

令和 2 年 5 月 22 日現在

機関番号：32665

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H04356

研究課題名(和文) バイオマーカーを指標とした小児腎腫瘍に対する新規治療開発

研究課題名(英文) A novel strategy for pediatric renal tumors using biomarkers as indicators

研究代表者

越永 従道 (KOSHINAGA, Tsugumichi)

日本大学・医学部・教授

研究者番号：70205376

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,100,000円

研究成果の概要(和文)：日本ウィルムス腫瘍スタディグループの成績では腎芽腫の予後は改善された。次世代シーケンサーとマイクロアレイ解析により、臨床的リスク分類と小児腎腫瘍バイオマーカーを組み合わせた新規のリスク分類(Low risk群：SNP arrayにて染色体異常を呈さないSilent群およびchr12増加を呈する腎芽腫、High risk群：chr12増加を呈さず11q欠失、16q欠失またはHACE1遺伝子領域欠失している腎芽腫、Intermediate risk群：WT1遺伝子異常を呈する腎芽腫とchr12増加と同時に11q欠失、16q欠失またはHACE1遺伝子領域欠失を呈する腎芽腫)を確立した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

臨床的リスク分類と小児腎腫瘍バイオマーカーを組み合わせた研究は、新しい試みである。腎芽腫の網羅的発現解析、DNAメチル化解析および標的遺伝子変異解析のデータと統合し、バイオマーカーを発見しようとする研究は、世界的に報告がなく、極めて革新的である。本研究が進める小児腎腫瘍に有用な新規バイオマーカー発見が期待され、わが国発の新リスク分類構築は分子標的治療開発をはじめプリジジョン医療(個別医療)の実現に道を開くものであり、社会的にも意義がある。

研究成果の概要(英文)：The results of the Japan Wilms Tumor Study Group (JWiTS-2) showed an improved prognosis for nephroblastoma. In this study, we establish a new risk classification that combines clinical risk classification and pediatric renal tumor biomarker with next-generation sequencer and microarray analysis. This risk classification is divided into three groups: low risk for the silent type and +12 subgroup; high risk for the no +12 plus 11q-, 16q-, or HACE1 loss subgroup; intermediate risk for the WT1 type and no +12 plus no 11q-, 16q-, or HACE1 loss subgroup.

研究分野：小児外科学

キーワード：小児がん 腎腫瘍 腎芽腫 バイオマーカー

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

小児腎腫瘍は、発症数が年間 40-70 例と少ないことから、全国規模さらにグローバルな治療研究が必須の領域である。従来から、全国規模での多施設共同治療研究が行われ、小児腎腫瘍においても日本ウィルムス腫瘍研究グループ(JWiTS)が設立され治療成績向上のために臨床研究を行ってきた。その結果、米国ウィルムス腫瘍スタディ(NWTS)や欧州を中心とした国際小児がん学会腎腫瘍委員会と同様に概ね 70-85%の患児が治癒する時代になってきた。2015 年には小児がんを包括的に研究対象とする小児がん研究グループ(JCCG)が設立された。ここに小児がんの治療・研究にオールジャパンの体制で臨むバックアップの基盤が整備され、中央病理診断だけでなく中央画像診断システムも稼働し始め臨床研究の基盤が準備された。

小児腎腫瘍は、1996 年から中央病理診断を導入した統一治療プロトコールによる全国規模の多施設共同臨床研究が開始され、現在までに全国 94 施設から 300 例以上の症例が登録され、欧米と同様の治療成績が得られるようになってきている(Pediatr Surg Int 2009; 25: 923-9.)。これは、集中的な大量化学療法と統一した放射線療法によるところが大きい。しかしこれらの治療にも関わらず、再発、死亡、腎機能障害などを呈する予後不良症例が 15%~20%程度にみられるなどの問題点も明らかになっている。特に JWIT-1 の成績では、病期 IV 腎芽腫(5 年無再発生存率 66%)や腎ラブドイド腫瘍(5 年全生存率 25%)は依然予後不良であることや、両側性腎芽腫では、化学療法と正常腎組織温存手術により 87%の生存率が得られているにも関わらず、治療 10 年以降には生存患児の 40%は腎機能障害に陥っていることも判明している。このような難治例への新規治療法開発や治癒後のサバイバーの晩期合併症の軽減への突破口としてゲノム異常に基づくリスク分類と分子標的治療開発が強く望まれている。

このたび JCCG 腎腫瘍委員会では、臨床的予後を考慮した小児腎腫瘍リスク分類を策定してきた。しかし、これを治療開発に応用するためには、臨床的リスク分類と小児腎腫瘍バイオマーカーを組み合わせた新規のリスク分類策定が必要である。

2. 研究の目的

小児腎腫瘍では、生物学的悪性度を規定する遺伝子変異や遺伝子異常に限られ、悪性度の高いラブドイド腫瘍や腎明細胞肉腫であっても、分子を標的とした創薬と薬剤選択の余地がある。一方、腎芽腫では、難治例と晩期合併症対策が喫緊の課題であり、ゲノム情報によるオーダーメイド医療により、早急な解決が求められている。我々は、次世代シーケンサーやマイクロアレイ解析データによる小児腎腫瘍データベースを蓄積しており、発生に関与する遺伝子異常に人種差が存在することを報告してきた。今後は腫瘍悪性度を層別化した臨床的リスク分類とともに、悪性度の高い腫瘍の分子標的を探索し分子診断用パネルとしての応用も十分期待出来る。また、晩期合併症軽減のため、細胞障害性抗癌剤に代えて、新規分子標的薬を使用するなどの新規治療の提案も可能である。本研究では臨床的リスク分類と小児腎腫瘍バイオマーカーを組み合わせた新規リスク分類策定を目的とする。

3. 研究の方法

(1) わが国における小児腎腫瘍治療成績(JWiTS-2)およびリスク分類の検討

本邦における Wilms 腫瘍に対する標準治療を確立し、治療成績を明らかにする目的で、全国から症例の登録が行なわれて中央病理診断および統一プロトコールによる治療が開始された。1996 年から現在までに、全国 94 施設から 300 例以上の腎腫瘍が日本 Wilms 腫瘍スタディグループ(JWiTS)に登録された。症例登録は、中央病理診断を受けたもののみ登録されており、国際的な病理組織分類を基準に再度分類し直し、国際比較が可能な状態とした。

すでに JCCG 腎腫瘍委員会が策定した治療プロトコールを用いて治療研究を遂行している各登録施設に調査票を配布して、予後調査を行なった。予後調査は毎年施行しているが、有害事象などの報告義務が課されているため、各施設は事務局からの問い合わせ(CRF)には回答する義務が生じる。JCCG の前進である JWITS 臨床研究からの登録症例については引き続き予後調査を行っている。病期、転移の有無と転移部位、治療内容と治療期間、合併症の有無、転帰などの項目調査を行なった。さらに再発した症例に関しては、再発の時期、再発部位と再発に対する治療、その効果を調査する。調査した項目はデータセンターに集積して、 Kaplan-Meier 法を用いたリスク別病理組織型、病期、年齢別の生存に関する統計解析を行った。登録受付は成育医療研究センター小児がん登録室にて行い、登録番号が付され匿名として管理されている。そこで、症例 2 次登録につき、詳細不完全なものはすべて臨床情報を登録室にて明らかにさせてから、症例の検討に入った。

(2) 臨床的リスク分類と小児腎腫瘍バイオマーカーを組み合わせた新規リスク分類策定

腎芽腫切除検体を対象に、SNP アレイ CGH 解析(Affymetrix Mapping 250K-Nsp arrays)を実施する。遺伝子発現アレイ解析(Affymetrix, human gene 1.0 ST arrays)を行い、定量 RT-PCR 法にて、+12 型腫瘍の CDK4 発現など、アレイデータの検証を行う。WT1 異常、+12 のないその他群 30 例を対象にして、エクソーム解析で変異が報告されている 25 遺伝子を選択し標的遺伝子変異解析(ターゲットキャプチャー法)を実施した生物学的予後因子の検索結果と、病期、年齢などの臨床的因子を組み合わせ、遠隔転移、再発、死亡などの予後不良因子との関連を多変量解析にて解析し、予後不良と強い相関を示す因子を特定した。手術によって得られた切除(生検)検体の病理組織標本は JCCG 検体センターへ送付され中央病理診断に供される。一方遺伝子研究の承諾が得られた症例に関しては、凍結腫瘍組織および正常腎組織が検体センターに送付され、凍結保存され、必要に応じて遺伝子解析研究施設(埼玉県立がんセンター)に供した。

(3) 国際共同研究

国際小児がん学会(SIOP)の腎腫瘍委員会は、学術集会とは別に欧州を中心として各都市において毎年 6 月に開催されている。このミーティングには米国 Children's Oncology Group(COG)からも参加者のあるグローバルな小児腎腫瘍臨床研究ミーティングである。われわれは毎年このミーティングに参加し、われわれの研究進捗について報告している。国際共同研究も視野にいられたグローバルなミーティングにおいて、わが国として国際共同研究への道を模索した。

4. 研究成果

(1) わが国における小児腎腫瘍治療成績(JWiTS-2)およびリスク分類の検討

臨床的な小児腎腫瘍リスク分類に基づく標準治療プロトコルは、日本ウィルムス腫瘍スタディグループの結果から、概ね満足すべき成果が得られていることがわかった(*Pediatr Blood Cancer* 2018; 65: e27056.)。特に腎腫瘍のうち腎芽腫については、予後は極めて良好であり、JWiTS2-プロトコルは JWiTS1-プロトコルにくらべて患児の予後が改善されていることが明らかになった(図 1)。これは、米国、ヨーロッパ諸国と同等またはそれ以上の成績であった。しかし予後が極めて不良であったのは、ラブドイド腫瘍と明細胞肉腫であった(図 2)。特に腎ラブドイド腫瘍の発生頻度は小さいが、その予後は極めて不良であり、国際的な共同研究の必要性が示唆された。

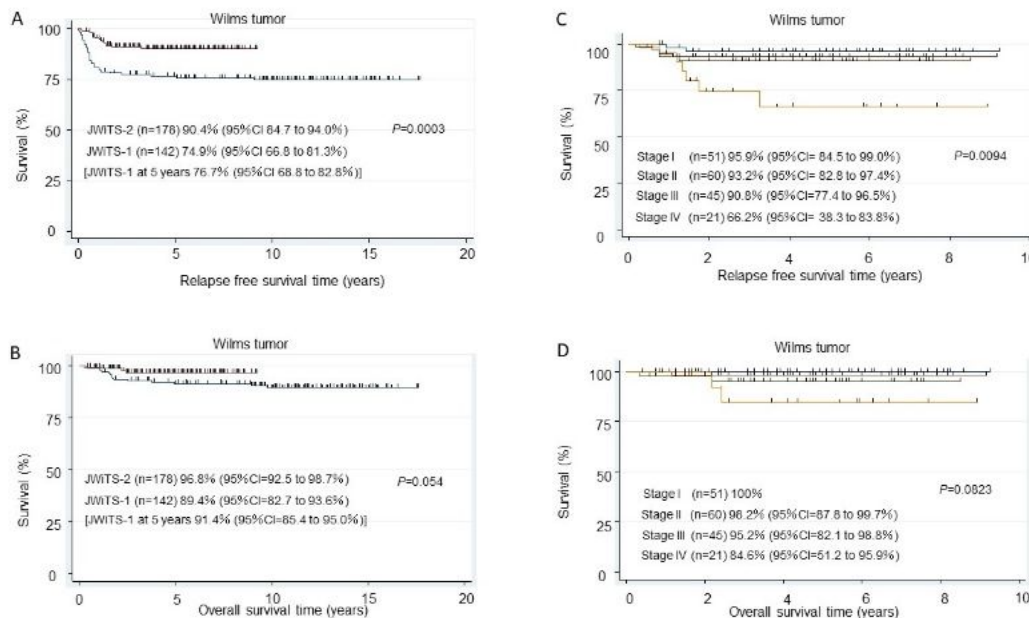


図 1 腎芽腫の生存率(JWiTS-1 vs. -2)

また、海外または国内では腎芽腫の一亜型である blastemal type 腎芽腫の予後は不良であると報告があったため、すでに蓄積した腎芽腫症例を国際分類に則って再度病理診断を行った。その結果国内の blastemal type は症例数が少なく、予後はやや不良ではあるが、生存率にはそれ以外の腎芽腫との有意差はなかった(図 3; *Pediatr Int* 2019; 61(4): 351-7.)。この結果から、わが国における腎芽腫 blastemal type の成績も欧米の報告と一致することが確認でき、国際共同研究開始に当たって共通の基盤になると考えられた。

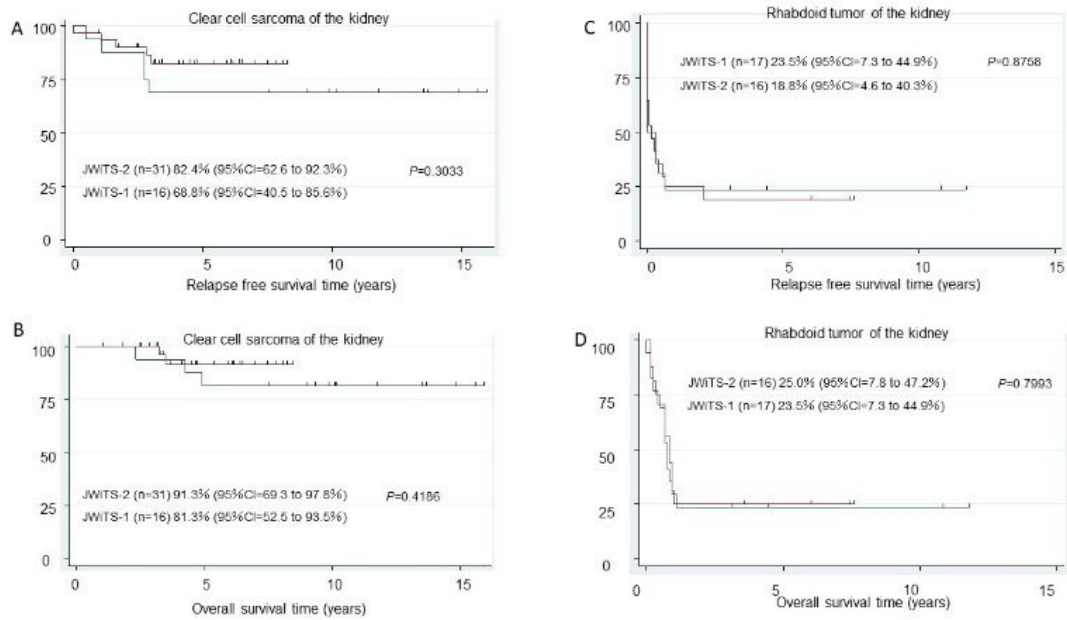


図 2 腎明細胞肉腫と腎ラブドイド腫瘍の生存率(JWiTS-1 vs. -2)

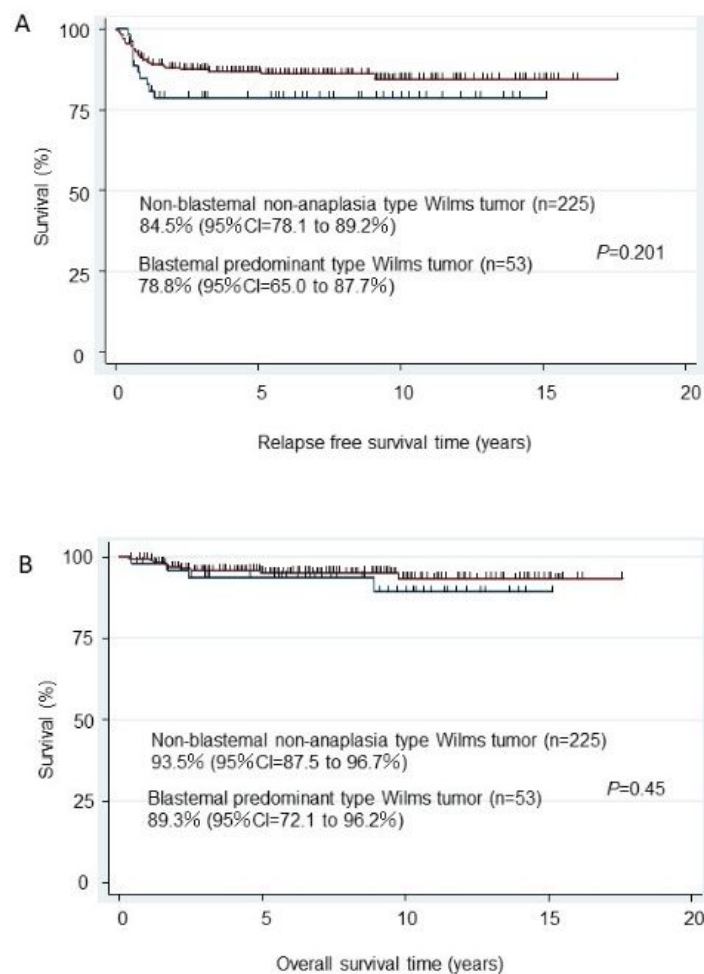


図 3 腎芽腫 Blastemal type 生存率

(2) 臨床的リスク分類と小児腎腫瘍バイオマーカーを組み合わせた新規リスク分類策定

分子生物学的特徴を加え新たなリスク分類を提唱すべく検討を行った結果、染色体・遺伝子異常と予後解析を行ない、腎芽腫の risk 分類を染色体・遺伝子異常により新たに定義することができた(*Neoplasia* 2019; 21: 117-31)。chr12 に位置する予後良好と関連する遺伝子を同定するため、chr12 増加を呈した腎芽腫とそうでない予後不良腎芽腫で発現に差がある遺伝子を網羅的発現解析により同定した(chr12: 146 遺伝子)。発現データベースでは 146 遺伝子のうち 75 遺伝子が予後良好症例で高発現しており、real time PCR にて chr12 に位置する *KRAS* や *CDK4* 遺伝子などの複数遺伝子の高発現を確認した。また、同様に予後不良と関連する 16q に位置する 10 遺伝子が予後不良腎芽腫で発現が減少していることを明らかにした。以上から、Low risk 群：SNP array にて染色体異常を呈さない Silent 群および chr12 増加を呈する腎芽腫、High risk 群：chr12 増加を呈さず 11q 欠失、16q 欠失または *HACE1* 遺伝子領域欠失している腎芽腫、Intermediate risk 群：WT1 遺伝子異常を呈する腎芽腫と chr12 増加と同時に 11q 欠失、16q 欠失または *HACE1* 遺伝子領域欠失を呈する腎芽腫、の 3 群に分類可能であることを示した。

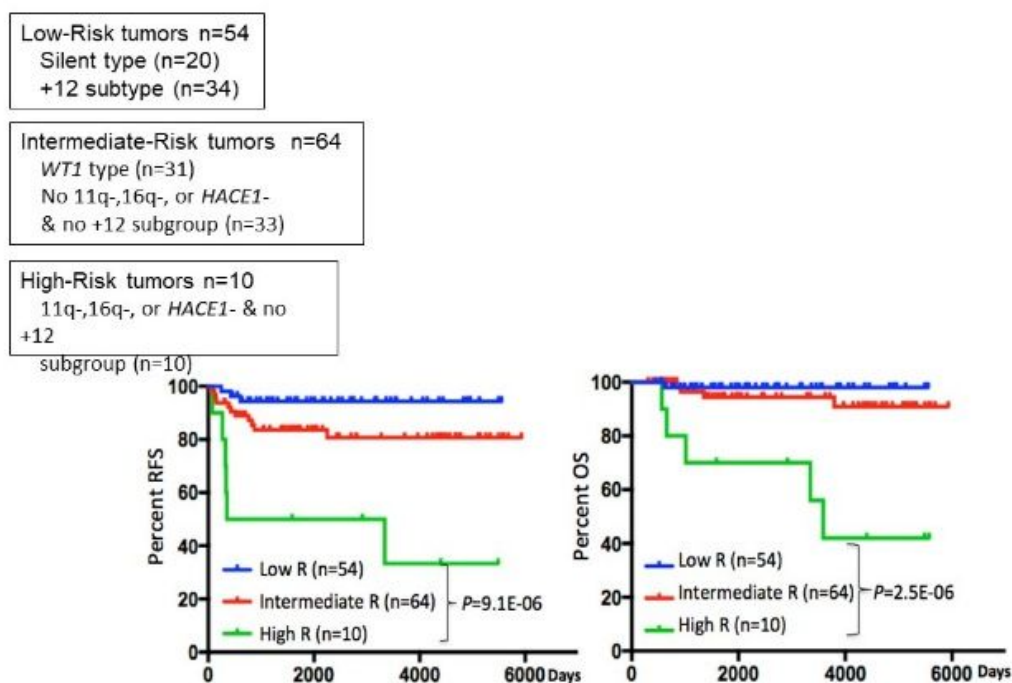


図 4 新規腎芽腫リスク分類による生存率

(3) 国際共同研究

以上から良好な腎芽腫の解析については国内だけではなく海外諸国との共同研究が必要であると認識するに至った。そこで国際小児がん学会(SIOP)腎腫瘍研究グループとの共同研究として Umbrella Protocol を採用することとし、わが国として国際共同研究に参加することとした。包括的研究計画書はほぼ完成している。症例登録については、日本小児がん研究グループ(JCCG) 固形腫瘍観察研究のデータベースを、病理診断と画像診断には JCCG のシステムを利用して中央管理する準備は整った。臨床プロトコールについては、すでに特定臨床研究として提出、審査中であるが、わが国における小児薬用量が定まっていない薬剤が含まれているため、介入研究として立案している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Haruta M, Arai Y, Okita H, Tanaka Y, Takimoto T, Sugino RP, Yamada Y, Kamijo T, Oue T, Fukuzawa M, Koshinaga T, Kaneko Y.	4. 巻 21
2. 論文標題 Combined Genetic and Chromosomal Characterization of Wilms Tumors Identifies Chromosome 12 Gain as a Potential New Marker Predicting a Favorable Outcome.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Neoplasia	6. 最初と最後の頁 117-31
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neo.2018.10.007.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Sato Y, Haruta M, Kaneko Y, Nakasato Y, Kurosawa H, Yoshihara S.	4. 巻 66
2. 論文標題 Paternally inherited WT1 mutation plus uniparental disomy of 11p may be an essential mechanism for development of WT1-mutated familial Wilms tumor.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Pediatric blood & Cancer	6. 最初と最後の頁 e27442-27442
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/pbc.27442.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Koshinaga T, Takimoto T, Okita H, Tanaka Y, Inoue E, Oue T, Nozaki M, Tsuchiya K, Haruta M, Kaneko Y, Fukuzawa M.	4. 巻 61
2. 論文標題 Blastemal Predominant Type Wilms Tumors in Japan: Japan Children's Cancer Group.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Pediatrics International	6. 最初と最後の頁 351-357
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ped.13811.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Koshinaga Tsugumichi, Takimoto Tetsuya, Oue Takaharu, Okita Hajime, Tanaka Yukichi, Nozaki Miwako, Tsuchiya Kunihiro, Inoue Eisuke, Haruta Masayuki, Kaneko Yasuhiko, Fukuzawa Masahiro	4. 巻 65
2. 論文標題 Outcome of renal tumors registered in Japan Wilms Tumor Study-2 (JWiTS-2): A report from the Japan Children's Cancer Group (JCCG)	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Pediatric Blood & Cancer	6. 最初と最後の頁 e27056 ~ e27056
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/pbc.27056	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 越永 従道, 川島 弘之, 金田 英秀, 古屋 武史, 大橋 研介, 上原 秀一郎	4. 巻 49
2. 論文標題 腎芽腫の病態と治療	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 小児外科	6. 最初と最後の頁 945-950
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 越永従道	4. 巻 81増刊
2. 論文標題 腎腫瘍	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 小児科診療	6. 最初と最後の頁 506-507
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計10件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Kaneko Y, Haruta M, Arai Y, Sugino RP, Kamiyo T, Okita H, Tanaka T, Takimoto H, Oue T, Nozaki M, M Chin, Fukuzawa M, Koshinaga T.
2. 発表標題 Prognostic Significance of Chromosome Abnormalities in Wilms Tumor may be Causally Related to Upregulation or Downregulation of Genes on Extra Chromosomes or Lost Chromosome Arms.
3. 学会等名 The 50th Congress of International Society of Paediatric Oncology, Kyoto, 京都国際会館, 2018.11.19 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 春田雅之, 新井康仁, 大喜多肇, 上條岳彦, 野崎美和子, 大植孝治, 福澤正洋, 越永従道.
2. 発表標題 Genetic and chromosomal characterization defines favorable or unfavorable outcomes in Wilms tumor patients.
3. 学会等名 第77回日本癌学会総会学術集会, 大阪, 大阪国際会議場, 2018.9.27
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 大植孝治, 越永従道, 福本弘二, 宗崎良太.
2. 発表標題 腎腫瘍におけるInitial Surgical Interventionに関する最近の話題(シボジウム小児悪性固形腫瘍に対するinitial surgical interventionのあり方).
3. 学会等名 第60回日本小児血液・がん学会学術集会, 京都, ロームシアター京都, 2018.11.14
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 越永従道.
2. 発表標題 小児泌尿器科腫瘍 (ワークショップ 小児腎腫瘍の治療戦略)
3. 学会等名 第27回日本小児泌尿器科学会総会, 金沢, 金沢東急ホテル, 2018.6.28
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kaneko Y, Haruta M, Kamiyo T, Arai Y, Okita H, Tanaka T, Takimoto H, Nakadate H, Oue T, Nozaki M, M Chin, Koshinaga T, Fukuzawa M.
2. 発表標題 The lower incidence of Wilms tumor in Japan than in Caucasian countries: Molecular background of the difference.
3. 学会等名 SIOP-RTSG COMMITTEE MEETING (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Okita H, Tanaka T, Kaneko Y, Haruta M, Kamiyo T, Arai Y, Takimoto H, Nakadate H, Oue T, Nozaki M, M Chin, Koshinaga T, Fukuzawa M.
2. 発表標題 Pathological analysis of the Renal tumors Registered to the Japan Wilms Tumor Study Group
3. 学会等名 SIOP-RTSG COMMITTEE MEETING (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Masayuki Haruta, Yasuhito Arai, Hajime Okita, Yukichi Tanaka, Tetsuya Takimoto, Ryuichi P. Sugino, Miwako Nozaki, Takaharu Oue, Takehiko Kamijo, Tsugumichi Koshinaga, Masahiro Fukuzawa, and Yasuhiko Kaneko
2. 発表標題 Genetic and chromosomal characterization correlated with favorable or unfavorable outcomes in Wilms Tumor
3. 学会等名 第59回日本小児血液・がん学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 大植孝治、佐々木隆士、安藤清宏、越永従道
2. 発表標題 日本ウィルムス腫瘍スタディグループの臨床試験結果からみた小児腎腫瘍に対する外科的アプローチと治療戦略 験
3. 学会等名 第79回臨床外科学会総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 福本 弘二, 越永 従道, 大植 孝治, 宗崎 良太, 福澤 正洋, 矢本 真也, 高橋 俊明, 関岡 明憲, 野村 明芳, 大山 慧, 山田 豊, 漆原 直人
2. 発表標題 JCCGの外科療法委JCCGの外科療法委員会の取り組み 腎芽腫の手術
3. 学会等名 第54回日本小児外科学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 越永 従道, 上原 秀一郎, 古屋 武史, 金田 英秀, 大橋 研介, 川島 弘之
2. 発表標題 小児がんの外科治療
3. 学会等名 第55回日本癌治療学会学術集会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	野崎 美和子 (NOZAKI Miwako) (10175523)	獨協医科大学・医学部・教授 (32203)	
研究分担者	瀧本 哲也 (TAKIMOTO Tetsuya) (40393178)	国立研究開発法人国立成育医療研究センター・研究所小児がん疫学臨床研究センター・室長 (82612)	
研究分担者	陳 基明 (CHIN Motoaki) (50277422)	日本大学・医学部・准教授 (32665)	
研究分担者	大植 孝治 (OUE Takaharu) (50314315)	兵庫医科大学・医学部・教授 (34519)	
研究分担者	大喜多 肇 (OKITA Hajime) (50317260)	慶應義塾大学・医学部(信濃町)・准教授 (32612)	
研究分担者	井上 永介 (INOUE Eisuke) (50528338)	聖マリアンナ医科大学・医学部・教授 (32713)	
研究分担者	春田 雅之 (HARUTA Masayuki) (80392190)	埼玉県立がんセンター(臨床腫瘍研究所)・臨床腫瘍研究所・研究員 (82402)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	谷ヶ崎 博 (YAGASAKI Hiroshi) (90378141)	日本大学・医学部・准教授 (32665)	
研究 分 担 者	安藤 清宏 (ANDO Kiyohiro) (10455389)	昭和大学・大学共同利用機関等の部局等・講師 (32622)	