

厚生科学研究費補助金（がん克服戦略研究事業）

研究分野3 がん体質と免疫に関する研究

「小児がんの発生病学的要因の解明と診断への応用」

総括研究報告書（平成 11 年度）

分担研究報告書

主任研究者 恒松 由記子（国立小児病院 血液科医長）

厚生科学研究費補助金（がん克服戦略研究事業）

総括研究報告書（平成 11 年度）

小児がんの発生物学的要因の解明と診断への応用

主任研究者 恒松由記子（国立小児病院 血液科医長）

研究要旨：小児がんの発生物学的要因について、院内の中央保存材料を中心とした材料で遺伝的背景の研究に焦点を絞り、研究の倫理的側面についても、研究した。小児がん患者の親へのインタビューを通じて、がん遺伝カウンセリングにおけるスピリチュアルなケアの重要性を発見した。小児白血病の遺伝的背景を探るために、乳児白血病検体を用い有機溶媒および殺虫剤などの化学物質の解毒代謝に関わる多型の頻度を検討した。その結果乳児白血病症例ではこれらの欠失の頻度はコントロール群に対し差が認められなかった。細胞周期進行の負の調節因子である p27^{Kip1} は、神経芽腫の分化に伴って発現が上昇し、細胞内局在も変化することを明らかにした。培養神経芽腫細胞株の分化誘導系においても同様の現象が確認された。p27 の核外移行と分解に関与するとされる p^{38Jab1} も、p27 と連動して発現と細胞内局在が変化することが示された。CD80 遺伝子導入神経芽細胞腫刺激によって誘導される抗腫瘍細胞障害性 T 細胞(CTL)を測定した。健常成人と比べ、小児癌患者末梢血リンパ球より誘導された CTL は有為に低かった。小児がん全国登録の調査で神経芽腫の家族歴を調査したところ、他の小児がんの罹患より神経芽腫が有意に多かった。

分担研究者氏名

A. 研究目的

恒松由記子（国立小児病院血液科医長）
佐伯 守洋（国立小児病院外科医長）
水谷修紀（国立小児医療研究センター
ウイルス部室長）
宮内 潤（国立小児病院 検査科長）
東 みゆき（国立小児医療研究センター
免疫研究室）
谷村 雅子（国立小児医療研究センター
小児生態部室長）

小児期における発がんの遺伝学的・体質的要因を主として臨床疫学的・基礎生物学的方法で研究することにより、一般のがんや小児がんの発生・進展の機構の理解を深め、その成果を新しい診断法の開発、がんの一次・二次予防、ならびに治療へ応用することが本研究班の目的である。遺伝学研究に役立ちうる病院ベースのがん材料登録を行ってきたが、その中に、多重発がんや異常ながん家族集積を示し、遺伝的背景因子の関与が考えられる症例が蓄積している。研究のための材料を採

取・診断にあたっては多くの倫理問題がクリアされなければならない。とくに被験者が小児の場合の倫理課題を研究することが本研究班のもう一つの課題である。今年度は中心研究課題を遺伝的体質については乳児白血病発生における発がん物質の代謝酵素の多型の検討を検討し環境と遺伝的要因の関連を明らかにすることにおき、免疫と発生生物学的研究については神経芽腫に集中させた。

B. 研究方法

1) アンケート調査：昨年の郵送解答による調査を検討し、問診による解答を分析し、保存材料の利用に関する意識調査を行った。また、および小児がんや遺伝病を持つ親の心理的側面を6人の子どもの父母に別々に聞き取り調査を行った。2) 乳児白血病の要因：発がん物質の遺伝子多型およびゲノムの不安定要因の解析については、quinone 代謝酵素である NAD(P)H:quinone oxidoreductase(NQO1) の polymorphism と乳児白血病発症との関連を検討した。乳児白血病症例および健康人末梢血より樹立した EB LCL を用いてベンゼン系薬剤やその他の薬剤に対する MLL 遺伝子切断の有無を linker mediated PCR(LM-PCR)法で検討した。薬剤刺激には VP16、Salicylic acid、H₂O₂、Caffeine を用いる白血病や小児がんにおいてゲノムの不安定性要因の関与を解析した。

3) 神経芽腫における細胞周期遺伝子：生検または手術切除組織のパラフィン切片標本を用い、p21Cip1、p16Ink4a、p27Kip1 の発現と分化度の関連を免疫組織化学にて検討した。細胞株の分化誘導に伴う p27Kip1 の発現変化を、免疫組織化学ならびに Western blot

法にて解析、p27Kip1 の核内から核外への輸送と分解に関与する p38Jab1 の局在も免疫組織化学にて検索した。4) 腫瘍免疫：培養神経芽腫細胞株 IMR32 および SK-N-SH にヒト CD80 遺伝子を導入し、細胞表面高発現クローンを樹立した。それぞれのクローンの細胞障害活性発現に関わる表面抗原発現をフローサイトメトリーにて解析した。5) 小児腫瘍維持培養系の開発と病態解析：神経芽腫細胞腫細胞株から、蔗糖密度勾配超遠心によって糖脂質膜ドメインを分離し、これに含まれる糖脂質および刺激伝達関連分子について生化学的に解析した。6) 小児がんの遺伝疫学的研究：小児がん全国登録に1969年から1997年までに登録された神経芽腫例について、同胞、いとこ、親、おじおばの家族歴を他の小児がんと比較した。また、神経芽腫の同胞・いとこ発生例の同一家系罹患者間における発生年齢と転帰の相違を調べた。

本研究班においては、研究材料のほとんどは本院の患者材料から得ていて、材料保存に関するインフォームド・コンセントを得ている。また、この材料保存事業については院内倫理委員会の承認を得ている。患者には7才以上であれば病名を知らせ、病態も教えている。

C. 研究結果

1) 材料登録、面接による意識調査と心理調査：小児がん患者とその家族130人から得た昨年の調査対象者の自由意見を分析した。保存材料を利用したがん遺伝研究については、「利用に際して説明し許可を得てほしい」が91%、74%が「結果を知りたい」と答えた。がんの遺伝研究においては患者への協力を求めるには、研究段階にあるのものでも、イン

フォームド・コンセントを求める意見が大多数を占めた。また、小児がんを持つ親は先天異常や遺伝病をもった親と同じ反応をすること、すなわちショック、否認、怒り、受容、再帰といった過程を通過することが分かった。カウンセラーのスピリチュアルなケアの必要性を示した。2) 乳児白血病の要因：乳児白血病症例における NQO1 の inactive polymorphism の頻度はコントロールと比較して有意差は認められないことが判明した。TEL-AML1 遺伝子を例に遺伝子の異常修復の過程を検討し、DNA double strand break を起こした TEL 遺伝子はその修復過程で誤った遺伝子と融合し、結果として染色体転座を形成することが明らかになった。3) 細胞周期遺伝子：細胞周期調節因子は神経芽腫の分化と関連して発現されており、特に p27Kip1 は分化途中段階から細胞質内で合成および分解が亢進することから、腫瘍の分化の誘導に何らかの役割を果たす可能性が考えられた。p38Jab1 は p27Kip1 と同様に、分化途中で細胞質内に発現するが成熟すると核内に優位に発現し、p27Kip1 と類似した細胞内局在の変化を示すことが判明した。4) 小児の抗腫瘍免疫：小児癌患者 PBMC は、CD80 発現神経芽腫との培養で、培養 3-4 日目までは、同様に反応し活性化されたと思われるリンパ球の芽球化が認められたが、その後、反応細胞の増加が認められず、アポトーシス様の死細胞の急激な増加が認められた。健常成人においても、培養後期において細胞死が認められるが、その比率は小児癌検体において明らかに多い様に思われた。CD80 遺伝子導入腫瘍細胞との共培養において、小児癌患者 PBMC は培養早期には反応が認められるものの、その後の増殖反応が明らかに

抑制されており、CTL の誘導もほとんど認められなかった。5) 小児腫維持培養系の開発と病態解析：10 株について種々の増殖因子受容体の発現様式を検討した結果、予後良好因子と考えられている Trk-A はすべての株で、また p75 は約半数でその発現を認めた。一方、予後不良因子と考えられる SCF 受容体の発現は 2 株でごく弱く認められたのみであった。神経芽細胞腫細胞ではスフィンゴ糖脂質 GM1、GD2 が Src 型チロシンキナーゼ Yes 等の分子とともに糖脂質膜ドメインを構成し細胞内への刺激伝達に関与し、この刺激が細胞死に対して抑制的に作用することが明かとなった。また、神経芽細胞腫では糖脂質膜ドメインが細胞内への刺激伝達に関与している可能性が示唆された。6) 遺伝疫学的研究：神経芽腫が同胞に発生した率は発端者が神経芽腫の家系では 0.079% で、発端者がその他のがんの家系における 0.015% より有意に高率であった。いどこにおいても神経芽腫の発症が高率であった。

結論=1) 小児がんの子どもを持つ親への聞き取り調査で、癌の遺伝研究について各々の研究に於いて、予め研究についてのインフォームド・コンセントを得たいとの意見が多かったので今後も遺伝研究については社会の理解が必要であることがわかった。遺伝カウンセリングにおけるカウンセリングマインドとしてスピリチュアルなケアが重要なことが分かった。2) 乳児白血病の要因：乳児白血病には NQO1 の多型との関連は認められなかったが、小児がんにおいて遺伝的要因と細胞死刺激など環境要因の両者が関係している可能性の検討が必要である。3) 小児の抗腫瘍免疫：小児癌患者末梢血リンパ球は、CD80 陽性神経芽腫細胞刺激でほとんど反応

せず、CTL 活性の増強も認められなかった。この結果は健常成人と異なった。4) 細胞周期遺伝子：負の細胞周期調節因子は神経芽腫の分化、ひいては自然退縮における重要な分子である可能性が示された。神経芽腫の有効な治療法の開発のため、これらの機能や細胞内局在の意義を今後さらに詳細に検討する必要がある。5) 小児腫維持培養系：神経芽腫の増殖因子受容体のさらに詳細な検討が必要である。また、神経芽細胞腫の糖脂質膜ドメインを介する刺激伝達機構の解明によってその増殖機構の新たな側面が明らかになることが期待される。6) 神経芽腫の家族集積性についてさらに詳細な検討が必要である。

D. 考察

1. 遺伝研究の倫理と支援：がんの遺伝研究においては患者への協力を求めるには、研究段階にあるものでも、インフォームド・コンセントを求める意見が大多数を占めた。また、スピリチュアルなケアの必要性を示した。
2. 乳児白血病：本邦で乳児白血病に quinone 代謝酵素の inactive polymorphism は関与しないと考えられた。薬剤刺激や apoptosis 刺激が DNA の切断を生じ、その異常修復が小児白血病に特異的な染色体異常を引き起こす可能性が示され、その背景には種々の遺伝的素因も影響している可能性も考えられた。
3. 細胞周期遺伝子：細胞周期調節因子は神経芽腫の分化と関連して発現されており、腫瘍の分化の誘導に何らかの役割を果たす可能性が考えられた。
4. 小児の抗腫瘍免疫：CD80 遺伝子導入腫瘍細胞との共培養において、小児癌患者

PBMC は培養早期には反応が認められるものの、その後の増殖反応が明らかに抑制されており、CTL の誘導もほとんど認められなかった。

5. 小児腫維持培養系の開発と病態解析：神経芽細胞腫細胞では神経芽細胞腫では糖脂質膜ドメインが細胞内への刺激伝達に参与している可能性が示唆された。6) 遺伝疫学的研究：神経芽腫が同胞に発生した率は有意に高率であったが、他の腫瘍に比べて家族集積性が少ないので、今後慎重な調査が必要である。

E. 結論

1) 遺伝研究の倫理と支援：

がんの遺伝研究においては患者への協力を求めるには、詳細なインフォームド・コンセントと癌の遺伝研究についての社会の理解が必要である。

2) 小児がんの遺伝的背景

小児がん、白血病において遺伝的要因と細胞死刺激など環境要因が関係している可能性が高く、今後両方の側面からの検討が必要である。

3) 神経芽腫における細胞周期調節遺伝子：

神経芽腫が自然退縮する現象については、腫瘍の分化が関与する可能性が考えられており、負の細胞周期調節因子は神経芽腫の自然退縮や分化誘導における重要な分子として、今後その機能がさらに詳細に検討されることが期待される。

4) 免疫：抗原特異的 T 細胞反応を増強させる costimulatory 分子の一つである CD80 遺伝子を導入発現させた神経芽腫を用いて、リンパ球を刺激し CTL 誘導を試みたが、健常成人と異なり小児癌患者末梢血リンパ球は、CD80 陽性神経芽腫細胞刺激でほとんど反応

せず、CTL活性の増強も認められなかった。

5) 培養系：神経芽細胞腫の増殖・分化・細胞死における増殖因子受容体の役割に関しては、さらに詳細な検討が必要と考えられる。

また、神経芽細胞腫の糖脂質膜ドメインを介する刺激伝達機構の解明によってその増殖機構の新たな側面が明らかになることが期待される。

6) 遺伝疫学がん登録：神経芽腫の家系登録は希有であるが、世界的な共同研究に今後も協力するべきである。

F. 研究発表

(主任研究者)

恒松由記子

- 1) Tsunematsu Y., Yoshizawa Y., Miyauchi J., Iijima T., Konishi M. and Miyaki M.: A Novel Case of Wilms' Tumor Followed by Colon Cancer, Both Showing Microsatellite Instability. *Oncology*. 58:159-160, 2000
- 2) 恒松由記子：家族性腫瘍と遺伝子診断. ○ B/GYN CURRENT CONCEPT AND PRACTICE. 7(1)14-15, 2000
- 3) Evidenceに基づく小児がんの化学療法. 癌と化学療法 27(2)203-220, 2000
- 4) Nishiyama, M., Arai, Y., Tsunematsu Y., Kobayashi, H., Asami, K., Yabe, M., Kato, S., Oda, M., Eguchi, H., Ohki, M. and Kaneko, Y.: 11p15 Translocations involving the NUP98 gene in childhood therapy-related acute myeloid leukemia/myelodysplastic syndrome. *Genes, Chromosomes & Cancer*. 26:215-220, 1999
- 5) Miyauchi, J., Asada, M., Tsunematsu Y., Kaneko, Y., Kojima, S. and Mizutani, S.: Abnormalities of the p53 gene in juvenile myelomonocytic leukaemia. *British Journal of Haematology*. 106:980-986, 1999
- 6) Sugano K, Taniguchi T, Saeki M, Tsunematsu Y, Tomaru U and Shimoda T: Germline p53 mutation in a case of Li-Fraumeni syndrome presenting gastric cancer. *Jpn J Clin Oncol*. 29(10):513-516, 1999
- 7) Tachibana, A., Kato, T., Ejima, Y., Yamada, T., Shimizu, T., Yang, L., Tsunematsu Y. and Sasaki, S.: The FANCA gene in Japanese Fanconi anemia: Reports of eight novel mutations and analysis of sequence variability. *Human Mutation*. 13:237-244, 1999
- 8) Nakadate, H., Tuchiya, T., Maseki, N., Hatae, Y., Tsunematsu Y., Horikoshi, Y., Ishida, Y., Kikuta, A., Eguchi, H., Endo, M., Miyake, M., Sakurai, M. and Kaneko, Y.: Correlation of chromosome abnormalities with presence or absence of WT1 deletions/mutations in Wilms tumor. *Genes, Chromosomes & Cancer* 25:26-32, 1999
- 9) 恒松由記子、掛江直子：「家族性腫瘍における遺伝子診断の研究とこれを応用した診療に関するガイドライン（案）」-作成の経緯と主旨. 遺伝子医学. 3(2)132-136, 1999
- 10) 恒松由記子：遺伝性腫瘍の易罹

患性 (susceptibility) に関する遺伝子診断の倫理的諸問題. 新潟医学会雑誌. 133(2)99-103,1999

- 11) 恒松由記子、伊藤千賀子、味木和喜子：わが国の小児がんの疫学的動向. 小児科診療. 8(3)1129-1136,1999
- 12) 宇都宮謙二、恒松由記子、樋野興夫：遺伝性癌の分子医学. 現代医療. 31(9)2244-2257,1999
- 13) 恒松由記子：家族性腫瘍の遺伝子診断の倫理的・法的・社会的諸問題. 現代医療. 31(9)2399-2405,1999

(分担研究者)

佐伯守洋

1. 金城僚、佐伯守洋、中野美和子、黒田達夫、鳥飼源史、宮内潤、松岡健太郎、東範行：神経芽腫と網膜芽腫を合併した1男児例. 日本小児外科学会誌 34(5):921-925(1998)
2. 佐伯守洋、中野美和子、黒田達夫、嶋寺伸一、坂本浩一：外陰・膣・子宮の腫瘍性病変. 小児外科 31(1) 68-73 (1999)
3. 佐伯守洋：ウィルムス腫瘍-外科的治療-. (赤塚順一、他編) 小児科診療 Q&A 28号. 1747.2-1747.3. 六法出版社. 東京.1999
4. Kuroda T, Saeki M, Tanaka K, et al: The combined method: a novel access technique for fetal endoscopic surgery. J.Pediatr Surg 1998 33:1641-1644,

宮内潤

1. Tsunematsu Y, Yoshizawa Y, Miyauchi J, Iijima T, Konishi M, Miyaki M: A novel case of Wilms' tumor followed by colon cancer, both showing microsatellite instability. *Oncology* 58:159-160, 2000
2. Miyauchi J, Asada M, Tsunematsu Y, Kojima S, Kaneko Y, Mizutani S: Abnormalities of the p53 gene in juvenile myelomonocytic leukemia. *Br. J. Haematol.* 106:980-986, 1999
3. Miyauchi J: All-*trans* retinoic acid and hematopoietic growth factors regulating the growth and differentiation of blast progenitors in acute promyelocytic leukemia. *Leuk. Lymphoma* 33:267-280, 1999
4. Horie R, Gattei V, Ito K, Imajo-Ohmi S, Tange T, Miyauchi J, Pinto A, Degan M, De Iuliis A, Mazzocco FT, Rossi FM, Higashihara M, Watanabe T: Frequent expression of the variant CD30 in human malignant myeloid and lymphoid neoplasms. *Am. J. Pathol.* 155:2029-2041, 1999
5. Sato T, Tatsuzawa O, Koike Y, Wada Y, Nagata M, Kobayashi S, Ishizawa A, Miyauchi J, Shimizu K: B-cell lymphoma associated with DiGeorge syndrome. *Eur. J. Pediatr.* 158:609, 1999
6. 鈴木晟幹、向井清、武井章人、高見剛、星加明德、宮内潤、林雅晴：Cornelia de Lange syndrome

- の1例. 小児科臨床 52:1967-1972, 1999
7. 土田嘉昭、池田 均、宮内 潤、松岡健太郎、本名敏郎、別所文雄、岡 輝明、平戸純子：高用量化学療法による神経芽腫の病理組織学的変化. 日小外会誌 35:666-673, 1999
 8. 宮内 潤：(総説) 急性白血病における白血病幹細胞と造血因子. 臨床血液 40:617-629, 1999
 9. 宮内 潤：(一週一話) 神経芽腫の予後と乳児がん検診. 日本医事新報 3930:121, 1999
 10. 国仲伸男、野村砂代子、寺戸一昭、渡司博幸、涌井重勝、松岡健太郎、宮内 潤：毛細管現象を応用した rapid *in situ* hybridization 法による Epstein-Barr Virus 検出の臨床的有用性. 医学検査 48:1502-1506, 1999
 11. 国仲伸男、渡司博幸、涌井重勝、宮内 潤、藤本純一郎：パラフィン切片による悪性リンパ腫のマーカー診断. 検査と技術 27:1122-1126, 1999
 12. 松岡健太郎、宮内 潤：Alveolar capillary dysplasia の1例. こども医療センター医学誌 28 : 54, 1999
 2. Nagano M, Kimura N, Ishii E, Yoshida N, Yoshida T, Sako M, Hibi S, Imashuku S, Miyazaki S, Hara T, Mizutani S. Clonal expansion of $\alpha\beta$ -T Lymphocytes with inverted J β 1 bias in amilial hemophagocytic Lymphohistiocytosis. Blood 94 (7):2374-82, 1999
 3. Shigeta T, Takagi M, Delia D, Chessa L, Iwata S, Kanke Y, Asada M, Eguchi M, Mizutani S. Defective control of apoptosis and mitotic spindle checkpoint in heterozygous carriers of ATM mutations. Canc Res 59 2607, 1999
 4. Delia D, Mizutani S, Tagliabue E, Fontanella E, Asada M, Yamada T, Taya Y, Prudente S, Frati L, Pierotti M, Chessa L. : ATM protein and p53-serine 15 phosphorylation in Ataxia- Telangiectasia (AT) patients and AT heterozygotes. Br. J. Cancer (in press)
 5. Asada M, Yamada T, Ichijo H, Delia D, Miyazono K, Fukumuro K, Mizutani S. Apoptosis inhibitory activity of cytoplasmic p21Cip1/WAF1 in monocytic differentiation. EMBO J. 18 (5):1223-1234, 1999
 6. Takagi M, Shigeta T, Asada M, Iwata S, Nakazawa S, Kanke Y, Ishimoto K, Mizutani S. DNA damage associated cell cycle and cell death control is differentially modulated by caffeine in clones with p53 mutations. Leukemia 13:70-77, 1999
 7. Iwata S, Sato Y, Asada M, Takagi M, Tsujimoto A, Inaba T, Yamada T, Sakamoto S, Yata J, Shimogori T,

水谷修紀

1. Miyauchi J, Asada M, Tsunematsu Y, Kaneko Y, Kojima S, Mizutani S. Abnormalities of the p53 Gene in Juvenile Myelomonocytic Leukaemia. Br.J.Haematol.106:980-986, 1999

- Igarashi K, Mizutani S. Anti-tumor activity of antizyme which targets the ornithine decarboxylase(ODC) required for cell growth and transformation. *Oncogene* 18:165-172,1999
8. Ishii E, Yoshida N, Kimura N, Fujimoto J, Mizutani S, Sako M, Hibi S, Nagano M, Yoshida T, Mori T, Kiyokawa N, Mohri S, Tanaka T, Miyazaki S, Hara T. Clonal dissemination of T-lymphocytes in scid mice from familial hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Med Pediatr Oncol* 32 (3) : 201-208, 1999
 9. Mizutani S : Recent advances in the study of the hereditary and environmental basis of childhood leukemia. (Review article) *International Journal of Hematology*, 1998, 68 : 131-143.
 10. Iwata S, Sato Y, Asada M, Takagi M, Tsujimoto A, Inaba T, Yamada T, Sakamoto S, Yata J, Shimogori T, Igarashi K, Mizutani S : Anti-tumor activity of antizyme which targets the ornithine decarboxylase (ODC) required for cell growth and transformation *Oncogene* 18, : 165-172, 1999
 11. Takagi M, Shigeta T, Asada M, Iwata S, Nakazawa S, Kanke Y, Ishimoto K, Mizutani S : DNA damage associated cell cycle and cell death control is differentially modulated by caffeine in clones with p53 mutations. *Leukemia* : 70-77, 1999
 12. 水谷修紀 ATM 遺伝子と発癌 実験医学 第 17 巻 第 5 号(増刊) : 41-47, 1999
 13. 水谷修紀 : 慢性骨髄性白血病の分子病態 医学のあゆみ 第 190 巻 第 5 号 341-345, 1999
 14. 水谷修紀 : 小児がんと遺伝 Li-Fraumeni 症候群、Ataxia Telangiectasia をめぐる最近の話題小児科診療 第 62 巻 第 8 号 :1137- 1144, 1999
- 藤本純一郎
1. Uchida H, Kiyokawa N, Horie H, Fujimoto J, and Takeda T. The detection of Shiga toxins in the kidney of a patient with hemolytic uremic syndrome. *Pediatr Res* 45:133-137, 1999.
 2. Ishii E, Yoshida N, Kimura N, Fujimoto J, Mizutani S, Sako M, Hibi S, Nagano M, Yoshida T, Mori T, Kiyokawa N, Mohri S, Miyazaki S, Hara T. Clonal dissemination of T lymphocytes in scid mice from familial hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Med Pediatr Oncol* 32:201-208, 1999.
 3. Asanuma H, Takahashi S, Ishikawa M, Kamiguchi K, Sato N, Poppema S, Fujimoto J, Kikuchi K. A monoclonal antibody, 3G12, reacts with a novel surface molecule, hal-1, with high expression in CD3-positive anaplastic large cell lymphomas. *Br J Haematol* 106: 55-63, 1999.
 4. Nakao H, Kiyokawa N, Fujimoto J, Yamasaki S, Takeda T. A monoclonal

- antibody to Shiga toxin 2 which blocks receptor binding and neutralizes cytotoxicity. *Infect Immun* 67:5717-5722, 1999.
5. Uchida H, Kiyokawa N, Taguchi T, Horie H, Fujimoto J, Takeda T. Shiga Toxins Induce Apoptosis in Pulmonary Epithelium Derived Cells. *J Infect Dis* 180:1902-1911, 1999.
 6. Katagiri YU, Mori T, Nakajima H, Katagiri C, Taguchi T, Takeda T, Kiyokawa N, Fujimoto J. Activation of Src family kinase Yes induced by Shiga toxin binding to globotriaosyl ceramide (Gb3/CD77) in low density, detergent-insoluble microdomains. *J Biol Chem* 274:35278-35282, 1999.
 7. Taguchi T, Kiyokawa N, Sato N, Saito M, Fujimoto J. The Characteristic Expression of Hck in Human B Cell Precursors. *Exp Hematol* in press.
 8. Sato N, Kiyokawa N, Taguchi T, Suzuki T, Sekino T, Ohmi K, Itagaki M, Sato T, Lepage A, Lanza F, Fujimoto J. Functional conservation of platelet glycoprotein V promoter between mouse and human megakaryocytes. *Exp Hematol* in press.
 9. Serizawa I, Amano K, Ishii H, Ichikawa T, Kusaka M, Taguchi T, Kiyokawa N, Fujimoto J. Long-term overexpression of human granulocyte colony-stimulating factor in transgenic mice: persistent neutrophilia with no increased mortality for more than one year. *Cytokine* in press.
 10. 藤本 純一郎. G-CSFによる hybrid resistance の抑制. *臨床免疫* 32:348-354, 1999.
 11. 国仲 伸男, 渡司 浩幸, 桶井 重勝, 宮内 潤, 藤本 純一郎. パラフィン切片による悪性リンパ腫のマーカ―診断. *検査と技術* 27:1122-1126, 1999.
 12. 藤本 純一郎. 新分類からみた小児のリンパ腫. *病理と臨床* 17:463-469, 1999.
- 谷村雅子
1. Ishii, E., Ohga, S., Tanimura, M., Imashuku, S., Sako, M., Mizutani, S. and Miyazaki, S. : Clinical and epidemiological studies of familial hemophagocytic lymphohistiocytosis in Japan *Med Ped Oncol*, (in press).
- 東みゆき
1. Seko Y, Takahashi N, Yagita H, Okumura N, Azuma, M, Yazaki Y, : Effects of in vivo administration of anti-B7-1/B7-2 monoclonal antibodies on the survival of mice with chronic ongoing myocarditis caused by coxsackievirus B3. In : *J. Pathol*, 188 : 107-112, 1999
 2. Makino M, Azuma M, Wakamatsu S, Sugura Y, Izumo S, Yokoyama M, Baba M : Marked suppression of the development of HTLV-1-associated myelopathy by a

- benzothiophene derivative. In : *Clin. Diagno. Laboratory Immunol.*6: 316-322, 1999
3. Yamamoto M, Kiyono H, Yamamoto S, Batanero E, Kweon MN, Otake S, Takeda Y, Azuma M., McGhee, JR : Direct effects on antigen-presenting cells and T lymphocytes explain the adjuvant activity of a nontoxic cholera toxin mutant. In : *J. Immunol.*, 162 : 7015-7021, 1999
 4. Oki S, Kohsaka T, Azuma M : Augmentation of cell surface expression of CTLA4 by wortmannin. Involvement of lysosomal sorting properties of CTLA-4. In : *Int. Immunol.*, 11: 1563-1571, 1999
 5. Matsui T, Kurokawa M, Kobata T, Oki S, Azuma M., Tohma S, Inoue K, Yamamoto K, Nishioka T, Kato T : Autoantibodies to T cell co-stimulatory molecules in systemic autoimmune diseases. In : *J. Immunol.*, 162: 4328-4335, 1999
 6. Sakurai J, Ohata J, Saito K, Miyajima H, Hirano T, Kohsaka T, Enomoto S, Okumura K, Azuma M. : Blockade of CTLA-4 signals inhibits Th2-mediated murine chronic graft-versus-host disease by an enhanced expansion of regulatory CD8+ T cells. In : *J. Immunol.*, 164: (in press)
 7. Nakazawa A, Watanabe M, Kanai T, Yajima T, Yamazaki M, Ogata H, Ishii H, Azuma M., Hibi T : Functional expression of a costimulatory molecule, CD86 on epithelial cells in the inflamed colonic mucosa. In : *Gastroenterology*, 117 : 536-545, 1999
 8. Kawamura T, Azuma M., Kayagaki N, Shimada S, Yagita H, Okumura K : Fas/Fas ligand-mediated elimination of antigen-bearing Langerhans cells in draining lymph nodes. In : *British J. Dermatol.*, 141: 201-205, 1999
 9. Seko Y, Takahashi N, Oshima H, Shimosato O, Akiba H, Kobata T, Yagita H, Okumura K, Azuma M., Yazaki Y : Expression of tumor necrosis factor (TNF) receptor/ligand superfamily co-stimulatory molecules CD40, CD30L, CD27L and OX40L in murine hearts with chronic ongoing myocarditis caused by coxsackie virus B3. In : *J. Pathol.*, 188 : 423-430, 1999
- (2) 学会発表
- 主任研究者
恒松 由記子
1. Tsunematsu, Y., Mizutani, S, Kneko, Y., Hayashi, Y., Tsuchida, M., and Tsukimoto, I.: Secondary leukemia following childhood cancer treatment: A National survey in Japan. Hiroshima Cancer Seminar Nov. 18, 1999. in Hiroshima City
 - 2 恒松 由記子、吉沢 康男、宮内 潤、小西 省子、宮木美知子 : Wilms 腫瘍に大腸がんを続発し、両者に著名な MSI が認められた一例、日本癌学会、1999年9月、広島市
 3. 恒松由記子、岩川真由美、大川治夫、大橋靖雄、金子安比古、土田嘉昭、秦 順

一、樋之津史郎、美杉和章、山田正夫、横森欣司（日本ウィルムス腫瘍スタディーグループ）：情報ネットワークを用いた日本ウィルムス腫瘍グループスタディー：日本小児がん学会、1999. 11月 宝塚市

宮内 潤

1. Miyauchi J: The effects of IL-12 on the growth of blast progenitors in acute myelogenous leukemia. 41st annual meeting of the American Society of Hematology (Dec. 3-7, 1999, New Orleans, LA, USA) [Blood 94 Suppl.1: 221b(#4192), 1999]
2. 土田里香、宮内 潤、恒松由記子、加藤順也、別所文雄、水谷修紀：横紋筋肉腫の分化における細胞周期抑制因子 p27/KIP1 と転写因子 AP-1 のcoactivator p38/Jab1 の発現に関する免疫組織学的検討. 第 15 回日本小児がん学会総会（1999 年 11 月 18-19 日、宝塚）
3. 伊藤千賀子、熊谷昌明、塩田曜子、長谷川有紀、宮内 潤、恒松由記子：同種骨髄移植後に慢性 GVHD としてネフローゼ症候群を発症した小児急性リンパ性白血病の一例. 第 41 回日本臨床血液学会総会（1999 年 10 月 13-15 日、秋田）
4. 宮内 潤：若年性慢性骨髄性白血病における p53 遺伝子異常の解析. 第 19 回日本小児病理研究会（1999 年 8 月 7 日、大阪）

5. 松岡健太郎、宮内 潤：特異な組織像を呈した腎の血管筋脂肪腫の一例. 第 18 回日本小児病理研究会（1999 年 8 月 7 日、大阪）

東 みゆき

- 1) Mogi S, Enomoto S, Kohsaka T, Azuma M. Efficient induction of anti-tumor immune responses by gene-transduction with 4-1BB ligand. The 5th annual Meeting The Japan Society of Gene Therapy (Tokyo), 1999.6.18-19
- 2) 茂木 世紀、畑 安浩、野沢和久、榎本昭二、東 みゆき：4-1BB シグナルによる CD4 T 細胞の細胞障害活性発現機構、第 58 回日本癌学会総会(広島)、1999.9.29-10.1
- 3) 野沢和久、大畑順子、桜井仁亨、香坂隆夫、八木田秀雄、奥村 康、東 みゆき：マウス急性 GVHD 発症における CD137 (4-1BB)/CD137L 経路の関与.第 29 回日本免疫学会総会(京都), 1999.12.1-3

水谷 修紀

- 1) Mizutani S, Takagi M., Shigeta T, Asada M, Delia D, Chessa L. Cell cycle and apoptosis dysregulation in Ataxia Telangiectasia. Losane, Switzeralnd, Jan.27- 30,1999
- 2) 浅田 穰, 山田 孝之, 一條 秀憲, 吉田 稔, 水谷 修紀 p21Cip1 の細胞質発現とアポトーシス耐性の機構 第 61 回日本血液学会, 東京, 4 月 19-21 日, 1999.
- 3) 小口 薫, 高木正稔, 浅田 穰, 水谷修紀, 岩田 力, 瀬川 昌也, 二瓶健次 Ataxia Telangiectasia の細胞におけるプ

ロテインキナーゼ chk2 の異常 第41回
日本小児血液学会, 東京, 9月10-11日,
1999.

4) Minoru Asada, Takayuki Yanmada,
Hidenori Ichijo, Domenico Delia, Shuki
Mizutani. Apoptosis inhibitory activity of
cytoplasmic p21Cip1/WAF1 The
Programmed Cell Death meeting. Cold
Spring Harbor, USA, Sept. 29- Oct. 3,
1999

5) 土田 里香, 宮内 潤, 恒松 由記子, 加
藤 順也, 別所 文雄, 水谷 修紀: 横紋
筋肉腫の分化における細胞周期抑制因子
p27/Kip1 と転写因子 AP-1 の
coactivator p38/Jab1 の発現に関する
免疫組織学的検討 第15回日本小児癌
学会, 宝塚, 11月18-19日, 1999.

6) 浅田 穰, 山田 孝之, 一條 秀憲, 水谷

修紀: アポトーシス阻害因子としての
p21CKI 第22回日本分子生物学会, 福
岡, 12月7-10日, 1999.

7) 高木正稔, 重田輝子, 岩田敏, 合井久美子,
浅田穰, 菅谷祐輔, 水谷修紀: Ataxia-
telangiectasia(AT), Li-Fraumeni 症候群
(LFS) 由来細胞株のアポトーシス 細胞周
期調節機構の検討 第20回日本分子生物
学会 京都 1997.12. 16-19

8) 山田孝之, 中村元隆, 辻本敦美, 浅田穰,
水谷修紀: TPR motif を含むヒト新規
遺伝子 kim-1 の cDNA クローニングと
その解析 第20回日本分子生物学会 京
都 1997.12. 16-19

G. 知的所有権の取得状況
なし

厚生科学研究費補助金がん克服研究事業

(分担研究報告書平成 11 年度)

小児を含む発がんハイリスク家系における

遺伝子診断に関連した倫理的・法的社会的諸問題に関する研究

分担研究者 国立小児病院 血液・腫瘍科 恒松 由記子

研究要旨;小児がんや遺伝病を発症した患者の両親に質問紙によるアンケート調査および面接調査を行い、小児がん診断遺伝カウンセリングの際に重要な問題を把握した。すなわち、診断や治療のインフォームドコンセントが行われていて、納得出来る医療を受けられていたにも関わらず、ショック、否認、悲嘆と怒り、そして適応と再起を経過することがわかった。親たちは、動揺のあとに、スピリチュアルな治癒力によりしなやかな精神を取り戻し、知的にも発揚し、難解な事項でも吸収してゆくようである。また、患者同志によるピアサポートが大きな力を示す。また、患者同志・家族同志は、再起の後は疾患の原因を明らかにする研究や治療の研究に積極的になることもわかった。われわれは、「がんは遺伝子の病気である」「材料保存の意義と研究の重要性」などの勉強会をこのスピリチュアルな痛みを経験した患者や患者家族とともに今後行ってゆく。また、昨年度に行った、保存材料に関する問題の解析を図として、また自由意見を今年度の報告書に付記した。

研究目的：

小児がん患者の診断時における倫理問題については、患者が未成年者であるために、インフォームドコンセントが親の代諾により行われるため、医療者側が、親とのコミュニケーションスキルに熟達し心理的支援を十分に行うことが基本となる。

本研究の目的は小児がんをもつ子どもの親の診断における倫理的問題をさらに掘り下げるためである。

方法：

直接面接法により、親たちへの支援で必要なこと、偶然や遺伝病に対する意識などを調査した。小児がんと診断された子どもで、1999年12月現在に国立小児病院の血液病棟の乳児室に入院していた6人の患者の父母、および外来通院中の2家系のLi-Fraumeni症候群の本人と家族(母親)の計14人に、一時間の面接を行った。面接の前には質問紙をあらかじめ渡し、面接の許可を得て、父母には別個に同一の面接者が(腫瘍科医師)面接した。乳児

患者の診断は2名のダウン症候群に合併した白血病の患者、2名の急性リンパ性白血病患者、1名の均衡型染色体点座による(父親がキャリアー)先天異常(溶血性貧血を合併)そして、一人の先天異常と腎芽腫の合併症で全員0才から2才の乳児であって、すでに、診断から一ヶ月以上を経た患者である。本調査では、聞き取られた具体的内容を列記して、内容を記述し考察する方法をとり、面接結果の集計は行わなかった。

共通の質問は

- ・ こどもの病名を聞いた時の心境
- ・ それから、どのように立ち直ったか?
- ・ どのような言葉がほしかったか?
- ・ 病気は通常偶発的に起こることをきいてどう思ったか?
- ・ こどもが先天異常だと聞いたときの心境
- ・ それから、どのように立ち直ったか?
- ・ どのような言葉がほしかったか?

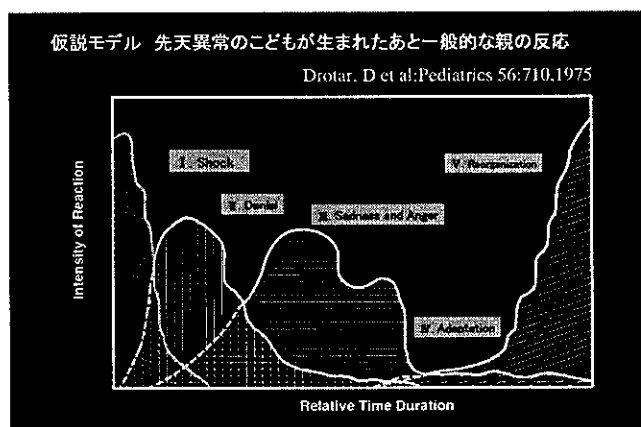
- ・ 子どもが病気になってからと後からとではどのように変わったか？
- ・ 子どもが病気にかかるまでに、もっとつらい、あるいは同等の経験があったか？

であった。

(倫理面への配慮) 面談の前に質問紙をあらかじめわたしてインフォームドコンセントを得た。

研究結果：

全員致命的な経過をたどらなかったが、多かれ少なかれ、全員が Drotar(Pediatrics 56:710,1975) に示された様に、ショック、否認、悲しみと怒り、適応、再起の経過をたどることがわかった。(図)



病気の説明、治療の説明と選択、予後の見通しをきちんと説明してもらっていたので、大きな不信感はなかったが、多きな苦しみや不安を乗り越えてきたことがわかった。

子どもの病気を聞いたときの心境：

- ・ 覚悟していたが、やはりほんとに白血病と聞いた時はショック。今でもその恐怖を考えると身震いする
- ・ うちの子に限ってそんなことはない。
- ・ 深いショックで覚えていない。

- ・ なぜうちの子に？
- ・ 深い悲しみ。悲しみが波のように。
- ・ なぜわれわれだけが苦しまなければならないのか？誰のせいで？死ぬとすればいつ？ 苦しみは？治っても私の子は変わってしまうのか？ 次ぎの子は？この子の子どもは？

それからどのようにたちなおったか？

- ・ 病気の説明、治療の説明と選択、予後の見通しが非常に詳しく、正確な情報がなにもままして勇気をあたえてくれた。
- ・ 同室、同じ病気の親たちがいるということ患者会で知り合った仲間達がいることで慰められた
- ・ 大声でなきまくり、怒りをぶつけられる相手として、親しい友人に聞いてもらった
- ・ アメリカの家族が書いた英語サポートブックをくまなく読んだ
- ・ 妻が落ち込んでしまっているのをケアすることが今でも大変
- ・ 親や子どもの心のケアをやってもらえるとよい

どのようなことばがほしかったか？どんな言葉にきずついたか？

- ・ 言葉かけより、聴いてくれるひとが必要
- ・ 「2才までに歩ければ頭は大丈夫」というなにげない言葉に傷ついた。

病気が偶然におこることをきいて

- ・ 自分の育て方や環境でないということについては心のわだかまりがなくなったが、ではなぜ自分の子どもに？と考えた時に、神様は不公平だな？と思った。偶然ということでは気が収まらない。

子どもが病気になってからとあとからでは

- ・ 子どもが宝であることを実感した
- ・ 家族のありがたさを感じ、家族中心の生活にかわった

子どもが病気になったことと同等のことは

- ・ 夫が遺伝性がんで亡くなった時
- ・ 父が亡くなったとき

回答は非常に共通していた。また、がんと診断されたときと同様にそれがあつたら、遺伝病として起こったことがわかったとき、または、先天異常児として生まれた子どもを持つ親が、次に白血病とわかったときに二度目のショックと立ち直りの道をたどっていた。

考察：

治療者は、診断後、患者や親たちに、がんが起つて来るしくみ・治療の選択・治療研究についてもわかりやすく十分に説明することが大切なことは言うまでもない。医療倫理のキーワードはこのインフォームドコンセント (I.C) である。現在この I.C.がある程度ゆきわたってきた。国立小児病院血液科では、90年から本人にもがんを告知して説明している。しかし、今回の調査で親のショックと動揺、悲嘆・不安・怒りなどへのコーピングへの積極的な援助がほとんどなされていないことがわかった。

最近改訂された、WHO の健康の定義 (1999年11月改訂) として、スピリチュアルにも健康であることが、肉体的・精神的な健康に加えられた。スピリチュアルに健康であれば、これらの怒り・悲嘆は一種の人間の治癒能力により次第に自然にも癒されてゆくようだ。重症患者や遺伝病などの患者や家族を支援する医療者の倫理原則は彼らが経験的するスピリチュアルで全人的な病苦をまた、スピリチュアルに支えることが基本にあると考えた。従って、診断時には通常のインフォームドコンセントの他に全人的にサポートするスピリチュアルな人的資源を必要とする。

親たちは、動揺のあとに、やがて心の奥底がしなやかになるとともに知的にも発揚し、難解な事

項でも吸収してゆくようである。

国立小児病院血液科では心療内科とのリエゾンサイカエトリーを行っている。診療内科 (精神科) が準拠している人間理解は、医療モデルでは包含できない人間と人間との関わり、自分自身とどう向き合い、自分の内部を見つめていき、そこに人間としての資源を見つけるかなどに関して多くのヒントを与えてくれた。

これは非常に微妙な事柄に属するので、なかなか同僚の医師たちとの会話に乗せられるものではない。しかし「スピリチュアルな痛み」「全人的な痛み」を引き受けることなしには、がんの治療は極めて中途半端なものになってしまう。

個人ばかりでなく血縁者の未来の病気を予知する遺伝病の遺伝子診断で家族ごと病気の予防ができる時代になろうとしている。このような時代に、上記のような理解、それも自己理解を医師ができることの重要性に心療内科とのリエゾン医療で気づくことが出来た。これからもこのような視点を深めながら、実際の症例を前にして診断時からのカウンセリング、また、遺伝カウンセリングを行ってゆきたい。

E 結論

がん、先天異常、遺伝病を持つ両親達は、それぞれの病気が診断されるたびに、多かれ少なかれ、全員が Drotar (Pediatrics 56:710,1975) が示した様に、ショック、否認、悲しみと怒り、適応、再起の経過をたどるが、動揺のあとに、やがてスピリチュアルな治癒力が働き、心の奥底がしなやかになるとともに知的にも発揚し、難解な事項でも吸収してゆくことがわかった。

研究結果：アンケート調査：表 1-3、図 I - 図 5

表 1

◆回答者背景

患児の父親：	50人
患児の母親：	64人
患者本人：	16人
合計：	130人

- ◆患者の主な疾患
- ・各種白血病
 - ・悪性リンパ腫
 - ・ユーイング肉腫
 - ・ウィルムス腫瘍
 - ・網膜芽細胞腫
 - ・神経芽細胞腫
 - ・肝芽腫
- etc.

表2

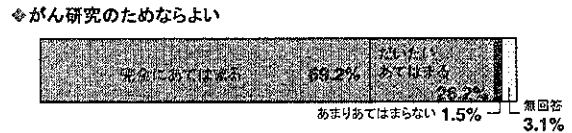
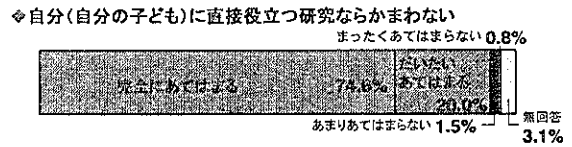
◆回答者背景

患児の父親：	50人
患児の母親：	64人
患者本人：	16人
合計：	130人

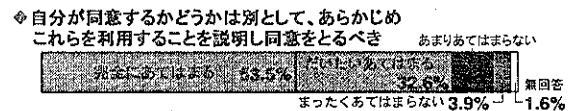
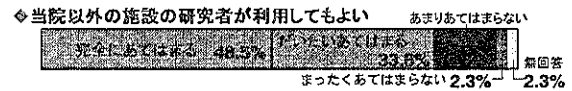
◆保存材料利用、病気の登録制度などについて
以下のようなことがらは心配ですか？

	「心配である」とした割合 (%)
情報が医療者以外に漏れる	63.8
余分に材料を取られてしまう	48.5
現在健康でも遺伝体質が外部に漏れて結婚の障害になる	42.3
がんであることが外部に漏れて結婚の障害になる	40.0
がんであることが外部に漏れて生命保険に入れなくなる	36.2
現在健康でも遺伝体質が外部に漏れて生命保険に入れなくなる	36.2
がんであることが外部に漏れて就職の障害になる	34.6
現在健康でも遺伝体質が外部に漏れて就職の障害になる	33.8
がんであることが外部に漏れて子どもがいじめにあう	29.2
現在健康でも遺伝体質が外部に漏れて子どもがいじめにあう	27.2
現在健康でも遺伝体質が外部に漏れて受験の障害になる	24.6
せっかく提供した材料が意味のない研究に無駄に使われる	24.0
がんであることが外部に漏れて受験の障害になる	21.5
研究者の中に偶然知り合いがいて個人情報があつてしまふ	20.9
材料の保存利用を拒否すると医療者との信頼関係が壊れる	14.6
警察の犯罪捜査に材料が用いられる	13.8
将来、親子関係など秘密の血縁の事実がわかってしまふ	7.8

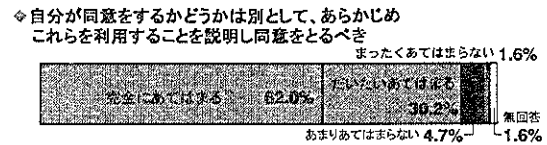
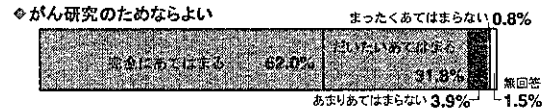
検査や手術で余った材料の保存、研究利用について(1)



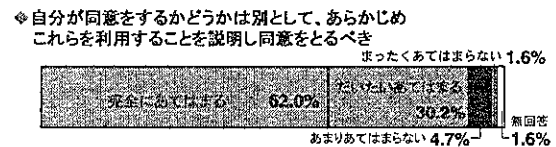
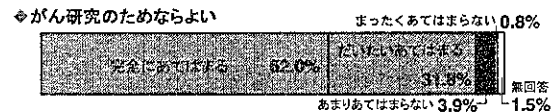
検査や手術で余った材料の保存、研究利用について(2)



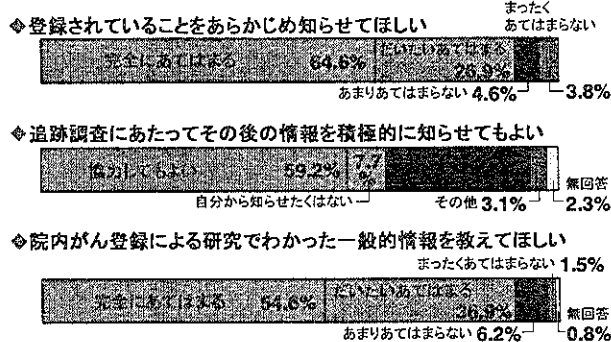
通常の採血の際に、研究のために10mLほど余分に採血し保存利用することについて



通常の採血の際に、研究のために10mLほど余分に採血し保存利用することについて



院内がん登録について



研究発表

論文発表

欧文

- 1) Tsunematsu Y, Yoshizawa Y, Miyauchi J, Konishi M, Miyaki M : A novel case with Wilms tumor followed by colon cancer both showing microsatellite instability.: *Oncolo* 2000;58:159-160
- 2) Meadows AT, Tsunematsu Y :The late effects of treatment for neuroblastoma. In : Neuroblastoma (ed by Brodeur G M, Sawada T, Voute P A), *Elsevier Science*, Amsterdam (in press)
- 3) Sugano K, Taniguchi T, Saeki M, Tsunematsu Y, Tomaru U, Shimoda T : Germline *P53* mutation in a case of Li-Fraumeni syndrome presenting gastric cancer. *Jpn. J. Clin.Oncol*, 29 : 513-516,1999
- 4) Tachibana A, Kato T, Ejima Y, Yamada T, Shimizu T, Yang L, Tsunematsu Y and Sasaki S : The *FANCA* gene in Japanese Fanconi anemia: Reports of eight novel mutations and analysis of sequence variability.: *Human Mutation*, 13 : 237-244,1999
- 5) Nakabate H, Tuchiya T, Maseki N, Hatae Y, Tsunematsu Y, Horikoshi Y, Ishida Y, Kikuta A, Eguchi H, Endo M, Miyake M, Sakurai M and

Kaneko Y : Correlation of chromosome abnormalities with presence or absence of *WT1* deletions/mutations in Wilms tumor.: *Genes, Chromosomes & Cancer*, 25 : 26-32,1999

邦文

- 1) 恒松由記子;掛江直子.「家族性腫瘍における遺伝子診断の研究とこれを応用した診療に関するガイドライン(案)」-作成の経緯と主旨. 遺伝子医学.1999;3(2)132-136
- 2) 恒松由記子. 遺伝性腫瘍の易罹患性(susceptibility)に関する遺伝子診断の倫理的諸問題. 新潟医学会雑誌.1999;133(2)99-103
- 3) 恒松由記子;伊藤千賀子;味木和喜子.わが国の小児がんの疫学的動向.小児科診療. 1999;8(3)1129-1136
- 4) 恒松由記子. 家族性腫瘍の遺伝子診断の倫理的・法的・社会的諸問題.現代医療. 1999;31(9)2399-2405
- 5) 恒松由記子. 家族性腫瘍と遺伝子診断. OB/GYN CURRENT CONCEPT AND PRACTIC. 2000;7(1)14-15
- 6) 熊谷昌明;恒松由記子. Evidence に基づく小児がんの化学療法. 癌と化学療法. 2000;27(2)203-220

学会発表:

- 1) Tsunematsu Y, Mizutani, S, Kneko, Y., Hayashi, Y., Tsuchida, M., and Tsukimoto, I.: Secondary leukemia following childhood cancer treatment : A National survey in Japan. Hiroshima Cancer Seminar Nov. 18, 1999.in Hiroshima City
- 2) 恒松 由記子, 吉沢 康男, 宮内 潤, 小西 省子, 宮木美知子 : Wilms 腫瘍に大腸がんを続発し、両者に著名なMSIが認められた一例、日本癌学会、1999年9月、広島市
- 3) 恒松由記子, 岩川真由美, 大川治夫, 大橋靖雄, 金

子安比古、土田嘉昭、秦 順一、樋之津史郎、美杉
和章、山田正夫、横森欣司（日本ウィルムス腫瘍ス
タディーグループ）：情報ネットワークを用いた日本
ウィルムス腫瘍グループスタディー：日本小児がん
学会、1999. 11月 宝塚市

神経芽細胞腫の転移動態と予後に関する研究

国立小児病院 外科

佐伯 守洋

研究要旨 RT-PCR法を応用した神経芽細胞腫微小転移の検索より、初期に循環系に腫瘍細胞が現れ、骨髄転移を形成する転移動態が示唆された。従来検索し得なかった治療抵抗性の骨髄微小転移が、新たな予後不良因子として明らかにされ、この様な症例に対する積極的治療の重要性が示唆された。

A. 研究目的

本研究では、われわれの開発した分子生物学的技法を用いて神経芽腫細胞の微小転移動態を詳細に把握し、治療反応性、予後との関係において検討することを目的とする。これにより、微小転移の動態から予後の危険度を従来の方法より細かく判定・評価し、より適切な治療戦略の選択に結びつけようとの狙いがある。また転移動態を決定する宿主側の要因に関しても検討することを目的とする。

B. 研究方法

進行例を中心に27例の神経芽腫症例より経時的に収集した末梢血液、骨髄など、計50検体につき、RT-PCR法を応用した微小転移の検索を行った。検索結果を臨床経過、腫瘍の生物学的特性などの臨床情報と併せて検討し、微小転移の動態と治療反応性や予後との関連を検討した。

検体の採取にあたっては家族本人よりインフォームドコンセントをとり、結果に関しても十分な説明を行った。

C. 研究結果

神経芽細胞腫の微小転移動態の検討より以下の結果を得た。

(1) 進行例中63.3%は初診時に末梢血中で循環腫瘍細胞が検出された。循環腫瘍細胞は必ずしも予後不良を意味しないが、多量の循環腫瘍細胞の存在する症例では再発例、死亡例が見られた。

(2) 治療経過中の微小骨髄転移は26.8%で認められた。これより循環腫瘍細胞から骨髄転移への移行は3~4割程度と推定された。

(3) 27例中11例で経過中に微小転移が陽性とされ、うち9例では根治手術時に骨髄の微小転移陽性

であった。このうち幹細胞移植と放射線照射の併用により無病生存が37.5%で得られた。手術時の微小転移陰性例では66.7%で無病生存が得られた。

(4) 骨髄に化学療法抵抗性の微小遺残腫瘍がみられたうち42.9%で再発もしくは死亡が記録されたが、微小転移陰性例での腫瘍死は12.5%であった。

(5) single PCR法のレベルで微小転移陰性とされた骨髄を移植した4例中3例に再発・播種はなかったが、陽性例でpurgung未施行例は2例全例で再発がみられた。

D. 考察

神経芽細胞腫の転移動態は、早期に末梢血液中に腫瘍細胞が現れ、うち3~4割が骨髄転移を形成していくものと考えられた。これまで同じ臨床病期、同じ予後因子として扱われてきた症例のうち、従来は感知出来なかった微小転移の検索から治療抵抗性の微小骨髄転移が持続する一群の症例があることが分かり、この様な症例の予後が不良であることが明らかにされた。

こうした症例中で無病生存例の治療戦略の分析から、微小骨髄転移が陽性でも原発巣局所に開窓放射線照射を含めた根治的外科治療を選択し、幹細胞移植を行うことにより長期生存が期待できるものと考えられた。この際、single PCR法の感度で微小転移陽性例には移植幹細胞のpurgungを行う必要があるが、陰性例ではpurgungは不要と思われた。

E. 結論

PCR法を応用した神経芽細胞腫の微小転移の検索より、末梢血から骨髄転移形成に至る転移動態が推定された。治療抵抗性の骨髄微小転移は従来は感知できなかったが、予後不良因子として注目され、