

厚生労働科学研究費委託費（革新的がん医療実用化研究事業）
分担研究報告書

神経芽腫におけるgenetic landscapeに関する研究

研究分担者 滝田 順子 東京大学大学院医学系研究科小児科准教授

研究要旨

神経芽腫における分子病態の全体像を把握するために、大規模検体において、genetic landscapeの作成を試みた。その結果、MYCN、ALK および 1p LOH、11q LOH は協調して予後不良に関連している可能性が示された。

A．研究目的

神経芽腫における遺伝子変異とゲノム異常の相互関連を明らかにし、分子病態の全体像を把握するために、日本神経芽腫研究グループの登録症例を含む442例の大規模検体において、既知の神経芽腫関連遺伝子のtarget sequencingおよびゲノムコピー数の網羅的解析を行い、genetic landscapeの作成を試みる。

B．研究方法

まず次世代シーケンサーを用いて、Deep sequencingを行ったが、ターゲット遺伝子として、ALK、ATRX、RAS関連遺伝子PHOX2B、ARID1A/Bの計10個を抽出した。次に、SNPアレイを用いて、網羅的ゲノムコピー数の解を行った。データ解析にはCNAG/AsCNARを用いた。
(倫理面への配慮)

本研究で行った臨床検体を用いた実験は、東京大学の倫理審査委員会で審査され、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針（2003年3月）」を遵守することを条件に承認された。検体提供者への人権擁護、個人情報保護に細心の注意を払って本研究を実施した。

C．研究結果

366人では何らかのゲノム異常が検出され、このうち91例においては、いずれかの遺伝子変異が認められた。最も頻度の高い遺伝子変異はALK変異であり、約9%であった。ゲノム異常により6つのサブグループ(A:ALK+MYCN、B:Other mutation、C:MYCN+1p LOH、D:11q LOH、E:Hyperploidy、F:silent)が検出された。グループA、C、Dにはstage 4が有意に多く、またグループDは年長児が、グループEには年少児が多く含まれた。

D．考察

MYCN、ALKおよび1pLOH、11q LOHは協調して予後不良に関連している可能性が示され、他の遺伝子異常は予後や腫瘍の進展に影響しないことが判明した。

E．結論

大規模検体によるgenetic landscapeの作成は、分子病態を理解する上で有用であった。

F．健康危険情報

なし

G．研究発表

1. 論文発表

1) Hoshino A, Nomura K, Hamashima T, Isobe T, Seki M, Hiwatari M, Yoshida K, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Ogawa S, Takita J, Kanegane H. Aggressive transformation of anaplastic large cell lymphoma with increased number of ALK-translocated chromosomes. *Int J Hematol.* 101:198-202,2015

2) Kato M, Hasegawa D, Koh K, Kato K, Takita J, Inagaki J, Yabe H, Goto H, Adachi S, Hayakawa A, Takeshita Y, Sawada A, Atsuta Y, Kato K. Allogeneic haematopoietic stem cell transplantation for infant acute lymphoblastic leukaemia with KMT2A (MLL) rearrangements: a retrospective study from the paediatric acute lymphoblastic leukaemia working group of the Japan Society for Haematopoietic Cell Transplantation. *Br J Haematol.* 168:564-70, 2015

3) Koh K, Tomizawa D, Moriya Saito A, Watanabe T, Miyamura T, Hirayama M, Takahashi Y, Ogawa A, Kato K, Sugita K, Sato T, Deguchi T, Hayashi Y, Takita J, Takeshita Y, Tsurusawa M, Horibe K, Mizutani S, Ishii E. Early use of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for infants with MLL gene-rearrangement-positive acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia.* 29:290-6, 2015

4) Yasudo H, Ando T, Takeuchi M, Nakano H, Itonaga T, Takehara H, Isojima T, Miura K, Harita Y, Takita

- a J, Oka A. Systemic lupus erythematosus complicated with liver cirrhosis in a patient with Papillon-Lefèvre syndrome. *Lupus*. 23:1523-7, 2014
- 5) Shiozawa Y, Takita J, Kato M, Sotomatsu M, Koh K, Ida K, Hayashi Y. Prognostic significance of leukopenia in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Oncol Lett*. 7:1169-1174, 2014
- 6) Hangai M, Watanabe K, Shiozawa R, Hiwatari M, Ida K, Takita J. Relapsed Acute Lymphoblastic Leukemia with Unusual Multiple Bone Invasions: A case report. *Oncol Lett*. 7:991-993, 2014
- 7) Tomiyama A, Uekita T, Kamata R, Sasaki K, Takita J, Ohira M, Nakagawara A, Kitanaka C, Mori K, Yamaguchi H, Sakai R. Flotillin-1 regulates oncogenic signaling in neuroblastoma cells by regulating ALK membrane association. *Cancer Res*. 15:74:3790-801, 2014
- 8) Seki M, Yoshida K, Shiraishi Y, Shimamura T, Sato Y, Nishimura R, Okuno Y, Chiba K, Tanaka H, Kato K, Kato M, Hanada R, Nomura Y, Park MJ, Ishida T, Oka A, Igarashi T, Miyano S, Hayashi Y, Ogawa S, Takita J. Biallelic DICER1 mutations in sporadic pleuropulmonary blastoma. *Cancer Res*. 74:2742-9, 2014
- 9) Fujishiro J, Sugiyama M, Ishimaru T, Uotani C, Tsuchida S, Takahashi N, Shiozawa R, Takita J, Iwanaka T. Cyclic fluctuation of blood pressure in neonatal neuroblastoma. *Pediatr Int*. 56:934-7, 2014
- 10) Kawashima-Goto S, Imamura T, Seki M, Kato M, Yoshida K, Sugimoto A, Kaneda D, Fujiki A, Miyachi M, Nakatani T, Osone S, Ishida H, Taki T, Takita J, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Ogawa S, Hosoi H. Identification of a homozygous JAK3 V674A mutation caused by acquired uniparental disomy in a relapsed early T-cell precursor ALL patient. *Int J Hematol*. 2014 Nov 28. [Epub ahead of print]
- 11) Takita J, Chen Y, Kato M, Ohki K, Sato Y, Ohta S, Sugita K, Nishimura R, Hoshino N, Seki M, Sanada M, Oka A, Hayashi Y, Ogawa S. Genome-wide approach to identify second gene targets for malignant rhabdoid tumors using high-density oligonucleotide microarrays. *Cancer Sci*. 105:258-64, 2014
- 12) Sekine T, Komoda F, Miura K, Takita J, Shimadzu M, Matsuyama T, Ashida A, Igarashi T. Japanese Dent disease has a wider clinical spectrum than Dent disease in Europe/USA: genetic and clinical studies of 86 unrelated patients with low-molecular-weight proteinuria. *Nephrol Dial Transplant*. 29:376-84, 2014
- 13) Kato M, Shiozawa R, Koh K, Nagatoshi Y, Takita J, Ida K, Kikuchi A, Hanada R. The effect of the order of total body irradiation and chemotherapy on graft-versus-host disease. *J Pediatr Hematol Oncol*. 36:e9-12, 2014
- 14) Taketani T, Takita J, Ueyama J, Kanai R, Kumori K, Maruyama R, Hayashi K, Ogawa S, Fukuda S, Yamaguchi S. Ectopic Neuroblastoma in Monozygotic Twins With Different Ages of Onset: Possible Twin-to-Twin Metastasis In Utero With Distinct Genetic Alterations After Birth. *J Pediatr Hematol Oncol*. 36:166-8, 2014
- 15) 滝田 順子:【ビジュアル小児外科疾患のフォローアップ・プログラム・手術直後から遠隔期の問題点まで】神経芽腫(解説/特集).小児外科(0385-6313)46巻11号 Page1159-63(2014.11)
- 16) 滝田 順子:小児の臨床検査 小児の遺伝子・染色体検査(解説). 検査と技術(0301-2611)43 巻 1 号 Page58-62(2015.01)
- 17) 渡邊 健太郎, 加藤 元博, 田中 淳, 中井 まりえ, 関 正史, 林 泰佑, 塩澤 亮輔, 樋渡 光輝, 吉田 健一, 小川 誠司, 松坂 恵介, 深山 正久, 滝田 順子, 岡明. 高用量シクロフォスファミドによるHLA一致同胞間骨髓幹細胞移植後に致死的心毒性をきたした一例(原著論文/症例報告) 日本造血細胞移植学会雑誌3巻4号 Page120-3(2014.10)
- 18) 滝田 順子:次世代シーケンサーによる小児血液、腫瘍疾患における研究の進展 小児固形腫瘍における治療標的の探索(解説) 日本小児血液・がん学会雑誌(2187-011X)51 巻 3 号 Page278-84(2014.09)
- 19) 滝田 順子. 【小児の治療指針】血液・腫瘍 悪性リンパ腫(解説/特集). 小児科診療(0386-9806)77巻増刊 Page486-8(2014.04)

20) 滝田 順子: 【急性リンパ性白血病(ALL)】 小児 ALL の予後因子と治療(解説/特集) 血液内科 (2185-582X)68 巻 2号 Page203-9(2014.02)

21) 滝田 順子: 急性リンパ性白血病に対するゲノム解析の成果 . 血液内科 . 69:713-9, 2014

22) 滝田 順子 : 急性リンパ性白血病 (ALL). 血液フロンティア 24:55-63, 2014

23) 滝田 順子: 神経芽腫の次世代シーケンサーによる解析 . 小児外科 47:145-9, 2015

2. 学会発表

(海外)

1) Seki M, Kato M, Oyama R, Yoshida K, Sato Y, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Arakawa Y, Kishimoto H, Miyano S, Oka A, Hanada R, Ogawa S, Koh K, Takita J. Genome-wide analysis of T cell acute lymphoblastic leukemia with subsequent development of Langerhans cell histiocytosis. International Society of Paediatric Oncol. (9th Biennial Childhood Leuk Sympo), April 28-29, 2014

2) Seki M, Yoshida K, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Kato M, Hiwatari M, Sanada M, Hanada R, Miyano S, Oka A, Hayashi Y, Ogawa S, Takita J. Genetic Landscapes of Childhood T-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia. Pediatric Academic Societies and Aisan Society for Pediatric Research (2014), May 3-6, 2014

3) Hiwatari M, Seki M, Kato M, Yoshida K, Ogawa S, Takita J. Analysis for Neuroblastoma Tumors to Reveal Novel Target Using Next-Generation RNA Sequencing , Advances in Neuroblastoma Research (2014), May 13-16, 2014

4) Isobe T, Seki M, Yoshida K, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Sato Y, Kato M, Hama A, Tanaka Y, Miyano S, Hayashi Y, Ogawa S, Oka A, Takita J. Genome-wide approach to identify gene targets of pancreaticoblastoma. 46th Congress of the International Society of Paediatric Oncol. October 22-25, 2014

5) Hoshino N, Seki M, Yoshida K, Kato M, Nishimura R, Miyano S, Hayashi Y, Oka A, Iwanaka T, Ogawa S, Takita J. Integrated analyses of epigenetic regulatory genes in neuroblastoma. 46th Congress of the International Society of Paediatric Oncology, October 22-25, 2014

6) Seki M, Shimamura T, Yoshida K, Sato Y, Nishimura R, Kato M, Nagae G, Oka A, Miyano S, Aburatani H, Hayashi Y, Ogawa S, Takita J. Genome-wide epigenetic and copy number analyses in rhabdomyosarcoma. 46th Congress of the International Society of Paediatric Oncology, October 22-25, 2014

7) Kato M, Hasegawa D, Koh K, Inagaki J, Kato K, Goto H, Takita J, Yabe H, Sawada A, Atsuta Y, Kato K. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for infants with acute lymphoblastic leukemia: A retrospective study from the pediatric all working group of the JSHCT. 46th Congress of the International Society of Paediatric Oncology, October 22-25, 2014

8) Soejima T, Sato I, Takita J, Koh K, Maeda M, Ida K, Kamibeppu K. The influences of school reentry support on relationships that adolescents with cancer share with peers and teachers. 46th Congress of the International Society of Paediatric Oncology, October 22-25, 2014

(国内)

(国内)

1) 眞下秀明, 塩澤亮輔, 渡邊健太郎, 加藤元博, 樋渡光輝, 藤代準, 滝田順子, 岩中督. APC遺伝子異常を有する肝芽腫再発の1例. 関東甲信越地区小児がん登録研究会, 2014年3月21日, 東京

2) 関正史, 西村力, 吉田健一, 加藤元博, 樋渡光輝, 宮野悟, 林泰秀, 小川誠司, 滝田順子, 岡 明 .RNAシーケンス解析による横紋筋肉腫における新規転座の検索 . 第117回日本小児科学会 , 平成26年4月11日 ~ 13日

3) 西村力, 吉田健一, 白石友一, 関正史, 眞田昌, 岡 明, 林泰秀, 宮野悟, 小川誠司, 滝田順子 . 次世代シーケンサーを用いた横紋筋肉腫の遺伝子変異全体図 . 第117回日本小児科学会 , 平成26年4月11日 ~ 13日

4) 星野論子, 西村力, 関正史, 加藤元博, 吉田健一, 宮野悟, 林泰秀, 小川誠司, 岡 明, 滝田順子 . 全エクソーム解析を用

いた肝芽腫における網羅的ゲノム解析．第117回日本小児科学会，平成26年4月11日～13日

5) 吉田美沙，関正史，星野論子，樋渡光輝，加藤元博，吉田健一，小川誠司，林泰秀，滝田順子，岡明．次世代シーケンサーを用いた神経芽腫における11q領域の責任遺伝子探索．第117回日本小児科学会，平成26年4月11日～13日

6) 瓜生久美子，関正史，加藤元博，星野論子，樋渡光輝，中川原章，林泰秀，小川誠司，滝田順子，岡明．神経芽腫120検体におけるゲノム異常と予後解析．第117回日本小児科学会，平成26年4月11日～13日

7) 塩澤亮輔，渡邊健太郎，樋渡光輝，加藤元博，滝田順子，岡明．当院でのテイクプラニン標準投与における血中濃度解析．第117回日本小児科学会，平成26年4月11日～13日

8) 樋渡光輝，渡邊健太郎，塩澤亮輔，加藤元博，滝田順子，岡明．再発を繰り返すランゲルハンス組織球症の1例．第117回日本小児科学会，平成26年4月11日～13日

9) 塩澤亮輔，関正史，星野論子，吉田健一，吉田美沙，瓜生久美子，加藤元博，小川誠司，滝田順子，岡明．次世代シーケンサーによる小児胚細胞腫瘍の変異解析．第73回日本癌学会学術総会，平成26年9月25日～27日

10) 瓜生久美子，西村力，吉田健一，関正史，星野論子，吉田美沙，加藤元博，樋渡光輝，林泰秀，田尻達郎，中川原章，小川誠司，滝田順子．神経芽腫大規模検体におけるgenetic landscapeと予後解析．第73回日本癌学会学術総会，平成26年9月25日～27日

11) 吉田美沙，関正史，加藤元博，瓜生久美子，星野論子，西村力，樋渡光輝，吉田健一，岡明，小川誠司，林泰秀，滝田順子．神経芽腫における11q領域に関連した責任遺伝子探索．第73回日本癌学会学術総会，平成26年9月25日～27日

12) 星野論子，関正史，吉田健一，加藤元博，白石友一，佐藤悠佑，千葉健一，宮野悟，林泰秀，岩中督，岡明，小川誠司，滝田順子．エクソーム解析とトランスクリプトーム解析を用いた肝芽腫における統合解析．第73回日本癌学会学術総会，平成26年9月25日～27日

13) 富山新太，上北尚正，山口英樹，上野英明，滝田順子，佐々木一樹，中川原章，森健太郎，堺隆一．新規ALK結合蛋白質であるFlotillin-1は、ALKの細胞膜結合の調整節を介してALKシグナルを制御する．第73回日本癌学会学術総会，

平成26年9月25日～27日

14) 関正史，吉田健一，白石友一，佐藤悠佑，島村徹平，千葉健一，田中洋子，花田良二，岡明，宮野悟，林泰秀，小川誠司，滝田順子．胸膜肺芽腫におけるDICER1 RNase III Bドメイン変異のmiRNA産生への影響．第73回日本癌学会学術総会，平成26年9月25日～27日

15) Hiwatari M, Seki M, Shiozawa R, Kato M, Yoshida K, Ogawa S, Takita J. Transcriptome profiling of neuroblastoma by RNA-Seq. 第56回日本小児血液・がん学会学術集会，平成26年11月28日～30日

16) Hoshino N, Seki M, Yoshida K, Kato M, Sato Y, Kasahara M, Nakazawa A, Miyano S, Hayashi Y, Oka A, Iwanaka T, Takita J. Integrated analysis of clonal evolution in hepatoblastoma with familial adenomatous polyposis. 第56回日本小児血液・がん学会学術集会，平成26年11月28日～30日

17) Shiozawa R, Seki M, Hoshino N, Yoshida K, Yoshida M, Uryu K, Hiwatari M, Kato M, Ogawa S, Oka A, Takita J. Landscape of genomic alteration of pediatric germ cell tumors. 第56回日本小児血液・がん学会学術集会，平成26年11月28日～30日

18) Seki M, Nishimura R, Yoshida K, Shimamura T, Shiraiishi Y, Sato Y, Hoshino N, Nagae G, Okuno Y, Hosoi H, Tanaka Y, Okita H, Taguchi T, Hanada R, Oka A, Miyano S, Aburatani H, Hayashi Y, Ogawa S, Takita J. Integrated genetic and epigenetic analysis defines novel molecular clusters in rhabdomyosarcoma. 第56回日本小児血液・がん学会学術集会，平成26年11月28日～30日

19) Hoshino N, Seki M, Yoshida K, Kato M, Nishimura R, Sato Y, Miyano S, Nagae G, Hayashi Y, Oka A, Aburatani H, Iwanaka T, Ogawa S, Takita J. The role of epigenetic dysregulation in neuroblastoma. 第56回日本小児血液・がん学会学術集会，平成26年11月28日～30日

20) 渡邊健太郎，加藤元博，張田豊，関口昌央，塩澤亮輔，樋渡光輝，滝田順子，岡明．中心静脈カテーテル関連血流感染（CRBSI）の予防に対する試みとその効果．第56回日本小児血液・がん学会学術集会，平成26年11月28日～30日

21) 磯部知弥，関正史，吉田健一，白石友一，千葉健一，田中洋子，佐藤悠佑，加藤元博，井口晶裕，濱麻人，田中祐吉，

宮野悟, 小川誠司, 岡 明, 滝田順子. 再発膝芽腫のマルチサンプリングによる腫瘍内不均一およびクローン進化の考察.

第56回日本小児血液・がん学会学術集会, 平成26年11月28日~30日

22) 関口昌央, 加藤元博, 渡邊健太郎, 塩澤亮輔, 樋渡光輝, 林泰佑, 平田陽一郎, 滝田順子, 岡 明. 重篤な慢性心不全を合併した21トリソミー児のAMKLに対する緩和的化学療法. 第56回日本小児血液・がん学会学術集会, 平成26年11月28日~30日

23) 瓜生久美子, 西村力, 吉田健一, 関正史, 星野論子, 吉田美沙, 加藤元博, 樋渡光輝, 岡 明, 林泰秀, 田尻達郎, 中川原章, 滝田順子. 神経芽腫におけるターゲット遺伝子の深々度シークエンス. 第56回日本小児血液・がん学会学術集会, 平成26年11月28日~30日

24) 吉田美沙, 関正史, 加藤元博, 瓜生久美子, 星野論子, 西村力, 樋渡光輝, 吉田健一, 岡 明, 小川誠司, 林泰秀, 滝田順子. 神経芽腫におけるATM pathway 関連遺伝子の異常. 第56回日本小児血液・

25) 物井綾香, 関正史, 吉田健一, 佐藤悠佑, 加藤元博, 樋渡光輝, 星野論子, 竹谷健, 白石友一, 千葉健一, 田中洋子, 宮野悟, 岡 明, 林泰秀, 小川誠司, 滝田順子. 神経芽腫再発2例に対する網羅的ゲノム解析. 第56回日本小児血液・がん学会学術集会, 平成26年11月28日~30日

26) 木本豪, 加藤元博, 関口昌央, 渡邊健太郎, 塩澤亮輔, 樋渡光輝, 阿部浩幸, 田中麻理子, 武笠晃文, 滝田順子, 岡 明. 先天性高悪性脳腫瘍の1例. 第56回日本小児血液・がん学会学術集会, 平成26年11月28日~30日

27) 塩澤亮輔, 樋渡光輝, 加藤元博, 田中淳, 滝田順子, 岡 明. 慢性活動性EBV感染症の1倍検例. 第56回日本小児血液・がん学会学術集会, 平成26年11月28日~30日

28) 松野良介, 大貫裕太, 藤田祥央, 花村麻衣子, 塚田大樹, 秋山康介, 外山大輔, 池田祐一, 関正史, 加藤元博, 樋渡光輝, 滝田順子, 磯山恵一. ALK陽性思春期神経芽腫に対するクリゾチニブの治療経験. 第56回日本小児血液・がん学会学術集会, 平成26年11月28日~30日

29) 清水啓道, 本多秀俊, 大野能之, 長瀬幸恵, 加藤元博, 樋渡光輝, 滝田順子, 岡 明, 鈴木洋史. 小児がん化学療法に対する病棟薬剤師の取り組み. 第56回日本小児血液・がん学会学術集会, 平成26年11月28日~30日

30) 星野顕宏, 野村恵子, 関正史, 樋渡光輝, 吉田健一, 小川誠司, 滝田順子, 金兼弘和. 未分化大細胞型リンパ腫におけるALK転座染色体の過剰を伴った急性転化. 第56回日本小児血液・がん学会学術集会, 平成26年11月28日~30日

31) 藤代準, 杉山正彦, 新井真理, 石丸哲也, 吉田真理子, 魚谷千都恵, 宮川亨平, 加藤元博, 滝田順子, 土田晋也, 高橋尚人, 岩中督. 腎静脈浸潤を認めた先天性間葉芽腎腫の一例. 第56回日本小児血液・がん学会学術集会, 平成26年11月28日~30日

32) 杣津晋平, 合井久美子, 渡邊敦, 犬飼岳史, 蓮田憲夫, 高野邦夫, 近藤哲夫, 中澤温子, 宮地充, 細井創, 滝田順子, 後藤裕明, 杉田莞爾. FGFR-1増幅を伴う治療抵抗性未分化肉腫の1例. 第56回日本小児血液・がん学会学術集会, 平成26年11月28日~30日

33) 宮川亨平, 藤代準, 高見尚平, 加藤怜子, 出家亨一, 魚谷千都絵, 吉田真理子, 石丸哲也, 新井真理, 杉山正彦, 岩中督, 加藤元博, 渡邊健太郎, 滝田順子, 柴原順二. Congenital and childhood pleomorphic (multinodular)cellular schwannoma の1乳児例. 第56回日本小児血液・がん学会学術集会, 平成26年11月28日~30日

34) 岩崎美和, 割田陽子, 滝田順子, 加藤元博, 樋渡光輝, 大友英子, 宮里由香里. 小児造血細胞移植後フォローアップ外来の取り組みと課題. 第56回日本小児血液・がん学会学術集会, 平成26年11月28日~30日

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