

機関番号：17102
 研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2009～2010
 課題番号：21791733
 研究課題名（和文） 小児固形悪性腫瘍に対するテーラーメイド型治療へ向けての SNP アレイ解析
 研究課題名（英文） SNP array analysis for the tailor made treatment of the solid malignant tumor in children
 研究代表者
 田中 桜（TANAKA SAKURA）
 九州大学・医学研究院・共同研究員
 研究者番号：40467923

研究成果の概要（和文）：

神経芽腫の最も強力な予後因子である MYCN 遺伝子の存在する 2p 領域について詳細な解析を行い、2p 領域の状態に応じて、予後に差があることを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：

We determined the status of 2p region of neuroblastomas by SNP array. The MYCN gene which is the strongest prognostic factor of the neuroblastoma is located at 2p region. we revealed that the state of the 2p region affect the prognosis of neuroblastoma patients.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2010年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医師薬学

科研費の分科・細目：小児外科

キーワード：テーラーメイド型治療、SNP array

1. 研究開始当初の背景

小児悪性腫瘍の中において、神経芽腫、Wilms腫瘍や肝芽腫などの固形悪性腫瘍の頻度は高く、全小児がん患者中、神経芽腫は白血病に次いで約14.5%、Wilms腫瘍は4.5%、肝芽腫は2.6%を占めている。これらの悪性腫瘍の治療成績は近年のグループスタディの発展により改善しているとはいえ、3つの小児固形腫瘍の中で最も治療成績

の良いWilms腫瘍で、stage 1の5年生存率が78.5%、stage4の進行神経芽腫では40%、病期 3の肝芽腫に至っては29%といった現状である。（日本小児固形悪性腫瘍委員会1996-2000年登録症例について 日小外会誌 第44巻6号 2008）

このような低い生存率の原因としては、小児固形腫瘍における生物学的な多様性が挙げられる。神経芽腫において、生物学的悪性度

が腫瘍により大きく異なることが知られており、転移再発を繰り返し腫瘍死するものから自然退縮するものまで様々なものが存在する。よって、神経芽腫のグループスタディである JNBSG のプロトコールにおいても治療前に開腹生検を行い、MYCN 遺伝子をはじめとする予後因子を検索し、その増幅の有無により化学療法の選択等が行われている。しかしながら、MYCN 遺伝子が非増幅の症例の中でも、aggressive な経過をとる症例が存在しており、MYCN 遺伝子だけでは十分予後を反映しているとはいえない。実際、神経芽腫において MYCN 遺伝子の増幅以外にも 1p loss や 11q loss, 17p gain、ALK 遺伝子の変異などさまざまな染色体・遺伝子の異常が報告され(図 1) 予後との相関が指摘されている

今回、我々は、SNP アレイを用いて、小児固形悪性腫瘍に対して全染色体を網羅的に検索し、テーラーメイド型治療の導入へ発展させことを目標とした。

2 . 研究の目的

今回我々は、SNP-array を用いて、代表的な小児固形腫瘍である神経芽腫について全染色体レベルで遺伝子の増幅、欠失を一度に網羅的に検索し、遺伝子・染色体異常に基づいてそれらを分類し予後などの臨床情報と比較することで、小児固形腫瘍の正確な悪性度の層別化、及びテーラーメイド型治療の導入を行うことを研究目的とした。

3 . 研究の方法

神経芽腫・Wilms 腫瘍・肝芽腫検体より抽出した DNA に対して、SNP-array で全染色体/遺伝子解析を行い、その結果と予後と比較しテーラーメイド型治療導入へ向けての、層別化を行う。また、3 種類の小児固形悪性腫瘍に共通した染色体/遺伝子異常を認めれば、

それについて、詳細な検討を行う。

.SNP-array による解析

対象

1980 年から 2008 年までに当科で治療を行った神経芽腫 50 例を検体とした。

腫瘍組織からの DNA 抽出

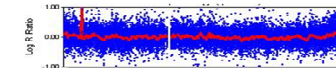
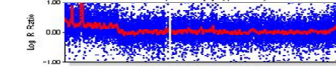
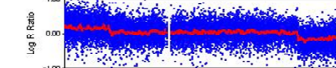
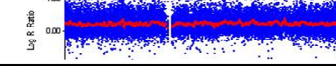
凍結保存されていた組織から QIAamp DNA Mini Kit を用いて DNA を抽出した。

<Human CMV370-Duo(Illumina)>

抽出した DNA を用いて 370000SNPs Human CMV370-Duo(Illumina)を用いて検討した。

4 . 研究成果

神経芽腫 50 検体に対して、神経芽腫の最も強力な予後因子である MYCN 遺伝子の存在する 2p 領域について詳細な解析を行った。50 例の解析によると、7 例に MYCN 遺伝子領域のみの高度増幅(MYCN 増幅)を認め、2 例に MYCN 増幅と 2 番染色体短腕の gain(2p gain)の合併、9 例に 2p gain のみを認め、残りの 32 例には MYCN 増幅及び 2p gain を認めなかった。

The status of Chr. 2p	2p gain	MYCN amp.
	(-)	(+)
	(+)	(+)
	(+)	(-)
	(-)	(-)

SNP array において 2p gain のみ認めた 9 例の 5 年生存率は 71.4%で、2p の変化のなかった 32 例の 90.6%と比較して有意に予後不良な傾向があったが明らかな有意差は認めなかった。それに比較して、MYCN 増幅症例の予後は 37.5%と有意に予後不良であった。しかし、2p gain の症例は 11q loss のような他

の予後に影響を与えると考えられている染色体変化を合併する率が、2p に異常がない症例に比べて有意に高く、それらが予後に影響を与えている可能性が示唆された。

今回の検討で、MYCN 遺伝子の存在している 2p の状態をより詳細に詳細に検討することで、テーラーメイド型治療を開発できる可能性が示唆された。

以上の結果を得ている。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 6 件)

Tajiri T, Souzaki R, Kinoshita Y, Tanaka S, Koga Y, Suminoe A, Hara T, Kohashi K, Oda Y, Masumoto K, Ohira M, Nakagawara A, Taguchi T, Concordance for neuroblastoma in monozygotic twins: Case report and review of the literature, J Pediatr Surg, 査読有、45 巻、2010、2312-2316

田尻達郎、木下義晶、宗崎良太、田中 桜、東 真弓、孝橋賢一、田口智章、神経芽腫の治療 -外科的立場から-、小児がん、査読有、47 巻、2010、40-45

Tajiri T, Souzaki R, Kinoshita Y, Tanaka S, Koga Y, Suminoe A, Matsuzaki A, Hara T, Taguchi T, Risks and benefits of ending of mass screening for neuroblastoma at 6 months of age in Japan, J Pediatr Surg, 査読有、44 巻、2009、2253-2257

Komaru A, Ueda Y, Furuya A, Tanaka S, Yoshida K, Kato T, Kinoh H, Harada Y, Suzuki H, Inoue M, Hasegawa M, Ichikawa T and Yonemitsu Y, Sustained and NK/CD4+ T Cell-Dependent Efficient Prevention of Lung Metastasis Induced by Dendritic Cells Harboring Recombinant Sendai Virus, The Journal of Immunology, 査読有、183、2009、4211-4219

Duan X, Yonemitsu Y, Chou B, Yoshida K, Tanaka S, Hasegawa M, Tetsutani K, Ishida H, Himeno K, Hisaeda H, Efficient protective immunity against Trypanosoma

cruzi infection after nasal vaccination with recombinant Sendai virus vector expressing amastigote surface protein-2, Vaccine, 査読有、27 巻、2009、6154-6159

Tatsuta K, Tanaka S, Tajiri T, Shibata S, Komaru A, Ueda Y, Inoue M, Hasegawa M, Suita S, Sueishi K, Taguchi T, and Yonemitsu Y, Complete Elimination of Established Neuroblastoma by Synergistic Action of g-Irradiation and DCs Treated with rSeV expressing Interferon- β Gene, Gene Therapy, 査読有、16 巻、2009、240-251

〔学会発表〕(計 2 件)

田中 桜、神経芽腫に対する放射線併用新規免疫遺伝子治療の開発、第 26 回日本小児がん学会学術集会、2010 年 12 月 18 日、大阪国際会議場(大阪府)

宗崎良太、田尻達郎、田中 桜、木下義晶、田口智章、神経芽腫における FISH 法による MYCN gain と SNP array による 2p gain の検討、第 46 回日本小児外科学会学術集会、2009 年 6 月 1 日、大阪国際会議場(大阪府)

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究代表者

田中 桜 (TANAKA SAKURA)

九州大学・医学研究院・共同研究員

研究者番号：4 0 4 6 7 9 2 3

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：