

受付番号：2015-1-852

課題名：小児頭蓋内悪性腫瘍の遺伝子診断体制の構築 I . 髄芽腫、上衣腫

1. 研究の対象

1998 年 4 月～2018 年 3 月に当院で髄芽腫・上衣腫の手術を受けられた方

2. 研究目的・方法

目的

小児における固形悪性腫瘍の中で脳腫瘍は最も頻度が高く、極めて重要な悪性疾患である。近年、国際的には小児脳腫瘍に関する分子遺伝学解析が急速に進展し、髄芽腫の 4 型分類、後頭蓋窩上衣腫の 2 型分類など、国際的コンセンサスが形成されつつある分子分類法が提唱されると同時に、毛様細胞性星細胞腫における BRAF 融合遺伝子、小児膠芽腫や小児脳幹部グリオーマにおける histonH3.3 (H3F3A) 遺伝子異常など、診断的価値が高くかつ新たな治療の標的分子となり得る知見が続々発見されている。本研究は全国レベルでの多施設共同研究体を組織して、小児脳腫瘍試料を収集し、その遺伝子診断を行う体制を構築する。その端緒として、まず特に世界的に最も研究が進展している髄芽腫に関して、国内で 4 型分類診断を実施できる体制を構築し、上衣腫に関しても同様に 2 型分類診断の実施体制を整備する。

方法

解析方法

①遺伝子発現解析

- ・腫瘍組織試料から抽出された RNA を用いて、RT-PCR 法、nanoString nCounter Technology 法 [8]等の手法を用いて遺伝子発現解析を実施する。
- ・タンパク質レベルでの発現解析は、免疫組織学的手法およびウエスタンブロット法、等を用いて実施する。
- ・必要に応じて、マイクロアレイシステムを用いて全ゲノム的な包括的遺伝子発現解析を実施する。

②ゲノム構造解析

- ・腫瘍組織試料から抽出された DNA を用いて、マイクロアレイ、MLPA、fluorescence in situ hybridization (FISH)、nanoString nCounter Technology 法、等の手法を用いて体細胞コピー数異常解析および LOH (Loss of Heterozygosity) 解析を実施する。

③遺伝子塩基配列解析

- ・腫瘍組織試料から抽出された DNA/RNA を用いて、キャピラリーシーケンサーを用いたサンガーシーケンス法を用いて、塩基配列解析を実施し、遺伝子点突然変異の有無を検索する。

④DNA メチル化解析

- ・腫瘍組織試料から抽出された DNA を用いて、ゲノムのメチル化率解析(メチローム解析)を、マイクロアレイ、パイロシーケンス、バイサルフェイトシーケンス、メチル化特異的 PCR 等の手法を用いて実施する。

⑤統計解析

- ・得られた遺伝子解析結果を診断情報、治療反応性、再発までの期間、生存期間などの臨床データと比較し、統計的解析を行うことによりその遺伝子診断法の有用性を検証する。

研究期間 2013 年 12 月 ～ 2018 年 03 月

3. 研究に用いる試料・情報の種類

試料

①新鮮腫瘍組織試料(新規試料)

- ・組織摘出後、その一部を専用の保存液(Allprotect Tissue Reagent, RNAlater, DMEM/F-12 培地等)中に回収し、冷蔵(4 度)で保管を行いながら、解析研究機関へ搬送する。
- ・解析研究機関では提供された新鮮組織標本を細切し、その一部を OCT にマウントして液体窒素で急速凍結を行い、凍結組織標本を作成する。
- ・さらに残りの組織から標準的な手法を用いて、DNA/RNA およびタンパク質の抽出を行う。

②凍結腫瘍組織試料(既存試料)

- ・既に凍結状態で各共同研究機関に保管されている試料に関しては、凍結状態のまま解析研究機関へ搬送し、同様に標準的な手法を用いて、DNA/RNA およびタンパク質の抽出を行う。

③ホルマリン固定パラフィン包埋(FFPE)組織試料(新規試料および既存試料)

- ・FFPE 組織試料に関しては、薄切後、スライドガラス上に貼付した状態で解析研究機関へ搬送する。
- ・FFPE 組織試料からは RNeasy FFPE Kit 等を用いて RNA を、QIAamp DNA FFPE Tissue Kit 等を用いて DNA を、各々抽出する。

情報

診断情報、治療反応性、再発までの期間、生存期間などの臨床データ

4. 外部への試料・情報の提供

データセンターへのデータの提供は、電子メールや fax にておこない、特定の関係者以外がアクセスできない状態で行います。対応表は、当センターの研究責任者が保管・管理します。凍結検体やパラフィン検体は郵送で送付します。

5. 研究組織

遺伝子解析を行う研究機関の名称:

①独立行政法人国立病院機構・大阪医療センター

(連絡先) 〒540-0006 大阪府大阪市中央区法円坂 2-1-14

TEL: 06-6942-1331(代表)、FAX: 06-6943-6467

・臨床研究センター・先進医療研究開発部

再生医療研究室 室長 金村米博:研究責任者、遺伝子解析、インフォームド・コンセント担当

再生医療研究室 流動研究員 兼松大介:病理解析

幹細胞医療研究室 室長 正札智子:遺伝子解析

幹細胞医療研究室 流動研究員 山本篤世:タンパク質発現解析

分子医療研究室 流動研究員 吉岡絵麻:遺伝子解析

・脳神経外科 医師 埜中正博:インフォームド・コンセント担当

・臨床検査科 部長 真能 正幸:病理解析

臨床検査科 医師 児玉 良典:病理解析

・上記以外の大阪医療センターの職員も、遺伝子・タンパク質発現解析、臨床情報解析等を行う研究協力者になり得るが、その際も上記研究者の責任、指導の下に研究を分担する。

②独立行政法人国立がん研究センター

(連絡先) 〒104-0045 東京都中央区築地 5-1-1

TEL:03-3542-2511(代表)、FAX:03-3545-3567

・脳腫瘍連携研究分野 分野長 市村幸一:研究責任者、遺伝子解析

脳腫瘍連携研究分野 リサーチレジデント 福島慎太郎:遺伝子解析

脳腫瘍連携研究分野 研究補助員 大塚綾香:遺伝子解析

・がんゲノミクス研究分野 分野長 柴田龍弘:ゲノミクス解析

・エピゲノム解析分野 分野長 牛島俊和:エピゲノム解析

・国立がん研究センター中央病院

脳脊髄腫瘍科 副科長 成田善孝

脳脊髄腫瘍科 研究員 松下裕子

・病理科・臨床検査科 科長 津田均

・上記以外のがん研究センター研究所・中央病院の職員も、蛋白質・遺伝子発現解析、臨床情報解析等を行う研究協力者になり得るが、その際も上記研究者の責任、指導の下に研究を分担する。

2) 遺伝子解析の支援を行う研究機関の名称:

③大阪大学 微生物病研究所 附属感染症 DNA チップ開発センター

・微生物病研究所

附属感染症 DNA チップ開発センター 教授 野島 博

附属感染症 DNA チップ開発センター 助教 奥崎 大介

・nanoString nCounter Technology 法を用いた遺伝子解析の支援

④The Hospital for Sick Children, Toronto

Michael D Taylor, MD., PhD, FRCSC

Neurosurgeon, Associate Professor

Department of Surgery

Developmental and Stem Cell Biology

University of Toronto

・nanoString nCounter Technology 法を用いた遺伝子解析の支援

3) データ解析の支援を行う研究機関の名称:

⑤German Cancer Research Center, Heidelberg, Germany

(Deutsches Krebsforschungszentrum, DKFZ)

Prof. Dr. Stefan Pfister, MD.

Head of Division Pediatric Neurooncology

⑥St. Jude Children's Research Hospital, TN, USA

Dr. Richard J. Gilbertson, MD, PhD.

Director

Comprehensive Cancer Center

Executive Vice President

Dr. David W. Ellison, MD, PhD, MRCP, FRCPCH

Chair of Pathology

Director of Neuropathology

Pathology

⑦The University of Texas MD Anderson Cancer Center, TX, USA

Prof. Kenneth D Aldape, MD

Chair, Department of Pathology

6. お問い合わせ先

本研究に関するご質問等がありましたら下記の連絡先までお問い合わせ下さい。

ご希望があれば、他の研究対象者の個人情報及び知的財産の保護に支障がない範囲内で、研究計画書及び関連資料を閲覧することが出来ますのでお申出下さい。

また、試料・情報が当該研究に用いられることについて患者さんもしくは患者さんの代理人の方にご了承いただけない場合には研究対象としませんので、下記の連絡先までお申出ください。その場合でも患者さんに不利益が生じることはありません。

照会先および研究への利用を拒否する場合の連絡先：

金森政之 東北大学病院 脳神経外科

TEL: 022-717-7230

FAX: 022-717-7233

E-Mail: mkanamori@med.tohoku.ac.jp

齋藤竜太 東北大学病院 脳神経外科

TEL: 022-717-7230

FAX: 022-717-7233

E-Mail: ryuta@nsg.med.tohoku.ac.jp

研究責任者：

金森政之 東北大学病院 脳神経外科

TEL: 022-717-7230

FAX: 022-717-7233

E-Mail: mkanamori@med.tohoku.ac.jp

研究代表者：

新井一

順天堂大学医学部 脳神経外科 教授

日本小児神経外科学会 理事長

◆個人情報の利用目的の通知に関する問い合わせ先

保有個人情報の利用目的の通知に関するお問い合わせ先：「6. お問い合わせ先」

※注意事項

以下に該当する場合にはお応えできないことがあります。

<人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 第6章第16の1(3)>

- ①利用目的を容易に知り得る状態に置くこと又は請求者に対して通知することにより、研究対象者等又は第三者の生命、身体、財産その他の権利利益を害するおそれがある場合
- ②利用目的を容易に知り得る状態に置くこと又は請求者に対して通知することにより、当該研究機関の権利又は正当な利益を害するおそれがある場合

◆個人情報の開示等に関する手続

本学が保有する個人情報のうち、本人の情報について、開示、訂正及び利用停止を請求することができます。

保有個人情報とは、本学の役員又は職員が職務上作成し、又は取得した個人情報です。

1) 診療情報に関する保有個人情報については、東北大学病院事務部医事課が相談窓口となります。詳しくは、下記ホームページ「配布物 患者さまの個人情報に関するお知らせ」をご覧ください。（※手数料が必要です。）

【東北大学病院個人情報保護方針】

<http://www.hosp.tohoku.ac.jp/privacy.html>

2) 1)以外の保有する個人情報については、所定の請求用紙に必要事項を記入し情報公開室受付窓口に提出するか又は郵送願います。詳しくは請求手続きのホームページをご覧ください。（※手数料が必要です。）

【東北大学情報公開室】

<http://www.bureau.tohoku.ac.jp/kokai/disclosure/index.html>

※注意事項

以下に該当する場合には全部若しくは一部についてお応えできないことがあります。

<人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 第6章第16の2(1)>

- ①研究対象者等又は第三者の生命、身体、財産その他の権利利益を害するおそれがある場合
- ②研究機関の研究業務の適正な実施に著しい支障を及ぼすおそれがある場合
- ③法令に違反することとなる場合