

201438066A

# 厚生労働科学研究委託費

## 革新的がん医療実用化研究事業

難治性小児悪性固形腫瘍における診断バイオマーカーの同定と  
新規治療法の開発に関する研究

平成 26 年度 委託業務成果報告書

業務主任者 檜山 英三

平成 27 (2015) 年 3 月



本報告書は、厚生労働省の革新的がん医療実用化研究委託事業による委託業務として、広島大学浅原利正が実施した平成26年度「難治性小児悪性固形腫瘍における診断バイオマーカーの同定と新規治療法の開発に関する研究」の成果を取りまとめたものです。

厚生労働科学研究委託費

革新的がん医療実用化研究事業

難治性小児悪性固形腫瘍における診断バイオマーカーの同定と  
新規治療法の開発に関する研究

平成26年度 委託業務成果報告書

業務主任者 檜山 英三

平成27（2015）年 3月

## 目 次

I. 委託業務成果報告（総括）	
難治性小児悪性固形腫瘍における診断バイオマーカーの同定と 新規治療法の開発に関する研究	3
檜山 英三	
II. 委託業務成果報告（業務項目）	
1. 神経芽腫高リスク群に対する遅延局所療法にICE療法BU/MEL大量レジメンを 組み込んだ第Ⅱ相試験の実施	23
田尻 達郎	
松本 公一	
七野 浩之	
副島 俊典	
中川原 章	
2. 高リスク肝芽腫「用量増大シスプラチン療法と外科療法の安全性を検討する 多施設共同臨床試験」の準備と開始	29
檜山 英三	
渡邊 健一郎	
康 勝好	
大植 孝治	
矢野 道広	
星野 健	
3. 腎ラブドイド腫瘍(RTK)に対する集積的治療法による臨床試験	33
越永 従道	
陳 基明	
金子 安比古	
4. データセンター	37
瀧本 哲也	
5. 合同検討会の実施	42
大喜多 肇	
6. ゲノム・病理リスク分類による評価の実施に関する研究	45
上條 岳彦	
7. 次世代シーケンシングによる治療反応性関連遺伝子の解明	47
檜山 英三	
8. ラブドイド腫瘍の予後予測と治療有効性（微小遺残病変：MRD）に関する 遺伝子解析に関する研究	52
金子 安比古	
III. 学会等発表実績	57
IV. 研究成果の刊行物・別刷	

## I. 委託業務成果報告（総括）



厚生労働科学研究委託費（革新的がん医療実用化研究事業）  
委託業務成果報告（総括）

難治性小児悪性固形腫瘍における診断バイオマーカーの同定と新規治療法の開発に関する研究

檜山 英三 広島大学自然科学研究支援開発センター 教授

研究要旨

小児特有の固形がんである神経芽腫、腎芽腫、肝芽腫の特徴はその予後が生物学的特性に大きく依存し、治療成績良好な低リスク群では晩期合併症を回避する治療軽減の方向にある一方、現在でも治療成績不良な高リスク群では新規治療戦略が求められている。本研究では、難治性の高リスク群の新たなバイオマーカーによる層別法の開発と、高リスク腫瘍の予後改善を目指した新規治療法開発を目的した臨床試験開始に向けて検討を行った。神経芽腫、肝芽腫については、日本神経芽腫研究グループ（JNBSG）、日本小児肝癌研究グループ（JPLT）それぞれで高リスク群で予定通りにプロトコールが作成され、臨床研究審査が終了し、臨床試験が開始された。また、腎腫瘍のうち予後不良な腎ラブドイド腫瘍に対しても日本ウィルムス腫瘍研究グループ（JWiTS）でVCR,DXR, CY (VDCy)とIFM, VP16(IE)に、手術・放射線治療を併用した集学的治療による臨床試験が計画され、臨床研究審査に提出され、次年度開始になる。これらは、小児がん研究グループを統合して結成された日本小児がん研究グループ（JCCG）の小児固形腫瘍研究グループとして高リスク症例に対する臨床試験の研究計画作成支援およびデータ管理を実施するとともに、統一した匿名化のための登録とそれに続く中央診断と診断後の余剰検体保存、バイオバンクジャパン（BBJ）への試料提供および検体分譲のための手順を統一し、これらの高リスク症例に対する臨床試験の中央病理診断計画を作成することで、これらの高リスク腫瘍の対する新規治療法開発への臨床試験体制を整えて、臨床試験参加予定施設の担当者による合同検討会を実施し、臨床試験のキック・オフを行った。さらに、診断バイオマーカーの同定のため、神経芽腫では分子診断のリスク分類として、MYCN qPCR, MYCN 2-color FISH, DNA 含量、11qLOH 解析の施行体制を構築し、肝芽腫では次世代シーケンサー解析によって Wnt/ $\beta$  カテニンシグナル遺伝子の変異解析と標的遺伝子の発現調節解析と TERT 発現解析と悪性度の関連が示され、腎ラブドイド腫瘍ではその原因遺伝子は SMARCB1 について胚細胞変異についても解析する体制とした。これらの検討によって、小児特有の神経芽腫、肝芽腫の高リスク腫瘍と腎ラブドイド腫瘍の病態が解明され、これらの腫瘍の診断バイオマーカーが見出されるとともに、新規治療法開発による治療成績の改善が期待される。

業務項目の担当責任者氏名・所属研究機関名及び所属研究機関における職名

中川原 章 (佐賀県医療センター好生館 理事長)

田尻 達郎 (京都府立医科大学 教授)

瀧本 哲也 (国立成育医療研究センター 室長)

大喜多 肇 (国立成育医療研究センター 室長)

松本 公一 (国立成育医療研究センター  
センター長)

七野 浩之 (国立国際医療研究センター 医師)

副島 俊典 (兵庫県立がんセンター 部長)

上條 岳彦 (埼玉県立がんセンター 所長)

手良向 聡(金沢大学 特任教授)

渡邊 健一郎 (静岡県立こども病院 医長)

康 勝好 (埼玉県立小児医療センター  
科長兼部長)

大植 孝治 (兵庫医科大学 准教授)

矢野 道広 (秋田大学 講師)

井上 健 (大阪市立総合医療センター  
部長)

星野 健 (慶応義塾大学 准教授)

西川 正則 (大阪府立母子保健総合医療  
センター 主任部長)

福澤 正洋 (大阪府立母子保健総合医療  
センター 総長)

越永 従道 (日本大学 教授)

金子 安比古 (埼玉県立がんセンター 参与)

陳 基明 (日本大学 准教授)

中舘 尚也 (国立成育医療研究センター 医長)

#### A. 研究目的

小児特有の固形がんである神経芽腫、腎芽腫、肝芽腫は小児期特有の悪性固形腫瘍で、外科的切除が可能なものは予後良好である一方、遠隔転移のあるような高リスク群の治癒率は未だ20～40%である。予後不良例に対しては大量化学療法も限界となり、新規治療法開発として分子診断による正確なリスク層別化と腫瘍特性解析に基づく分子標的療法を用いた個別化療法の開発が喫緊の重要課題である。現在、小児腫瘍に対し全国統一の研究グループ(JCCG)が設立され、データセンター、中央病理/分子診断、治療効果判定システム等の基盤整備を統一し、全国レベルで多施設臨床試験を推進している。本研究はJCCG研究として、難治性腫瘍として、高リスク神経芽腫に対し集学的治療の中で遅延局所療法に「ICE療法にBU/MEL大量レジメンを組み込んだ第II相試験」を、高リスク肝芽腫は次期国際共同研究の基軸となる「用量増大シスプラチン療法と外科療法の安全性を検討する多施設共同臨床試験」を、予後不良腎腫瘍は「悪性ラブドイド腫瘍(RTK)に対する新規治療法による臨床試験」を、ICH-GCP基準

の臨床試験を基本として実施、外部監査と相互モニタリングシステムを導入して施行する体制を整備した。

一方、この臨床試験症例の検体をバイオバンクジャパン (BBJ) と協力して保管運用し、1) 神経芽腫を中心にわが国独自に開発したゲノム解析と病理解析によるリバーstransレーショナル評価法にて、分子標的療法の選択に向けたリスク分類の改良、2) 次世代シーケンシングにより、腫瘍 DNA・RNA から治療有効性に関わる遺伝子同定、3) 予後予測と治療有効性 (微小遺残病変: MRD) に関わる遺伝子解析を行った。

上記より、予後不良な高リスクの小児期特有のがん特に神経芽腫、肝芽腫、腎芽腫に対する新規治療法が開発され、小児がんの国際共同臨床試験によるエビデンスの創出とともに、わが国から発信される臨床情報、病理所見にゲノム解析による分子診断を統合した新リスク分類や治療効果判定システムの構築は治療成績向上に極めて有用となる。また、こうした解析データは高リスク群腫瘍に対する新たなバイオマーカーによる層別法の開発と新規治療確立につながり、わが国独自の成果が期待される。そこで、本研究では、日本小児肝がん研究グループとしてインフラを整備して共有しつつ、これらの固形腫瘍の進行例、再発例について視野に入れた新たな臨床研究を推進することを目的としている。

## B. 研究方法

### 1. 高リスク群の臨床試験

各腫瘍の高リスク群は発生数が稀少 (年間 10-80 例程度) なため「第II相試験」を基本とするが、国際共同研究は第III相試験を行う。高リスク群では、治療開発を迅速に行う必要から、国際共同試験推進と共に、同時に次期研究の実行可能性を検証しながら次期第II相試験を計画した

#### 1.1 神経芽腫高リスク群に対する遅延局所療法に「ICE療法にBU/MEL大量レジメンを組み込んだ第II相試験」の実施 (田尻、松本、七野、副島、中川原)

研究計画書を作成終了。倫理審査承認後、先行の遅延局所療法第II相臨床試験の予定登録終了より症例登録を開始予定。主要評価項目: 治療終了時寛解率、副次評価項目: 寛解導入率及び3年生存率。予定登録数 53 例、登録期間 2 年として計画した。

#### 1.2 高リスク肝芽腫では「用量増大シスプラチン療法と外科療法の安全性を検討する多施設共同臨床試験」(渡邊、康、大植、矢野、星野、檜山)

研究計画書を作成終了。倫理審査承認後、先行の遅延局所療法第II相臨床試験の予定登録終了より症例登録を開始予定。主要評価項目: 治療終了時寛解率、副次評価項目: 寛解導入率及び3年生存率。予定登録数 53 例、登録期間 2 年として計画した。

#### 1.3 「腎ラブドイド腫瘍 (RTK) に対する集学的治療法による臨床試験」を実施 (平成 26 年度に開始 5 年で集積) (福澤、越永、陳、金子)

全病期の Rhabdoid tumor of the kidney (RTK) に対して Vincristine, doxorubicin, cyclophosphamide (VDC) と ifosfamide, etoposide (IE) による多剤併用化学療法、外科手術、放射線療法を施行し、その集学的治療法の有効性と安全性を評価する。予定登録数は 20 例とし、5 年を目途に中間解析を行い、生存期間中央値、1 年間全生存率を検討した。

#### 1.4 中央病理診断とデータ管理 (瀧本)

上記を含めた小児固形がんの臨床試験は、その質的な担保と確実な診断のために治療



前検体の中央病理診断を行い、その診断名によって臨床試験に入る。そのため、どの腫瘍の臨床試験においても中央病理診断を必須とし、臨床試験への適合性、その後の臨床試験レポートも一括して管理し、試験終了後のフォロー体制も確立した。

#### 1.5 合同検討会の実施(大喜多)

上記の臨床試験を円滑に行うために、JCCG(日本小児がん研究グループ)および日本小児がん研究グループ(JCCG)および日本小児固形腫瘍共同機構(JPOG)の検討会を開催しと協議し、臨床試験の準備状況、開始、進捗に関する検討会を随時必要に応じて実施した。

### 2. ゲノム解析を中心としたバイオマーカー探索

臨床試験登録症例の検体バンキングを検体センターとともにBBJなどと協力してより安全かつ効率的なしくみで保管し、理化学研究所、BBJ、がん研究所などのゲノム解析機能(中央ゲノムセンター)と連携し、以下の研究の加速をはかる

#### 2.1 ゲノム・病理リスク分類による評価(上條)

本邦で開発した神経芽腫のゲノムリスク分類(*Oncogene, 2008; Cancer Science, 2011*)と病理分類及びALK遺伝子異常を組み合わせ、わが国独自の新しい神経芽腫リスク分類を開発し、その前方視的臨床試験への導入を検討する。肝芽腫、腎芽腫も予後不良例のゲノム解析からリスクに関連するゲノム異常を報告しており(*J. Pediatr. Surg 2011*)、これらを中心に解析した。

#### 2.2 次世代シーケンシングによる治療反応性関連遺伝子の解明(檜山)

治療プロトコールに参加した肝芽腫の高リスク群症例のうち治療奏功例と非奏功例を対

象に、その原発巣から抽出したDNA、RNAを用いてエクソーム解析、RNAシーケンス解析を行い、治療抵抗性に関係する遺伝子の同定を行った。

#### 2.3 予後予測と治療有効性(MRD判定)に関わる遺伝子発現、miRNAを同定する。(金子)

同様な対象と方法で腎腫瘍組織からRNAを抽出し、real-time PCR法を用いて高リスク群における治療抵抗性関連遺伝子発現やmiRNAの同定を行った。

### C. 研究結果

#### 1. 高リスク群の臨床試験

##### 1.1 神経芽腫高リスク群に対する遅延局所療法に「ICE療法にBU/MEL大量レジメンを組み込んだ第II相試験」

「遅延局所療法試験の第II相試験」は、2015年1月20日現在、予定登録数66例に対して60例が解析対象症例として登録され、うち56例が適格例、4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。以上の中間解析における有効性、安全性ともに問題なく、平成26年度中に登録終了予定である。また、「遅延局所療法試験の第II相試験」の経過に基づき、新規臨床試験として「遅延局所療法にICE療法にBU/MEL大量レジメンを組み込んだ第II相試験」の実施計画書の作成が終了した(図1)。平成26年12月に、主任研究者(松本)の所属施設である成育医療センターの倫理審査委員会と日本小児血液・がん学会の臨床

研究倫理審査委員会へ提出し、成育医療センターの倫理審査委員会にて平成27年1月29日に条件付き承認を得た。学会の臨床研究倫理審査委員会の承認後、平成26年度末までに、臨床試験登録を開始する予定であるが、既に、先行して承認されている成育医療研究センターで1例が登録された。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。

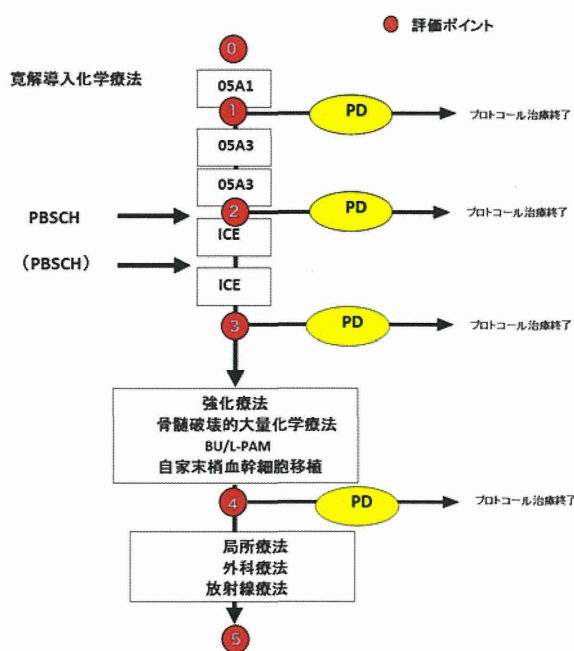


図1：遅延局所療法にICE療法にBU/MEL大量レジメンを組み込んだ第II相試験概略

## 1.2 高リスク肝芽腫「用量増大シスプラチン療法と外科療法の安全性を検討する多施設共同臨床試験」

本試験では、SIOPEL4のプロトコールに従い、シスプラチン1週間隔投与とドキシソルビシンを含むブロックからなる術前化学療法を行った後、外科的切除を行い、その後術後化学療法を行う順序を基本とする。但し、3ブロックからなる術前化学療法後の時点で、肝移植を含めても完全切除が不可能と考えられる場合には、カルボプラチンとドキシソルビシンを含む追加術前化学療法を行うこととした(図2)。

SIOPEL4の導入を目的として安全性を評価する。そのため、本試験では単一用量で実施する。初期安全性を評価することを目的として、後期第I相試験と同水準の精度を得るため、本試験の目標登録症例数を10例に設定した。初診時遠隔転移を有する肝芽腫では、再発、増悪がほとんど診断後2年以内におこる。本邦では年間40-50例の肝芽腫が発生し、高リスクを有する症例は5-10例程度と考えられている。JPLT2においては、1999年～2008年の10年間で肝芽腫280例が登録され、うち35例が高リスクであった。JPLTは全国的な組織であり、肝芽腫を治療している主な治療施設の参加が見込めるため、1年間に5例の登録が見込まれる。従って、登録期間は2年、追跡期間は3年とした。

本プロトコールの草案は、JPLT参加施設に配布しパブリックコメントを得たのち、シスプラチンの投与法、プロトコール中止基準などを改変した。

そののち、JPLT代表施設である広島大学臨床研究審査委員会に提出し、2014年12月に承認され、また、日本小児血液・がん学会の臨床研究審査委員会に提出し、2015年1月の承認を受けて、2015年1月に開催したJCCGの小児固形腫瘍分科会JPLT施設代表者会議にて、本臨床研究を開始した。

(Umin 登録番号：UMIN000016305)

結果、SMARCB1 の位置する 22q11.2 領域に高率に欠失および UPD が認められた。

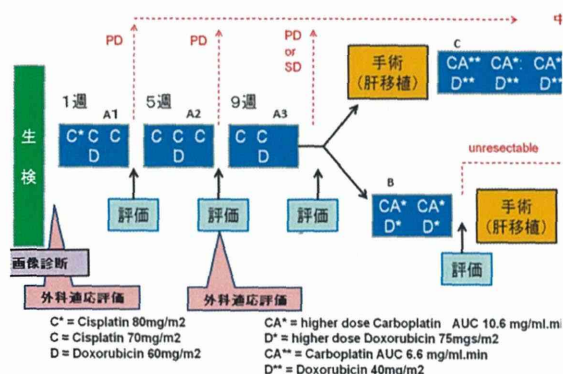


図 2 : JPLT3-H プロトコール概略図

### 1.3 腎ラブドイド腫瘍 (RTK) に対する集学的治療法による臨床試験

全病期の Rhabdoid tumor of the kidney (RTK) に対して、多剤併用化学療法として VCR, DXR, CY (VDCy) と IFM, VP16(IE) を用いて、手術療法、放射線治療を併用した集学的治療による臨床試験、手術療法、放射線治療を施行しその集学的治療法の有効性を評価する臨床試験として、現在、

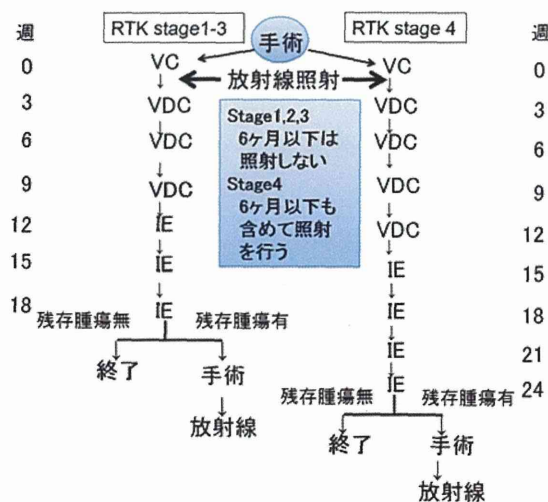


図 3 : 悪性ラブドイド腫瘍 (RTK) に対する新規治療法による臨床試験概略

日本小児血液・がん学会の臨床研究倫理審査委員会に提出した(図 3)。腫瘍の SNP アレイ解析の

### 1.4 中央病理診断とデータ管理

#### 1.4.1 新規治療法開発支援

JCCG の固形腫瘍部門のデータセンターとして、新規の治療法開発に直結する臨床研究の支援を実施した。本研究班では、日本神経芽腫研究グループ (JNBSG)、日本小児肝癌研究グループ (JPLT)、日本ウィルムス腫瘍研究グループ (JWiTS) が実施する高リスク例を対象とした臨床試験について、各研究グループの運営委員会、プロトコール作成委員会、あるいはリスク別委員会などと連携して、研究計画書作成から症例登録・データマネジメントまで一貫した支援を行うこととした。

JNBSG については、「高リスク神経芽腫に対する ICE 療法を含む寛解導入療法と BU+LPAM による超大量化学療法を用いた第 II 相臨床試験」について研究実施計画書や Case Report Form の作成の支援を行った。本臨床試験は研究代表者の所属施設において倫理委員会承認を取得し、同施設から 1 例登録があった

JPLT については「高リスク小児肝芽腫に対する Dose-dense cisplatin 療法と外科療法の多施設共同臨床第 II 相試験」の研究計画書作成支援を実施した。本研究計画についても研究代表者の所属施設及び日本小児血液・がん学会での臨床研究審査委員会承認が得られ、開始された。

JWiTS では「Rhabdoid Tumor of the Kidney に対する集学的治療法の観察研究」の研究計画書の作成支援を行った。現在日本小児血液・がん学会の研究審査委員会にて審査中である。

#### 1.4.2 小児固形腫瘍の検体バンキング体制構築

平成 23 年から実施されている小児固形腫瘍



観察研究は、全ての小児固形腫瘍を対象とし、一次登録を行って匿名化したうえで病理や分子生物学的中央診断を実施し、中央診断後の余剰検体を同意取得のうえで保存するとともに、登録患者のフォローアップ臨床情報を収集するというもので、平成26年12月31日の時点で1402例の一次登録がある。今後、BBJと連携して小児固形腫瘍の臨床検体バンキングを行うためには、既存のこのシステムを利用して、一次登録から中央診断を経て検体保存に至る流れを構築することが得策と考えられた。このため、まず研究計画書にBBJとの連携のために必要な改訂を行った。

主な改訂内容は、①バイオバンクへの試料提供の同意確認の項を追加し、同意が取得された場合には腫瘍検体から抽出されたDNA、および末梢血リンパ球から抽出したDNAと血漿を保存する、②バイオバンクへ提供された検体および中央診断後の余剰検体を用いて生殖細胞系列のゲノムの網羅的解析を行う可能性があること（ただし後者の検体については拒否も可能）、③遺伝子解析研究の結果を公的データベースに登録すること、④病理診断のために作成したスライドや放射線診断のための画像等の試料を医療従事者の研修目的で使用する可能性があること、などである。

この改訂された研究計画書はBBJ、および国立成育医療研究センターにおいて倫理委員会承認を取得した。

BBJが保存するのは、腫瘍細胞および正常細胞（末梢血リンパ球）由来のDNAおよび血漿である。これをふまえたうえで、小児固形腫瘍研究グループの意見を聴取しつつ、BBJと協議を重ね、検体の流れについて確定した（図1）。これについては、①BBJで保存される検体はある程度の量と、一定の質が担保されている必要が

あること、②BBJの検体はすべてBBJ-IDで管理されるため、研究グループで付与した登録コードとBBJ-IDとの対照表が必要になるが、これは成育の検体保存センター事務局のみが管理し部外には出さないこと、③血漿については質を担保するため、直接検査会社に提出する必要があること、などを考慮して決定した。なおBBJに保存される検体は、JCCG外の一般の研究者に分譲される分と、JCCG内の研究者のみに分譲される分を均等に分けて、BBJにおいて保存される。なお、量が不足したためBBJへの移送を行わなかった検体については国立成育医療研究センターで保存し、JCCG内の研究者のみに分譲する。

以上の方針について小児固形腫瘍の各研究グループに諮り、大筋で合意した。ただしJNBSGのみは中央診断施設が成育外にあるため、中央診断後の余剰検体が成育を介してBBJに提供される仕組みとなった

なお、検体分譲の際には、BBJからBBJ-IDを用いて患者を指定し、成育の検体保存センター事務局に請求する。同事務局はこれを研究グループの登録コードに置き換えてデータセンターから臨床情報を収集し、該当するBBJ-IDを付してBBJに返送する、という流れとした。

### 1.5 合同検討会の実施

日本小児がん研究グループ（JCCG）の固形腫瘍分科会（日本小児がん臨床試験共同機構）に所属する小児固形腫瘍研究グループのうち、日本神経芽腫研究グループ（JNBSG）、日本小児肝癌研究グループ（JPLT）、日本ウイルス腫瘍研究グループ（JWiTS）が、計画・実施する高リスク症例に対する臨床試験の中央病理診断計画を作成するとともに、臨床試験参加予定施設の担当者による合同検討会を実施し、臨床試験のキック・オフを行った。実際には、平成26年12月6

日に小児固形腫瘍臨床試験共同機構(JCCG 固形腫瘍分科会) 運営委員会及び関連研究班との合同で、小児固形腫瘍6グループ代表者および病理・放射線等基盤分野の代表者による会議を開催した。その上で、平成27年1月23-25日に小児固形腫瘍臨床試験共同機構(JCCG 固形腫瘍分科会) 運営委員会及び関連研究班との合同で会議を開催し各研究の進捗とともに、国立成育医療研究センターにて倫理申請し承認された、バイオバンクジャパンと連携した検体保存を実施するために改訂された小児固形がん観察研究実施計画書と共通取扱い手順書が示され、共通の基盤部分について討議がなされた小児固形腫瘍は、複数の診療科にわたり、がん種横断的に関わる担当者が多く、合同検討会実施により効率的かつ有効な検討が可能であった。

## 2. ゲノム解析を中心としたバイオマーカー探索

### 2.1 難治性小児悪性固形腫瘍における診断バイオマーカーの同定と新規治療法の開発に関する研究

難治性小児悪性固形腫瘍における診断バイオマーカーの同定と新規治療法の開発に関する研究 国際共同ランダム化比較試験 JPLT-3—SIOPEL6 は、予定よりやや遅れたものの平成26年12月にほぼ目的症例に到達したため、12月末日をもって症例登録を終了した。

本邦から、3施設計5例が登録されたこととなり、

### 2.2 次世代シーケンシングによる治療反応性関連遺伝子の解明

日本小児肝がんグループスタディの治療プロトコールに参加した高リスク群症例のうち治療奏功例と非奏功例を対象に、その原発巣から抽出した DNA, RNA を用いてエクソーム解析、RNA シ

ークエンシス解析を行い、治療抵抗性に関係する遺伝子の同定を行った。具体的には、次世代エクソーム解析と RNA シークエンシスの結果から、各リスク分類毎に、特に高リスク肝芽腫で変異が高率に出現している遺伝子や発現が変動している遺伝子候補を抽出した。その結果、肝芽腫に集中的発生している遺伝子変異とともに、Wnt/ $\beta$ カテニンシグナル標的遺伝子発現調節に係る変異が認められた。さらに、遺伝子発現解析から TERT の活性化から BRG1 (also called SMARCA4), a SWI/SNF-related chromatin remodeling protein を介して  $\beta$ -catenin-TCF 複合体を活性化している経路の関与が悪性度に関与していることが示唆された。

### 2.3 ラブドイド腫瘍の予後予測と治療有効性(微小遺残病変:MRD)に関わる遺伝子解析に関する研究

腎ラブドイド腫瘍の長期生存率は25-30%であり、最も予後不良な小児がんである。これまでの研究によると、原因遺伝子は SMARCB1 であり、その変異により発生する。腎ラブドイド腫瘍の発生に SMARCB1 胚細胞変異がどのような頻度に関与するのか、予後予測や治療効果のモニタリングに使用可能なバイオマーカーの開発をめざして、研究を開始した。

## D. 考察

従来、小児固形腫瘍特に小児特有のがんである神経芽腫、肝芽腫、腎芽腫は、それぞれが独立の臨床試験グループにて臨床試験を行ってきたが、小児がん自体が希少がんであり、その臨床試験遂行が容易ではないなかで、それぞれが難治の高リスク群に対しては治療成績向上のために検討できるだけの十分な試験が遂行できていなかった。

本研究班にて、こうした小児とくに乳幼児を中心に発症してくる固形腫瘍のなかで、高リスクとされる群を日本で統一した日本小児がん研究グループ（JCCG）として検討することで、本年度、その臨床試験体制が構築され、有意義な臨床試験が運用可能となった。特に、データセンターを統一し、中央病理診断や中央画像診断体制を整えたことは、こうした腫瘍を扱う小児診療施設が同一であることから極めて運用しやすく、患児のリクルートから、診断、リスク分類、臨床試験の開始がスムーズに行えるようになった。

しかし、希少疾患であることに変わりはなく、全国で統一のプロトコルを用いても、エビデンスを得ることは容易ではない。この壁を乗り越えるためには、国際共同の臨床研究を行うことが必要であり、肝芽腫、腎ラブドイド腫瘍はその必要性から、共同臨床試験へと方向を定めた。

小児肝腫瘍では、本邦（JPLT）、欧州（SIOPEL）、北米（COG）がそれぞれ独自に多施設共同研究を行ってきたが、2009年に3者が協同して今後

の小児肝がんの臨床試験に取り組むためにデータベースを作成することで合意し、その結果に、共通のリスク分類が提唱されるに至っている。このリスク分類に基づいて、標準リスクの肝芽腫に対して、初めて日本（JPLT）と北米（COG）が協同で、国際共同臨床試験 AHEP0731 が始まろうとしている。こうした時期に、SIOPEL4 プロトコルの安全性試験を行い、次期日米欧のグローバルな臨床研究の基盤整備を行った。今後は、日米欧の3極がお互いに連携し、効率良く成果を出し、患者に還元できる臨床試験体制の構築が望まれる中、有意義な第一歩となったと考えられた。今回の3種の小児がんの高リスク腫瘍のプロトコルが完成あるいは開始できたことは、本年の成果目標は十分達成できたと考えられる。

小児腎腫瘍における高リスク腫瘍の代表であるラブドイド腫瘍の臨床試験も構築することができ、これらの高リスク腫瘍の臨床試験は現在進行している神経芽腫に対する抗 GD-2 抗体療法、転移性肝芽腫への分子標的療法薬を用いた臨床

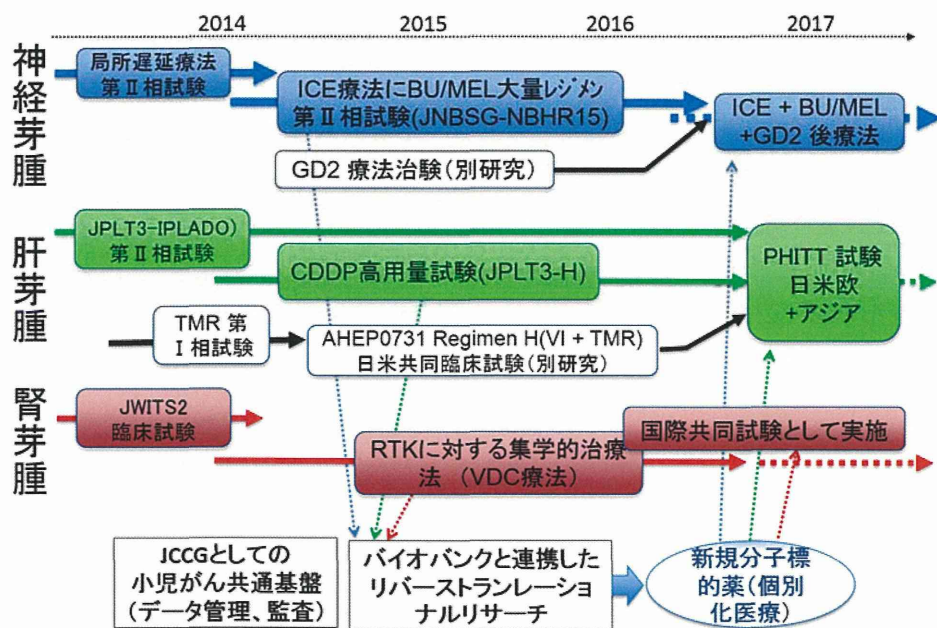


図4：シームレスな高リスク群小児腫瘍臨床試験ロードマップ



試験等とともにシームレスな臨床試験体制を検討しており、小児固形がん特に小児特有の神経芽腫、肝芽腫、腎腫瘍への国際共同臨床試験の推進とともに、新規治療法の開発とともに本邦においてもドラッグラグのない有効な治療法の提供が可能となると考えている（図4）

さらに、本邦で行ってきたゲノム解析データを基に、次世代シーケンサーや miRNA 解析の最先端技術を用いて、こうした難治の小児がんのドライバー変異が見出されれば小児がんの新たな診断法や分子標的療法が開発されれば、さらに小児の難治性固形腫瘍の治療成績は向上する。有害事象や晩期合併症の軽減を図りながら、予後向上を図る治療手段の開発は、小児がん治療には必須である。今後も、こうした解析を継続し、症例数を増やして解析を行うことが必要である（図4）。

#### E. 結論

難治性の小児固形がん、神経芽腫、肝芽腫、腎ラドイド腫瘍の新たなプロトコールが科策定され、当初の目的は達成した。さらに、ゲノム解析を中心としたバイオマーカー探索も同時に進行されており、有意義な成果が得られる体制は構築できた。今後も高リスク群の臨床試験を継続するとともに、ゲノム解析による分子マーカーの探索を継続する。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Hiyama E. Pediatric Hepatoblastoma: diagnosis and treatment. *Translational Pediatrics*, in press
- 2) Czauderna P, Lopez-Terrada D, Hiyama E,

Häberle B, Malogolowkin MH, Meyers RL. Hepatoblastoma state of the art: pathology, genetics, risk stratification, and chemotherapy. *Curr Opin Pediatr*. 2014 26:19-28. doi: 10.1097/MOP.000000000000046.

- 3) Czauderna P, Häberle B, Hiyama E, et al. The Children's Hepatic tumors International Collaboration (CHIC): novel global rare tumor database yields new prognostic factors in hepatoblastoma. *Lancet Oncology* in press
- 4) Lopez-Terrada, D., Alaggio, R., de Davila, M. T., Czauderna, P., Hiyama, E., Katzenstein H, Leuschner I, Malogolowkin M, Meyers R, Ranganathan S, Tanaka Y, Tomlinson G, Fabrè M, Zimmermann A, Towards an international pediatric liver tumor consensus classification: proceedings of the Los Angeles COG liver tumors symposium. *Mod Pathol*, 27:472-91 2014.
- 4) 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.
- 5) 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.* 3(1): 25-35, 2014
- 6) 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.* Apr; 61(4): 627-635, 2014
- 7) 米倉竹夫, 田尻達郎, 伊勢一哉, 小野 滋, 大植孝治, 佐藤智行, 杉藤公信, 菱木知郎, 平井みさ子, 文野誠久, 本多昌平, 風間理郎, 杉山正彦, 中田光政, 仲谷健吾, 脇坂宗親, 近藤知史, 上原秀一郎, 鬼武美幸, 木下義晶, 日本小児外科学会悪性腫瘍委員会. 小児の外科的悪性腫瘍, 2012年登録症例の全国集計結果の報告. *日小外会誌.* 50(1): 114-150, 2014.
- 8) Hirakawa M, Nishie A, Asayama Y, Fujita N, Ishigami K, Tajiri T, Taguchi T, Honda H. Efficacy of preoperative transcatheter arterial chemoembolization combined with systemic chemotherapy for treatment of unresectable hepatoblastoma in children. *Jpn J Radiol.* 32(9): 529-536, 2014.
- 9) Sakai K, Kimura O, Furukawa T, Fumino S, Higuchi K, Wakao J, Kimura K, Aoi S, Masumoto K, Tajiri T. Prenatal administration of neuropeptide bombesin promotes lung development in a rat model of nitrofen-induced congenital diaphragmatic hernia. *J Pediatr Surg.* 49(12): 1749-1752, 2014.
- 10) 竹内雄毅, 樋口恒司, 坂井宏平, 文野誠久, 青井重善, 古川泰三, 木村 修, 田尻達郎. 腹部腫瘍により発見された Herlyn-Werner-Wunderlich 症候群の1例. *日本小児外科学雑誌.* 50(1): 76-80, 2014.
- 11) 樋口恒司, 木村 修, 古川泰三, 文野誠久, 青井重善, 坂井宏平, 土屋邦彦, 家原知子, 細井 創, 田尻達郎. 胸壁悪性軟部肉腫に対する肋骨合併切除・胸郭再建術. *小児外科* 46(2): 120-124, 2014.
- 12) 文野誠久, 金 聖和, 坂井宏平, 樋口恒司, 青井重善, 古川泰三, 木村 修, 田尻達郎. 腸間膜リンパ管腫切除術. *小児外科.* 46(2): 143-147, 2014.
- 13) 文野誠久, 加藤久尚, 樋口恒司, 出口英一, 田尻達郎. 胆汁うっ滞 先天性胆道拡張症. *周産期医学.* 44(10): 1343-1346, 2014.
- 14) 文野誠久, 坂井宏平, 東 真弓, 青井重善, 古川泰三, 田尻達郎. 膵・胆管合流異常の診断の最前線: 膵・胆管合流異常における DIC-CT の診断意義. *胆と膵* 35(10): 897-900, 2014.
- 15) 田尻達郎. 第11節 小児固形悪性腫瘍における遺伝子解析による悪性度診断と遺伝子治療. 遺伝子治療・診断の最先端技術と新しい医薬品・診断薬の開発. 348-353, 2014.
- 16) 田尻達郎. QOLを重視した小児外科医療の進歩. *相楽医報.* 151: 18, 2014.
- 17) 田尻達郎. 小児外科医療の進歩～QOL向上を目指して～. *京都小児科医会会報.* 58: 19-23, 2014.
- 18) 七野浩之, 陳 基明, 梁 尚弘, 吉田行弘, 齋藤 勉, 麦島秀雄. 塩酸イリノテカンにより一時的に生活の質の改善がみられた再発ユーイング肉腫ファミリー腫瘍の一小児例.

- 日大医学雑誌. 73 : 263-266, 2014.
- 19) 七野浩之. インフォームドコンセント・インフォームドアセント. 小児科研修ノート改訂第2版. 207-209, 2014.
- 20) Yagasaki H, Shichino H, Ohara A, Kobayashi R, Yabe H, Ohga S, Hamamoto K, Ohtsuka Y, Shimada H, Inoue M, Muramatsu H, Takahashi Y, Kojima S. Immunosuppressive therapy with horse anti-thymocyte globulin and cyclosporine as treatment for fulminant aplastic anemia in children. *Ann Hematol.* 93(5): 747-752, 2014.
- 21) 大熊啓嗣, 七野浩之, 神山 浩, 谷川俊太郎, 西川英里, 下澤克宜, 平井麻衣子, 加藤麻衣子, 谷ヶ崎博, 唐澤賢祐, 能登信孝, 陳 基明, 麦島秀雄. 心臓血管系晩期合併症の評価に心臓交感神経イメージング検査と Speckle Tracking 法心エコー検査が有用であった骨肉腫の1例. *日本小児血液・がん学会雑誌* 51(1) : 57-61, 2014.
- 22) Yamaguchi Y, Takenobu H, Ohira M, Nakazawa A, Yoshida S, Akita N, Shimozato O, Iwama A, Nakagawara A, Kamijo T. Novel 1p tumour suppressor Dnmt1-associated protein 1 regulates MYCN/ataxia telangiectasia mutated/p53 pathway. *European Journal of Cancer.* 50(8): 1555-1565, 2014.
- 23) Yamazaki F, Nakazawa A, Osumi T, Shimojima N, Tanaka T, Nakagawara A, Shimada H. Two Cases of Neuroblastoma Comprising Two Distinct Clones. *Pediatric Blood Cancer.* 61(4): 760-762, 2014.
- 24) Haruta M, Kamijo T, Nakagawara A, Kaneko Y. RASSF1A methylation may have two biological roles in neuroblastoma tumorigenesis depending on the ploidy status and age of patients. *Cancer Letters.* 348(2014): 167-176, 2014.
- 25) Tomiyama A, Uekita T, Kamata R, Sasaki K, Takita J, Ohira M, Nakagawara A et al. Flotillin-1 regulates oncogenic signaling in neuroblastoma cells by regulating ALK membrane association. *Cancer Res.* 74(14): 3790-3801, 2014.
- 26) Yoshioka Y, Ogawa K, Oikawa H, Onishi H, Uchida N, Maebayashi T, Kanesaka N, Tamamoto T, Asakura H, Kosugi T, Hatano K, Yoshimura M, Yamada K, Tokumaru S, Sekiguchi K, Kobayashi M, Soejima T, Isohashi F, Nemoto K, Nishimura Y, the Japanese Radiation Oncology Study Group(JROSG). Factors influencing survival outcome for radiotherapy for biliary tract cancer: A multicenter retrospective study. *Radiotherapy and Oncology.* 110(2014): 546-562, 2014.
- 27) Tsujino K, Hashimoto T, Shimada T, Yoden E, Fujii O, Ota Y, Satouchi M, Negoro S, Adachi S, Soejima T. Combined Analysis of V20, VS5, Pulmonary Fibrosis Score on Baseline Computed Tomography, and Patient Age Improves Prediction of Severe Radiation Pneumonitis After Concurrent Chemoradiotherapy for Locally Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer. *J Thorac Oncol* 9(7): 983-990, 2014.
- 28) 米澤宏一郎, 平山裕次, 古川竜也, 森田成彦, 入江啓介, 嘉村陽子, 太田陽介, 辻野佳世子,



- 副島俊典, 岩江信法. 当科における高用量シスプラチンを用いた同時併用化学放射線療法の認容性に関する検討. 頭頸部がん 40(3): 362-365, 2014.
- 29) 副島俊典, 辻野佳世子, 太田陽介, 松本葉子, 川口弘毅. [節外性リンパ腫の放射線治療] T細胞リンパ腫—皮膚—. 臨床放射線. 59(11): 1627-1634, 2014.
- 30) Suenaga Y, Islam SMR, 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 neuroblastoma. *PLoS Genet.*10(1) , 2014.
- 31) 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* 33(20): 2601-2609, 2014.
- 32) Nakamura Y, Suganami A, Fukuda M, Hasan MK, Yokochi T, Takatori A, Sato S, Hoshino T, Tamura Y, Nakagawara A. Identification of novel candidate compounds targeting TrkB to induce apoptosis in neuroblastoma. *Cancer Med.*3(1): 25-35, 2014.
- 33) Yamazaki F, Nakazawa A, Shimojima N, Tanaka T, Nakagawara A, Shimada H. Two cases of neuroblastoma comprising two distinct clones. *Pediatr. Blood Cancer.*61(4): 760-762, 2014.
- 34) Morgenstern DA, London WA, Stephens D, Volchenbom S, Hero B, Cataldo AD, Nakagawara A, Shimada H, Ambros P, Matthay KK, Cohn SL, Peason ADJ, Irwin MS. Metastatic neuroblastoma confined to distant lymph nodes (stage 4N) predicts outcome in patients with stage 4 disease: A study from the International Neuroblastoma Risk Group Database. *J. Clin. Oncol.* 32(12): 1228-1235, 2014.
- 35) 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.* 74(14): 3790-3801, 2014.
- 36) Meany HJ, London WB, Ambros PF, Matthay KK, Monclair T, Simon T, Garaventa A, Berthold F, Nakagawara A, Cohn SL, Peason ADJ, Park JR. Significance of clinical and biologic features in stage 3 neuroblastoma: A report from the International Neuroblastoma Risk Group project. *Pediatr Blood Cancer.*61(11): 1932-1939, 2014.
- 37) Vo KT, Matthay KK, Neuhaus J, London WB, Hero B, Ambros PF, Nakagawara A, Miniati D, Wheeler K, Pearson ADJ, Cohn SL, DuBois SG. Clinical, biological, and prognostic differences on the basis of primary tumor site in neuroblastoma: a report from the international neuroblastoma risk group project. *J. Clin. Oncol.*32(28): 3169-3176, 2014.

- 38) Oberthuer A, Juraeva D, Hero B, Volland R, Carolina S, Schmidt R, Faldum A, Kahlert Y, Engesser A, Asgharzadeh S, Seeger RC, Ohira M, Nakagawara A, Scaruffi P, Tonini GP, Janoueix-Lerosey I, Delattre O, Schleiermacher G, Vandesompele J, Speleman F, Noguera R, Piqueras M, Benard J, Valent A, Avigad S, Yaniv I, Grundy RG, Ortmann M, Shao C, Schwab M, Eils R, Simon T, Theissen J, Berthold F, Westermann F, Brors B, Fischer M. Revised risk estimation and treatment stratification of low- and intermediate-risk neuroblastoma patients by integrating clinical and molecular prognostic markers. *Clin. Cancer Res.* 2014 [Epub ahead of print]
- 39) Akter J, Takatori A, Islam MS, Nakazawa A, Ozaki T, Nagase H, Nakagawara A. Intracellular fragment of NLRP3 (NLRP3-ICD) stimulates ATRA-dependent neuroblastoma differentiation. *Biochem Biophys Res Commun.* 453(1): 86-93, 2014.
- 37) Tatsumi Y, Takano R, Islam MS, Yokochi T, Itami M, Nakamura Y, Nakagawara A. BMCC1, which is an interacting partner of BCL2, attenuates AKT activity, accompanied by apoptosis. *Cell Death and Disease.* 22: 1607, 2015.
- 40) 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.* 61(4): 627-635, 2014.
- 41) Yamaguchi Y, Takenobu H, Ohira M, Nakazawa A, Yoshida S, Akita N, Shimozato O, Iwama A, Nakagawara A, Kamijo T (corresponding author). Novel 1p tumour suppressor Dnmt1-associated protein 1 regulates MYCN/ataxia telangiectasia mutated/p53 pathway. *Eur J Cancer.* 50(8): 1555-1565, 2014.
- 42) Haruta M, Kamijo T, Nakagawara A, Kaneko Y. RASSF1A methylation may have two biological roles in neuroblastoma tumorigenesis depending on the ploidy status and age of patients. *Cancer Lett.* 348(2014): 167-176, 2014.
- 43) 上條岳彦、檜山英三、肝芽腫の診断と治療、「最新肝臓学」、日本臨牀社、2014.
2. 学会報告等
- 1) JPLT3-S 臨床試験の進捗状況について、平成 27 年 1 月 25 日に行われた JPLT 施設代表者会議で報告。
- 2) 檜山 英三、田尻 達郎、超永 従道、黒田 達夫、福澤 正洋. 小児悪性固形腫瘍の臨床研究グループの現状と今後. 第 51 回日本小児外科学会学術集会. 大阪府. 2014 年 5 月 9 日
- 3) Hiyama E, Hishiki T, Watanabe K, Ida K, Yano M, Oue T, Iehara T, Hoshino K, Koh K, Tanaka K, Kurihara S. Outcome and Morbidity of primary resection of hepatoblastoma in JPLT-1 and 2 protocols. 46th Congress of the International Society of Pediatric

- Oncology (SIOP), Toronto, Canada, October 23, 2014
- 4) Honda S, Minato M, Suzuki H, Masayuki Haruta M, Kaneko Y, Hiyama E, Taketimi, Identification of novel prognostic markers of hepatoblastoma using methylation analyses  
DNA メチル化解析による肝芽腫の新規予後予測マーカーの確立)第 73 回日本癌学会学術総会.横浜市 2014 年 9 月 25 日
  - 5) Fumino S, Furukawa T, Aoi S, Higuchi K, Sakai K, Iehara T, Hosoi H, Tajiri T. Surgical Strategy for Mediastinal Neuroblastic Tumors in Children: a Single Institution Experience. *Advances in Neuroblastoma Research*, May 13-16, 2014, Koln, Germany.
  - 6) Sakai K, Kimura O, Furukawa T, Higuchi K, Wakao J, Kimura K, Fumino S, Aoi S, Masumoto K, Tajiri T. Prenatal administration of neuropeptide bombesin promotes lung development in rat models of nitrofen-induced congenital diaphragmatic hernia. *The 47th Annual Meeting of the Pacific Association of Pediatric Surgeons*, May 24-29, 2014, Canada.
  - 7) Fumino S, Kimura K, Iehara T, Nishimura M, Nakamura S, Souzaki R, Nishie A, Taguchi T, Hosoi H, Tajiri T. Validity and reliability of image-defined risk factors in localized neuroblastoma: A report from 2 territorial centers in Japan 46th Congress of the International Society of Paediatric Oncology, Oct 21-26, 2014, Tront, Canada.
  - 8) Matsumoto K, Shichino H, Kuroda T, Hishiki T, Soejima T, Kaneko T, Nakazawa A, Takimoto T, Takahashi H, Fukushima T, Hara J, Kaneko M, Ikeda H, Tajiri T, Nakagawara A, Japan Neuroblastoma Study Group (JNBSG) MYCN amplification is not solely the prognostic factor in treating of high-risk neuroblastoma : a late phase II study of Japan Neuroblastoma Study Group (JNBSG) *Advances in Neuroblastoma Research 2014*, 13th-16th May 13-16, 2014, Cologne, Germany.
  - 9) Yamazaki F, Kiyotani C, Shioda Y, Osumi T, Terashima K, Tomizawa D, Matsumoto K Mega-dose double conditioning chemotherapy of Thiotepa and Melphalan is feasible about renal function for the treatment of pediatric solid tumor. *Advances in Neuroblastoma Research 2014*, May, 2014 13-16, Cologne, Germany.
  - 10) 松本公一. 進行神経芽腫に対する化学療法. 第 56 回日本小児血液・がん学会学術集会, 2014 年 11 月 30 日, 岡山市(シンポジウム)
  - 11) Shichino H, Matsumoto K, Iehara T, Takimoto T, Takahashi H, Nakazawa A, Tajiri T, Masaki H, Fukushima T, Hara J, Ikeda H, Mugishima H, Nakagawara A. JNBSG Feasibility of delayed local control treatment in patients with high risk Neuroblastoma : report of a pilot study from the Japan Neuroblastoma Study Group (JNBSG). *Advances in Neuroblastoma Resarch Conference 2014*, May 13-16, 2014, Cologne, Germany.