

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名：難治性神経芽腫に対する分化誘導療法併用下でのエピジェネティック治療開発
2. 研究開発代表者：牛島 俊和（国立がん研究センター研究所 エピゲノム解析分野）

### 3. 研究開発の成果

神経芽腫は最頻かつ予後最不良の小児脳外固形腫瘍である。研究開発代表者は、難治例の大半が高度な DNA メチル化異常を有することを世界で初めて明らかにした。また、DNA 脱メチル化剤 decitabine (DAC) と臨床導入可能な国内開発合成レチノイド tamibarotene (TBT) の併用により、既存の分化誘導剤レチノイン酸よりも高い分化効果を示すことを見いだしてきた。本研究では、①TBT と DAC の併用療法の医師主導治験を実施し、エピジェネティック治療を確立すること、②上記治療承認後の投与方法最適化や新しい DNA 脱メチル化剤への置換を視野に入れ、奏効性分子機構の解明と治療効果マーカーの開発を行うことを目的とする。

#### ①医師主導治験

TBT 単剤の用量探索（第 I 相試験）に関して症例登録を開始し、最大用量のレベル 3 まで用量制限毒性 (DLT) の出現はなかった。多くの例で最終的には増悪中止となったものの、その大半の症例で、TBT 投与中は骨痛や病勢を反映する炎症反応が軽減し、一方、休薬に伴い症状・炎症反応の再燃がみられた。そのため、TBT 単剤でも投与量・投与方法によっては一定の効果が期待できると思われた。そこで、追加の非臨床検討の結果を踏まえ、PMDA に事前相談の上、休薬期間の短縮・投与レベルの増量（インタビューフォーム上の成人での最大量まで）について、単剤での追加検討を実施することとした。

DAC については、治験薬提供についての契約が完了し、治験薬製造・提供者と提供の手順や時期について調整を行い、H28 年度すぐの治験薬搬入を可能とした。

#### ②奏効性分子機構

DAC 治療において DNA 脱メチル化は軽度であっても奏効する分子機構を解明するために、DAC 処理後クローン化した細胞ごとの解析を行い、異なる領域に完全な脱メチル化が誘発されていることを見出した。また、神経芽腫細胞株 12 株について、十分な細胞増殖抑制効果を示す DAC 濃度を決定した。さらに、DAC 処理後の休薬期間が、DNA 脱メチル化効果を増強するのに重要であることを見出した。

治療効果マーカーの開発に関して、治験における血中遊離 DNA のメチル化解析を目的として、細胞株を DAC 処理し、DNA 脱メチル化効果を i) 生存細胞由来 DNA、ii) 治療に反応して浮遊した細胞由来 DNA、iii) メディウム中の遊離 DNA（治療に最も反応して死滅した細胞由来と考えられる）で測定する系を確立した。遊離 DNA では、より高度の脱メチル化が誘発されていることを確認し、死滅した細胞のみならず残存生細胞でも脱メチル化されている 1,196 遺伝子を同定した。

分化誘導療法に関しては、神経芽腫のマウス移植腫瘍モデルを用いて、低用量 TBT 投与でも著しい腫瘍減少の作用を確認した。摘出した移植腫瘍で分化マーカーの上昇を確認し、TBT 奏効の機構として分化誘導を確認した。

### 4. その他

該当なし