判断規準を推奨する治療を実施し、治療合併症の軽減を図りつつ、本邦における低リスク群の治療成績を前方視的に観察することを目的とする臨床研究「IDRFに基づき手術時期の決定を行う神経芽腫低リスク群の観察研究」を2010年9月1日から登録開始している。これは、診断時の術前画像に基づいて、手術合併症のリスクを判定し、腫瘍摘出するか否かを判断するIDRFという概念に基づいている。本年度中に予定どおり、登録終了予定であり、さらに「初診時血清診断による乳児神経芽腫の無治療経過観察研究」に移行していく。

中間リスク群に関しては、「IDRFに基づく手術時期の決定を行う中間リスク群に対する第II相臨床試験」を継続中である。この目的は、化学療法と手術療法の併用による治療を施行し、有害事象を含む治療成績を評価するとともに、IDRFに基づく手術時期の決定により、治療合併症の軽減と治療期間の軽減を図ることも目指すものである。2011年11月1日登録開始され、予定の2016年の登録終了を目指す。

③臨床試験（研究）に付随した腫瘍検体のゲノム解析と病理診断解析による個別化医療に向けたリスク分類に基づく分子標的治療薬の開発と臨床導入：

わが国独自に開発した神経芽腫ゲノム・病理リスク分類による評価系の確立と次世代シーケンシングによる治療の有効性と抵抗性に関わる遺伝子の同定を行い、分子標的治療薬の開発と臨床導入を検討する。

（倫理面への配慮）

JNBSGにおける登録や臨床試験の実施、またこれに付随するすべての研究に関しJNBSG内部における倫理審査を実施し、また各参加施設においては倫理委員会または治験審査委員会の承認を必須条件とする。さらに必要な際には第三者機関による倫理審査を実施する。すなわちヘルシンキ宣言やわが国における各種倫理指針を遵守する。すべての患者において登録前に十分な説明を行い、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。

個々の臨床試験（研究）においては、JNBSGの各療法委員会により治療の質を管理し、効果・安全性評価委員会、研究審査委員会により安全性および倫理性を保証する。すなわち第三者機関による監視システム等により許容し得ない患者不利益や危険性を排除し、患者の人権擁護、個人情報の保護、データベースの機密性等を保証する。またすべての患者由来の検体は、同意のもとに検体センターに保存し、二次利用のための管理を行う。

C. 研究結果

平成25年度の研究内容に進捗については、概ね予定どおりに進行した。以下、それぞれの進捗と結果を示す。

①高リスク群の治療開発：

「遅延局所療法試験の第II相試験」は、2014年1月10日現在、予定登録数の80%である47例が解析対象症例として登録され、うち44例が適格例、3例が不適格例であった。不適格例を除いた登録数が必要症例数の半数（30例）に達した2013年11月時点で有効性（無効中止）の中間解析を実施したところ、造血幹細胞移植実施後のINRC判定において、臨床的奏効例数は30例中18例（60%）であった。また、安全性モニタリングとして、有害事象の各項目の発生症例数が、全項目とも統計学的に許容範囲内であった。以上の中間解析結果より、本臨床試験の有効性、安全性ともに無効中止と判断する基準には該当しないとJNBSG効果安全性評価委員会により判定されたため、予定登録数までの試験登録を継続する予定である。また、「遅延局所療法試験の第II相試験」の経過と「再発例調査研究の後視方的解析」から得られた調査研究に基づき、新規プロトコルとして「ICE療法にBU/MEL大量レジメンを組み込んだ第II相試験」の実実施計画書の作成が終了した。コンセプトとしては、ICEを加えた導入化学療法とBU/MELレジメンによる大量化学療法を行う臨床試験を計画している。さらに、欧米でその有効性が示されている抗GD-2抗体に関して、現在、本邦における薬事承認を目指した医師主導治験の研究班が立ち上がっており、将来的には、後治療として抗GD-2抗体療法を加えるシームレスな臨床試験を目指している。

②低・中間リスク群の臨床研究：

低リスクに対する「IDRFに基づき手術時期の決定を行う神経芽腫低リスク群の観察研究」は、2013年12月に予定の60例の登録が無事終了した。今後は予後追跡とデータ解析を行う予定である。

また中間リスクに対する「IDRFに基づく手術適応時期の決定と、段階的に強度を高める化学療法

による神経芽腫中間リスク群に対する第Ⅱ相臨床試験」は、2011年11月1日に5年間で73例の予定登録数で登録開始され、2014年1月17日現在、21例が解析対象症例として登録された。そのうち19例が適格例、2例が不適格例であった。予定の2016年までに登録終了を目指す。

今後は、次期Non High Risk研究として、初診時血清診断による乳児神経芽腫の無治療経過観察研究や化学療法後の残存腫瘍に対する観察研究を考察中である。

③臨床試験（研究）に付随した腫瘍検体のゲノム解析と病理診断解析による個別化医療に向けたリスク分類に基づく分子標的治療薬の開発と臨床導入：

わが国独自に開発した神経芽腫ゲノム・病理リスク分類による評価系の確立と次世代シーケンシングによる治療の有効性と抵抗性に関わる遺伝子の同定と分子標的治療薬の開発と臨床導入を検討中であり、平成25年度はトランスレーショナルリサーチの実践による非侵襲的な治療層別化体制を正確、かつ、迅速に行う体制を整備した。病理診断については、INPC分類に基づいて行い、効果的な臨床研究を実施しているが、神経芽腫では、同一腫瘍内に異なる性質を持つ成分が、別個、あるいは混合して存在することがあり、診断上の問題となることがある。これらの場合、分子遺伝学的解析を病理切片を用いて行う必要があり、ホルマリン固定パラフィン切片を用いたFISH法の開発を行っている。新規リスク分類の確立のため、現在、

- 1) ALK経路の解析および新規分子診断への応用、
- 2) 高リスク神経芽腫患者における血液中・骨髄中・自己末梢血幹細胞採取液中の微小残存病変の経時的評価、
- 3) 神経芽腫4S症例において11q LOH解析などが進行中である。

D. 考察

高リスク神経芽腫に対する遅延局所療法はわが国独自の試みであり、その臨床的、病理学的、分子遺伝学的解析結果から得られる成果は治療法改善に極めて重要である。今後の高リスク群臨床試験のコンセプトとしては、次にICEを加えた導入化学療法とBU/MELレジメンによる大量化学療法を行う臨床試験を計画している。欧米で、その有効性が示されている抗GD-2抗体に関して、現在、本邦における薬事承認を目指した医師主導治験の研究班が立ち上がっており、将来的には、後治療として抗GD-2抗体療法を加えるシームレスな臨床試験を目指している。また、低・中間リスク群腫瘍に対するIDRFに基づいた治療による臨床研究は、世界的に新しい試みである。今後の低中間リスク群（Non high risk群）に対する臨床試験の計画とし

ては、血清診断を用いた無治療経過観察は、可能であるか、また、化学療法後の残存腫瘍は、観察可能であるかをコンセプトにして、終了した低リスク群臨床試験を標準治療として、現行の中間リスク群臨床試験を走らせながら、Non high risk群に対するシームレスな臨床試験を検討中である。さらに、新しいリスク分類や予後予測因子の開発、さらに新規薬剤の効果スクリーニング系の開発は、神経芽腫の個別化医療への展開に極めて重要であり、わが国独自の成果が期待される。

E. 結論

高リスク神経芽腫に関しては標準治療の確立から次期プロトコール開発へと進み、さらに新規免疫療法の導入も視野に入っている。低中間リスク群（Non high risk群）に関しては、無治療経過観察などのより低侵襲治療（観察）を目指している。さらにトランスレーショナルリサーチの推進により、わが国独自に開発した神経芽腫ゲノム・病理リスク分類による評価系の確立と次世代シーケンシングによる治療の有効性と抵抗性に関わる遺伝子の同定と分子標的治療薬の開発と臨床導入も着実に進行している。このようにJNBSGを研究基盤としたグループ研究により、本格的にわが国の特色を活用した新たな治療技術の開発が進んでおり、神経芽腫患者の予後とQOLの改善に大きく貢献しうるものと思われる。

F. 健康危険情報 該当事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yagyu S, Iehara T, Hosoi H. A Novel Diagnostic Tool for Therapy Stratification of Neuroblastoma: Preoperative Analysis of Tumor Biology Using Circulating Tumor-Released DNA in Serum, in Shimada H (eds): NEUROBLASTOMA. Croatia, INTEC, 2013.
- 2) Shum CK, Lau ST, Tsoi LL, ChanLK, Yam JW, Ohira M, Nakagawara A, Tam PK, Ngan ES. Krüppel-like factor 4 (KLF4) suppresses neuroblastoma cell growth and determines non-tumorigenic lineage differentiation. *Oncogene* 32: 4086-4099, 2013.
- 3) Chand D, Yamazaki Y, Ruuth K, Schönherr C, Martinsson T, Kogner P, Attiyeh EF, Maris J, Morozova O, Marra MA, Ohira M, Nakagawara A, SandströmPE, Palmer R, Hallberg B. Cell culture and Drosophila model systems define three classes of anaplastic lymphoma kinase mutations in neuroblastoma. *Dis Model Mech* 6: 373-382, 2013.
- 4) Sugimoto T, Gotoh T, Yagyu S, Kuroda H, Iehara

- T, Hosoi H, Ohta S, Ohira M, Nakagawara A. A MYCN-amplified cell line derived from a long-term event-free survivor among our sixteen established neuroblastoma cell lines. *Cancer Lett* 331: 115-21, 2013.
- 5) Iehara T, Hamazaki M, Tajiri T, Kawano Y, Kaneko M, Ikeda H, Hosoi H, Sugimoto T, Sawada T; Japanese Infantile Neuroblastoma Cooperative Study Group. Successful treatment of infants with localized neuroblastoma based on their MYCN status. *Int J Clin Oncol* 18: 389-95, 2013.
 - 6) Nozato M, Kaneko S, Nakagawara A, Komuro H. Epithelial-mesenchymal transition-related gene expression as a new prognostic marker for neuroblastoma. *Int J Oncol* 42: 134-140, 2013.
 - 7) Takagi D, Tatsumi Y, Yokochi T, Takatori A, Ohira M, Kamiyo T, Kondo S, Fujii Y, Nakagawara A. Shf, a novel adaptor protein, interacts with ALK receptor and negatively regulates its downstream signals in neuroblastoma. *Cancer Sci* 104: 563-572, 2013.
 - 8) Oshiro Y, Mizumoto M, Okumura T, Sugahara S, Fukushima T, Ishikawa H, Nakao T, Hashimoto T, Tsuboi K, Ohkawa H, Kaneko M, Sakurai H. Clinical results of proton beam therapy for advanced neuroblastoma. *Radiation Oncology* 8: 1422-149, 2013.
 - 9) Kojima M, Hiyama E, Fukuba I, Yamaoka E, Ueda Y, Onitake Y, Kurihara S, Sueda T. Detection of MYCN amplification using blood plasma: noninvasive therapy evaluation and prediction of prognosis in neuroblastoma. *Pediatr Surg Int* 29: 1139-1145, 2013.
 - 10) Asada K, Watanabe N, Nakamura Y, Ohira M, Westermann F, Schwab M, Nakagawara A, Ushijima T. Stronger Prognostic Power of the CpG Island Methylator Phenotype than Methylation of Individual Genes in Neuroblastomas. *Jpn J Clin Oncol* 43: 641-645, 2013.
 - 11) Li Y, Nakagawara A. Apoptotic cell death in neuroblastoma. *Cells* 2: 432-459, 2013.
 - 12) Zhu Y, Li Y, Haraguchi S, Yu M, Ohira M, Ozaki T, Ushijima T, Isogai E, Koseki H, Nakamura Y, Kong C, Mehlen P, Arakawa H, Nakagawara A. Dependence receptor UNC5D mediates nerve growth factor depletion-induced neuroblastoma regression. *J Clin Invest* 123: 2935-2947, 2013.
 - 13) Hasan MK, Nafady A, Takatori A, Kishida S, Ohira M, Suenaga Y, Hossain S, Akter J, Ogura A, Nakamura Y, Kadomatsu K, Nakagawara A. ALK is a MYCN target gene and regulates cell migration and invasion in neuroblastoma. *Sci rep* 3: 3450, 2013.
 - 14) Yu F, Gao W, Yokochi T, Suenaga Y, Ando K, Ohira M, Nakamura Y, Nakagawara A. RUNX3 interacts with MYCN and facilitates protein degradation in neuroblastoma. *Oncogene* 2013, in press.
 - 15) Yamazaki F, Nakazawa A, Osumi T, Shimajima N, Tanaka T, Nakagawara A, Shimada H. Two cases of neuroblastoma comprising two distinct clones. *Pediatr Blood Cancer* 61: 760-762, 2013.
 - 16) Suenaga Y, SM Rafiqul Islam, Alagu J, Kaneko Y, Kato M, Tanaka Y, Kawana H, Hossain S, Matsumoto D, Yamamoto M, Shoji W, Itami M, Shibata T, Nakamura Y, Ohira M, Haraguchi S, Takatori A, Nakagawara A. NCYM, a Cis-Antisense Gene of MYCN, Encodes a De Novo Evolved Protein that Inhibits GSK3b Resulting in the Stabilization of MYCN in Human Neuroblastomas. *PLOS Genet* 10: e1003996, 2014.
 - 17) Nakamura Y, Suganami A, Fukuda M, Hasan MK, Yokochi T, Takatori A, Satoh S, Hoshino T, Tamura Y, Nakagawara A. Identification of novel candidate compounds targeting TrkB to induce apoptosis in neuroblastoma. *Cancer Med* 2014, in press.
 - 18) Mosse YP, Deyell RJ, Berthold F, Nakagawara A, Ambros PF, Monclair T, Cohn SL, Pearson AD, London WB, Matthay KK. Neuroblastoma in older children, adolescents and young adults. A report from the International Neuroblastoma Risk Group Project. *Pediatr Blood Cancer* 2014, in press.
2. 学会発表
 - 1) 菱木知郎, 黒田達夫, 田尻達郎, 米田光宏, 常盤和明, 連利博, 杉藤公信, 伊勢一哉, 木下義晶, 上原秀一郎, 松本公一, 熊谷昌明, 副島俊則, 瀧本哲也, 高橋秀人, 上條岳彦, 原純一, 池田均, 中川原章, 日本神経芽腫研究グループ (JNBSG). 小児固形悪性腫瘍の外科治療高リスク神経芽腫の外科療法はどうあるべきか. 第55回日本小児血液・がん学会学術集会 2013年11月30日; 福岡.
 - 2) 中川原章, 日本神経芽腫スタディグループ (JNBSG). 日本神経芽腫スタディグループ (JNBSG)の現状と今後の戦略. 第55回日本小児血液・がん学会学術集会 2013年11月30日; 福岡.
 - 3) 家原知子. 神経芽腫の晩期合併症と長期フォローアップ 晩期合併症の軽減をめざした神経芽腫プロトコール作成. 第55回日本小児血液・がん学会学術集会 2013年11月30日; 福岡.
 - 4) Hishiki T, Kuroda T, Tajiri T, Yoneda A, Tokiwa K, Muraji T, Sugito K, Ise K,

Kinoshita Y, Uehara S, Matsumoto K, Kumagai M, Soejima T, Takimoto T, Takahashi H, Kamijo T, Makimoto A, Hara J, Ikeda H, Nakagawara A. REVIEW OF SURGICAL TREATMENT IN PATIENTS ENROLLED IN THE PHASE II STUDY NB-HR07 FOR ADVANCED NEUROBLASTOMA- A REPORT FROM JAPAN NEUROBLASTOMA STUDY GROUP (JNBSG). 45th Congress of the International Society of Paediatric Oncology Hong Kong, China, Sep 25-28, 2013.

- 5) Okita H, Nakazawa A, Tanaka Y, Hojo H, Okamatsu C, Takimoto T, Kamijo T, Fukushima T, Tajiri T, Ikeda H, Nakagawara A. COMPOSITE NEUROBLASTOMA WITH HISTOLOGICALLY AND BIOLOGICALLY DISTINCT COMPONENTS: A REPORT FROM JAPAN NEUROBLASTOMA STUDY GROUP (JNBSG). 45th Congress of the International Society of Paediatric Oncology Hong Kong, China, Sep 25-28, 2013.

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得
該当事項なし。
2. 実用新案登録
該当事項なし。
3. その他
該当事項なし。

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

小児がん拠点病院を活用した臨床研究基盤のあり方及び新規治療開発に関する研究
(H25-がん臨床-指定-002)

研究分担者 中川原 章 千葉県がんセンター 病院長

神経芽腫新規治療開発に関する研究

研究要旨 日本神経芽腫臨床研究グループ（JNBSG）の代表として、臨床研究およびその付随研究の推進及び開発を統括し、米国 COG や欧州 SIOPEN と連携し、その国際化を進めた。また、わが国の小児がん臨床試験グループを統一するために、日本小児がん臨床研究グループ（仮称；JCCG）の設立準備委員会の一員として、JNBSG の意見をまとめ、積極的に参加、協力すべく活動した。さらに、JNBSG の国際的基盤確立のため、特に神経芽腫国際ゲノムリスク分類を目指す国際神経芽腫リスクグループ（INRG）のコアメンバーとして貢献した。

A. 研究目的

わが国の小児がん治癒率が約 80% に達しているにも関わらず、神経芽腫は約半数が 4 期進行例であり、その予後は今だ悪い。2006 年に設立された日本神経芽腫臨床研究グループ（JNBSG）は次第にその基盤体制を確立してきたが、運用資金獲得が不安定なままとなっており、更に発展するための大きな障害となっていた。その状況は他の小児血液・がんグループにおいても同じであるため、2012 年 10 月に各臨床試験グループの代表者から構成される世話人会を立ち上げた。本年度は、これを本格的な統一臨床試験グループにするための活動を他のグループリーダーと共に行い、共同で外部資金を獲得するための体制の強化と共通基盤システムの構築を目指し、統一組織としての日本小児がん臨床研究グループ（仮称；JCCG）の設立準備委員会の設立を目指した。

さらに、将来の新規薬剤開発も視野に入れた JNBSG 検体センターとしての分子診断の継続と維持管理を目的とした。

B. 方法

会議等については該当せず。

検体の保存管理は、当センターの倫理審査委員会の承認に基づき、従来の方式で行い、分子診断として DNA ploidy 及び MYCN copy number の測定を FISH 法と PCR 法にて行った。

C. 活動実績

世話人会の代表としてわが国の小児血液・がん臨床試験グループのとりまとめを行い、それを基盤として日本小児がん臨床研究グループ（仮称；JCCG）設立準備委員会への移行に尽

力した。準備委員会設立後は、副会長の一員としてNPO法人化を担当し、作業を進めた。

また、米国COGや欧州SIOPENとの連携を強化したほか、国際的な神経芽腫リスク分類を確立する目的で結成された国際神経芽腫リスクグループ (INRG) の国際神経芽腫ゲノムリスクグループのコアメンバーとしてシカゴで開催された会議に参加して、今後のわが国の貢献のあり方について議論し、これまでに千葉県がんセンターに登録された神経芽腫症例を対象として、大規模追跡調査を行うこととした。

平成25年の神経芽腫登録検体数は138であり、これらについて DNA ploidy と MYCN copy number を検査し、on-line で各施設の主治医に結果を返送した。

D. 考察

わが国の既存の小児がん臨床試験グループが一つになり、JCCG という形に統一される基盤が見えて来たことは大きな前進であった。JNBSG もそれに積極的に参加し、会員の合意を得、全面的に協力することになったが、完全な統一にはまだ乗り越えなければならない諸問題があり、組織の改革が必要となる。神経芽腫検体センターも新たな国の方針に沿って、将来の形を検討する段階に来ている。

E. 結論

日本の小児がん臨床試験体制が統一される方向性が明らかになり、JNBSGもそれに協力する体制が固まった。欧米の臨床試験グループとの国際的な連携をさらに強化し、新薬開発のための基盤固めがより重要性を増して来た。

F. 健康被害管理

該当せず

G. 研究発表

1. Shum CK, Lau ST, Tsoi LL, Chan LK, Yam

- JW, Ohira M, Nakagawara A, Tam PK, Ngan ES. Krüppel-like factor 4 (KLF4) suppresses neuroblastoma cell growth and determines non-tumorigenic lineage differentiation. *Oncogene*. 32:4086-4099. 2013
2. Chand D, Yamazaki Y, Ruuth K, Schönherr C, Martinsson T, Kogner P, Attiyeh EF, Maris J, Morozova O, Marra MA, Ohira M, Nakagawara A, Sandström PE, Palmer R, Hallberg B. Cell culture and Drosophila model systems define three classes of anaplastic lymphoma kinase mutations in neuroblastoma. *Dis Model. Mech*. 6:373-382. 2013
3. Nozato M, Kaneko S, Nakagawara A, Komuro H. Epithelial-mesenchymal transition-related gene expression as a new prognostic marker for neuroblastoma. *Int. J. Oncol*. 42:134-140. 2013
4. Wu D, Ozaki T, Yoshihara Y, Kubo N, Nakagawara A. Runt-related Transcription Factor 1 (RUNX1) Stimulates Tumor Suppressor p53 in Response to DNA Damage Through Complex Formation and Acetylation. *J. Biol. Chem*. 288:1353-1364. 2013
5. Kubo N, Wu D, Yoshihara Y, Sang M, Nakagawara A, Ozaki T. Co-chaperon DnaJC7/TPR2 enhances p53 stability and activity through blocking the complex formation between p53 and MDM2. *Biochem Biophys Res. Commun*. 430: 1034-1039. 2013
6. Sugimoto T, Gotoh T, Yagyū S, Kuroda H, Iehara T, Hosoi H, Ohta S, Ohira M, Nakagawara A. A MYCN-amplified cell line derived from a long-term event-free survivor among our sixteen established neuroblastoma cell lines. *Cancer Lett*. 331:115-121. 2013
7. Takagi D, Tatsumi Y, Yokochi T, Takatori A, Ohira M, Kamijo T, Kondo S, Fujii Y, Nakagawara A. Shf, a novel adaptor protein, interacts with ALK receptor and negatively regulates its downstream signals in neuroblastoma. *Cancer Sci*. 104:563-572. 2013
8. Yamaki T, Suenaga Y, Iuchi T, Alagu J, Takatori A, Itami M, Araki A, Ohira M, Inoue M, Kageyama H, Yokoi S, Saeki N, Nakagawara A. Temozolomide suppresses MYC via activation of TAp63 to inhibit

- progression of human glioblastoma. *Sci. Rep.* 2013;3:1160. 2013
9. Ozaki T, Wu D, Sugimoto H, Nagase H, Nakagawara A. Runt-related transcription factor 2 (RUNX2) inhibits p53-dependent apoptosis through the collaboration with HDAC6 in response to DNA damage. *Cell Death Dis.* 4:e610. 2013
 10. Asada K, Watanabe N, Nakamura Y, Ohira M, Westermann F, Schwab M, Nakagawara A, Ushijima T. Stronger Prognostic Power of the CpG Island Methylator Phenotype than Methylation of Individual Genes in Neuroblastomas. *Jpn. J. Clin. Oncol.* 43:641-645. 2013
 11. Li Y, Nakagawara A. Apoptotic cell death in neuroblastoma. *Cells* 2:432-459. 2013
 12. Zhu Y, Li Y, Haraguchi S, Yu M, Ohira M, Ozaki T, Nakagawa A, Ushijima T, Isogai E, Koseki H, Nakamura Y, Kong C, Mehlen P, Arakawa H, Nakagawara A. Dependence receptor UNC5D mediates nerve growth factor depletion-induced neuroblastoma regression. *J. Clin. Invest.* 123:2935-2947. 2013
 13. Yu F, Gao W, Yokochi T, Suenaga Y, Ando K, Ohira M, Nakamura Y, Nakagawara A. RUNX3 interacts with MYCN and facilitates protein degradation in neuroblastoma. *Oncogene* 2013 Jul 15. doi: 10.1038/onc.2013.221. [Epub ahead of print]
 14. Itakura M, Terashima Y, Shingyoji M, Yokoi S, Ohira M, Kageyama H, Matui Y, Yoshida Y, Ashinuma H, Moriya Y, Tamura H, Harigaya K, Matsushima K, Iizasa T, Nakagawara A, Kimura H. High CC chemokine receptor 7 expression improves postoperative prognosis of lung adenocarcinoma patients. *Br. J. Cancer.* 109:1100-1108. 2013
 15. Ozaki T, Nakagawara A, Nagase H. RUNX Family Participates in the Regulation of p53-Dependent DNA Damage Response. *Int J Genomics.* 2013;2013:271347. Epub 2013 Review.
 16. Yamazaki F, Nakazawa A, Osumi T, Shimojima N, Tanaka T, Nakagawara A, Shimada H. Two cases of neuroblastoma comprising two distinct clones. *Pediatr Blood Cancer.* 61:760-762. 2014
 17. Ando K, Ozaki T, Hirota T, Nakagawara A. NFBD1/MDC1 Is Phosphorylated by PLK1 and Controls G2/M Transition through the Regulation of a TOPOII α -Mediated Decatenation Checkpoint. *PLoS PLoS One.* 8:e82744. 2013
 18. Hasan MK, Nafady A, Takatori A, Kishida S, Ohira M, Suenaga Y, Hossain S, Akter J, Ogura A, Nakamura Y, Kadomatsu K, Nakagawara A. ALK is a MYCN target gene and regulates cell migration and invasion in neuroblastoma. *Sci. Rep.* 2013 3:3450. doi: 10.1038/srep03450. (Accepted)
 19. Suenaga Y, S. M. Rafiqul Islam, Jennifer Alagu, Kaneko Y, Kato M, Tanaka Y, Kawana H, Hossain S, Matsumoto D, Yamamoto M, Shoji W, Itami M, Shibata T, Nakamura Y, Ohira M, Haraguchi S, Takatori A, Nakagawara A. NCYM, a Cis-Antisense Gene of MYCN, Encodes a De Novo Evolved Protein that Inhibits GSK3b Resulting in the Stabilization of MYCN in Human Neuroblastomas. *PLoS Genet.* 10:e1003996. 2014.
 20. Nakamura Y, Suganami A, Fukuda M, Md. Kamrul Hasan, Yokochi T, Takatori A, Satoh S, Hoshino T, Tamura Y, Nakagawara A, Identification of novel candidate compounds targeting TrkB to induce apoptosis in neuroblastoma. *Cancer Medicine.* doi: 10.1002/cam4.175. [Epub ahead of print] 2014
 21. Mosse YP, Deyell RJ, Berthold F, Nakagawara A, Ambros PF, Monclair T, Cohn SL, Pearson AD, London WB, Matthay KK. Neuroblastoma in older children, adolescents and young adults. A report from the International Neuroblastoma Risk Group Project. *Pediatr. Blood Cancer* (Accepted) 2014
 22. Yamaguchi Y, Takenobu H, Ohira M, Nakazawa A, Yoshida S, Akita N, Shimozato O, Iwama A, Nakagawara A, Kamijo T. Novel 1p tumor suppressor DMAP1 regulates MYCN/ATM/p53 pathway. *Eu. J. Cancer* (Accepted) 2014
- H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）
なし

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

小児がん拠点病院を活用した臨床研究基盤のあり方及び新規治療開発に関する研究
(H25-がん臨床-指定-002)

分担研究者 瀧本哲也 国立成育医療研究センター研究所社会・臨床研究センター
開発薬事・プロジェクト管理部データ管理室長
研究協力者 三野 素子 国立成育医療研究センターデータ管理室データマネージャー
岡本 彩子 国立成育医療研究センターデータ管理室データマネージャー

神経芽腫新規治療開発に関する研究

—臨床試験（研究）のデータマネジメント—

研究要旨

国立成育医療研究センター臨床研究推進室は、日本神経芽腫研究グループ（JNBSG）の活動を、臨床試験や観察研究のデータ管理面から支援する活動を行っている。平成26年2月13日の時点で臨床試験の登録症例数は、低リスク研究60例、中間リスク研究22例、高リスク研究49例である。このうち低リスク臨床試験については予定登録数に到達したため、平成25年12月をもって登録を終了した。また、臨床試験に参加しない症例の観察研究累積登録症例数も、神経芽腫のみを対象とするJNBSG不参加症例研究91例、全ての小児固形腫瘍を対象とする小児固形腫瘍観察研究296例となった。さらに本年は、神経芽腫の新しい国際的なリスク分類システム（INRG-II）構築のためのデータベース更新への協力も開始した。

A. 研究目的

日本神経芽腫研究グループ（JNBSG）は、神経芽腫の予後向上を目的とした研究活動を行っている全国組織である。国立成育医療研究センターではJNBSGのデータセンターとして、平成20年以降JNBSG参加施設からの神経芽腫症例のグループ登録（JNBSG登録）および臨床試験（研究）のデータ管理に関する業務を行っている。また、臨床試験に参加しない神経芽腫症例についても、観察研究の対象として登録を行

っている。本分担研究では、これまでに続いてJNBSGが実施する臨床試験や観察研究等の支援を行うことを主な目的とする。

B. 研究方法

JNBSGが実施する低・中間・高リスク群神経芽腫に対する臨床試験や観察研究のデータ管理を当センターの通常の手順に従って実施する。また、千葉県がんセンターと連携して、INRGがJNBSGと共同で実施する国際的な神経芽腫データベースのた

めの情報収集を質問紙形式で行う。

(倫理面への配慮)

臨床試験や観察研究への症例登録にあたっては、研究実施計画書の施設 IRB/倫理委員会での承認、および登録患者/代諾者の同意の確認を徹底する。臨床データは外部のネットワークに接続しないコンピュータとデータベースサーバーからなるイントラネットで管理する。

この他の面についても、「臨床研究に関する倫理指針」、「疫学研究に関する倫理指針」および国立成育医療研究センターの個人情報取り扱いの規定をみたした形での情報管理を実施した。

C. 研究結果

1. JNBSG 臨床試験 (研究) の支援

JNBSG が実施する初発神経芽腫を対象とした 3 つの臨床試験 (研究)、すなわち「IDRF (Image Defined Risk Factors) に基づき手術時期の決定を行う神経芽腫低リスク群の観察研究」(低リスク研究; 研究代表者 田尻達郎)、「IDRF (Image Defined Risk Factors) に基づく手術適応時期の決定と、段階的に強度を高める化学療法による、神経芽腫中間リスク群に対する第 II 相臨床試験」(中間リスク研究; 研究代表者 家原知子)、「高リスク神経芽腫に対する遅延局所療法第 II 相臨床試験」(高リスク研究; 研究代表者 麦島秀雄) について、症例登録およびデータ管理を実施した。平成 26 年 2 月 13 日の時点で、低リスク研究は研究実施計画書の倫理委員会承認施設数 77、登録 60 例、中間リスク研究は倫理委員会承認施設数 76、登録 22

例、高リスク研究は倫理委員会承認施設数 52、登録 49 例である。低リスク臨床試験については予定登録数に到達したため、平成 25 年 12 月をもって登録を終了した。Case Report Form (CRF) の回収状況は良好である。研究の詳細な内容については別項で述べられるためここではふれない。

2. JNBSG 臨床試験不参加の症例について

JNBSG 参加施設から登録される、臨床試験に参加しない神経芽腫症例を対象とした症例登録には、平成 21 年 6 月から JNBSG が単独で実施している JNBSG 不参加症例研究と、JNBSG を含む小児固形がん臨床試験共同機構が日本病理学会と共同で平成 23 年 4 月からすべての小児固形腫瘍を対象として実施している小児固形腫瘍観察研究があり、現在では後者が主体となっている。JNBSG 不参加症例研究については、平成 25 年 12 月 31 日時点で研究実施計画書の施設倫理委員会承認施設数は 80 (昨年より 1 施設増加)、累積登録症例数は 91 例 (昨年より 20 例増加)、小児固形腫瘍観察研究は倫理委員会承認施設 83 (昨年より 11 増加)、神経芽腫の一次登録例数は 296 例 (昨年より 129 例増加) であった。小児固形腫瘍観察研究では一次登録を行って匿名化し、病理や分子生物学的中央診断を行った後、臨床試験か観察研究のどちらかに二次登録される。一次登録例 296 例のうち、臨床試験には 125 例、観察研究には 84 例が登録されている。さらに JNBSG 以外の施設や診断違いの例などを除くと、JNBSG 施設から二次登録のなかった例は 39 例 (13.2%) であり、昨年の 16.2% より減少していたが一層の登録率上昇が望まれる。

3. INRG-based 神経芽腫フォローアップ

国際神経芽腫リスク分類 (INRG) の次期リスク分類システム (INRG-II) 構築のために実施されている国際的な神経芽腫フォローアップデータベースの更新に協力するため、JNBSG としてデータセンターと千葉県がんセンターが協力し、1995 年以降に中央診断のために登録された 2104 例について、年齢、性別、病理組織像、Stage、病変部位、MYCN 増幅、DNA ploidy、11q 欠失、1p 欠失の有無、予後、二次がんなどの晩期合併症を含む 52 項目について調査票を作成し、全国の JNBSG 参加 88 施設に配布して調査を開始した。平成 26 年 2 月末の回収を目指している。

以上の活動については、平成 26 年 1 月の JNBSG 運営委員会・総会で報告した。

D. 考察

本分担研究の目的は、JNBSG の活動を、臨床試験や観察研究の研究計画書作成やデータ管理等の面から支援することによって本邦の神経芽腫の多施設共同臨床研究に貢献することである。平成 18 年 5 月に発足した JNBSG の活動は 8 年目に入り、発足以来の JNBSG 登録症例の累積登録数は約 600 例に及んでいる。平成 22 年から開始された低・中間・高リスク群に対する臨床試験の支援についても、登録ペースがやや低かったものの、低リスク群では予定登録数に達して終了する段階に達した。臨床試験不参加の症例を観察研究で把握する体制の構築も順調に進んでいると考えられる。

以上のような活動は、本邦における神経芽腫の治療成績の向上だけでなく、臨床試

験参加例と不参加例の治療成績を比較することによる臨床試験の結果の解釈にも有用と考えられる。本年度はさらに、神経芽腫の新しい国際的なリスク分類システム (INRG-II) 構築のためのデータベース更新への協力も開始した。これは INRG データベースの追跡項目に合致した症例データベースの整備による本邦の神経芽腫の実態把握に役立つとともに、世界へ本グループの活動をアピールする基盤づくりとなると考えられる。

E. 結論

本研究を通じて実施している JNBSG の研究活動支援は、臨床試験のデータ管理および臨床試験不参加例の登録をふくめ、順調に進行している。本年度はさらに、神経芽腫の新しい国際的なリスク分類システム構築のためのデータベース更新への協力も開始した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

該当なし。

2. 学会発表等

- ・瀧本 哲也：データセンター報告と検討事項。JNBSG運営委員会。平成25年5月11日 東京。
- ・瀧本 哲也：データセンター報告と検討事項。JNBSG運営委員会。平成25年9月21日 京都。
- ・瀧本 哲也：データセンター報告。JNBSG総会。平成26年1月24日 東京。

- | | | |
|------------------------------|--------|---------|
| H. 知的所有権の出願・登録状況
（予定を含む。） | | 該当事項なし。 |
| 1. 特許取得 | | なし |
| 該当事項なし。 | | |
| 2. 実用新案登録 | | |
| | 3. その他 | 該当事項なし。 |

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

小児がん拠点病院を活用した臨床研究基盤のあり方及び新規治療開発に関する研究
(H25-がん臨床-指定-002)

研究分担者 大喜多 肇 国立成育医療研究センター 室長

神経芽腫新規治療開発に関する研究

—神経芽腫の特性解析と病理組織診断に関する研究—

研究要旨

日本神経芽腫研究グループ（JNBSG）の臨床研究（高リスク、中間リスク、低リスク）における病理診断を INPC 分類に基づいて行い、効果的な臨床研究の実施に貢献した。神経芽腫では、同一腫瘍内に異なる性質を持つ成分が、別個、あるいは混合して存在することがあり、診断上の問題となることがある。腫瘍内に異なる成分が存在する場合、分子遺伝学的解析を病理切片を用いて行う必要があるため、病理切片を用いた分子遺伝学的解析のより効率的な方法を検討した。

A. 研究目的

神経芽腫群腫瘍は小児の副腎に好発する腫瘍で、国際病理分類である INPC 分類(International Neuroblastoma Pathology Classification)に従うと Schwann 性間質の量や Neuroblastic foci の有無により Neuroblastoma, Ganglioneuroblastoma, intermixed, Ganglioneuroma に分類される。生物学的に予後良好な腫瘍から予後不良な腫瘍まで存在するが、ときに予後良好な Ganglioneuroma あるいは Ganglioneuroblastoma, intermixed 内に、neuroblastoma の成分が存在することもある (Ganglioneuroblastoma, nodular)。神経芽腫のリスク分類は、年齢、病期、MYCN 増幅等でなされるが、INPC による予後グループも重要な因子である。本研究では、JNBSG の高リスク、中間リスク、低リスクの臨床研究の中で病理診断を実施し、腫瘍の層別化に資するとともに、病理組織検体、特にパラフィン切片を用いた分子遺伝学的解析の効率化を目的とした。

B. 方法

神経芽腫を対象とする 3 つの臨床研究、「高リスク神経芽腫に対する遅延局所療法第 II 相臨床試

験」、低リスク神経芽腫に対する「IDRF (Image Defined Risk Factors) に基づき手術時期の決定を行う神経芽腫低リスク群の観察研究」、中間リスク神経芽腫に対する「IDRF (Image Defined Risk Factors) に基づく手術適応時期の決定と、段階的に強度を高める化学療法による、神経芽腫中間リスク群に対する第 II 相臨床試験」において病理診断を行った。病理診断は 2 人以上の病理医のコンセンサスとし、神経芽腫群腫瘍の国際病理分類である INPC 分類に則って行った。

ホルマリン固定パラフィン切片を用いた蛍光 in situ hybridization 法 (FISH 法) は、捺印標本を用いた FISH よりも難しく、時に十分な感度を得られないことがある。前処置や、バッファーの組成を検討し、その妥当性を自作プローブで検証した。特に、近年、炭酸 エチレンを含有するバッファーが良好という報告があり、その検証を行った。(倫理面の配慮)

JNBSG における臨床研究の実施にあたっては、ヘルシンキ宣言やわが国における各種倫理指針を遵守し、倫理委員会の承認を得るとともに、検体提供者、すべての患者に対し十分な説明を行い、理解に基づく自発的同意を本人または代諾者より