

図3) ヒト12週胎児脳における前脳でのMS11の発現

MS11はMIB-1陽性細胞に富む上衣層 (ventricular zone) から上衣下層 (subventricular zone) に存在する細胞に発現していた。Huは中間層 (intermediate zone) から皮質板 (cortical plate) にかけて存在する細胞に発現が見られた。MS11 (茶色)、Hu (青色) を用いた二重染色では両蛋白を同時に発現する細胞は僅かしか存在せず、MS11陽性細胞とHu陽性細胞は相補的な部位に存在した。

A) MS11免疫染色、B) Hu免疫染色、C) MIB-1免疫染色、D) MS11、Hu二重染色 VL: 脳室、倍率400倍

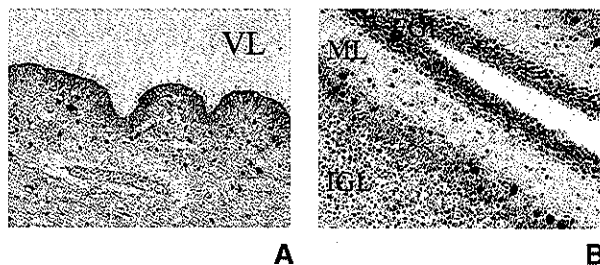


図4) ヒト32週胎児脳におけるMS11およびHuの発現

上衣層 (第4脳室壁) の多くの細胞はMS11 (茶色) を発現し、Hu (青色) 陽性細胞は上衣下層に小数見られた。小脳では外顆粒層、プルキンエ細胞層に位置する細胞に強いMS11の発現が見られ、内顆粒層の細胞の一部にも弱いMS11の発現が見られた。Huはプルキンエ細胞に弱く、内顆粒層の顆粒神経に強く、その発現が見られた。MS11およびHu両蛋白を同時に発現する細胞は僅かしか存在しなかった。

A) 第4脳室周辺部 B) 小脳 VL: 第4脳室、EGL: 外顆粒層、IGL: 内顆粒層、ML: 分子層、倍率400倍

式は従来、マウス^{3,8)} およびヒト¹²⁾ において報告されている結果と発現時期、および部位ともにほぼ一致し、L1はこれら部位では発生期の神経線維束に強く発現していると考えられた。

一方Musashi-1はこれまでの発生過程でのマウスにおける発現様式の分析では、上衣層から上衣下層に存在する神経幹細胞に発現することが知られている⁹⁾。神経幹細胞が神経前駆細胞へ分化していく過程で別のRNA-binding protein familyであるHu蛋白を発現するようになり、m-Msi1陽性細胞とHu陽性細胞は発育中の胎児脳でそれぞれ相補的な部位に存在することが報告されている。また発育中のマウス小脳では外顆粒層およびプルキンエ細胞層にm-Msi1陽性細胞が存在し、Huはプルキンエ細胞と内顆粒層の顆粒神経に発現することが確認されている¹⁰⁾。

今回私たちが行ったヒト胎児脳におけるMS11発現様式の解析結果は、既に正常マウス胎児脳で報告されている発現パターンにほぼ一致し、ヒト胎生期の脳組織において分裂細胞に富む上衣層から上衣下層の細胞、あるいは小脳の外顆粒層の細胞に強く発現していることが判明した。またMS11陽性細胞とHu陽性細胞の存在部位の違いもマウス脳での報告結果に準ずるものであった。このことは、MS11はマウスと同様の特徴を有する蛋白質で、ヒト神経幹細胞に発現し胎生期の神経発生において重要な働きを有することを示唆する結果と思われる。

以上、発育段階の異なるヒト正常胎児剖検脳におけるL1、MS11発現細胞の解析の結果、その発現様式はすでに報告されている正常マウス脳での発現パターンにほぼ一致することが判明した。マウスにおいてこれら遺伝子の異常が先天性水頭症を引き起こすことを考えると、ヒトの先天性水頭症発症にL1およびMS11が関与する可能性を強く示唆する結果と思われた。今後、これら正常脳におけるデータを元に、実際の水頭症患者の脳においてL1およびMS11の発現様式がどのようになっているか、を検討する予定である。

文 献

- 1) Dahme M, Bartsch U, Martini R, Anliker B, Schachner M and Mantei N. Disruption of the mouse L1 gene leads to malformations of the nervous system. *Nat. Genet.* 17: 346-349, 1997
- 2) Franssen E, Camp GV, Vits L and Willems PJ. L1-associated

- diseases: clinical geneticists divide, molecular geneticists unite. *Hum. Mol. Genet.* 6:1625-1632, 1997
- 3) Fushiki S and Schachner M. Immunocytological localization of cell adhesion molecules L1 and N-CAM and their shared carbohydrate epitope L2 during development of the mouse neocortex. *Dev. Brain Res.* 24:153-167, 1986
 - 4) Good P, Yoda A, Sakakibara S, Yamamoto A, Imai T, Sawa H, Ikeuchi T, Tsuji S, Satoh H and Okano H. The human Musashi homolog 1 (MSI1) gene encoding the homologue of Musashi/Nrp-1, a neural RNA-binding protein putatively expressed in CNS stem cells and neural progenitor cells. *Genomics* 52: 382-384, 1998
 - 5) Izumoto S, Yamasaki M, Arita N, Hiraga S, Ohnishi T, Fujitani K, Sakoda S and Hayakawa T. A new mutation of the L1CAM gene in an X-linked hydrocephalus family. *Child's Nerv. Syst.* 12: 742-747, 1996
 - 6) Jouet M, Rosenthal A, Armstrong G, MacFarlane J, Stevenson R, Paterson J, Metzberg A, Ionasescu V, Temple K and Kenwrick S. X-linked spastic paraplegia (SPG1), MASA syndrome and X-linked hydrocephalus result from mutations in the L1 gene. *Nat. Genet.* 7: 402-407, 1994
 - 7) Kamiguchi H, Hlavin ML and Lemmon V. Role of L1 in neural development: What the knockouts tell us. *Mol. Cell. Neurosci.* 12: 48-55, 1998
 - 8) Lindner J, Rathjen FG and Schachner M. L1 mono- and polyclonal antibodies modify cell migration in early postnatal mouse cerebellum. *Nature* 305: 427-430, 1983
 - 9) Sakakibara S, Imai T, Hamaguchi K, Okabe M, Aruga J, Nakajima K, Yasutomi D, Nagata T, Kurihara Y, Uesugi S, Miyata T, Ogawa M, Mikoshiba K and Okano H. Mouse-Musashi-1, a neural RNA-binding protein highly enriched in the mammalian CNS stem cell. *Dev. Biol.* 176: 230-242, 1996
 - 10) Sakakibara S and Okano H. Expression of neural RNA-binding proteins in the postnatal CNS: Implication of their roles in neuronal and glial cell development. *J. Neurosci.* 17: 8300-8312, 1997
 - 11) 高嶋幸男、津留陽、福永道郎：先天性水頭症における神経細胞接着因子L1の免疫組織化学的発現。厚生省特定疾患難治性水頭症調査研究班 平成7年度研究報告書、1996、pp55-59
 - 12) Tsuru A, Mizuguchi M, Uyemura K and Takashima S. Immunohistochemical expression of cell adhesion molecule L1 during development of the human brain. *Early Human Development* 45:93-101, 1996
 - 13) Yamasaki M, Arita N, Hiraga S, Izumoto S, Morimoto K, Nakatani S, Fujitani K, Sato N and Hayakawa T. A clinical and neuroradiological study of X-linked hydrocephalus in Japan. *J. Neurosurg.* 83:50-55, 1995

L1CAM異常によるX-linked hydrocephalusの遺伝子解析

大阪府立母子保健総合医療センター企画調査部

岡本伸彦

緒言

最近、水頭症の原因として、伴性遺伝性水頭症（X-linked hydrocephalus：以下XLH）が注目されている。一部の症例で神経接着因子L1CAM（L1 cell adhesion molecule）の遺伝子異常が報告され、水頭症も分子生物学レベルで検討されるようになってきた。L1CAM異常によるX-linked hydrocephalusの遺伝子解析の報告例をまとめ、考察を行った。

基本病態

近年、中枢神経の先天異常の原因が分子生物学的に明らかにされつつある。1992年、Rosenthalらは、XLHにおいて免疫グロブリンスーパーファミリーに属する神経接着因子L1CAMの遺伝子異常を報告した¹⁾。翌年さらに2家系で新しい変異が報告された。

この水頭症は臨床的にHSAS症候群（Hydrocephalus due to congenital stenosis of aqueduct of Sylvius）として、中脳水道閉塞による先天性水頭症、痙性四肢麻痺、重度精神発達遅滞、内転母指などを特徴とする症候群である。当初、XLHは臨床的に中脳水道閉塞が基本病態とされたが、中脳水道閉塞は脳室拡大による圧迫で二次的に生じたものと考えられている。

1994年になってXLHだけでなく、伴性劣性遺伝性痙性対麻痺とMASA症候群（Mental retardation, Aphasia, Shuffling gait and Adducted thumb syndrome；精神発達遅滞—失語—いざり這い—内転母指症候群）もL1CAMの異常による疾患であることが証明された²⁾。これらをま

とめてCRASH症候群という³⁾。

L1CAMは6個の免疫グロブリン様ドメインと5個のフィブロネクチンリピートⅢ様ドメインおよび膜貫通ドメインと細胞質内ドメインから構成される糖蛋白である（図1）。L1CAM蛋白は細胞分裂後の神経細胞の軸索表面に出現し、神経系の発生、神経細胞の移動、神経突起延長などに重要である。L1CAM同士のhomophilicな結合の他、他の分子とのheterophilicな結合もみられる。

臨床症候

先天性水頭症のため、頭囲増大が進行する。画像診断では単なる水頭症だけでなく、脳梁欠損、透明中隔欠損、視床癒合、小脳低形成などの多彩な脳形成障害が基礎に存在する。皮質脊髄路の欠損など、L1CAMの胎生期に発現領域とXLHの脳形成異常には関連が存在する。

XLHでは早期から痙性四肢麻痺、眼振を認める。特殊な症状として、XLHの内転母指がある。新生児期から両側母指の内転拘縮を認める。

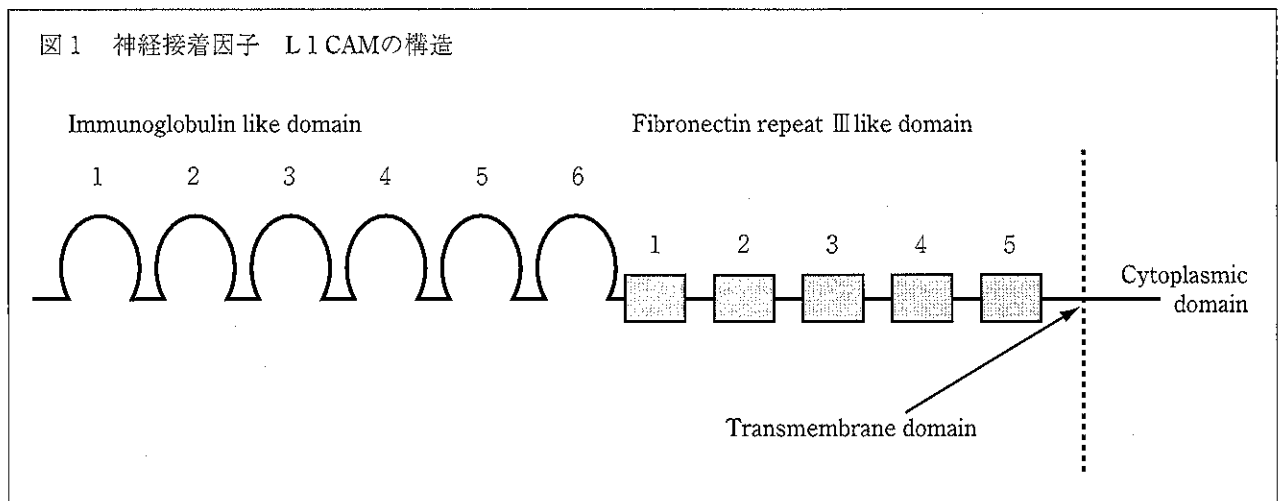
XLHの遺伝子診断

L1CAMは1253個のアミノ酸からなる糖蛋白質である。遺伝子座位はXq28にある。遺伝子は28個のエクソンからなり、エクソン・イントロンの構造も判明し、全エクソンをPCRで増幅するためのプライマーの塩基配列も報告されている²⁾。

患児の末梢白血球からDNAを抽出し、PCR法でL1CAM遺伝子を増幅する。

変異の報告は遺伝子の各領域に広く存在している。

図1 神経接着因子 L1CAMの構造



効率的に遺伝子異常を見つけるためにはSSCP法などによるスクリーニングで、変異のあるエクソンを同定し、塩基配列を決定する必要がある。あるいはリンパ球に発現したL1CAMのmRNAを用いたRT-PCR法も有用である。

結果と考察

欧米を中心に現在までに90種類以上のL1CAM遺伝子の異常が報告されている(表1はアントワープ大学L1CAMホームページの資料や各種文献を参考に作成した)。

日本でも多くの例が解析され、これまで6種類の遺伝子変異が文献上報告されている⁴⁻⁹⁾。さらに、当センターでは2種類の変異を見いだしている(表1未発表)。ミスセンス変異、一塩基欠失、遺伝子の部分重複などの各種の異常が報告されている。家系によって変異は異なり、ホットスポットはない。ただし、Exon 6, 8, 11, 18、Intron 10は5種以上の変異がみつかっており、やや多い傾向がある。

日本での報告をみても、ホットスポットはなかったが、fibronectin domain 1-4に5種の変異が存在した。解析をおこなう場合、この領域から行うと効果的かもしれない。

例外もあるが変異と表現型の関連には相関が認められる¹⁰⁾。細胞外ドメインでの中止コドンの出現などにより膜貫通領域を欠く短い蛋白しか産生されない場合は死亡例や重症例が多く、ミスセンス変異や細胞質内ドメインの異常で膜貫通領域の保たれる場合は、軽症の傾向がある。国内報告例はいずれも重症例であった。

しかし、臨床的に典型的なXLHでも変異を認めない

例もある。この場合、コーディング領域以外の変異の可能性もあるが、伴性遺伝性水頭症はXq27にも別の遺伝子座位があることが判明し、遺伝的異質性も考えられる。

先天性水頭症を生じる遺伝子異常として確立したものは、ヒトではL1CAMだけである。この報告書の他の項目で扱われているように、いくつかのノックアウトマウスで水頭症を生じる疾患も報告されており、今後、常染色体上の遺伝子も含め、L1CAM異常以外の先天性水頭症の原因も遺伝子レベルで解明される可能性がある。

まとめ

L1CAM異常による先天性水頭症は、水頭症のメカニズムが遺伝子レベルで解明された最初の例である。日本でも多くの患者が存在しており、遺伝子変異の同定された症例も徐々に増加している。変異にホットスポットはなく、L1CAM遺伝子の広い範囲を検索する必要がある。

しかし、すべての例で変異が同定されるわけではなく、非翻訳領域や他の責任遺伝子の存在も考えられる。

表1 L1CAM遺伝子異常の過去の報告のまとめ（内外の報告の対比）

場 所		domain	アミノ酸置換、スプライス異常、欠失など
Exon	1	Singnal peptide	W9S, FS18
Intron	1		SP
Exon	4	Ig domain 1	G121S
Intron	4		FS108
Exon	5	Ig domain 2	FS135
Intron	5		SP, del31bp
Exon	6	Ig domain 2	I179S, R184W, R184W(8), R184Q, Y194C, H210K, FS215
Exon	7		FS239, P240L, C264Y, G268D
Intron	7	Ig domain 3	SP, SP, SP
Exon	8	Ig domain 3	W276X, FS281(4), SP, E309K, E309K, FS319
Exon	9	Ig domain 3.4	P333R, G370R
Intron	9		SP, SP
Exon	10	Ig domain 4	L391P, FS400, FS416
Intron	10		SP, SP, SP, SP, SP, SP
Exon	11	Ig domain 5	A426D, del4, del15, Q440X, G452R
Intron	11		SP
Exon	12	Ig domain 5	L482P, R485X
Exon	13	Ig domain 6	del526, S542P, R558X
Intron	13		SP(9)
Exon	14	Ig domain 6	Q586X, FS594, D598N
Exon	15	Fibronectin 1	R632P
Exon	16	Fibronectin 1	K655E(5), A691D, G698R
Exon	17	Fibronectin 2	FS718
Exon	18	Fibronectin 2	M741T, V752M, W754X, V768I, V768F, Y784C, FS791, FS808(7), FS810,
Intron	18		811ins23AA, △E19, SP(Okamoto:unpublished)
Exon	20	Fibronectin 3	R901X
Exon	21	Fibronectin 4	△ E21, L935P, 936del13AA, P941L
Exon	22	Fibronectin 4	FS962, FS962, FS1000(6)
Intron	22		SP(Okamoto:unpublished)
Exon	23	Fibronectin 5	FS1030, Q1042X
Exon	24	Fibronectin 5	Y1070C
Intron	24		SP
Exon	25	Fibronectin 5 Cytoplasmic	FS1108 Y1151X, Y1151X
Exon	26	Cytoplasmic	FS1164
Intron	26		SP
Intron	27		del1181 → end <deletion2kb>
Exon	28	Cytoplasmic	S1194L, FS1223 <duplication1.3kb>, Y1229H

日本では8種の変異が同定されている。■は国内でみいだされた変異で、()は文献番号を示す。複数家系での報告は、重複して記載した。SPはスプライス異常。FSはフレームシフト。

文 献

- 1) Rosenthal A, Joulet M, Kenwrick S. Aberrant splicing of neural cell adhesion molecule L1 mRNA in a family with X-linked hydrocephalus. *Nature Genet.* 2: 107-112, 1992.
- 2) Jouet M, Rosenthal A, Armstrong G et al. X-linked spastic paraplegia (SPG1), MASA syndrome and X-linked hydrocephalus result from mutations in the L1 gene. *Nature Genet* 7: 402-407, 1994
- 3) Fransen E, Lemmon V, Van Camp G et al. CRASH syndrome: clinical spectrum of corpus callosum hypoplasia, retardation, adducted thumbs, spastic paraparesis and hydrocephalus due to mutations in one single gene, L1. *Eur J Hum Genet* 3: 273-284, 1995
- 4) Takechi T, Tohyama J, Kurashige T et al. A deletion of five nucleotides in the L1CAM gene in a Japanese family with X-linked hydrocephalus. *Hum Genet* 97:353-6, 1996
- 5) Izumoto S, Yamasaki M, Arita N et al. A new mutation of the L1CAM gene in an X-linked hydrocephalus family. *Childs Nerv Syst* 12: 742-7, 1996
- 6) Okamoto N, Wada Y, Kawabata H et al. A novel mutation in L1CAM gene in a Japanese patient with X-linked hydrocephalus. *Jpn J Hum Genet* 41: 431-7, 1996
- 7) Okamoto N, Wada Y, Goto M Hydrocephalus and Hirschsprung's disease in a patient with a mutation of L1CAM. *J Med Genet* 34: 670-1, 1997
- 8) 水岸貴代美、柳沢雅弘、山中恵子 他
X連鎖性水頭症における神経細胞接着因子L1遺伝子解析
日本小児科学会雑誌 101: 1383-1387, 1997
- 9) 岡本伸彦、和田芳直 X-linked hydrocephalusにおける遺伝子解析 *臨床細胞分子遺伝*3: 40-41,1998
- 10) Yamasaki M; Thompson P; Lemmon V. CRASH syndrome: mutations in L1CAM correlate with severity of the disease. *Neuropediatrics* 28: 175-8, 1997

Molecular analysis of L1CAM gene in X-linked hydrocephalus

N. Okamoto

Department of Planning and Research, Osaka Medical Center and Research Institute for Maternal and Child Health

L1CAM is a member of the immunoglobulin gene superfamily of neural adhesion molecule. Abnormalities of the L1CAM gene is associated with X-linked hydrocephalus (HSAS syndrome: Hydrocephalus due to congenital Stenosis of Aqueduct of Sylvius). So far more than 90 mutations have been reported in the world. In Japan, 8 mutations were found (2 of them unreported). The distribution of mutations in the L1CAM gene is quite variable, no hot spots have been found.

Key words: L1CAM, X-linked hydrocephalus, HSAS syndrome, DNA diagnosis

厚生省特定疾患 難治性水頭症調査研究班（主任研究者 山崎麻美）
平成11年度研究報告書 平成12年3月

水頭症バンク設立の経過と遺伝子解析

国立大阪病院 脳神経外科¹、臨床研究部²、兵庫医科大学脳神経外科³

山崎麻美¹ 金村米博² 森 鑑二³ 有田憲生³

緒 言

難病といわれる稀少疾患の臨床研究において重要なことは、散逸しがちな貴重な臨床データを集積することである。今回本研究班は先天性水頭症の分子生物学的メカニズム解明をテーマに掲げており、この研究目標を遂行するために臨床データと合わせて患者DNAを集積する水頭症バンクの確立を一つの大きな課題に挙げた。これまでのバンク設立の経過について報告する。

設立までの準備

克服すべき問題として、適正な管理運営方法・遺伝子診断における倫理問題の把握・研究への有効な利用を挙げた。

1) 遺伝子バンクのプロトコル作製

9月10日の第1回班会議で水頭症遺伝子バンクを国立大阪病院臨床研究部に設立することを提案し、水頭症バンクのプロトコル案を討議し、以下のように作製した。遺伝子バンクのプロトコル（図1）

(1) 患者DNA採取にあたってのインフォームド・コンセントの実施。

1. インフォームド・コンセントの施行者：患者の主治医。
2. 対象者：患者本人、不可能なときは両親、あるいは親権者。
3. 説明内容：インフォームド・コンセントのための統一書式の説明文を作成。

(参考資料1)

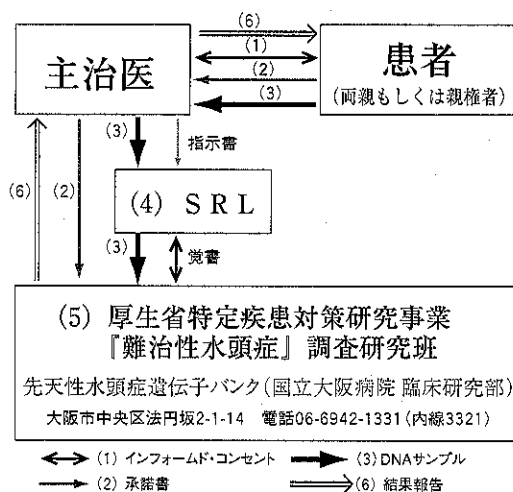
(2) 承諾書の作成、保管

1. 承諾：本人、不可能なときは両親もしくは親権者より承諾を得る。
2. 書式：統一書式の承諾書を使用。（複写式3枚ツズリ、参考資料2）
3. 保管：承諾書は検体提供施設のカルテ、患者、国立大阪病院臨床研究部で各々保管する。主治医は承諾書の一部を国立大阪病院臨床研究部へ郵送する。

(3) 検体採取の方法

1. 施行者：主治医が採血。

図1 先天性水頭症遺伝子バンクプロトコル



2. 対象疾患：先天性水頭症全般

- 注 a. 家族歴、遺伝歴、染色体異常の有無は問わない。
- b. 続発性水頭症（出血後、感染後、外傷後、腫瘍合併等）は除く。
- c. Holoprosencephaly、Dandy-Walker syndrome、Lissencephaly、先天性心疾患などを合併する水頭症も含む。
- d. 脊髄髄膜瘤に合併した水頭症は今年度は対象に加えない。

3. 採取法

血液の場合：専用スピッツ使用の上、全血採血（採血量 7 ml）。7 ml の採血が不可能なときは採血可能な量でかまわない。採取後は冷蔵（4℃）保存する。採血が不可能な時（主に新生児）：組織（胎盤）より採取する。その場合は滅菌試験管に 1cm²以上の組織片を入れ、採取後は凍結保存（通常の冷凍庫でも可能）する。

4. 採取後の検体の保存、提出方法

検体回収・DNA抽出・搬送はエスアールエル（SRL）に業務委託する。（委託契約書；参考資料 3）

(4) DNA抽出、輸送

エスアールエル（SRL）に業務委託し、DNA抽出はSRL八王子研究所にて一括処理する。その後DNAサンプルは国立大阪病院臨床研究部へ輸送される。

注）指示書の作成（施行者：各施設の研究責任者）本研究班のプロジェクトのため採取したDNAサンプルを委託業者（エスアールエル）から国立大阪病院臨床研究部へ一括輸送、保管することを承認、指示してもらうための指示書を作成してもらう（参考資料 4）。

(5) 患者データの作成・保存

主治医が、所定の用紙（疫学調査の二次調査用紙に準じたものを使用）に必要事項を書き込み、国立大阪病院に郵送し国立大阪病院臨床研究部で保管する。

(6) DNAサンプルの保管、管理

1. 保管場所：国立大阪病院臨床研究部にて一括保管する。
2. 患者家族がDNAサンプルの返還を申し出た時は速やかに返還する。

(7) 解析結果の報告

症例毎の解析結果報告

1. 各症例毎の解析結果は随時、提供施設の主治医へ報告する。
2. 遺伝子解析結果を含めた症例報告を学会、論文等で行う際は解析者と主任研究者名をco-authorに加える。

全症例の総合解析結果の報告と発表

1. 全症例の総合解析結果は年二回の全体班会議にて随時、報告する。
2. 全症例の総合解析結果を学会、論文等で発表する際は発表に先立ち、検体提供施設に連絡し、その承認を得ることとする。

2) 倫理問題の克服

患者さんの臨床データやDNAサンプルなどを含むあらゆる生体材料は、決して臨床や研究に携わる医師の“持ちもの”ではなくて患者さん自身の人生の数頁であり身体の一部であるという考え方が重要である。当然採取・保存・研究使用・発表などにおいて、提供者が自由意志で、理解し協力を受諾してくれることが必須である。そして研究協力への崇高な意志に敬意を払う気持ち、あるいは、研究担当者が、直接患者さんと接し協力を依頼した医師へ礼を怠らないこともまた重要である。倫理問題はややこしくも厄介でもなく、ごく基本的な臨床研究における考え方であると理解して、これまでの指針について学習した。

(1) 倫理問題学習会

まず第1回の班会議で大阪大学脳神経外科吉峰俊樹教授を講師に倫理問題についての勉強会を行った。参考資料は日本人類遺伝学会 遺伝相談・出生前診断に関する委員会（委員長松田一郎）『遺伝子診断に関するガイドライン』¹⁾、遺伝医学と遺伝サービスにおける倫理的諸問題に関して提案された国際的ガイドライン（編集：福嶋義光先生／小児病院臨床遺伝懇話会）²⁾、家族性腫瘍研究会『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）』などである。すでに形成されたバンクとして信州大学衛生学 福嶋義光教授の主催する遺伝子・細胞・組織バンクや厚生科学研究（脳科学研究事業）「生検材料による神経・筋疾患等の成因解明と治療に関する研究」班〔主任研究者埜中征哉〕「剖検脳等を用いた精神・神経疾患の発生機序と治療に関する研

究」班〔主任研究者高嶋幸男〕¹⁾の主催するResearch Resource Network (Brain Bank)と連絡を取り、ガイドラインを参考にさせていただいた。

(2) 倫理委員会への申請

平成11年9月30日 国立大阪病院医学倫理委員会に「先天性水頭症の分子生物学的メカニズム解明と治療法開発」研究における倫理審査を依頼した。(参考資料5)

倫理審査を申請する理由としては、①多施設からの患者DNAを中心とした生体資料を集積するバンクを形成すること。②遺伝子解析を行うこと。③正常胎児脳(流産あるいは中絶胎児脳)を研究に用いること³⁾の3点である。3点目の理由は直接水頭症バンクの設立とは関係ないが、本研究班の研究の中で重要な位置をしめる免疫組織化学的検索、あるいはそれに関連した研究で必ず必要なことなので、同時に倫理審査を申請した。10月18日に院外見識者3人(三木健二氏; 読売新聞大阪本社論説委員、倉光弘巳氏; 元神戸大学経営学部教授、現在芦屋大学教授; 法学専攻、大野ゆう子氏; 大阪大学医学部保健学科教授)を含む医学倫理委員会が開催され、4時間にわたる質疑応答の末、数ヶ所の訂正を行い、再審査の結果11月17日に承認をうけた。(参考資料6)

水頭症バンクの開始と実施状況

承認を受けて直ちに、「先天性水頭症患児・家族に対する研究協力についてのインフォームドコンセント」「中絶あるいは流産・死産された胎児・家族に対する研究協力についてのインフォームドコンセント」および各承諾書を作製した。まず分担研究者・研究協力者・日本こども病院神経外科医会世話人に研究協力を呼びかけた。またエスアールエルとDNAの収集・抽出・運搬に関する業務委託を提携した。

遺伝子解析の実施

これまでに各施設から約20検体が収集された。今年度はまずL1の遺伝子解析から開始した。水頭症バンクを介した先天性水頭症におけるL1遺伝子解析は、日本人の先天性水頭症の原因の中にL1遺伝子異常が占める割合を明らかにするという、分子疫学的な知見をもたらすと同時に、その病態の分子生物学的解明につながる事が期待される。

方 法

L1遺伝子異常の疑いの強い4家系9人(水頭症患者5人母親4人)の末梢白血球より採取したgenomic DNAをtemplateとし、polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism (PCR-SSCP)解析を行った。PCRに用いた primerはJouetらの報告に基づき作成した⁴⁾。以下の条件でPCRを行い、PCR産物をGenePhor DNA fragment analysis system (Phrmacia)を用いて600V 25mA 15W 10℃で80分電気泳動した後、ゲルを銀染色し、DNAのバンドを可視化した。

PCR mixture: template DNA 1g、10×PCR buffer 2.5 μl、2.5 mM dNTP mix 2 μl、primer forward、reverseとも 20 pmol、Ex-Taq polymerase 0.25 μl、total volume 2.5 μl

PCR condition: denature 95℃ 30秒、anealing/extention 67℃ 1分、30サイクル

今後の課題

形骸化させないために今後の課題として、主治医の協力や患者・家族の協力の協力を、学会・手紙・講演会などを通じて呼びかけていくこと。データ整理・事務連絡を確実にを行うためにバンク専門の事務担当者および遺伝カウンセラーをおくこと等を検討中である。

文 献

- 1) 厚生省精神・神経研究委託費神経・金疾患の遺伝子診断システムの確立と遺伝子バンクの樹立に関する研究班(班長=壺中征哉); 神経筋疾患遺伝子診断ハンドブック Q&A、医学書院、東京、1999
- 2) 福嶋義光先生/小児病院臨床遺伝懇話会; 遺伝医学と遺伝サービスにおける倫理的諸問題に関して提案された国際的ガイドライン、信州大学松本生協書籍部、長野 1998
- 3) John Burn, Tom Strachan; Human embryo use in developmental research. Nature Genetics 11:3-6, 1995
- 4) Jouet M, Rosenthal A, Armstrong G, MacFarlane J, Stevenson R, Paterson J, Metzenberg A, Ionasescu V, Temple K, Kenrick S (1994) X-linked spastic paraplegia (SPG1), MASA syndrome and X-linked hydrocephalus result from mutations in the L1 gene. Nat Genet 7:402-407

参考資料1

先天性水頭症患児・家族に対する研究協力についてのインフォームドコンセント「先天性水頭症」の研究に関するお願い 厚生省特定疾患対策研究事業「難治性水頭症」調査研究班（主任研究者：山崎麻美）

連絡先：大阪市中央区法円坂2-1-14

国立大阪病院脳神経外科

電話06-6942-1331 FAX 06-6943-6467

元気で生まれてくると思っていた我が子が水頭症であると知らされた時の驚きとショックの中で、御両親は「何でうちの子がこんな病気になるのですか？」「治らないのでしょうか？」という言葉をなげかけてこられます。残念ながら今の医学の現状では、明快な答えは得られていません。しかし苦しんでおられるのは、あなた達だけではありません。周りには少ないかもしれませんが、全国には同じように悩み苦しんでおられる方が多くおられます。私達は水頭症の患者家族の苦しみを少しでも軽くすることができるように先天性水頭症の原因を遺伝子レベルから解明し、その治療法を開発することを目標とした研究を行っています。この度、全国の小児科、小児脳神経外科、産科、病理、臨床遺伝学の先生方、脳科学の基礎の研究者たちと共同で厚生省特定疾患対策研究事業の一環として「難治性水頭症」調査研究班を構成し調査研究を開始しました。

水頭症とは？

「水頭症」とは「脳室」（脳の中の水がたまる部屋でそれぞれ側脳室・第3脳室・第4脳室などと名前の付いた部屋があります。）などに異常に大量の髄液（脳や脊髄の周りを循環している無色透明の水）が貯留し、脳室などが拡大した状態を言います。髄液はほとんどが脳室内の脈絡叢というところから産生され、両側のモンロー腔（側脳室と第3脳室の通路）をとり、第3脳室・中脳水道（第3脳室と第4脳室の間の狭い通路）を経て第4脳室にいたり、そこに存在する出口（マジャンディ孔およびルシュカ孔という名前が付いています。）から頭や脊髄のくも膜下腔（くも膜という膜で覆われた髄液が循環する腔）を循環しながら、主にくも膜顆粒から上矢状洞という静脈の中へ吸収されます。成人では髄液の量は約150ml程度で、また1日に約450mlもの髄液が産生されており、1日に約3回新しい髄液に置き換わっている勘定になります。通常は髄液の生産量と吸収量との間でバランスがとられており、脳室内にたまっている髄液の量はほぼ一定しています。しかし何かの原因で①髄液が異常に多く産生されたり②髄液の循環のどこかで閉塞したり③髄液の吸収が障害されることによって髄液産生と吸収のバランスが崩れたとき、水頭症という病態が起こってきます。水頭症が進行すると頭蓋骨の内部の圧力が上昇し、頭痛、嘔吐、意識障害などの症状を呈するようになります。また慢性的に水頭症の状態が続くと精神運動発達遅滞、視力障害など重篤な後遺症を残します。

先天性水頭症とは？

水頭症は現在、その発生原因によっておもに2つに分類されています。先天性水頭症と続発性水頭症です。続発症は出血、髄膜炎、外傷後あるいは腫瘍などに合併して発生します。

先天性水頭症（胎児期に見つかったものを胎児性水頭症と呼ぶ場合もありますが、ここではそれも含めて先天性と呼びます。）は10000人の赤ちゃんのうち2～5人程度のお子さんがこの様な水頭症にかかりますが、この水頭症の発症の原因が良く分からず難病の一つと考えられています。私達が今回研究の対象としているのは、この先天性水頭症です。

「先天性水頭症の分子生物学的メカニズム解明と治療法の開発」の研究とは？

近年、特に遺伝子診断技術の進歩で原因不明であった先天性水頭症の一部メカニズムが少しずつ解明されてきました。その中でX連鎖性劣性遺伝性水頭症の研究はもっとも進んでいます。L1(エルワン)という細胞接着因子の一つの異常で発生することが解明されました。また、L1分子を先天的に破壊した特殊なマウス（ノックアウトマウス）でもやはり人間と同様に水頭症が発症してくる、という研究報告が行われています。また他の神経の発生する過程で重要な分子が欠損したマウスでも水頭症が発生することが分かっています。

このように私達は先天性水頭症の原因解明を、原因遺伝子の検索という方法で行いたいと考えています。しかしこのような研究を進める上での大きな問題点は先天性水頭症の患者さんの数が少ないことです。今回、全国に散らばった患者さんの情報を集積する必要があります。具体的には患者さんの遺伝子を検査させていただきたいと考えています。

分子生物学的メカニズム解明とは？

ヒトを含めてすべての生物の遺伝情報はDNA<ディー・エヌ・エイ>という物質に存在します。DNAは二本の鎖が螺旋構造を作っている物質で、生物を構成するのに必要なすべての情報を含む、まさに生物の設計図であります。DNA

は体中のどの細胞にも共通に存在し、しかもすべて共通のものを持っています。脳組織でも血液や消化管でも一人のヒトは同じDNAを持っています。水頭症の患者さんは脳にその病気があり、神経組織の構築や機能に関係する遺伝子に異常があることが予測されますが、血液を採血して、その中の白血球に含まれるDNAを取り出して検査することができます。遺伝子を調べるからといって水頭症が必ず遺伝する病気というわけではありません。遺伝子という体を作り上げていく時の設計図がどこで間違ったのかを検索するということです。そこから水頭症の成り立ちを検索していこうという研究です。この考え方は、今では癌でも糖尿病でもいろんな病気の中で当たり前の研究方法になっています。水頭症などは生まれつきの病気であるにもかかわらずそういう研究が遅れているものの一つです。

私達からのお願い

患者さん、ならびに家族の方に本研究にご理解いただけるならご協力お願いしたいことがあり、次にそれについて説明させていただきます。

1. 実際にお願ひしたいこと

患者さんの遺伝子を少し採取させていただきたいのです。具体的には数mlの血液を採取させていただきます。その血液からDNAを採取させてもらいたいと思っています。また生後まもない小さな新生児の患者さんには出産の際、赤ちゃんと一緒に娩出される胎盤という出産後は必要がなくなる組織の一部かへその緒のなかに含まれる血液（臍帯血）をとらせて頂くことで十分です。

2. 今回の研究で考えられるメリット、デメリット

残念ながら現段階では既に水頭症の患者さんにとっては、すぐに治療に結びつくような直接のメリットはありません。研究自体はまだ始まったばかりで、現時点では極めて基礎的な研究になりますが、将来の治療法の開発をめざすためには道りは遠いですがやっつけていかなければいけない研究だと考えています。

ごく一部の遺伝性のはっきりしている水頭症の場合、遺伝相談の情報を提供してくれる可能性があります。その時は今後の水頭症の発症を予測できる可能性があります。しかし、こういう内容を知りたいか知りたくないかは患者さん家族の自由意志です。

私達からのお約束

1. 治療上、健康上の問題

この研究に協力いただかなくても治療・処置の方針の決定には全く影響しません。また解析結果はあくまでも研究目的で利用することとし、また検体の採取に用いる採血法は通常の血液検査と全く同様の方法で、安全な範囲で行います。

2. 解析結果の扱い、プライバシーの保護

患者さんのカルテや病院記録などから得られるお名前、カルテ番号、電話番号、住所、医療情報などから個人を特定できる内容は、主治医以外の研究に携わるものでさえも、知り得ないようなコード番号を使い、プライバシーの保護には厳重に留意します。

解析結果は医師の守秘義務に基づき、患者さん自身または代理人（注：ここでいう代理人とは患者さんが自分で意志決定できないと判断されるとき、患者さんの利益を保護する人のことであり、親権者が望ましい。）あるいは患者さんが指定された人以外には決して知らせることはありません。そのことで社会から受ける不利益に対しては断固としてお守りします。

また、遺伝子診断の検査については希望のあるときは勿論お知らせします。しかし結果を聞きたくない時は、こちらからその意志を無視して一方的に通告することは一切ありません。また、患者さんの遺伝子に異常があることが分かった場合、ご家族や親戚の方に対して遺伝子検査を勧めるようなことは私達からは行いません。もし患者さんやあるいは家族のかたがご希望されるのでしたら検査を行います。

また解析結果は学問上の利用のため学会、論文等で発表されることはありますがその際も、決して個人を特定できるような情報を他人に知らせることはいたしません。

私達の研究は第29回ユネスコ総会において採択された「ヒトゲノムと人権に関する世界宣言」（ヒト遺伝子に関する研究が人類全体の健康を改善することを認識しながらも、人間の尊厳、自由及び人権、ならびに遺伝的特徴に基づくあらゆる形態の差別の禁止を尊重すべきことを示した宣言）の精神に則り、WHO人類遺伝プログラム「遺伝医学と遺伝サービスにおける倫理的諸問題に関して提案された国際的ガイドライン」に沿ったものであります。

3. 採取したDNAサンプルの管理

採取したDNAサンプルは私達の責任で厳重に保管管理させていただきます。また返却の申し出があったときは速やかに返却させていただきます。

今回の研究で残ったサンプルは医学上、極めて貴重なもので、簡単に廃棄はしませんが、水頭症関連以外の研究に使用することはありません。

検査への同意

ここまでの説明をお聞きになって、良く分からないことがありましたらお尋ね下さい。もし私達の研究について理解いただき、しかも研究に協力して下さるときは、承諾書にご署名下さい。

なお、この研究に同意なさらなくても、不利益を被ることは一切ありませんので、どうか全くご自由なお気持ちでご判断下さいますようお願い致します。

また、もしいったん同意を下さった後でもお気持ちが変わるようなことがありましたら、いつでも撤回できます。この研究内容は倫理委員会で審査を受け、医学的、倫理的に適切であり、かつ患者さんの人権が守られていることを承認されたものです。

参考資料 2

先天性水頭症患児・家族に対して研究協力についての同意書

厚生省特定疾患対策研究事業『難治性水頭症』調査研究班（先天性水頭症の分子生物学的メカニズム解明と治療法開発：主任研究者 山崎麻美）に対する同意書

国立大阪病院病院長殿

平成 年 月 日

私は、『先天性水頭症の分子生物学的メカニズム解明と治療法開発』に関する研究について、その目的や方法について十分な説明を受け、研究の意義・必要性について理解しました。また、研究自体基礎的なもので確定的な結果が得られないことがあること、研究に同意しない場合であっても何ら不利益を受けないこと、患者本人及び家族のプライバシーの保護が十分になされること、同意に関しては全くの自由意志で行え、しかも一旦同意した後も撤回が随時できること、を説明され理解しました。

以上の理解にもとずいて、この研究に協力することに同意し、検体の採取を承諾します。また、提供した検体と、これにより得られた情報はすべて第29回ユネスコ総会において採択された「ヒトゲノムと人権に関する世界宣言」の精神に則り、WHO人類遺伝プログラム「遺伝医学と遺伝サービスにおける倫理的諸問題に関して提案された国際的ガイドライン」に沿って使用されるものとし、個人、家族の特定がなされない限りにおいて、学会、論文等で公表されることを認めます。なお、解析結果は以下に示した通りとすることを希望します。

今回の遺伝子解析結果については知らせてほしいですか？

- () 知らせてほしい
 () 知らせてほしくない
 () その他 ()

本人（または代理人）署名

氏名

印

今回の研究に関しては私が説明し、同意が得られたことを確認します。

主治医または研究内容の説明者

氏名

印

住所

参考資料 3

覚 書

厚生省特定疾患対策研究事業「難治性水頭症」調査研究班（以下甲という）と株式会社エスアールエル（以下乙という）とは、「DNA抽出」「染色体・遺伝子検査」後の、検体及び報告書の取り扱いに関して以下のとおり覚書を締結する。

第1条 乙は甲より受託した抽出DNA及びその結果報告書を、甲の会員の書面による指示に基づいて、速やかに下記に示す送付先に送る。

第2条 甲が乙に委託する期間は下記の通りとする。

自 平成 11 年 11 月 1 日
至 平成 14 年 3 月 31 日

第3条 本覚書に定めのない事項ならびに疑義のある事項、および本覚書の内容に変更の必要が生じた場合には、甲乙誠意を持って協議のうえ解決するものとする。

本覚書締結を証おして本2通を作成し、甲乙記名捺印のうえ、各一通を保有する。

平成 11 年 11 月 1 日

(甲) 厚生省特定疾患対策研究事業
「難治性水頭症」調査研究班
主任研究者

山崎 麻美

(乙) 東京都立川市曙町2丁41番19号
株式会社エスアールエル
代表取締役 近藤 俊之

参考資料 4

指 示 書

株式会社 エスアールエル 殿

当施設より厚生省特定疾患対策研究事業「難治性水頭症」調査研究班（先天性水頭症の分子生物学的メカニズム解明と治療法開発、研究責任者 国立大阪病院脳神経外科 山崎麻美）の検体として依頼したDNA抽出に関し、下記期間内に委託した検体は、「抽出DNA液」を国立大阪病院臨床研究部に送付することを指示します。

委託期間： 自 平成11年11月1日

至 平成14年3月31日

平成 年 月 日

施設名：

医 師：

印

参考資料 5

倫理審査申請書

平成11年9月30日提出

国立大阪病院倫理委員会委員長殿

申請者名 山崎麻美 印
 所属 脳神経外科
 職名 医長

国立大阪病院倫理委員会規定による審査を申請します。

記

1. 課 題 名 先天性水頭症の分子生物学的メカニズム解明と治療法開発
2. 代 表 者 名 山崎麻美 所属 脳神経外科 職名 医長
3. 共同担当者名 厚生省特定疾患対策事業『難治性水頭症』調査研究班班会議
 分担研究者
 岡野栄之；大阪大学大学院医学研究科バイオメディカル研究教育センター・神経機能解剖学
 研究部 教授
 有田憲生；兵庫医科大学脳神経外科学講座 教授
 他、分担研究者9名・研究協力者5名
 院内研究協力者 産科医長 伴千秋

4. 概要

目的

超音波診断などによる画像診断の進歩により、先天性水頭症は現在胎生期に早期診断することが可能となり、出生後早期の短絡術によって治療成績は改善しています。しかしその中で精神運動発達などで重篤な合併症を残す難治性で、予後の極めて不良な水頭症も少なくありません。このような難治性水頭症の診断、治療は小児神経学、小児脳神経外科学分野で大きな問題です。本研究はこのような難治性先天性水頭症の発生原因を、分子遺伝子学的に明らかにし、将来的に新たな治療法開発を目的とするものであります。1992年にX連鎖性遺伝性水頭症発症の原因遺伝子が神経細胞接着因子L1遺伝子であることが明らかになって以来、水頭症の分子遺伝子学の研究は、ヒトの疾病と責任遺伝子およびそれに関与する蛋白の機能の解明と飛躍的に進歩してきました。また最近神経発生初期に神経幹細胞の分化に関わる遺伝子Msilのノックアウトマウスでも水頭症が発生することが明らかになりました。大阪大学大学院医学研究科バイオメディカル研究教育センター・神経機能解剖学研究部 岡野栄之教授のグループが明らかにしています。また神経発生初期に細胞骨格形成に関わるnon-muscle myosin IIB遺伝子のノックアウトマウスでも水頭症が発生することが認められています。東京医科歯科大学疾患遺伝子実験センター分子神経変性研究部門の原嘉信助教授はこの水頭症の病態を詳細に研究しています。

これらの基礎的研究の成果を臨床研究・治療法の開発まで進展させていくためには今必要とされていることは、おもに2つあります。一つは立場の違う基礎・臨床の研究者の有機的結合のうえにこれまでの研究成果を集約すること。さらに重要なことは稀少難病といわれるこれら原因不明の先天性水頭症の臨床データ集積および遺伝子バンクの形成であり、全国的に症例を蓄積することです。そのことによってこれらの研究は、水頭症の病態解明の端緒となるとともに、中枢神

経組織の発生、分化に関する知見をさらに深め、診断・治療法開発に貢献するものと考えられます。さらにひいては重度水頭症児を抱える家族・全国の重度身心障害児施設の患者・治療者に光明となる可能性もあります。本研究を遂行するために、厚生省厚生科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）の助成を受けて全国的班会議を形成しました。（平成11年度-13年度）

（2）対象及び方法

まず全国国立病院・療養所の重心施設・こども病院などの協力を得て、遺伝性水頭症児、遺伝歴の明らかでない難治性先天性水頭症例を集積し、水頭症遺伝子バンクを形成します。全国疫学調査を含めた実態調査・病態解析・遺伝子解析を組織的に行う。将来的には水頭症細胞バンク・組織バンクへの発展も考えています。（これに関しては、国立精神神経センター武蔵病院院長埜中征哉先生が中心となって、厚生省脳科学研究事業『生検材料による神経筋疾患等の成因解明と治療に関する研究』の中で全国国立病院療養所を中心として筋組織・脳組織などの生体材料のバンクをすでに作られており、本研究班の水頭症バンクも将来的にはこの一翼に組み込まれていくという形で現在話し合いを進めています。）

先天性水頭症の剖検脳を対象として水頭症発症に関与すると考えられる分子（L1CAM, MS11, non-muscle myosin IIB）の抗体を用いて免疫組織学的研究を行います。これら分子の発現パターンの研究には正常胎児の発育過程でそれらの分子がどう発現していくかという正常胎児剖検脳を用いたコントロール群が不可欠であります。すなわち自然流産および人工中絶術により得られた22週齢以前の胎児あるいは胎芽や未熟児出産し、中枢神経系以外の疾患で死亡した胎児のうち、明らかな奇形・形態異常、ウイルス感染、染色体異常を伴わないものが正常コントロール群として必要であります。

（3）実施場所および実施期間

遺伝子バンクは国立大阪病院臨床研究部におきます。L1遺伝子解析研究は、大阪府立母子センター研究所岡本伸彦先生、兵庫医科大学脳神経外科有田憲生教授と共同研究で当院にて行います。免疫組織学的研究は聖マリア病院臨床病理中村康寛先生のところで行いますが、一部当院にて行います。

実施期間は平成11年度—平成13年度である。

（4）審査を希望する理由

この研究にはいくつかの倫理的配慮を要する点が含まれています。

1. 多施設からの患者DNAを中心とした生体資料を集積するバンクを形成すること。
2. 遺伝子解析を行うこと。
3. 正常胎児脳（流産あるいは中絶胎児脳）を研究に用いること。

本申請での、医学的研究および医療行為の対象となる個人とは主に申請理由1および2でいうところの先天性水頭症患児およびその家族と、申請理由3で扱われるところの妊娠中絶あるいは流産した胎児およびその母親・家族にあたります。内容が異なるので以下の5-（1）および5-（2）に関しては別個に述べていきます。

5. 人間を直接対象とした医学的研究および医療行為にける倫理的配慮について

（1）医学的研究および医療行為の対象となる個人の権利の擁護

I 〈先天性水頭症患児およびその家族〉

元気で生まれてくると思っていた我が子が水頭症と診断されたとき、両親家族の驚きショックは計り知れません。疾患は重度の精神運動発達遅滞を後遺するという極めて深刻な状況にあります。ましてやその遺伝子に原因がないかどうか調べるといって、ほとんどの家族がそれを拒否するのではないかと考えていました。申請者はこの15年にわたってX連鎖性遺伝性水頭症の研究を行ってきました。この疾患は遺伝性であり、かつ伴性劣性という遺伝様式をとるが故に遺伝子解析の過程で母が保因者であるということが明らかになるという極めて難しい問題を抱えています。長時間かけて何度も面談し、研究の意図を説明し協力が得られたときには秘密の厳守に最大限の努力を払ってきました。ほとんど拒否されることはありませんでした。それはこの苦しみを人に味わせないという崇高な気持ちに支えられています。切にこれらの研究成果を待ち望んでいるのは患者家族であります。今後も本研究においてはインフォームドコンセントおよび倫理面への配慮には細心の留意を惜しみません。

遺伝子バンクおよび遺伝子解析にはWHO人類遺伝プログラム・1998『遺伝医学と遺伝サービスにおける倫理的諸問題に関して提案された国際的ガイドライン』（以下WHOガイドラインと略す）5項〈遺伝カウンセリング〉6項〈遺伝スクリーニングと遺伝テスト〉、11項〈預けられたDNA〉等を参考にします。

II 正常胎児および家族

我々は、外国で実際に用いられている倫理規定や国内に存在する内規等については、最低限のルールとして参考にしていきたいと考えています。また、一般社会からの問いかけについては、常にそれを自ら反芻し、最善と考えられ

る方法を探していきたい。胎児の脳細胞供与に際しては、NECTAR [後述] による倫理ガイドライン・日本産婦人科学会の会告等が参考になります。

(2) 医学研究および医療行為の対象となる個人への利益と不利益

I く先天性水頭症患児およびその家族

【被験者の安全性に関する問題点とその対策】

本研究では、DNAの採取に関しては、できる限り少量の血液 (2-7 ml) あるいはそれでも無理な新生児未熟児の場合は臍帯血あるいは胎盤からのDNA採取を考慮しており、患者の安全を脅かすことはないと考えます。水頭症患児の治療が最優先であり、研究用の組織を採取するということが自体や、組織の状態の維持に配慮した患児への特別な措置は決して行いません。

【被験者のプライバシー確保に関する対策】

患児とその両親や家族などに関する情報が決して公にならないように、その情報が家族にとって社会的差別 (結婚・就職・保険など) を受ける材料に絶対にならないよう雇用者・保険会社・学校などから正当性のない進入から保護する。研究代表者が責任を持って厳重に管理する。DNAなどのサンプルについては主治医の手を離れた移送・保管・研究での使用のさい、すべて「通し番号」などで表し、研究上の理由から必要とされる事項以外は、研究室内でもいかなる固有の名称も用いないこととする。

【研究成果の被験者への告知について】

全ての情報に関してその人の情報伝達に対する自己決定を尊重し希望があった場合には、家族間の信頼関係を保証する形で正確で偏りのない情報伝達を行う。

【被験者から採取した生体材料の取り扱いについて】

採取は各主治医にお願いし、搬送運搬は検体の内容が損なわれないよう速やかに移動できるよう専門業者 (エスアールエル) に委託します。

【被験者に不利益が生じた場合の措置】

研究成果はすぐに結果がでて、次子を挙児するさいの遺伝相談のさいの情報になる部分と、直接被験者に利益にならない部分を有します。研究が持つ医学上の意義を説明することによって、家族の心の中で、研究に対する理解と協力に向けた意識が芽生え、膨らみ、「不利益」と思う度合いが少しずつ薄らぐよう努力します。しかし当初は、研究に協力してくれる気持ちがあっても時間経過でそれが揺らいだとき、DNA等の返還も含めて十分に気持ちのゆれに配慮し対処します。日頃から真摯な態度で研究に臨むことによって、研究の大切さが家族に伝わるよう心がける事が「不利益」感の高まりを抑えるための唯一の手段であると考えます。「プライバシー」に関する配慮は、ここで述べたこと以前の、当然のことであり、けっして「不利益」につながらぬよう十分に気を配る必要があります。

II 正常胎児および家族

【被験者の安全性に関する問題点とその対策】

本研究では、産婦人科医による通常の処置を経て取り出された胎児の組織を扱うので、組織を得たのちに、母体の安全をおびやかす可能性はないと考える。母体の安全が最優先であり、研究用の組織をとるということ自体や、組織の状態の維持に配慮した母体への特別な措置は決して行いません。

【被験者のプライバシー確保に関する対策】

胎児とその両親や家族などに関する情報が決して公にならないように、研究代表者が責任を持って厳重に管理します。サンプルについてはすべて「通し番号」などで表し、研究上の生物学的理由から必要とされる事項 (胎児の妊娠週齢など) 以外は、研究室内でもいかなる固有の名称も用いないこととします。

【研究成果の被験者への告知について】

希望があった場合に限り行います。

【被験者から採取した生体材料の取り扱いについて】

胎児の組織については、産婦人科医と協力して、死体解剖保存法、死産法などに則って、また、遺体への礼を欠くことがないように丁寧に扱います。

【被験者に不利益が生じた場合の措置】

私たちはまず、いかなる経緯であれ「胎児の一部をとられる」ことやそのような相談を持ちかけられること自体が、家族にとっては「不利益」あるいは「迷惑」であると認識する。研究が持つ医学上の意義を説明することによって、家族の心の中で、研究に対する理解と協力に向けた意識が芽生え、膨らみ、「不利益」と思う度合いが少しずつ薄らぐよう努力します。もし、研究を手伝う気持ちが上回り、組織の採取が許されたとしても、家族が当初持った「不利益」感が消し去られるわけではないので、十分に気持ちのゆれに配慮します。日頃から真摯な態度で研究に臨むことによって、研究の大切さが家族に伝わるよう心がけます。それが「不利益」感の高まりを抑えるための唯一の手段であると考えます。プライバシーに関する配慮は、ここで述べたこと以前の、当然のことであり、け

っして「不利益」につながらぬよう十分に気を配ります。

(3) 医学的貢献度

これらの研究は、水頭症の分子遺伝子学的病態解明の端緒となるとともに、中枢神経組織の発生、分化に関する知見をさらに深め、診断・治療法開発に貢献するものと考えられます。さらにひいては重度水頭症児を抱える家族・全国の重度心身障害児施設の患者・治療者に光明となる可能性もあります。

(4) 医学研究および医療行為の対象となる個人に理解を求める同意を得る方法

資料にお示しするような研究内容および倫理的配慮をわかりやすく説明したリーフレットを用いて説明したうえで、あくまで本来の医療行為の遂行に何ら影響を与えない形で、インフォームドコンセントを行います。

6. その他、参考となる事項

1) 遺伝子・細胞・組織バンクの実施状況

国立精神神経センター武蔵病院院長埜中征哉先生が中心となって、厚生省脳科学研究事業『生検材料による神経筋疾患等の成因解明と治療に関する研究』の中で全国国立病院療養所を中心として筋組織・脳組織などの生体材料のバンクをすでに作られている。ここで用いられているガイドラインが厚生省の考えです。

信州大学衛生学教授福嶋義光先生が遺伝性疾患の細胞バンクを形成されています。

2) 胎児の組織などを研究や治療に使おうとする立場の考え方

ヨーロッパにおいて脳移植にかかわる研究者達がつくったネットワーク組織が、そこに属する研究者達にむけていわば自発的な性格の倫理規定を発表している。

"Ethical guidelines for the use of human embryonic or fetal tissue for experimental and clinical neurotransplantation and research" by Network of European CNS Transplantation And Restoration (NECTAR) J. Neurol 242, 1-13, 1994 (<http://www.bm.lu.se/~nectar/eth.1.html>)

このガイドラインは、以下の10項目（それぞれに対して細かな注意書きがある）からなる：

- ① 移植用の組織採取が許されるのは、呼吸運動と心拍動がともにないことによって定義される死亡した胎児（8週以降）あるいは胎芽（8週以前）である。
- ② 発生上の特定の時期にあるような組織の採取を意図して人工的な手段により子宮外で胎児あるいは胎芽そのものを“培養”しようと試みてはならない。取り出された臓器、組織、細胞を“相当する時期”に達するように培養することでこの目的をかなえようとするのは認められる。
- ③ 胎児あるいは胎芽の組織が移植用に使われるかも知れないということや使いたがっている者がいるというようなことが、中絶をしようかどうかという決定に影響を与えてはならない。従って、中絶の決定までは、決してその様な可能性について示されるべきではない。また、もし、移植に使われるようなことがあっても、レシピエントの選択に、ドナー側による直接の指名を含めて、ドナー側とのつながりがあってはならない。
- ④ 中絶の時期や方法に関して、本来の、母体を守るという目的からはずれて、“移植用に”という特別な“配慮”が、あってはならない。
- ⑤ 自然流産、中絶手術にかかわらず、胎児あるいは胎芽の臓器、組織、細胞を研究、治療目的に用いることについては両親のインフォームドコンセントが必要である。中絶の場合は、中絶の方針の決定後に、しかしできれば実際の中絶の前に得られることが（母親は中絶直後には混乱した精神状態に陥ることもあるので）望ましい。
- ⑥ 母親の感染症に関しての情報の提供にはインフォームドコンセントが必要である。
- ⑦ 「脳への移植は脳の入れ替えを意味し、性格や個性の変容などがあるかもしれない」というような危惧を防ぐために、移植には、あまり大きな脳組織ではなく、細胞懸濁液や小さな組織片を用いる。
- ⑧ 病院や研究施設でこの件に関わるスタッフ全員の氏名が、母親など当事者はもちろんのこと、公衆に対しても明らかにされていることが必要である。
- ⑨ 母親に対する何らかの報酬によって胎児や胎芽、またその臓器、組織、細胞が得られるようなことはあってはならない（金銭目当ての中絶や、胎児とその臓器売買目的の妊娠などにつながる恐れがある）。
- ⑩ 胎児あるいは胎芽やその臓器、組織、細胞などを用いるような移植治療やそれを念頭においた研究はすべて、所定の倫理委員会によって承認されていなければならない。

3) 母親と直接にかかわり合い、胎児の“提供”を仲立ちする立場である産婦人科医グループ（日本）の考え方（社）日本産婦人科学会（飯塚理八会長）の「会告」（昭和62年1月）

「死亡した胎児・新生児の臓器等を研究に用いることの是非や許容範囲についての見解」

流産・早産などにより死亡した胎児・新生児の臓器等を研究に用いることの是非や許容範囲を、本学会では、慎重に協議したが、問題の対社会的・道義的責任の重大さにかんがみ、本会会員が、次の諸事項を守られるよう要望する。

記

- 1) 妊娠期間の如何にかかわらず、死亡した胎児・新生児の取り扱い、死体解剖保存法が既に定めているところに従う。
- 2) 死亡した胎児・新生児の臓器等を研究に用いることは、それ以外には研究の方法がなく、かつ期待される研究成果が、極めて大きいと思われる場合に限られるべきである。
- 3) 死亡した胎児・新生児の臓器等を用いて研究を行うものは、原則として医師でなければならない。また、その研究協力者も、すべて、研究の特殊性や対社会的重要性などを十分に認識したものでなければならない。
- 4) 死亡した胎児・新生児の臓器等を研究に用いようとするものは、予めその目的を母親及び父親（親権者）によく説明の上、その許可を得ておく必要がある。また胎児・新生児及び両親のプライバシーは、十分尊重されなければならない。

なお、生存中の胎児・新生児に関しては、明らかにその予後を好転させると考えられる研究的処置に限り、母親及び父親（親権者）の同意が得られた場合に行うことができる。

- 4) 家族性腫瘍研究会『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）』（別綴じ添付資料）
- 5) WHO『遺伝医学と遺伝サービスにおける倫理的諸問題に関して提案された国際的ガイドライン』²⁾（別綴じ添付資料）

その他の添付資料

①先天性水頭症患児・家族に対する研究協力についてのインフォームドコンセント(参考資料1) ②先天性水頭症患児・家族に対して研究協力についての同意書(参考資料2) ③中絶されたあるいは流産・死産された胎児・家族に対する研究協力についてのインフォームドコンセント(参考資料6) ④中絶されたあるいは流産・死産された胎児・家族に対して研究協力についての同意書(参考資料7)

参考資料6

- ③ 中絶されたあるいは流産・死産された胎児・家族に対する研究協力についてのインフォームドコンセント

「先天性水頭症」の研究に関するお願い

国立大阪病院 産婦人科医長 伴 千秋

厚生省特定疾患対策研究事業「難治性水頭症」調査研究班主任研究者：山崎麻美

連絡先：大阪市中央区法円坂2-1-14 国立大阪病院脳神経外科
電話06-6942-1331 FAX 06-6943-6467

私達は水頭症の患者家族の苦しみを少しでも軽くすることができるように先天性水頭症の原因を遺伝子レベルから解明し、その治療法を開発することを目標とした研究を行っています。この度、全国の小児科、小児脳神経外科、産科、病理、臨床遺伝学の先生方、脳科学の基礎の研究者たちと共同で厚生省特定疾患対策研究事業の一環として「難治性水頭症」調査研究班を構成し調査研究を開始しました。

先天性水頭症は難病の一つですがその原因解明の為の研究をしています。水頭症の成り立ちを検索していこうという研究の中で、正常の神経の成り立ちと比較していくために正常胎児の脳組織がどうしても研究に必要です。

私たちからのお願い

私達の研究のために、胎児の神経組織を使わせていただけないでしょうか。このことをお願いするにあたって、以下のことをお約束致します。

- 産婦人科の先生の治療・処置の方針がこの研究のために変えられるということは、けっしてありません。
- 組織の採取は、必ず産科的に必要な通常の処置の後に行われます。
- お母さんに対しては、産婦人科の先生による通常の産科的な処置以外は何も必要なく、余分な危険は一切かかりません。
- プライバシーをお守りすることを約束いたします。お名前やご住所など個人を特定するようなデータが外部にもれたり、

公表されるようなことは決してありません。

- 私たちは、新しい医学に貢献できるよう、一生懸命努力してまいります。
- ここまでの説明文をお読みになって、また、産婦人科の先生からの説明を十分にお聞きになって、もし、私どもの研究について理解して下さり、しかも研究に協力して下さるお気持ちがおありでしたら、もう一つご面倒をおかけして恐縮ですが、「同意文書」にご署名下さるようお願いいたします。・この研究に同意なさらなくても、不利益をこうむることは一切ありませんので、どうぞ、全くご自由なお気持ちでご判断下さいますようお願いいたします。・もし、いったん同意を下さった後でお気持ちが変わるようなことがあれば、いつでも撤回なさって下さい。私どもは、必ずお気持ちを尊重いたします。

参考資料 7

同 意 書

厚生省特定疾患対策研究事業「難治性水頭症」調査研究班『先天性水頭症』の研究に関するお願い

国立大阪病院病院長殿

平成 年 月 日

『先天性水頭症』の研究について、その目的について説明を受け、研究の意義・必要性について理解しました。研究の協力を依頼され、その際に、産科的治療は研究に影響されることなく通常通りに行われること、プライバシーが守られること、同意については全くの自由な意志で行え、しかも同意した後も撤回できること、を説明され確認しました。

以上の理解にもとづいて、この研究に協力することに同意します。

本 人 氏名 印

配偶者 氏名 印

主治医または研究内容の説明者 氏名 印

所属

参考資料 8

審査結果通知書

平成11年11月17日

申請者 山崎 麻美 殿

国立大阪病院
倫理委員会委員長 高羽 津 ㊦

受付番号 11-4
 課題名 「先天性水頭症の分子生物学的メカニズム解明と治療法開発」
 研究代表者名 山崎 麻美

上記にかかる実施計画等を、委員会で審査し下記のとおり判定したので、通知します。

判 定	<input checked="" type="radio"/> 承認	<input type="radio"/> 条件付承認	<input type="radio"/> 不承認	<input type="radio"/> 変更勧告	<input type="radio"/> 非該当
(理 由)					
(少数意見)					