

小児肝癌に対する国際共同臨床試験（PHITT, JPLT4） 付随研究

京都府立医科大学付属病院は、「小児肝癌に対する国際共同臨床試験（PHITT, JPLT4）付随研究」という研究に参加致します。これはすでに進行中の PHITT 臨床試験（決定通知番号：201812、研究課題名：Paediatric Hepatic International Tumour Trial 小児肝癌に対する国際共同臨床試験（JPLT4: PHITT））に付随する観察研究で、過去に本学付属病院で小児肝癌（肝芽腫および小児肝細胞癌）の治療を受けられた患者様の、手術で摘出した肝癌の組織やその周囲の正常肝組織、日常診療で採取された血液および尿の余分検体を用いて、病気の原因となる遺伝子解析、並びに診療録の調査を実施させていただきたいと考えています。

実施にあたり京都府立医科大学医学倫理審査委員会の審査を受け、研究機関の長より適切な研究であると承認されています。

研究の目的

今回、参加していただく PHITT/JPLT4 試験付随研究の目的は、診断及び予後に関するバイオマーカーを検証し、小児肝がんについての分子学的な情報を得て、診療に役立てることです。

本研究は、小児肝癌（肝芽腫または肝細胞がん）に対するヒトゲノム・遺伝子解析研究です。あなたは、小児肝癌（肝芽腫または肝細胞がん）と診断されました。京都府立医科大学も参加している日本小児がん研究グループ（JCCG）の肝腫瘍委員会では、小児肝癌が発生する仕組み、悪性度を増す仕組み、転移を起こす仕組み、抗癌剤に耐性になる仕組みなどを日本小児肝がん研究グループ（JPLT）の時代から継続して研究しています。

小児肝癌の80%以上は5歳未満に発症する小児特有の肝芽腫であり、さらに、年長児に多い肝細胞がんも成人のものとは基礎疾患や治療への反応性が異なっていて、がんの発生や悪性度、転移の仕組みと関連していると考えています。この解明のために、ゲノム解析、遺伝子研究として、癌細胞の遺伝子を解析します。また研究には、正常と異常の比較という観点から、正常細胞の解析も同時に行い、癌細胞との比較・参考のために用います。

また、最近では体質によって薬による副作用（血液毒性、聴力障害、下痢など）の出方が違っていることがわかってきています。そこで、薬を使用した患者様の正常細胞のDNAを調べることで、DNAの個人差と体質との関連を明らかにし、将来の治療を受ける子ども達に薬による副作用の予測やその対策の足掛かりを得たいと考えています。

さらに、薬剤の血液中と尿中での変化を特にシスプラチンという薬剤投与後に測定することで、患者様に投与された薬剤がからだの中でどのように作用し代謝されているのかを調べることも計画しています。

研究の方法

対象となる方について

選択基準

- ・ 本学において、18歳以下の小児肝癌（肝芽腫または肝細胞癌）と診断されPHITT試験に登録された新規の症例、及びJPLT2・JPLT3臨床第Ⅱ相試験（決定通知番号 ERB-C-117課題名 小児肝癌に対するJPLT-3治療プロトコール 臨床第Ⅱ相試験）に登録され、同意を得て試料を採取・保存された症例
- ・ ただし3ヶ月以上生存可能と考えられない症例、化学療法に耐えられないと判断された症例は除外します。
- ・ 患者またはその代諾者から、文書による説明に基づく同意が得られていることを必須とします。

研究期間： 医学倫理審査委員会承認後から 2025 年 3 月 31 日

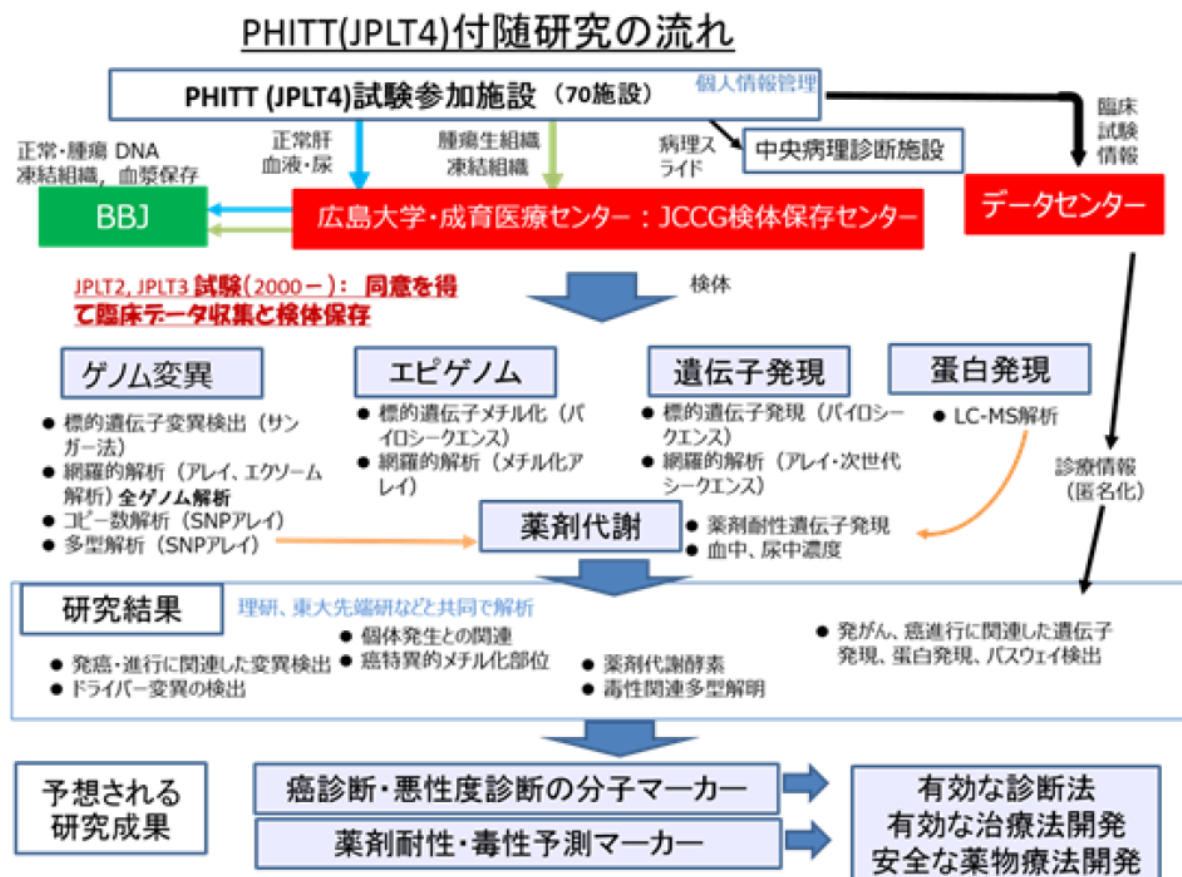
方法

過去の肝芽腫の診療において、手術で摘出する癌の組織とともに、これに付着あるいは隣接した正常肝組織、ならびに、血液を 5ml ほど頂いております。またシスプラチン投与中の血液・尿も採取させていただきました。血液からは、正常細胞のDNAとRNAを抽出し、またその血清・血漿（上澄み）から特定のたんぱく質の量を測定します。さらに臨床情報（診断、治療経過、転帰、臨床検査データ等）をデータセンター（国立成育医療研究センター内）に送らせていただき、総合的に解析を行います。検体の採取は、いずれも既に保存されている余分検体を使用しますので、この研究のために痛い思いをしてもらうことはありません。

これらの試料は、匿名化された後に、初めて研究対象となります。本研究の試料および臨床情報の流れの概略を次ページの図に示します。これを達成するために、PHITT/JPLT4試験では、先行した JPLT2 およびJPLT3 試験に引き続き小児や若年成人の肝がん患者様の登録及び治療と並行して、試験に参加された患者様の臨床情報と病理診断が明らかとなっている生物学的解析用サンプルを集めたバイオバンクを運営します。このバイオバンクを JPLT 小児肝がんバンクと命名しており、より患者様に適した個別化した医療に向かう橋渡し研究を促進することによって、今後これらの患者に対する治療を改善するために役立てています。

JCCG のこの PHITT/JPLT4 試験では、参加いただいた患者様を対象として、同意を得た上で試料を採取させていただき、生物学的試料の処理及び保管場所は基本的に広島大学自然科学研究支援開発センターのバンクですが、国立成育医療研究センター（NCCDH）にある小児固形腫瘍観察研究及びバイオバンクジャパン（BBJ）においても行われます。また試料の一部は、東京大学先端科学技術研究センターや、リプログラミング異常の観点から、京都大学iPS 研究所において解析される場合もあります。これらのサンプルは、承認済みのヒトゲノム遺伝子解析研究や生物学的研究など今後の研究のため、保存・使用されます。保存された腫瘍や血液サンプルは、JCCG および他の関連機関の研究倫理委員会の承認を受けた研究にのみ使用されます。研究は、個人が特定できない形で使用されるため、解析データから個人を特定することはできません。

この研究で得られたすべてのデータは、PHITT/JPLT4 のデータベースに保存され、臨床データとリンクします。正常肝細胞・血液からは個人のすべての遺伝情報を得ることが理論的には可能ですが、小児肝癌に関連した特性や薬剤の副作用などを調べる以外には遺伝子解析は行われません。



本研究の目的を達成するには、多くの患者様から最も質の高い試料を最大数採取するこ

とが必要となります。この JPLT バンクの試料に対して実施する生物学的解析を次ページの表に示します。この項で言及した試験に加え、最初の所見、実験技術の全般的進歩及びがんに関する知識の向上に応じて、採取した生物学的試料に関して、さらに付随研究を行うことがあります。重要なこととして、JPLTバンクの将来の目的は、小児肝がんを研究している外部の非営利研究グループがこれを利用できるようにし、引き続きこのまれな疾患の研究を促進し、研究に寄与することです。どのような場合も、実施された研究は JCCG の肝腫瘍委員会および研究審査委員会によって評価されます。これらの試料を用いた進行中の試験、計画された試験及び将来の試験は常に、法的規則及び倫理規則に従って実施され、その手順は国および JCCG として規定された研究倫理委員会から事前の承認を受けたものだけが行われます。また、同時に同じプロトコールで行われている欧州や米国のグループの臨床試験と共同で成果を出すために、必要に応じて同意が得られた試料や解析結果を提供する場合がありますが、この際は個人が特定できるような情報を削除した形で提供します。

表

研究内容	内容
バイオマーカーの評価	<ul style="list-style-type: none"> • 最近の研究や文献に基づいて、診断および予後マーカーを検索します。対象は、組織や血漿となります。 • バイオマーカーを検索するパネルを用います： <ul style="list-style-type: none"> • このパネルは、プロジェクトによって見出された最新の報告や新たな発見によって見出された新規マーカーによって更新されます。 • 特に、遺伝子変異の検索（サンガー法による CTNNB1, NFE2L2, TERT）、遺伝子発現を調節している高メチル化の検討（パイロシーケンスという方法で IGFBP3, RASSF1A の遺伝子を検索します）、コピー数変化（多型解析アレイを用いて、遺伝子や染色体の数の変化を検討します）およびこれらの遺伝子発現を検討します〔図参照〕 • JCCG で見出されたバイオマーカーは、米国や欧州と相互に検証することもあります。 • 薬剤投与後の薬剤の血液中の濃度から、体内での薬剤の代謝の違いから、有効性や治療毒性との関連を解析します。このことから、有効でかつ治療毒性の少ない治療法を個々に定めることが将来可能となります。
探索研究	<ul style="list-style-type: none"> • 方法: 最新のオミックスや次世代シーケンスによって腫瘍や非腫瘍部の検索を行います。これらは、多数の遺伝子や蛋白を一度に解析できる方法でゲノム、エピゲノム、蛋白解析の3つの主要な解析について以下に示します。
次世代シーケンス	<ul style="list-style-type: none"> • 多数領域の DNA 変異 と RNA 発現 をイルミナ HiSeq の次世代シーケンスシステムにて検索します。胚細胞のゲノム解析も可能となっています。 • 予想される結果: 腫瘍発生の原因となっている体細胞遺伝子変異や胚細胞変異の解明。さらに、遺伝子発現解析によって、詳細な遺伝子発現が解明され、有用な分子生物学的な腫瘍分類とともに新規の融合遺伝子やスプライシング変異が見出されます。
メチル化アレイ解析	<ul style="list-style-type: none"> • イルミナインフィニウム 450K ビーズチップを用いて DNA 全体のメチル化の変化を検索します • 予想される結果: 予後や予後予測できるエピゲノムマーカー（特徴的な DNA のメチル化部位など）の解明をします。
蛋白のプロファイル解析	<ul style="list-style-type: none"> • LC-MS 非ラベル解析で蛋白のプロファイルとリン酸化などタンパクが RNA から翻訳された後の変化を以下の機器 (nanoAcquity-LTQ Orbitrap XL mass spectrometer, Thermo-Electron and/or in nanoAcquity-Synapt G2Si, Waters など) にて解析します。この解析に Progenesis Q1-MS software (Nonlinear Dynamics, Waters) を用います • 予想される結果: 新規治療ターゲットとなりうるタンパク質の翻訳後の変化が見出されます。
初代培養細胞作製	<ul style="list-style-type: none"> • 初代培養細胞の樹立: 可能であれば、手術で得られた新鮮検体から分離して初代培養細胞を樹立します。

研究に用いる試料・情報について（いずれも全て保存済み）

- 一般診療において施行された手術で摘出された癌の組織、これに付着あるいは隣接した正常肝組織、ならびに血液を 5ml。
- シスプラチン投与中に複数回（最高 3 回）採取された血液。血液は 1 回 に最高 5 ml 。尿は 3-5ml 程度。
- 診療情報（病歴、治療歴、副作用の発生状況、転機など）

外部への試料・情報の提供

- 保存されている腫瘍組織・正常肝組織、血液、尿
→ 広島大学、ならびに JCCG 検体保存センター（成育医療研究センター）

- ・ 病理プレパラート
 - 病理診断施設（神奈川県立こども医療センター、大阪市立総合医療センター）
- ・ 診療情報
 - データセンター（成育医療研究センター）

*試料には研究用の番号を付け、氏名、生年月日などの患者さんを直ちに特定できる情報は削除しますので個人を特定することはできません。

*全体の流れは3ページの図をご参照下さい。

個人情報取り扱いについて

あなたからご提供いただいた腫瘍検体は、個人情報の漏えいを避けるため、まず検体識別番号のみを付け、それ以外の個人を特定できる氏名、生年月日、採取年月日、住所などの情報は一切削除した状態で保管されます。本研究では、共同研究機関である上述の外部医療機関に試料や PHITT 臨床研究データを提供しますが、各研究機関はこの検体識別番号だけを保持します。検体識別番号と個人を結び付ける対応表は、研究機関にのみ存在し、鍵のかかる保管庫等で厳重に保管されており、公表されることは決してありません。

本学において、この研究で得られた情報は研究担当者（京都府立医科大学大学院医学研究科小児科学 助教 吉田秀樹）の責任の下、厳重な管理を行い、患者さんの情報などが漏洩しないようプライバシーの保護には細心の注意を払います。

得られた結果などの情報をパソコンで管理する場合はネットワークから隔離された状態で管理します。このパソコンが設置されている部屋は、入室が管理されており、第三者が立ち入ることができません。このような匿名化の配慮を行うことで、本研究にともなって集められた情報が、第三者に漏えいする事を防ぐ配慮をしています。またこの研究の成果を発表したり、それを元に特許等の申請をしたりする場合にも、患者さんが特定できる情報を使用することはありません。

試料・情報の保存および二次利用について

解析のために収集された匿名化済みの試料やデータは二次研究に利用する可能性があるため、上記の保管期間を超えて下記施設に適切に保管されます。将来、研究に用いられる場合は改めて京都府立医科大学医学倫理審査委員会においても承認を受けた後に使用します。

- ・ 日本小児がん研究グループ (JCCG)
- ・ バイオバンクジャパン (BBJ)

研究組織

研究責任者

京都府立医科大学大学院医学研究科 小児科学 教授 家原知子

担当業務：研究総括

研究担当者

京都府立医科大学大学院医学研究科	小児科学	講師	土屋邦彦
京都府立医科大学大学院医学研究科	小児外科学	学内講師	文野誠久
京都府立医科大学大学院医学研究科	小児科学	学内講師	柳生茂希
京都府立医科大学大学院医学研究科	小児科学	学内講師	宮地 充
京都府立医科大学大学院医学研究科	小児科学	助教	吉田秀樹
京都府立医科大学附属北部医療センター	小児科学	助教	富田晃正

担当業務：サンプル・臨床データの収集、匿名化、サンプルの郵送、
研究責任者との連絡など

共同研究機関（研究代表者）

広島大学 自然科学研究支援開発センター 教授 檜山英三

担当業務：研究総括、遺伝子解析、検体保存

共同研究機関

・ 北海道大学	小児外科	本多昌平
・ 九州大学	小児外科	田尻達郎
・ 東北大学	小児外科	風間理郎
・ 大阪大学	小児外科	野村元成
・ 千葉大学	小児外科	菱木知郎
・ 帝京大学医学部附属溝口病院	小児科	井田孔明
・ 静岡県立こども病院	血液腫瘍科	渡邊健一郎
・ 伊勢赤十字病院	小児科	木平健太郎
・ 国立がん研究センター中央病院	小児腫瘍科	野上由貴
・ 順天堂大学	小児科	藤村純也
・ 国立成育医療研究センター	小児がんセンター	松本公一
・ 埼玉県立小児医療センター	血液・腫瘍科	森麻希子
・ 秋田大学	小児科	矢野道広
・ 国立成育医療研究センター	臨床研究センター	瀧本哲也
・ 慶応義塾大学	小児外科	山田洋平
・ 兵庫県立こども病院	小児外科	横井暁子
・ 大阪市立総合医療センター	病理	井上健

担当業務：サンプル・臨床データの収集、匿名化、サンプルの郵送、
研究責任者との連絡など

お問い合わせ先

患者さんのご希望があれば参加して下さった方々の個人情報の保護や、研究の独創性の確保に支障が生じない範囲内で、研究計画及び実施方法についての資料を入手又は閲覧することができますので、希望される場合はお申し出下さい。

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。

2022 年 10 月末以降の拒否も可能ですが、すでに論文に発表された場合など、解析結果を破棄できないことがあります。

京都府立医科大学大学院医学研究科 小児科学

職・氏名 助教：吉田秀樹

電話：075-251-5571