

厚生労働科学研究費補助金
がん克服戦略事業

小児がんの遺伝的・発生生物学的特性の解明と診断への応用

平成14年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 恒松 由記子

平成15(2003)年4月

目 次

I 総括研究報告書

小児がんの遺伝的発生生物学的特性の解明と診断への応用	1
----------------------------	---

II 分担研究報告書

1. 小児がん患者を対象とした基礎・臨床研究における基盤整備に関する研究	9
恒松由記子 (資料)臨床研究参加へのお願い 研究内容のスライド原稿	
2. 乳児神経芽細胞腫の臨床像と予後判定に関する研究	22
佐伯守洋	
3. 遺伝子発現情報を用いた小児血液腫瘍の特性の解明に関する研究	24
藤本 純一郎	
4. 高発がん性遺伝病 Gorlin 症候群の遺伝子解析	27
宮下 俊之	
5. 小児がんの遺伝的背景に関する研究	30
水谷 修紀	
6. 神経芽細胞腫のクローン性解析	32
宮内 潤	
7. 小児がんの遺伝疫学的研究	36
谷村 雅子	
8. 網膜芽細胞腫全国登録 (2 0 0 1 年度調査)	39
東 範行	
III 研究成果の刊行に関する一覧表	43

厚生科学研究費補助金（がん克服研究事業）

平成 14 年度総括研究報告書

小児がんの遺伝的・発生生物学的特性の解明と診断への応用

主任研究者 恒松 由記子 国立成育医療センター腫瘍科医長

研究要旨：1) 小児癌研究の基盤整備と院内がん登録：二次がんの遺伝的背景と副腎皮質がん (ACC)：国立小児病院で治療された小児がん患者約 1200 例から 16 例の二次がんが確認された。そのうち遺伝的背景が明らかなのが 4 例、うち 3 例が Li-Fraumeni 症候群であった。2) 神経芽細胞腫の特性 (佐伯)：乳児神経芽腫 70 例の予後を調べた。マスキリーニング例 (50 例) 全例が腫瘍遺残なく生存している 3) 小児血液腫瘍の特性 (藤本)：CD20 を介するアポトーシス誘導刺激 (藤本)：抗 CD20 抗体の結合による バーキットリンパ腫細胞のアポトーシスは糖脂質豊富マイクロ膜ドメイン (ラフト) の関与する細胞内刺激伝達により誘導される一連のカスパーゼカスケードの活性化に伴って起こることが明らかになった。4) Gorlin 症候群の PTCH 遺伝子解析 (宮下)：日本人の Gorlin 症候群 10 例 (家族発症を含む) の遺伝子解析で、PTCH 遺伝子に 6 個の新たな変異を発見した。PTCH 遺伝子変異の頻度が従来報告より高かった。(1/3 v s 4/5) 5) 小児がんの遺伝的背景：乳児白血病発症の遺伝的背景として ATM の機能低下、DNA ダメージに対する反応の障害がある可能性が示唆された。また、トポイソメラーゼ II 阻害剤と ATM の関連も明らかになり、MLL 遺伝子異常を生ずる遺伝的メカニズムの一端を明らかにした。6) 神経芽腫のクロナリティ解析 (宮内)：HUMARA 遺伝子を利用して神経芽腫のクローン性について解析した。予後良好な 8 例の乳児例、進行性の 2 例の 10 例いずれもが多クローン性を示した。7) 小児がん全国登録 (谷村)：85 年以降に登録された 14,463 例から出生時体重・身長と診断時体重・身長を比較、各がん種で検討中である。8) 網膜芽腫全国登録：2002 年登録例は 85 例で全体として化学療法剤の全身投与と局所投与がなされ、保存的治療がなされた症例が増加した。

分担研究者
恒松 由記子 (国立成育医療センター小児腫瘍科医長)
佐伯 守洋 (同副院長)
藤本 純一郎 (同研究所 発生・分化研究部部長)、
宮下俊之 (同研究所・成育遺伝研究部・室長)
水谷 修紀 (東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科発生発達病態学小児科学講座教授)

宮内 潤 (国立成育医療センター研究科・病理検査室医長)
谷村 雅子 (同研究センター 成育社会学研究部部長)
東 範行 (同眼科医長)

A. 研究目的
今年度からナショナルセンター化された国立成育医療センターのメインテーマである成育医療とは、「治癒可能になった小児期の難治性疾患を抱えた患者がやがて成人期に移行してヒトとしてのライフサイクルを

回転させて行くことを射程に入れた医療である。」本研究班の研究目的は小児がんの遺伝学的・発生生物学的な特性ならびに小児がんの臨床的な特質を基礎的、臨床的、臨床疫学的、社会心理学的アプローチにより明らかにすることにある。成育医療センターにおける研究では受けた医療が及ぼす晩期障害や遺伝的な影響について、特に研究課題とすることがとくに必要とされている。また小児がんの基礎研究、疫学的情報の収集を行う上での基盤づくりも目的としていて、登録事業として全国登録と網膜芽細胞腫登録研究を組み込み、一昨年から、地域がん登録事業を行っている大阪府のがん登録研究者と共同研究をはじめた。

B. 研究方法

本研究班の基礎研究資料は本院で行われている患者または保護者の同意に基づく保存された試料を用いる研究または株化された試料によるものがほとんどである。登録事業として全国登録と網膜芽細胞腫登録研究を組み込み、一昨年から、地域がん登録事業を行っている大阪府のがん登録研究者と共同研究をはじめた。

1) 小児がん研究の基盤整備 (恒松) : 国立小児病院で治療された小児がん登録から二次がん発生者を検索し、遺伝的背景を調べた。成育医療センターにおける長期フォローアップシステム構築を、患者会を開き文献レビューをおこない検討した。2) (佐伯) 神経芽細胞腫の特性 : 国立小児の病歴から乳児神経芽腫70例の予後を調べた。3) CD20を介するアポトーシス誘導刺激 (藤本) : 抗CD20抗体の結合によりバーキットリンパ腫細胞株に架橋刺激を加え、アポトーシス誘導をフローサイトメトリーで検出し、イム

ノプロットにより刺激伝達分子に対する生化学的解析を行った。4)

Gorlin症候群のPTCH遺伝子解析 (宮下) : PTCH遺伝子の23エクソン全てについて各エクソンをはさむようにプライマーを作成し、ゲノムDNAを鋳型にPCR反応を行い、PCR産物を用いて直接シーケンス反応を行った。5) 小児がんの遺伝的背景 : AT患者やそのキャリアーの末梢血B細胞をEBウイルスで株化し、細胞生物学的性質を解析した。スクリーニング法の開発に向けてATM分子に対するモノクローナル抗体を作成し、生化学的解析に供した。酵母法を用いたATM遺伝子のストップコドンアッセイを確立し、大規模スクリーニングに供した。6) 神経芽腫のクロナリティ解析 (宮内) : HUMARA遺伝子を利用して神経芽腫のクローン性について解析した。7) 小児がん全国登録 (谷村) : 85年以降に登録された14,463例から出生時体重・身長と診断時体重・身長を比較した。8) 網膜芽腫全国登録 (東) 2001年度登録症例について登録施設に追跡調査票を送付し、これを回収して調査を行った。

C. 研究結果

1) 小児癌研究の基盤整備と院内がん登録 : 国立小児病院で治療された小児がん患者約1200例から16例の二次がんが確認された。そのうち遺伝的背景が明らかなものが4例、うち3例がLi-Fraumeni症候群であった。2) 神経芽細胞腫の特性 (佐伯) : マスクリーニング例 (50例) 全例が腫瘍遺残なく生存している3) 小児血液腫瘍の特性 (藤本) : CD20を介するアポトーシス誘導刺激 (藤本) : 抗CD20抗体の結合によるバーキットリンパ腫細胞のアポトーシスは糖脂質豊富

マイクロ膜ドメイン（ラフト）の関与する細胞内刺激伝達により誘導される一連のカパーゼカスケードの活性化に伴って起こることが明らかになった。4) Gorlin症候群のPTCH遺伝子解析（宮下）：日本人の Gorlin 症候群10例（家族発症を含む）の遺伝子解析で、PTCH 遺伝子に6個の新たな変異を発見した。PTCH遺伝子変異の頻度が従来より高かった。（1/3 v s 4/5）5) 小児がんの遺伝的背景：乳児白血病発症の遺伝的背景としてATMの機能低下、DNAダメージに対する反応の障害がある可能性が示唆された。また、トポイソメラーゼ II 阻害剤とATMの関連も明らかになり、MLL遺伝子異常を生ずる遺伝的メカニズムの一端を明らかにした。6) 神経芽腫のクロナリティ解析（宮内）：予後良好な8例の乳児例、進行性の2例の10例いずれもが多クローン性を示した。7) 小児がん全国登録（谷村）：出生時の体重および身長はALL、非神経膠腫系脳腫瘍、神経芽腫、骨肉腫において一般集団に比して有意に大きく、また2歳未満で診断された症例の出生から診断時までの体重・身長増加はALL、神経芽腫、網膜芽腫、横紋筋肉腫で有意の促進がみられた。8) 網膜芽腫全国登録：2002年登録例は85例で全体として化学療法剤の全身投与と局所投与がなされ、保存的治療がなされた症例が増加した。

D. 考察

1) 小児がん研究の基盤整備（恒松）：小児の2次性発がんは長期生存者の現病以外の死因の第一位であり、とくに白血病やMDSの発生が多いが、まず国家レベルの地域がん登録を発足させ正確な数の把握が必至である。2)（佐伯）神経芽細胞腫の特性：乳

児神経芽細胞腫は既知の予後因子が predictiveでない特異な症例群を形成するものと考えられ、新たな予後因子やDNAチップを利用した治療のカスタマイズ研究が必要と思われた。3) CD20を介するアポトーシス誘導刺激（藤本）：抗CD20抗体の結合によりパーキットリンパ腫細胞株に架橋刺激を加え、アポトーシス誘導をフローサイトメトリーで検出し、イムノプロットにより刺激伝達分子に対する生化学的解析を行った。4) Gorlin症候群のPTCH遺伝子解析（宮下）：PTCH遺伝子の23エクソン全てについて各エクソンをはさむようにプライマーを作成し、ゲノムDNAを鋳型にPCR反応を行い、PCR産物を用いて直接シーケンス反応を行った。5) 小児がんの遺伝的背景：AT患者やそのキャリアーの末梢血B細胞をEBウイルスで株化し、細胞生物学的性質を解析した。スクリーニング法の開発に向けてATM分子に対するモノクローナル抗体を作成し、生化学的解析に供した。酵母法を用いたATM遺伝子のストップコドンアッセイを確立し、大規模スクリーニングに供した。6) 神経芽腫のクロナリティ解析（宮内）：腫瘍は一般に単クローン性増殖からなると考えられているが、稀な polyclonalな良性腫瘍も知られており、これを基盤に monoclonalな悪性腫瘍が発生したという報告がある。神経芽腫は腫瘍発生の比較的初期の polyclonalな状態にある特殊な腫瘍である可能性が考えられ、自然退縮などの特殊な生物学的特徴はこれらと関係する可能性も考えられた。7) 小児がん全国登録（谷村）：出生体重の増加とリスク上昇は白血病、Wilms腫瘍、神経芽腫、脳腫瘍などで報告されており、理由として、胎

生期の体重増加と腫瘍発生の両者へのIGF-Ⅱの関与や体重が重いほど発がん刺激を受ける細胞が多いことなどが考えられている。今回の結果、ALLと神経芽腫においては体重のみならず身長についても出生時の増加が確認され、更に出生後の成長の増加も示された。8) 網膜芽腫全国登録(東) 本疾患は腫瘍が小さければ保存療法による予後は良いので、発生率は少ないとはいえ早期発見を目指した乳幼児期の適切なスクリーニング検査が望まれる。保存療法の特徴としては、従来の放射線療法に加えて化学療法の占める割合が増加してきたことが挙げられる。3剤併用療法による治療は、まだ放射線治療に取って代わるものではないが、放射線治療による骨変形が顕著である1歳前ではことに有用である。今後、登録事業と追跡調査によって、これら保存療法の長期予後も明らかになると期待される。

E. 結論

1) 小児がん研究の基盤整備(恒松): 長期生存している小児がん患者の追跡調査方法について、倫理的問題も含めて標準化する必要がある。世界に先駆けてつくられた成育医療センターの機能の活用が行なわれるかどうか今後も研究テーマとしていきたい。

2) (佐伯) 乳児白血病の既知の予後因子からは予後不良の症例に最適な治療を選択することは困難であった。

3) CD20を介するアポトーシス誘導刺激(藤本): CD20によるパーキット細胞のアポトーシス誘導の分子機構の一端として、ラフトを介する刺激伝達系やカスパーゼ系の関与が明らかになり、小児パーキットリンパ腫/白血病への治療法としての有用性が示唆された。4)

Gorlin症候群のPTCH遺伝子解析(宮下): 従来の報告より高率にGorlin症候群の遺伝子診断が可能となった。小児例においては症状がそろわないため確定診断に苦慮する症例もある。遺伝子診断が確実に行われれば、このような患者に発生する癌の予防、早期発見に貢献できると思われた。

5) 小児がんの遺伝的背景: 今回明らかにしたATM異常という遺伝的素因がトポイソメラーゼ阻害剤に対する感受性決定分子である可能性は白血病の発生要因を明らかにする重要な知見である。

6) 神経芽腫のクロナリテ解析(宮内): 検索した乳児、年長児の計9例のすべての腫瘍組織microdissection法にてこれらの腫瘍はpolyclonalという結果であった。

7) 小児がん全国登録(谷村): ALLと神経芽腫においては、胎生期、出生後を通して、成長促進因子の関与の可能性が考えられた。

8) 網膜芽腫全国登録(東) 保存治療が半数に行われ、放射線療法に加えて化学療法が広く行われるようになってきている。

F. 健康危害状況

小児がんからの二次がんは小児がん長期生存者の現病以外の死因の第一位であり、本院でも16例の2次がんがあった。国家的規模で必要最小限の治療を模索する必要がある。

G. 研究発表

1) Yoshida NL, Miyashita T, U M, Yamada M, Reed JC, Sugita Y, Oshida T. Analysis of gene expression patterns during glucocorticoid-induced apoptosis using oligonucleotide arrays. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 293(4): 1254-1261.

- 2) Shikama Y, Shen L, Yonetani M, Miyauchi J, Miyashita T, Yamada M.: Death effector domain-only polypeptides of caspase-8 and -10 specifically inhibit death receptor-induced cell death. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 291(3): 484-493.
- 3) Inoue H, Takemura H, Kawai Y, Yoshida A, Ueda T, Miyashita T. Dexamethasone-resistant Human Pre-B Leukemia 697 Cell Line evolving elevation of intracellular glutathione level: An additional resistance mechanism. *Jpn J Cancer Res* 2002; 93(5): 582-590.
- 4) Fujii K, Miyashita T, Omata T, Kobayashi K, Takanashi J, Kouchi K, Yamada M, Kohno Y. Gorlin syndrome with ulcerative colitis in a Japanese girl. *Am J Med Genet* (in press).
- 5) Fujii K, Sugita K, Kohno Y, Nakamura M, Moroi Y, Urabe K, Furue M, Yamada M, Miyashita T. Mutations in the human homologue of *Drosophila* patched in Japanese nevus basal cell carcinoma syndrome patients. *Hum Mutat* (in press).
- 6) Oguchi K, Takagi, T, Mizutani S et al: Missense mutation and defective function of *ATM* in a childhood acute leukemia patient with MLL gene rearrangement. *Blood* *in press*
- 7) Mizutani S. Genetic background as a possible determinant of clinical and biological features of Epstein-Barr virus infection—a hypothetical view. *Crit Rev Oncol Hematol.* 44(3):217-25.2002
- 8) Tsuchida, R., Miyauchi, J., Takagi, M., Yamada, S., Tsunematsu, Y., Saeki, M., Honna, T., Kato, J and Mizutani, S. Expression of Cyclin-dependent Kinase Inhibitor p27/Kip1 and AP-1 Coactivator p38/Jab1 Correlates with Differentiation of Embryonal Rhabdomyosarcoma. *Jap J Cancer Res* 93(9):1000-6.2002
- 9) Tanaka, H., Yamashita, T., Asada, M., Mizutani, S., Yoshikawa, H. and Tohyama M.: Cytoplasmic p21Cip1/WAF1 regulates neurite remodeling by inhibiting Rho-kinase activity. *J. Cell Biol.* 158(2):321-9.2002
- 10) Tsuchida, R., Yamada, T., Takagi, M., Shimada, A., Ishioka, C., Igarashi, T., Chessa, L., Delia, D., Teraoka, H and Mizutani, S.: Detection of *ATM* Gene Mutation in Human Glioma Cell Line M059J by a Rapid Frame-Shift/ Stop Codon Assay in Yeast. *Radiation Research* 158 ; 195-201, 2002.
- 11) Wu Z, Shen L, Inatomi Y, U M, Miyashita T, Toyama K, Miyauchi J: Effects of TNF alpha on the growth and sensitivity to cytosine arabinoside of blast progenitors in acute myelogenous leukemia with special reference to the role of NF-kappa B. *Leukemia Res.* (in press)
- 12) Sawaguchi A, Sawaguchi T, Matoba R, Togari H, Nakagawa S, Miyauchi J, Nishida H: Study to increase the

- frequency of autopsies performed for cases of infant deaths: proposed revision of the law on postmortem examination and corpse preservation and other related regulations. *Forensic Sci. Int.* 130S:S96-S103, 2002
- 13) Sekino T, Kiyokawa N, Taguchi T, Ohmi K, Nakajima H, Suzuki T, Furukawa S, Nakao H, Takeda T, Fujimoto J. Inhibition of Shiga toxin cytotoxicity in human renal cortical epithelial cells by nitrobenzylthioinosine. *J Infect Dis* 185:785-796, 2002.
 - 14) Matsuoka K, Kiyokawa N, Taguchi T, Matsui J, Suzuki T, Mimori K, Nakajima H, Takenouchi H, Tang W, Katagiri YU, and Fujimoto J: Rum1, an inhibitor of cyclin-dependent kinase in fission yeast, is negatively regulated by mitogen-activated protein kinase-mediated phosphorylation at Ser and Thr residues. *Eur J Biochem* 269:3511-3521, 2002.
 - 15) Saito M, Kiyokawa N, Taguchi T, Suzuki K, Sekino T, Mimori K, Suzuki T, Nakajima H, Katagiri YU, Fujimura J, Fujita H, Ishimoto K, Yamashiro Y, and Fujimoto J: Granulocyte colony-stimulating factor directly affects human monocytes and modulates cytokine secretion. *Exp Hematol* 30:1115-1123, 2002.
 - 16) Katagiri YU, Ohmi K, Tang W, Takenouchi H, Taguchi T, Kiyokawa N, Fujimoto J. Raft. 1, a monoclonal antibody raised against the raft microdomain, recognizes G-protein b1 and 2, which assemble near nucleus after Shiga toxin binding to human renal cell line. *Lab Invest* 82:1735-1745, 2002.
 - 17) Taguchi T, Kiyokawa N, Mimori K, Suzuki T, Sekino T, Nakajima H, Saito M, Katagiri YU, Matsuo N, Matsuo Y, Karasuyama H, and Fujimoto J. Pre-BCR-mediated signal inhibits CD24-induced apoptosis in human pre-B cells. *J Immunol* (in press).
 - 18) Mori T, Kiyokawa N, Shimada H, Miyauchi J, Fujimoto J. Retrospective analysis of 34 patients with anaplastic large cell lymphoma diagnosed at the National Research Institute for Child Health and Development. *Br J Hematol* (in press).
 - 19) Honma D, Uenishi H, Hiraiwa H, Watanabe S, Tang W, Kiyokawa N, Fujimoto J, Yause H, and Sakimura K. Cloning and characterization of porcine common g chain gene. *J Interf Cytok Res* (in press).
 - 20) Mimori K, Kiyokawa N, Taguchi T, Suzuki T, Sekino T, Nakajima N, Saito M, Katagiri YU, Isoyama K, Yamada K, Matsuo Y, Fujimoto J. Co-stimulatory signals distinctively affect CD20- and B-cell-antigen-receptor-mediated apoptosis in Burkitt's lymphoma/leukemia cells. *Leukemia* (in press).
 - 21) Kamata Y, Tanabe A, Kanaji A, Kosuga M, Fukuhara Y, Li X-K, Suzuki S,

- Yamada M, Azuma N, Okuyama T. Long-term normalization in the central nervous system, ocular manifestations, and skeletal deformities by a single systemic adenovirus injection into neonatal mice with mucopolysaccharoidosis Gene Therapy; *in press*
- 22) Sano Y, Yamada J, Ishino Y, Adachi W, Kawasaki S, Suzuki T, Kinoshita S, Okuyama T, Azuma N. Non-cleavage mutant Fas ligand transfection of donor cornea abrogates ocular immune privilege Exp Eye Res 74:475-483 2002
- 23) Azuma N, Yamaguchi Y, Handa H, Tadokoro K, Asaka A, Yamada M. Mutations of the PAX6 gene detected in patients with a variety of optic nerve malformations. Am J Hum Genet 2003; *in press*.
- 24) Azuma N, Hida T, Kohsaka S, Akiya S, Uemura Y. Glial overgrowth from the optic nerve head in fetuses of 16 weeks gestation. Arch Ophthalmol 2003; *in press*.
- 25) Ayaki M, Ohoguro N, Azuma N, Majima Y, Yata K, Ibaraki N, Singh DP, Ko V, Shinohara T. Detection of cytotoxic anti-LEDGF autoantibodies in atopic dermatitis. Autoimmunity 35:319-27,2002
- 26) Yamamoto K, Ohta S, Ito E, Hayashi Y, Asami T, Mabuchi O, Higashigawa M, and Tanimura M. : Marginal decrease in mortality and marked increase in incidence as a result of neuroblastoma screening at 6 months of age: Cohort study in 7 Prefectures in Japan. J Clinical Oncol 20: 1209-1214, 2002.
- 27) Matsubasa T, Uchino T, Karashima S, Kondo Y, Maruyama K, and Tanimura M, Endo F. Oxidative stress in very low birth weight infants as measured by urinary 8-OHdG. Free Radical Research 36: 189-193, 2002.
- 28) Kuroda T, Saeki M, Nakano M, Morikawa N: Biliary atresia, the next generation: a review of liver function, social activity, and sexual development in the late post-operative period. J Pediatr Surg 37:1709-1712, 2002.
- 邦文 (2002-3)
- 1) 恒松由記子, 佐々木祥子: 今日のがん治療と看護 小児がん. がん看護 8(1): 59-69, 2003.
 - 2) 恒松由記子: 小児期悪性腫瘍後の妊娠—特集 腫瘍性疾患と周産期医学—悪性腫瘍を中心に. 周産期医学32 (8) 1114-1119, 2002
 - 3) 恒松由記子, 伊藤知賀子: 小児悪性腫瘍の緩和ケア. 緩和ケアテキスト. 山室誠編著, p. 204-p208, 中外医学社, 2002
 - 4) 黒田達夫, 佐伯守洋, 本名敏郎, ほか: 悪性軟部腫瘍に対する外科治療. 小児外科 34:383-388, 2002.
 - 5) 東 範行 分子生物学による疾患の解明—眼形態形成遺伝子とその変異—. 眼科 44:813-821, 2002.
 - 6) 東 範行. 骨髄由来の網膜血管新生. 日本の眼科 73:995-996, 2002.

- 7) 東 範行. 分子生物学による疾患の解明. 日眼会誌増刷「20世紀における眼科学の総括」259-262, 2002.
- 8) 谷村雅子 新生児悪性腫瘍の疫学. 周産期医学 32: 1068-1072, 2002.
- 9) 谷村雅子他 小児がん全国登録委員会 小児悪性新生物全国登録委員会報告-1999年度成績. 小児がん 39: 493-517, 2002.
- 10) 秦 順一、藤本純一郎、浜崎 豊、橋本公夫、堀江 弘、北條 洋、今村正克、伊東 宏、小林庸次、町並睦夫、宮内 潤、森川征彦、中島伸夫、中山雅弘、小川恵弘、田中祐吉、恒松正澄: 悪性リンパ腫、白血病および関連病変. 日本病理学会小児腫瘍組織分類委員会(編)、小児腫瘍組織カラーアトラス(第1巻)、金原出版(東京)、2002年
- 11) 宮内 潤: Alveolar soft part sarcomaの最新知見. 小児外科34:469-474, 2002
- 12) 宮内 潤: 組織球症の分類と病理診断. 病理と臨床 20:812-817, 2002
- 13) 宮内 潤、恒松由記子: 死亡宣告と解剖承諾. 小児科診療 65:1898-1901, 2002
- 14) 嶋寺伸一、佐伯守洋、中野美和子、黒田達夫、中目和彦、宮内 潤、正木英一: Multifocal neuroblastomaが示唆された副腎および仙骨前神経節芽腫の1例. 日小外会誌 37:305-310, 2001
- 15) 国仲伸男、宮内 潤、藤川淳策、中村宏紀、柳橋宏子、藤本純一郎: 未分化大細胞型リンパ腫の新規マーカーとなるクラスタリンの検討. 臨床検査 46:1045-1049, 2002
- 46) 宮内 潤、松岡健太郎: 縦隔腫瘤を形成した混合性白血病の1例. こども医療センター医学誌 31:32, 2002
- 47) 宮内 潤、松岡健太郎: 転移巣で褐色細胞腫に分化した神経芽腫の1例. こども医療センター医学誌 31:104, 2002
- 48) 宮内 潤: 肝細胞癌(Fibrolamellar carcinoma)と肝内胆管癌混合型の1例. 小児がん 39:84, 2002
- 49) 宮内 潤: 回腸の神経線維腫症に粘膜内 diffuse ganglioneuromatosis を伴った von Recklinghausen 病の1例. 小児がん 39:91, 2002
- 50) 宮内 潤: 幼児の唾液腺原発腺房細胞癌の1例. 小児がん 39:586, 2003

厚生労働科学研究費補助金（がん克服戦略研究事業）
分担研究報告書

小児がん患者を対象とした基礎・臨床研究における基盤整備に関する研究

分担研究者 恒松由記子 国立成育医療センター 小児腫瘍科医長

研究要旨 1) 国立小児病院から成育医療センター移行して腫瘍科が把握している総生存患者数242名（2002年3月現在）のうち15歳以上のキャリアオーバー患者は113名（46%）であった。そのうち20歳以上の成人に達している患者は77名（男39、女38）であった。2) 晩期障害の中で最も深刻なものは二次がんであるが、国立小児病院時代の患者約1200から16名の二次がんが発生し、そのうち3例はP53胚細胞変異があった。3) 患者と家族のQOL向上のために長期追跡システムの構築が必要であり、そのためには患者と医療者の双方向の情報交換が必要であることから、成育医療シンポジウムの開催を行い、長期フォローアップ外来を立ち上げた。

A 研究目的

最終目的は成育医療センターにおける小児がん患者の完全なフォローアップシステムを構築して生存患者のQOLを向上させることである。今年度からナショナルセンター化された国立成育医療センターのメインテーマである成育医療とは、「治療可能になった小児期の難治性疾患を抱えた患者がやがて成人期に移行してヒトとしてのライフサイクルを回転させて行くことを射程に入れた医療である。」

成育医療センターにおける研究では受けた医療が及ぼす晩期障害や遺伝的な影響について、特に研究課題とすることがとくに必要とされている。

B. 研究方法

一昨年から、地域がん登録事業を行っている大阪府のがん登録研究者と共同研究をはじめ、電子カルテの中で登録システムを構築するために、院内情報委員会等に働きかけた。本年度は目的に従って小児病院時代からの患者を含めて生存者とその家族のコホートをつくるための準備をおこなうためにさまざまな方法で、予備調査を行った。1) 小児病院時代のがん生存者のリスト作成と予後調査表の準備と2次癌の調査 2) 患者会の開催と本院における関連各科との調整のためのシンポジウム開催 3) 欧米における状況調査を文献検索 4) 国内でフォローアップ体制の意見交換 5) 院内がん登録実施施設との意見

交換

（倫理面への配慮）

倫理学者との共同研究として、質的研究手段として長期生存患者からのフォローアップ研究に関するグループ・インタビュー法による意識調査等をおこなって、主として倫理的問題について患者側の意見を取り入れた研究をおこなった。グループインタビューの前には研究参加のためのICをとった。（附 研究参加へのお願いとIC）

C 研究結果

以下概要を述べる。1) 小児癌研究の基盤整備と院内がん登録：

腫瘍科が把握している総生存患者数242名（2002年3月現在）のうち15歳以上のキャリアオーバー患者は113名（46%）であった。そのうち20歳以上の成人に達している患者は77名（男39、女38）であった。晩期障害の中で最も深刻なものは二次がんであるが、国立小児病院時代の患者から16名の二次がんが発生し、そのうち3例はp53胚細胞変異があった。本年度はフォローアップ体制の構築のために以下のことを行なった。

（イ）成育医療のコンセプトを理解してフォローアップの意義を理解してもらうために患者と家族のために、腫瘍科、内分泌、婦人科、泌尿器科、循環器科、母性内科の5人の医師らによるシンポジウムを7月23日に開催し70名の患者や家族の出席を得た。実際、診療では長期フォローアッ

プ外来を設け、内分泌・婦人科への依頼をおこなっている。

(ロ) 海外における追跡調査に関する論文をレビューした結果、米国を中心として多施設共同研究による正確で大規模な調査研究(CCSS Childhood cancer survivor study) <http://www.cancer.umn.edu/ccss> が開始され、周到な調査が行なわれていることがわかった。このコホートは米国(1部カナダ)25施設の共同研究である。1970年から86年の間に診断された21歳以下発症の主な小児と思春期がんのうち5年以上生存者20,227人からなる。この5年生存コホートでは一般集団と比較した死亡率SMRは10.8倍であった。死亡者の内わけは現病によるものが67%、晩期障害によるものが21%であったという。一方、米国における小児がん施設へのアンケート調査

(J.Clin.Oncol. 16:2894,1998)によると小児がん患者の追跡研究はなされていない施設が多く、困難性の主な理由は ① 追跡されることの必要性が不確実であること。 ② 小児病院に成人患者を診る場所がないこと、③ 患者が追跡されることを嫌がること ④ 遠距離で来院できないこと ⑤ 保険を失う危険性があることが主な理由であった。わが国においても研究される必要のある項目であるが、大阪府成人病センターにおける院内がん登録担当者(味木和喜子)との研究協力のもとと成育センタにおけるがん登録を検討し、登録すべき項目を決めた。

調査票を作成するために、成人に達した患者で5~6人のフォーカスグループによるグループインタビューの手法をとり調査をはじめ有効な方法であることがわかった。すなわち、アンケート調査票を作成して送るという手段をとる前に、まず成人期に達した患者で告知がなわれているものに少数でグループインタビューを行い、調査される側の意識を探り、インタビュー、手紙、電話などの方法の利点と欠点などを話してもらった。

そのインタビューと倫理学者との共同研究で、以下の問題点が明らかにされ、これらのマイナス面を超える利益があるときにしか追跡調査研究はなされてはならないと結論した。

- ① 誰の同意で追跡調査が許されるか?
- ② 長期にわたり追跡されることの不快感がある。
- ③ プライベートな問題を聞かれること不快感がある。
- ④ 予想外に知らなかった晩期障害などを調査内容から知ってしまう問題がある。
- ⑤ 個人情報漏洩のリスクとその不安がある。
- ⑥ 次世代にわたる調査により、次世代の児は生まれながらに調査対象者となる問題がある。
- ⑦ 研究の科学性・倫理性の審査を受けていない追跡調査はインフォームドコンセントの元に行なわれるべきであるが、子どもの成長段階で誰から同意をとるのか?代諾ではじめられた調査が継年的におこなわれるにはどうしたらよいかを解決する必要がある、わが国で倫理指針が作成される必要がある。

D 考察

小児がん患者の生存率はランダム化臨床試験と支持療法の進歩により以前は不治の病が大部分が治癒する疾患になった。しかし、このように生存した患者が長寿をまっとうして、子どもを産み育て、成人社会でQOLのよい生活ができるのかどうかは長期間のフォローアップ調査がなされないと判明しない。欧米では、1974年から、晩期障害研究グループが結成され、最近では25施設が参加して、2万人あまりの5年生存者コホートを組み、社会心理的な調査までを含む膨大な調査をはじめた。本院での規模は一施設にとどまるので、その研究規模は小さいが成育医療をめざして設立された国立成育医療センターは世界に先駆けて、小児病院で成人化した患者も診療する病院として発足したことはユニークである。本年度は準備段階のさまざまな調査をおこなったが、今後は(とくに電子診療録で)小児の診療録から得た記

録を将来にわたり保存し、その患者を追跡し、定期的に診療して、心理社会的な面までの調査をおこなうための倫理指針が必要である。

5. 結論

長期生存している小児がん患者のQOLを高くするには、その長期フォローアップ調査が不可欠であるが、追跡調査はインフォームドコンセントを得て行なわれるべきである。しかし、子どもの成長段階で誰から同意をとるのか？代諾ではじめられた調査が継年的におこなわれるにはどうしたらよいかを解決する必要がある、わが国では告知問題もあり、倫理的問題が討議される必要がある。

F 研究危険情報

本院において16例の小児がん後の2次がんが発生していた。わが国では小児がんからの2次がんとくに白血病とMDSが発生している。これらの発症を網羅するには、研究者レベルの実態調査以外に小児がんがpopulation basedで登録される必要がある。米国の晩期障害調査でも5年生存者が現病の再発以外で死亡する原因は2次性発がんが多い。

G 研究発表

- 1) 恒松由記子:小児期悪性腫瘍後の妊娠—特集 腫瘍性疾患と周産期医学—悪性腫瘍を中心に 周産期医学 32 (8) 1114-1119, 2002.
- 2) Tsuchida R., Miyauchi J., Shen L., Takagi M., Tsunematsu Y., Saeki M., Honna T., Yamada S., Teraoka H., Kato J., and Mizutani S.: Expression of cyclin-dependent kinase inhibitor p27/Kip1 and AP-1 coactivator p38/Jab1 correlates with differentiation of embryonal rhabdomyosarcoma .Jpn.J. Cancer Res.93:1000-1006,2002.
- 3) 恒松由記子、伊藤知賀子:小児悪性腫瘍の緩和ケア.緩和ケアテキスト.山室誠編著, p.204・p208, 中外医学社, 2002.
- 4) 恒松由記子, 宮内潤: II.病棟診療 死亡宣告と解剖承諾. 小児科診療

65(11):

1898(178)-1899(179)

5) 恒松由記子、佐々木祥子:今日のがん治療と看護—小児がん—、がん看護 8 (1): 59-69,2003

学会発表

- 1) 恒松由記子他:小児悪性腫瘍患者長期フォローアップシステムの基盤整備と倫理的課題
小児血液学会、2002年10月19日 東京
- 2) 恒松由記子他:小児がんから発生した治療関連二次性白血病:149例の解析 小児がん学会 2002年11月28日 福岡

臨床研究への参加のお願い

研究の題名

小児がん患者長期生存者の研究

—1 成育医療センター長期フォローアップシステムの構築に向けてのフォーカスグループディスカッションによる研究—

はじめに

私たちはいま、国立成育医療センターにおける研究への参加をお願いしています。

まず、以下の事項について知っていただきたく存じます。

研究への参加はあなたの自由意志によるものです。

研究に参加しないでもできます。研究がはじまっても、いつの時点でも参加をとり

やめることができます。どちらの場合でもあなたが不利益をうけるようなことはありません。

ん。

なぜこの研究がおこなわれるのでしょうか？

この研究の目的は小児がんの治療が進歩して大部分の患者さんたちが長期生存をする時代になりましたが、その後の生活の質が身体的・精神的・社会的にどのようなものになっているかを知るための調査です。最終的な目標は、わが国の小児がんの生存率を最高に高め、かつ生活の質を最高に保つ最適な治療法をつくるためです。

いままではどんなことがなされてきたのでしょうか？

私たちは、いままで治療の歴史や大規模な歴史が 10 年以上も長い欧米での長期生存者への調査研究報告書を読んで、日本の子どもたちも同じようなことが起こることを予測してきました。また、国立小児病院時代から、患者会を通じ、患者さんたち本人を尊重して病気のことを知ってもらい、後からおこってくる副作用のことを調べさせていただき、これをお知らせする勉強会を 1989 年から行ってきました。

それでなぜいま再びあたらしい研究をするのでしょうか？

このたび、2002 年 3 月をもって、国立成育医療センターが発足し国立小児病院に通院していた患者さんは国立成育医療センターで引き続きフォローアップされることになりました。カルテやレントゲン写真も国立成育医療センターに移管されました。国立成育医療センターは子どもの時に病

気になられた方をトータルにライフサイクルでみてゆく病院です。すなわち、「子どもの患者さんが大人になって結婚され子どもつくるまでに起こってくる問題や、そのまた子どもの将来に起こってくることも考えてゆく」という病院です。新病院ではカルテや放射線科の画像類も電子カルテに組み込まれています。また、国立小児病院の時代より医療体制が拡充され、産婦人科や思春期診療科、母性内科などが加わり実際に出産することもできる病棟ができました。新体制の中で患者さんとその家族や子どもも含めての長いスパンでみてゆくシステムを構築する必要がでてきました。長期に患者さんをフォローアップすることは個人情報を通いこと保管して追跡することであり、そこには患者の個人情報保護に関連したたくさんの倫理的な問題があるはずです。しかし、これらの調査を行わないで外国の情に頼っていることも許されません。そこで、いま長期フォローアップの必要性について患者さんたちに認識していただくためにこの研究が計画されました。

この研究で何をするのでしょうか？

あなたがこの研究に参加される場合、6人から10人規模のフォーカスグループに加わっていただきます。フォーカスグループはおよそ2時間半で終了します。終了後休憩して、一時間くらいの時間をその後の作業に当てますので、休憩時間も含め4時間の時間をみてください。

フォーカスグループでは司会者がグループに対して、1. がんの告知がいつどのようにされたか？ 2. それはいつ行ってほしかったか？ 3. 現在病気をもっていたことで身体的にある不自由さや障害があるかどうか？それをどう感じているか？ 4. 病気をもったことで進学や就職で差別されたことがあるか？ 5. 恋愛や結婚に関して差別があったか？ 6. 引き続きフォローアップに協力する意思があるかどうか？ 個人情報の保護や調査に関する心配や不快感があるかどうか？ 7. 日本という国は特殊か？といったことに関連した質問にそってグループで話し合います。

話し合いはテープで録音され、アシスタントがメモをとります。

はじめに同意書にサインしていただきます。あとから、短いアンケート調査票をくばりますので、話し合いについての感想や追加意見と年齢、学歴、就労状況、結婚状況、フォローアップに関するいままでのご両親の考え方などについて書いていただきます。

後日、あなた自身の次回の診察についてご希望があればフォローアップインタビューを行い、適した定期検診のプログラムをつくり、それにそってフォローアップをしてゆきます。また、心理的・精神的サポートについてのプログラムも作っていきます。

この研究のリスクは？

あなたは、ご自分の病気のことやいろいろとストレスが多かったその後の体験、そして恋愛・性的問題・結婚・出産なども含む生殖の問題、将来への不安などについて話し合うことを不快に思った

りするかもしれません。話し合いの中で答えたくない場合は答えなくてもよいのです、また、私たちはその話し合いが終わったら、このグループの中で知っていたグループの参加者に関するいかなる個人的な情報について他の人たちに話さないようにお願いします。私たちも個人的な情報がついたままの情報を外に流すことはしません。この研究のデータ、誰がなんと言ったかはあなたのお名前の変わりにコード番号で認識されます。テープとノート、コード番号と ID 番号をつなげるキーは鍵のかかる場所に保管し、鍵は恒松由記子だけがもっています。

この研究に参加することで支払いを受けるかどうか？

交通費の鉄道往復料金の概算が支払われます。終わったあとで請求してください。

このグループの話し合いの途中または後で、いままで知られていること、特に米国や英国での調査でわかってきたことについて解説しますので、その情報はむしろ不安を取り除き勇気を与えるものかも知れません。しかし、あなたがこの研究に参加することを選択しても必ずしも利益はないかも知れませんが、ご自分の意見について話し合い人の意見を聞くこともあなたにとって役立つ場合があるとかがえています。私たちは、この研究の結果により、国立成育医療センターにおいて長期フォローアップシステムを構築することに大きく役に立つと思います。

意思表明書

この研究に参加することを

承諾します

承諾しません

ひきつづきフォローアップ調査のインタビューをうけることを

承諾します

承諾しません

参加者のお名前

ご住所連絡先

生年月日

ご住所

電話

メール

既婚

未婚

最終学歴

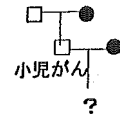
就職先

国立小児病院で行なってきたこと

- 血液科患者登録1965
- 長期生存者のQOL調査1989
- 患者会・親の会の組織 1989
- 告知運動 と晩期障害等の勉強会 1990
- 組織登録と遺伝子検査の調査1995
- 「親子でがん」電話インタビュー 2001
- がん遺伝カウンセリング LFS

一方 多施設共同調査として 二次性発がん1985~
二次性白血病調査研究 1994 ~

子どものときがんにかかった こたえてください



- 治療の影響？
化学療法 放射線治療 骨髄移植
- 子どもができるか？ つくれるか？
- うまれる子どもはまたがんになるか？
- 生まれる子どもに奇形発生は？
- 精子、卵子の凍結保存？
- 結婚相手に知らせるべき？他のだれにおしえるか？
- 遺伝性のがん？もう一度がんになる？

Potential Late Effects of Childhood Cancer Treatment

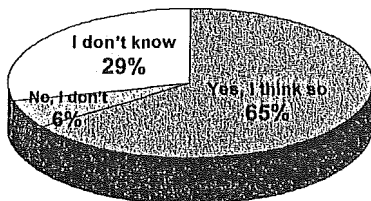
- Cardiovascular
- Dental
- Endocrinologic
- Educational
- Gastrointestinal
- Hepatic
- Immunologic
- Neurologic
- Neuropsychologic
- Ophthalmologic
- Orthopedic
- Psychosocial
- Pulmonary
- Renal
- Reproduction
- Second tumors



Second Cancers at National Children's Hospital 1965-2002

sex	first tumor	Age of Dx	second tumor	Age of Dx	Treatment & hereditary factor	outcome	
1	F	RMS	3m	AML	4y	p.o. CPM	D
2	F	WT	3y	ALL	4y		D
3	M	HD	9y	Fibro	19y	RT CPM	D
4	F	Ewing	7y	Bladder	30y	p.o. CPM	D
5	M	Ewing	10y	AML	12y	Chemo RT	A
6	M	NBL	9m	MDS	2y	Chemo RT	D
7	F	GCT	8y	Thyroid	14y		A
8	M	WT	9m	Colon	26y	RT/HNPCC	A
9	F	NBL	3y	Brain	?	Chemo/RT	?
10	F	NHL	12y	MDS	14y	Chemo/RT	D
11	F	RMS	3y	OS	21y	Chemo/RT LFS	D
12	M	HepS	9y	MDS	12y	Chemo/RT LFS	D
13	M	NHL	13y	AML	17y	Chemo/RT	D
14	M	WT	3y	AML	7y	Chemo/RT	A
15	F	NBL	0y	Brain	14y	Chemo/RT	A
16	F	ACC	3y	AML	4y	Chemo/RT LFS	A

Do you think even children should be informed? 1994 NCH



"Think that kids with cancer should be told what's wrong with them just as if it was any other sickness."

小児腫瘍科成育医療センターでの キャリアオーバー(15歳以上の患者)

現在の腫瘍科リストから
総生存患者数 242名(2002年3月現在)
のうち、15歳以上患者数は113名(46%)

- 15歳~19歳 男 23 女 36
- 20歳~24歳 男 25 女 16
- 25歳~29歳 男 9 女 14
- 30歳~34歳 男 3 女 6
- 35歳以上 男 2 女 2

今後はすべての科で全患者を院内がん登録し
てもれなくフォローアップする必要

研究方法

Descriptive,
Quantitative
Qualitative
Retrospective-Prospective Cohort
Cross-sectional
Clinical-trials

Institution-Perceived Barriers That Affect Long-Term Cancer-Related Follow-Up for Young Adult Survivors of Childhood Cancer

Kelvin C et al: JCO 1998, 16:2894

- Patient's Uncertainty about the need for follow up
- Inability to locate adult survivors
- Patient's Unwillingness to follow up
- Limited access
- Lack of insurance
- Distance to Clinic
- Lack of funding for providers
- Lack of dedicated time for providers

外来に今でも自発的に来院する人または積極的に消息を手紙で知らせてくる人は少ない

結婚している人はこの中でわずかである。

子どもをつくらぬ決心をして結婚しようとしているものが多いらしい

必要な知識を患者たちにしらせたい。

欧米の調査に頼ってばかりいられない。

まず、親の会で勉強会を開く

そのあとフォローアップ調査のシステムをたてなおす。

共同研究者のバイオエシストに研究計画を立てる前に調査研究の方法と倫理問題を提示してもらった

02.07.22 小児腫瘍科成育医療勉強会プログラム

16:30~17:00 小児がん治療後に何が問題になっているか？

小児腫瘍科・恒松由紀子

17:00~17:40 成長と発育に関するホルモンとは？

思春期診療科 堀川 玲子

17:40~18:00 休憩(コーヒープレーク)

18:00~18:30 国立小児病院小児白血病治療後の成長発育の解析結果
東京女子医大第二病院小児科

加藤文代

つづき

18:30~18:50 抗がん剤による性腺の障害について

婦人科 高松 潔

18:50~19:00 男性不妊の検査

泌尿器科 大橋正和

19:00~19:20 抗がん剤による心臓機能の障害について

循環器科 百々秀心

19:20~19:40 母性内科の役割

母性内科 村島 温子

19:40~20:00 質問と総合的なご相談会

5年以上生存者はどうなるか？の大規模研究 www.cancer.umn.edu

- 1994 Childhood Cancer Survivor Study CCSS 1 970-86年の間に北米20施設で診断された21歳未満発症のがん患者で5年以上生存したもの 20,227(208,947人年)のコホート
- 一般集団と比較した死亡率 10・8倍
- 診断から10年、15年、20年、25年後までにそれぞれ 6.4%9.3%11.4%、14% が死亡
- リスク因子 女性 脳腫瘍と白血病
- しかし、白血病は診断から10年経つと生存曲線は平坦

CCSS 結果つづき

- 死亡者 2,030名の死因内訳
 - 原病および再発が1,246(67%),
 - 晩期障害による死亡 394名(21.3%)
 - 内訳 二次がん 235名(12.3%)
 - 心障害 33名(1.8%)
 - 肺障害 13名(0.7%)その他 1.6%
- 晩期障害による死亡は15年から25年後に多い
- 自殺や交通事故は多くない

CCSS 結果つづき

- 結婚率と離婚率
- 15歳以上の5年以上生存者10,425 中で
 - 62%は結婚したことがない
 - 32%は結婚したことがある、または結婚している
 - 8%は離婚・別居している
- 女性の方が結婚率がやや低く、離婚率が多い

がん治療による正常な妊娠の傷害

- 卵巣機能障害と早発閉経
 - 20~30gy 全腹照射で38例の小児 一人をのぞいて卵巣機能不全 27人で思春期発来障害 10人に23.5歳で早発閉経
 - 骨髄移植の前処置で 708人の骨髄移植後長期生存例で532人がTBI、176人が化学療法のみ
 - TBIをうけた90%で卵巣機能が消失、化学療法のみでは68% TBIを受けた例でも13人が自然妊娠したがこれらのうち6名は照射時期が思春期前であった。

子宮への照射の影響 繊維化と変形

- 照射された場所に子宮が入っているときには自然流産率が高い ウイルムス腫瘍、横紋筋肉腫等の局所コントロールで年齢に関係なく起こるが、とくに照射された年齢が若いほど子宮の容量が小さくなる。

追跡調査の問題点

- 長期にわたる追跡調査をされるとの不安感
 - 誰の同意で追跡調査が許されるか
 - プライベートな問題を聞かれること不快感
 - 予想外に知らなかった晩期障害などを調査内容から知ってしまう問題

追跡調査の問題点

- 誰の同意で追跡調査が許されるか
- 長期にわたり追跡されることへの不快感
- プライベートな問題を聞かれることへの不快感
- 予想外に知らなかった晩期障害などを調査内容から知ってしまう問題
- 個人情報漏洩のリスクとその不安
- 次世代にわたる調査により、次世代の児は生まれながらに調査対象者となる問題
- 研究の科学性・倫理性の審査を受けていない