

(別紙1)

総 括 研 究 報 告 書

課題番号：26-20

課 題 名：小児がんの登録・中央診断の推進を基盤とする病態解明と先駆的診断法開発

清河信敬

国立成育医療研究センター

研究所小児血液・腫瘍研究部・部長

(研究成果の要約) 先行研究を通じて開発・構築してきたシステムを運用し、国内におけるすべての小児がん患者を対象とする症例登録・放射線中央診断、白血病のキメラ遺伝子スクリーニング、MRD 解析を実施した。小児固形腫瘍観察研究の累積一次登録例数は、2018 年 11 月 30 日時点で 4,102 例であり、そのうち 3,890 例 (95%) で中央診断後の余剰検体保存の同意が得られている。また、一次登録症例のうち 2,717 例 (67%) が二次登録されている。放射線中央診断では、7 つのすべての小児固形がんの中央画像診断が行われることになった。また肝芽腫の中央画像診断は国際臨床試験である PHITT の中央画像診断本年 10 月よりスタートすることができた。日本小児白血病リンパ腫研究グループ (JPLSG) が実施する急性リンパ性白血病を対象とする臨床試験参加症例を対象として、既知の白血病関連キメラ遺伝子のスクリーニングを行い、ALL-B12 (2012~2018 年度累計 1992 例)、ALL-T11 (2011~2018 年度累計 339 例)、CHM-14 (2015~2018 年度累計 428 例) を解析した。ALL 例の内 *BCR-ABL* 検出例は、ALL-Ph13 臨床試験対象例として取り扱われた。新たな遺伝子異常として同定した *ZNF384* 関連融合遺伝子と *MEF2D*-関連融合遺伝子については、定量 PCR による検出系を確立し、既知の *P2RY8-CRLF2* および *EBF1-PDGFRB* と合わせて、ALL の融合遺伝子スクリーニング検査として日常診療の中で実施する体制を整え、当初の目標を達成した。小児 ALL、リンパ腫等のリンパ系腫瘍患者を対象として、腫瘍細胞のクロナリティの解析、および治療後の骨髄 MRD レベルを免疫受容体 (Ig/TCR) 遺伝子再構成を利用した RQ-PCR による MRD の定量的な測定を行い、その結果と治療反応性や予後との関連を検討した。また、次世代シーケンサーを用いたターゲットキャプチャー・シーケンスによる患者特異的な **MRD** 評価用マーカーのスクリーニング方法を開発した。同法を活用することにより、従来法に比して、効率よく、かつ高感度を実施することが可能となった。ALL の PCR-MRD 解析については、治療層別化法として、当該年度に保険収載されたため、当該研究課題は一定の役割を果たしたと考えられる。

1. 研究目的

本研究でこれまでに確立してきたシステムを運用して、小児がんの登録と中央診断を推進し、国内発症のすべての小児がん患者に対し、国際的に最高水準の、標準化/均てん化された診断を提供して、わが国の小児がん診療 (臨床研究) の質の向上への貢献を目指す。同時に、余剰検体の研究利用を目的としたバイオリソース構築、その分子解析を進める。成果として集積された、臨床情報とこれに連結した診断・分子情報を統合解析する事により、わが国の小児がん発症の実態を明らかにし、各疾患の病態解明研究、正確で簡便な診断法や難治例を早期に鑑別して治療層別化を可能にする先進的検

査法の開発を行ない、その成果を迅速に中央診断に反映する事で、小児がんの治療成績向上や、小児がん患者の QOL 向上への貢献を目指す。

1) 国内で統一された小児がん臨床試験を支援するための 症例登録 (固形腫瘍)、中央診断 (診断確定と治療層別化のための 病理・遺伝子・細胞マーカー診断、MRD 診断、放射線診断)、臨床検体保存を実施し、長期継続可能な体制の確立を図る。

2) すべての小児がん患者を対象に、臨床情報と連結した診断・分子特性情報を体系的に収集して、わが国における小児がん発症の実態を明らかにし、病態解明への応用を目指す。

3) 診断・分子特性情報を臨床情報と相關的に解析し、臨床検体の分子解析研究や基礎実験を併用して診断標的因子を同定し、正確で明確な診断や治療層別化を可能にする、先進的検査法を開発する。

以上により、本邦の小児がん診療における治療成績向上や晩期合併症軽減への貢献を目指す。

研究期間の具体的到達目標として、5 年分（研究期間）の国内のすべての小児がん患者を対象とする体系的・網羅的診断情報を収集するとともに、中央診断実施に対する評価の確定と、それに基づく将来の方向性についての提言を行なう。上記解析を通じ、5 件の新規検査法あるいは検査項目の開発、研究期間中に 1 件の先進医療への申請を目指す。

2. 研究組織

研究者	所属施設
清河信敬	国立成育医療研究センター
瀧本哲也	国立成育医療研究センター
宮 寄 治	国立成育医療研究センター
松本公一	国立成育医療研究センター
堀 壽 成	愛知医科大学
福島紘子	筑波大学
眞田 昌	国立名古屋医療センター

3. 研究成果

症例登録（固形腫瘍）：

昨年度までにひき続いて、日本小児がん研究グループ（JCCG）が実施している小児固形腫瘍観察研究の登録実務を行った。小児固形腫瘍観察研究の累積一次登録例数は、2018 年 11 月 30 日時点で 4,102 例であり、そのうち 3,890 例（95%）で中央診断後の余剰検体保存の同意が得られている。また、一次登録症例のうち 2,717 例（67%）が二次登録（何らかの臨床試験あるいは小児固形腫瘍観察研究への登録）されている。

本年度はまた、昨年度に構築した小児固形腫瘍観察研究と日本小児血液・がん学会登録/日本小児外科学会悪性腫瘍登録（統合学会登録）の共通オンライン登録システムの実装作業を行っている。統合学会登録については、2018 年 6 月から運用が開始されており、このシステムを用いて 2017 年発症の固形腫瘍 1,115 例が登録され、日本小児

血液・がん学会で公表された。システム運用開始後の問題もほとんど生じていない。統合学会登録と小児固形腫瘍観察研究との連携機能については、本年中の実装を目指して現在なお作業を継続している。

同じく昨年度に、国立がん研究センターの間で合意された「40 歳未満の院内がん登録データ」の成育での集計については、国ががんから提供された 2016 年発症分データについて集計を実施したが、厚生労働大臣が定める指針に合致しないとの指摘があり、公表は控えることとなった。今後は、公表のために大臣指針の変更を目指す方針となったが、これとは別に本年度の集計作業で明らかになった、分類の基本となる米国 SEER による分類と現行の院内がん登録における分類との間の整合性について国がんと協議を行う等、40 歳未満の院内がん登録データの集計にむけた作業は継続している。

中央放射線診断：

小児がんについての中央放射線診断・治療の均てん化に関する研究小児がんの中央画像診断は 2015 年 4 月に JCCG の画像診断委員会開設とともに肝芽腫、神経芽腫、横紋筋肉腫などからスタートしたが、この 3 年間で脳腫瘍（上衣腫）、腎腫瘍、ユーイング肉腫と順次追加し、本年度に最後の固形腫瘍グループである胚細胞腫瘍の中央画像診断が開始された。これにより 7 つのすべての小児固形がんの中央画像診断が行われることになった。また肝芽腫の中央画像診断は国際臨床試験である PHITT の中央画像診断本年 10 月よりスタートすることができた。

白血病キメラ遺伝子中央診断：

小児急性リンパ性白血病の初発キメラ遺伝子スクリーニング（9 種類）診断時解析を、全国診療施設からの授受、解析、結果報告までスムーズに行うことが可能だった。今年度前半（2018/4/1-2018/10/30）では、220 検体を受託し、全検体で解析が可能であった。この内 58 検体でキメラ遺伝子が検出され、検出率は 26.4%であった。全ての症例で 14 日以内に結果を返却することが可能であった。これまで 2010 年度からの累積では、総検体数が 2,048、解析可能検体数が 2,004 であった。このうちキメラ遺伝子が検出され

たものが 795 であり、全体の 28.0%であった。本研究班の目的である全国の小児急性リンパ性白血病患者の初発時キメラ遺伝子スクリーニングの体制は研究費補助の中でうまく機能した。また、ニロチニブ使用時における肝機能障害と UGT1A1 多型との関連がこれまでに報告されているが、日本人小児患者ではこれまで評価がされていなかった。この点につき、薬剤部との協力の下、小児慢性骨髄性白血病患者に対し、ニロチニブの副作用並びに UGT1A1 多型との関連解析を行うための解析体制の整備を行い、今年度中に受け入れを開始する計画としている。

この研究課題においてこれまでに急性リンパ芽球性白血病 (ALL) の新たな亜群を規定する遺伝子異常として同定した *ZNF384* 関連融合遺伝子 (*TCF3-ZNF384*, *EP300-ZNF384*, *CREBBP-ZNF384*, *TAF15-ZNF384*, *EWSR1-ZNF384*) と *MEF2D*-関連融合遺伝子 (*MEF2D-BCL9*, *MEF2D-HNRNPUL1*) については、定量 PCR による検出系を確立し、既知の *P2RY8-CRLF2* および *EBF1-PDGFRB* と合わせて、ALL の融合遺伝子スクリーニング検査として日常診療の中で実施する体制を整え、当初の目標を達成した。

白血病 MRD 中央診断：

最終年度のまとめとして、愛知医科大学で施行した RQ-PCR による MRD 測定症例の全例における Ig/TCR 遺伝子再構成の検出状況とその MRD 測定への適応性を解析した。方法：2003 年から 2018 年までに ALL と診断され、Euro-MRD ガイドラインに基づいて MRD 測定を行った全症例を対象に、Ig/TCR 遺伝子再構成の検出率、MRD 測定における感度等を評価した。結果：対象症例数は 1,441 例で、検体不足症例を除いた解析対象症例は 1,334 例であった。その疾患内訳は、初発 84%、再発 16%、BCP-ALL が 54%、T-ALL が 35%、乳児白血病 8%、その他が 3%であった。1,334 例のうち、再構成検出不能例は 187 例 (14%)、再構成の感度不足が 75 例 (5.6%) で MRD 測定可能症例は 1,072 例 (80.4%)、このうち測定検体がそろった症例は 930 例で MRD 測定完了例は 78%であった。疾患別の再構成検出率はそれぞれ BCP-ALL で 90.3%、T-ALL で 70.5%、乳児白血病では

59.4%であった。有効な再構成が検出できた 930 例で、その測定感度は 10 の⁻⁴ 乗以下が 98%であった。結論：本邦の MRD 測定症例の多くの部分を網羅したデータにおいて、世界水準の測定精度を検証できたが、T-ALL、乳児白血病の MRD 測定については低い再構成検出率が今後の課題で、次世代シーケンサーを導入した新たなアプローチが必要と考えられる。

日本小児白血病リンパ腫研究グループ (JPLSG、JCCG 血液腫瘍分科会) で初発 B-ALL を対象に実施された治療研究 B-12 研究において、平成 30 年 4 月～12 月までに計 133 例の PCR-MRD による 微小残存病変 (MRD) 評価を行った。Ig/TCR 再構成を用いた MRD 評価可能例は、約 93%であった。PCR-MRD については、Euro-MRD のプロトコールに基づき実施し、QC 試験に参加し、測定の質管理を行っている。これまでの先進医療ならびに中央診断としての実績に基づき、平成 30 年 4 月に急性リンパ性白血病に対する PCR-MRD 測定が保険収載され、現在、衛生検査所への技術移管含め、実施体制の構築を進めている。従来法での PCR-MRD は、技術的に煩雑であり、多数検体の処理に不向きであることから、衛生検査所への技術移管を想定し、次世代シーケンサーを用いたスクリーニング方法を確立した。Euro-MRD においても同様の試みが検討されており、実用化に向けた検討を行った。

ALL の PCR-MRD 解析については、治療層別化法として、当該年度に保険収載されたため、当該研究課題は一定の役割を果たしたと考えられる。

固形腫瘍の病理・分子中央診断と血液腫瘍の細胞マーカー中央診断は、財源確保自立化を目指して、今年度より 30 指-2 として分離された。本研究班で実施した過去 4 年間の中央診断情報と今年度 30 指-2 で実施した中央診断の情報と合わせて、過去 5 年間の国内の小児がんの大部分の症例を網羅する診断情報が取得され、現在、国内における小児がん発症の実態解明に向けた検討を進めている。白血病の MRD 診断については、今年度より保険収載され、保険診療として実施されることになった。小児急性リンパ性白血病の初発キメラ遺伝子スクリーニング

に関しては、今後 30 指-2 と連携し、自立化を目指して、継続する方向性を検討している。中央診断の標準化/均てん化に関しては、それぞれ次のステップに進んでおり、本研究班の役割が果たせたと自負している。固形腫瘍の症例登録、中央放射線診断については、安定した財源の確保が継続する課題として残っており、今後 JCCG や成育医療研究センターと連携して、対応策を検討してゆく。

ランゲルハンス細胞組織球症の層別化と治療法開発：

稀な腫瘍性疾患であるランゲルハンス細胞組織球症（LCH）に対し、治癒率の向上と再発率の低下、さらに重大な中枢神経に関連した晚期合併症の予防を目指した治療法の立案を目指した。LCH の肝および脾臓への浸潤と診断時の年齢と予後との関係について検討した結果を研究協力者の塩田が 34th Annual Meeting of the Histiocyte society で報告し、LCH に関する最新の情報を収集した。また、BRAF 遺伝子変異をはじめとする MAPK 経路の異常について解析に着手した。

小児がん中央診断に対する臨床的評価：
小児がんの中央診断の安定的な継続を目指

した財源確保については、30 指-2 課題の中で引き継ぎ、継続する。

4. 研究内容の倫理面への配慮

本研究では、多数の小児がん臨床検体を用いた中央診断や分子解析を実施しているため、検査および研究内容についての患者あるいは代諾者への説明を行なって同意取得し、個人情報の保護に細心の注意を払い、検体を提供することによる不利益・危険性を排除するための最大限の努力を行なった。患者から提供されるすべての検体ならびに臨床情報については、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」「疫学研究に関する倫理指針」を遵守した。全ての研究は、成育および関係施設で、外部委員を含めた倫理審査委員会において、その科学性ならびに倫理性についての審査を受け、同委員会の承認ならびに実施機関の長の許可を得て実施した。成育においては、受付番号 142「東京小児がん研究会（TCCSG）における白血病細胞マーカー中央診断システムおよび検体保存システムの確立」、他、本件にかかわる申請として 19 件について倫理承認済みであり、さらに 4 件の新規申請が承認された。