

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

ノン・ハイリスク群小児悪性固形腫瘍の安全性と治療後QOLの向上への新たな標準治療法開発のための多施設共同臨床研究
ゲノム・病理・血清リスク分類による評価に関する研究

研究分担者 上條 岳彦 埼玉県立がんセンター 臨床腫瘍研究所長

研究要旨

今年度から埼玉県立がんセンター臨床腫瘍研究所は、JNBSG の分子診断・検体センターとして解析をスタートした。2015年2月25日までにJNBSG32症例を受け付け、29例を解析した。分子診断のリスク分類として、MYCN qPCR, MYCN 2-color FISH, DNA 含量解析を行い、さらに11qLOH解析を施行する体制を整備した。

A．研究目的

JNBSG における低・中間リスク神経芽腫プロトコールは、現行のNB-02（中間）およびNB-03（低）プロトコールが進行中であり、次期低リスクプロトコールは「低リスク群神経芽腫に対する無治療経過観察」である。このリスク分類には分子診断として MYCN qPCR, MYCN 2-color FISH, DNA 含量解析、11qLOH 解析が必要となる。本研究ではこの分子診断を円滑に推進し、余剰検体を適切に保管して、臨床研究・付随研究を支援することを目的とする。

B．研究方法

- 1．MYCN qPCR は MYCN 遺伝子を増幅し、FAM-TAMURA プローブでラベルして解析する。NAGK 遺伝子を VIC-TAMURA プローブラベルで解析し、MYCN 値を NAGK 値で標準化する。
- 2．MYCN 2-color FISH は LLSI N-MYC (2p24)/CEP Dual color ProbeSet を使用して、蛍光顕微鏡で鏡検する。
- 3．DNA 含量解析は、PI 染色後に BD

FACSCalibur™ を用いて解析する。

4．11qLOH 解析は、アジレント社の SureScan マイクロアレイスキャナを用いて解析する。

（倫理面への配慮）

全ての検体は臨床各施設において連結可能匿名化されて埼玉県立がんセンター臨床腫瘍研究所に送付され、解析後に結果を匿名化番号にて報告している。研究者の説明に基づき自由意思により研究に参加する者のみを研究対象とする。本研究はヘルシンキ宣言に基づいた倫理原則を遵守し、「臨床研究に関する倫理指針（厚生労働省告示）」に従って実施する。

本研究計画遂行に当たっては「ヒトゲノム研究に関する基本原則」（科学技術会議生命倫理委員会）を十分に理解し、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針（平成13年3月29日文科科学省・厚生労働省・経済産業省共同告示第1号）（平成16年12月28日全部改正）（平成17年6月29日一部改正）（平成20年12月1日

一部改正)」を遵守して実施する。また、埼玉県立がんセンター倫理審査委員会に該当する研究を包含する研究申請を行い、承認済みである。

C．研究結果

2014年11月17日からJNBSGの分子診断・検体センターとして解析をスタートして、2015年2月25日までにJNBSG32症例を受け付け、29例を解析した。解析中が3例である。低・中間リスク該当症例は11/29症例であった。解析結果は、MYCNコピー数等倍11例であった。DNA含量ではdiploidy6 / 11例、Diploidy+Hyperdiploidy4 / 11例、未検査1 / 11例を示した。

D．考察

2014年11月17日からJNBSGの分子診断・検体センターとして解析をスタートし、順調に分子診断を行っている。
次期の低リスクプロトコールは「低リスク群神経芽腫に対する無治療経過観察」であり、中間リスクプロトコールは現状のプロトコールの継続が検討されている。いずれにしても、リスク分類にINRG分類を用いて国際標準化を検討することから、11qLOH解析を円滑に行う必要があり、マイクロアレイを使用して他のゲノムリスクの判定と共に行っていくことを検討していく。
今後も神経芽腫低・中間リスク症例の円滑な臨床試験の推進を目指して、ゲノム・病理リスク分類における分子診断を順調に行っていくことを継続したい。

E．結論

今年度から埼玉県立がんセンター臨床腫瘍研究所は、JNBSGの分子診断・検体センターとして解析をスタートした。2015年2月25日までにJNBSG32症例を受け付け、29例を解析した。

F．健康危険情報

特記なし。

G．研究発表

1. 論文発表

1-1. 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. 2014、50:1555-65.

1-2. 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. 2014

2. 学会発表

第56回小児血液・がん学会 「多診療科医師合同シンポジウム 難治性固形腫瘍を考える - 基礎から臨床まで：神経芽腫」

神経芽腫の基礎生物学 Basic Biology of Neuroblastoma

上條岳彦

H．知的財産権の出願・登録状況

特記なし。