

追跡調査の場合調査期間が長期にわたるため

対象者の年齢・状態によって、同意権者が変わる

対象者(患者)本人に対して、きちんと告知していることが前提として必要

心理的・社会的諸問題とは

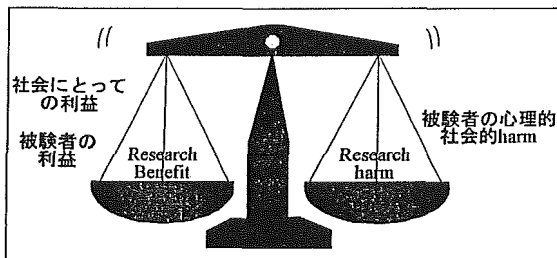
調査そのものが対象者に与える問題

⇒追跡されること、プライベートな問題に立ち入ることによる心理的侵襲

調査の結果が対象者に与える問題

⇒結果によってがん経験者であることを理由に社会的差別を受ける 可能性があることなど

小児がん長期生存者の追跡調査



小児がん長期生存者の追跡調査の在り方

- ・告知、オープン・コミュニケーションが前提
- ・本人同意が原則 (拒否権も認める)
- ・対象者のプライバシー保護(保護者に対しても)
- ・厳重な個人情報管理体制(匿名化など)
- ・調査者に対する倫理教育が必要
- ・調査によって不安が増大した場合の支援体制の整備
- ・調査の科学性・倫理性の審査を経る

小児がん長期フォローアップ患者のフォーカスグループ・インタビューによる質的調査研究

国立成育医療センター 小児腫瘍科

恒松由紀子

早稲田大学 榎江直子 (倫理・心理)

東海大学 井上玲子 (看護)

Focus Group as a Qualitative Research

- ・ Focus Group インタビューとは具体的な状況に即したある特定のトピックについて選ばれた複数の個人によって行なわれる形式ばらない議論のこと
- ・ その他の質的な調査の手續きとの大きな違いは、グループ討議にある
- ・ 1)リラックスした雰囲気の中で、非常に幅のひろい、より包括的なデータがえられる

フォーカスグループで前提となるもの

- 参集する人は情報源である
- 自分自身について意見や感情をことばにより充分表現する力がある
- よく組み立てられた集団討議ができる状況をつくる
- これらはグループダイナミックスの効果である、個人のインタビューでは得られない

第一回目インタビュー02.10.12

- 女性で未婚、がんで長期生存者で現在無病の20歳以上の成人
- あらかじめ電話で問い合わせ 説明文書と IC用紙をFAXで送付
- ファシリテーター 恒松、掛江
- 観察者と記録者 井上(旧病棟ナース 現在教職) その他3人の内科外来ナース

臨床研究への参加のお願い

- **小児がん患者長期生存者の研究**
 - 一1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
- 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構いません。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。

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。

この研究で何をするのでしょうか？

- 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。

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れ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お願いしります。私達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、鍵は恒松由紀子だけがもっています。

支払いはあるか？

- 交通費の鉄道往復料金の概算が支この研究に参加することで支払いを受けるかどうか？払われます。終わったあとで請求してください。

参加者

- HA さん (ALL 8) 20歳 大学生
- TH さん (ALL9歳) 28歳 印刷会社営業
- TN さん (AML 14歳) 23歳 ヒーリングアートセラピーを勉強中
- NY さん (横紋筋肉腫3歳, 骨肉腫22歳 26歳 製薬会社に復職勤務中
- SA さん (上腕骨悪性リンパ腫 7歳 23歳大学を卒業後、英語とパソコンを勉強中
- MMさん (ALL 6歳) 27歳 システムエンジニア

恋愛や結婚に関して差別があったか？もしくは、自己の中で気が引けるような思いがあったりするか？

- TN：病気をしたということではなく、髪が薄いということでコンプレックスを感じて、恋愛から引いていた。今は気にしていない。
- MM：お付き合いしている人はいる。恋愛のときは病気の話は言う必要はないと思っていたが、結婚を考え始めてきているので隠し事をしておきたくないと思い、話をした。相手は、自分が思っている程気にしていないようだ。相手のご両親がどう考えるか分からない。ばれることはないけど、隠しておくのも嫌だ。がんは遺伝するので（父が62歳でがんではなくなったので）子どもに遺伝したら自分の責任と思われてしまうのではないかと思ってる。
- TH：母が乳がんだったので、がんは遺伝すると思っていた。学生の頃は、自分の子どもががんになるのであれば、養子の方が良い
- NY：遺伝性のがん家系なので、子どもは要らないと割り切っている。結婚も良いけど、子どもの問題がついてくるので、恋人同士の方がいいかなあとも思う。

- HA：恋愛はしたことがない。不妊の心配はしていないけど、結婚のときに相手がどう反応するか不安に思った。
- SY：今付き合い合っている人は、一年半付き合い合っている。真面目な話をしたときに、ありのままの自分を好きになって欲しくて全部話したら、相手は結構受け取ってくれて、それでも好きでいてくれたことが嬉しかった。子どもについての不安は、告知をされていなかったとき(20)まではなかったが、逆にできると思うと不安になってきた。
- TH：病気も人格形成のうちの個性の一つと考えてくれる人とお付き合いすればいい。

乳児神経芽細胞腫の臨床像と予後判定に関する研究

分担研究者 佐伯 守洋 国立成育医療センター 副院長

研究要旨 乳児神経芽細胞腫症例70例の検討より、これらの症例は予後不良因子の陽性率が低く全体の治療成績は良好とされるが、一般の治療には抵抗性の症例が含まれ、既知の遺伝子発現情報などの予後因子からこのような症例に最適な治療を選択することは困難であると考えられた。

A. 研究目的

乳児神経芽細胞腫の臨床像は特に非マススクリーニング症例では明らかでなく、これらのうちに含まれるhigh risk症例を如何に診断するかが重要な問題となっている。本研究ではマススクリーニング症例を中心とした乳児神経芽細胞腫症例の臨床像と長期成績ならびに既知の予後不良因子の総合的検討により、乳児神経芽細胞腫の臨床的特異性を明らかにし、この患者群における既知の予後因子の臨床的意義を検討することを目的とした。

B. 研究方法

1975年より2001年までの間に当科で治療した乳児の神経芽細胞腫症例は70例(うち50例はマススクリーニング症例)あり、これらを対象として腫瘍の生物学的特性の評価および予後因子、治療経過、晩期の臨症経過などを後方視的に検討した。

個人情報に関してはいっさい研究のための情報に含めていない。またゲノムやSNPsなどの情報を扱った研究ではない。

C. 研究結果

マススクリーニング症例の病期はI期20例、II期13例、III期11例、IV期4例、IVS期2例で、予後不良因子はIII期の2例で各々unfavorable histologyとN-myc遺伝子の増幅(10倍)が見られたのみであった。非マススクリーニング症例はI期2例、II期6例、III期3例、IV期1例、IVS期8例で、1例でN-myc8倍増幅であったが、既知の予後不良因子をもった症例はみられなかった。これらのうち36例で化学療法が行われており、16例では強化化学療法が導入されていた。放射線治療は12例で併用されていた。全例が腫瘍遺残なく生存しているが、治療終了後14年で脳腫瘍を発症した症例1例、臓器合併切除や手術時の神経損傷が6例、イレウスが3例、腎萎縮が1例、放射線照射による脊椎彎曲1例、頸部繊維化1例、肝機能障害1例の14例(20.3%)でなんらかの合併症がみられ、また非マススクリーニングIVs症例中1例が再発、1例が化学療法に反応せず死亡していた。

D. 考察

乳児神経芽細胞腫はいわゆるマススクリーニング症例に代表されるように予後不良因子陽性の症例が少なく、一般に予後良好とされる。しかしながらある程度の症例数を集めた大きなシリーズで治療の詳細を検討すると、初診時に切除不能の腫瘍や転移のある進行例、James療法に反応せず治療に難渋する症例などが少なからず含まれた。非マススクリーニング例では特に既知の予後不良因子の陽性率は低かったが、再発例や死亡例がみられた。一方で長期経過・成績の調査では高い治療の合併症率も明らかになった。これらの臨床的研究より乳児神経芽細胞腫はN-mycがん遺伝子の発現など既知の予後因子がpredictiveとならない特異な症例群を形成するものと考えられた。乳児神経芽細胞腫症例の中から、high risk症例を正しく診断し、最適な治療を選択するためには既知の予後因子では限界があり、新たな予後因子や、本研究を通して検討が続いているDNAチップを利用した新たな予後因子の開発や治療のカスタマイズへの研究が必要と思われた。

E. 結論

乳児神経芽細胞腫、特に非マススクリーニング症例は、予後不良因子の陽性率も低く治療成績は良好であるが、これらのうちに強い治療を要する症例が含まれた。既知の予後因子からこれらの症例に最適な治療を選択することは困難であると考えられた。

F. 研究発表

学会発表

- 1) 黒田達夫、本名敏郎、佐伯守洋ほか：当院における1歳未満の神経芽細胞腫症例の治療ならびに治療後長期経過の検討。第18回日本小児がん学会（2002年11月、福岡）

論文発表

- 1) 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.
- 2) 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.

遺伝子発現情報を用いた小児液腫瘍の特性の解明に関する研究

分担研究者 藤本純一郎 国立成育医療センター研究所 発生・分化研究部長

研究要旨

パーキット型リンパ腫/白血病細胞の細胞表面分子 CD20 の架橋刺激によるアポトーシス誘導における細胞膜糖脂質豊富ミクロドメイン(raft)を介した細胞内刺激伝達ならびにカスパーゼ系の関与を明らかにした。また、小児の B 前駆細胞性急性リンパ芽球性白血病 (ALL)、T 細胞型 ALL および急性骨髄性白血病に対する GeneChip 解析を行い、各病型の白血病の発現遺伝子カタログを作成し、その比較検討により B 前駆細胞性 ALL に特異的に発現する複数の遺伝子を、新たに同定した。これらの情報は、今後、各病型の小児白血病の特性の解明や、新規治療法開発に関する研究を行う上で有用と考えられる。

A. 研究目的

本研究の目的は、小児における白血病/リンパ腫の各病型ごとの特性について、細胞膜表面分子を介する刺激伝達や、遺伝子の発現様式の観点から明らかにすることである。

CD20はB細胞分化抗原のひとつであり、近年成人の悪性リンパ腫の一部の亜型に対して、CD20に対するヒト-マウスキメラ抗体を用いた治療が行われている。CD20は小児のパーキット型リンパ腫/白血病においても高発現していることから、その治療における有用性が推測される。しかし、抗CD20抗体の抗腫瘍効果の分子機構については不明な点が多いことから、今回その詳細に関してCD20を介する細胞内刺激伝達に着目して検討した。

また、小児白血病の病型ごとの特性を遺伝子発現様式の観点から明らかにする目的で、GeneChipを用いた網羅的解析によって各病型ごとの発現遺伝子カタログを作成し、その比較検討を行った。

B. 研究方法

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アネキシンVの結合で検出し、フローサイトメトリーで解析した。同時に細胞抽出液を調整してraftに局在する蛋白をショ糖密度勾配超遠心法によって分離し、刺激伝達分子に対するイムノプロット解析を行った。B-ALL、T-ALLおよびAML患児の末梢血あるいは骨髄血より分離精製した白血病細胞からRNAを抽出し、gene chipによる比較解析により各病型間で遺伝子の発現量に差のある分子群をスクリーニングした。またこの結果を前年度解析した複数の細胞株の解析結果とも比較した。

C. 研究成果 パーキットリンパ腫細胞ではCD20の架橋によってアポトーシス誘導が認められる。イムノプロット等による検討の結果、この過程で複数のカスパーゼ (8, 9, 3, 2, 7) の活性化が起こっていることが確認され、さらにカスパーゼ抑制剤によってこのアポトーシス誘導が抑制されることが明らかと

なった。また、CD20はraftを介する細胞内への刺激伝達に関与する分子であることが報告されているが、raft構造の攪乱剤methyl β -cyclodextrinを用いることによりCD20によるアポトーシス誘導は抑制された。パーキット細胞はB細胞抗原受容体(BCR)の架橋刺激によってもアポトーシス誘導が起こるが、BCRとCD20はアポトーシス誘導に関して相乗的に作用することが判明した。また、その他の細胞膜上の分子について同様な検討を行ったところ、CD20によるアポトーシス誘導に対して増強的に作用する分子として、CD48、CD24、等のGPI結合蛋白や、CD19、CD81、等の副刺激受容体が、逆に抑制的に作用する分子として、CD32、CD40、IL4受容体が明らかとなり、これらの分子のCD20誘導性アポトーシスに対する修飾作用がカスパーゼの活性の調節と密接に関連する可能性が示唆された。

gene chipにより各病型の白血病/リンパ腫、すなわちB前駆細胞性急性リンパ芽球性白血病 (ALL)、T細胞型ALL、および急性骨髄性白血病を複数例ずつ解析し、それぞれの病型に発現する遺伝子のカタログを作成した。さらに、このカタログを用いた比較解析により、白血病/リンパ腫の中でB前駆細胞型ALLに特徴的に発現する分子を多数同定した。これらの中にはCD79a/b、BLK、BLNK、CD20、CD22、CD179等の既存のB細胞特異分子が含まれていることから、そのデータの信頼性が確認された。現在、新規に見いだされたB前駆細胞型ALL特異的分子のいくつかについて、多数の症例における発現の解析やその機能に関する解析を行っている。

D. 考察

今回の検討により、パーキット細胞において、CD20の架橋がraftを介した細胞内への刺激伝達によってカスパーゼカスケードを活性化することによってによるアポトーシスを誘導していること、細胞膜上の多くの分子がこのアポトーシス誘導に対する増強あるいは抑制刺激を伝達することが明らかとなった。現在、抗CD20抗体による治療は、一部の成人

の悪性リンパ腫についてのみ行われているが、今後小児期のパーキットリンパ腫/白血病の治療抵抗例に対する治療法として有効である可能性が考えられる。さらに、CD20と他の分子に対する抗体をカクテルにして投与することにより、より有効なパーキット細胞に対するアポトーシス誘導療法が行える可能性が考えられる。

gene chipを用いた網羅的発現遺伝子解析により各病型の白血病/リンパ腫についてその発現遺伝子のカタログを作成した。現在、各病型間の比較解析を行っているが、最も解析の進んでいるB前駆細胞型ALLについては、その特異的な発現遺伝子として既存のB細胞特異抗原が多数含まれていることから、この解析方法の妥当性が確認された。さらに、この解析によって複数の遺伝子が同ALLに特徴的に発現することが新たに明らかとなり、今後その機能面での解析が進行することによって、同ALLの新たな特性が明らかになるものと期待される。

E. 結論

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。

gene chipによる白血病/リンパ腫の発現遺伝子カタログとその比較解析による、各病型の白血病/リンパ腫の特性解析の方法論としての妥当性ならびに有用性が確認された。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 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.
- 2) Matsuoka K, Kiyokawa N, Taguchi T, Matsui J, Suzuki T, Mimori K, Nakajima H, Takenouchi H, Tang W, Katagiri YU, 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.
- 3) 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, Fujimoto J. Granulocyte colony-stimulating factor directly affects human monocytes and modulates cytokine secretion. *Exp Hematol* 30:1115-1123, 2002.
- 4) 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.
- 5) Nakao H, Kataoka C, Kiyokawa N, Fujimoto J, Yamasaki S, Takeda T. Monoclonal antibody to shiga toxin 1, which blocks receptor binding and neutralizes cytotoxicity. *Microbiol Immunol* 46:777-780, 2002.
- 6) Taguchi T, Kiyokawa N, Mimori K, Suzuki T, Sekino T, Nakajima H, Saito M, Katagiri YU, Matsuo N, Matsuo Y, Karasuyama H, Fujimoto J. Pre-BCR-mediated signal inhibits CD24-induced apoptosis in human pre-B cells. *J Immunol* (in press).
- 7) Mori T, Kiyokawa N, Shimada H, Miyauchi J, Fujimoto J. Retrospective analysis of 34 patients diagnosed at the National Research Institute for Child Health and Development. *Br J Hematol* (in press).
- 8) Ohtomo Y, Kawamura R, Kaneko K, Yamashiro Y, Kiyokawa N, Taguchi T, Mimori K, Fujimoto J. Nephrotic syndrome associated with human parvovirus B19 infection. *Pediatr Nephrol* (in press).
- 9) Honma D, Uenishi H, Hiraiwa H, Watanabe S, Tang W, Kiyokawa N, Fujimoto J, Yause H, Sakimura K. Cloning and characterization of porcine common γ chain gene. *Cytokines* (in press).
- 10) 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).

2. 学会発表

- 1) 片桐洋子, 大見和宏, 田口智子, 唐巍然, 清河信敬, 藤本純一郎: ラフト/マイクロドメインを認識する単クローン抗体 Raft-1. 第91回日本病理学会総会, 横浜, 3月26-28日, 2002.
- 2) 三森謙一, 清河信敬, 田口智子, 中島英規, 唐巍然, 藤本純一郎: Langerhans cell histiocytosis および Langerhans cell における claudin の発現. 第91回日本病理学会総会, 横浜, 3月26-28日, 2002.
- 3) 中尾浩史, 清河信敬, 竹田多恵, 藤本純一郎: 志賀毒素の標的細胞への結合に関する試み. 第75回日本細菌学会総会, 横浜, 4月4-6日, 2002.
- 4) 片桐洋子, 清河信敬, 田口智子, 中島英規, 中尾浩史, 藤本純一郎: シガ毒素受容体 Gb3 の架橋刺激によるラフトを介した細胞内刺激伝達. 第75回日本細菌学会総会, 横浜, 4月4-6日, 2002.
- 5) 田口智子, 清河信敬, 斎藤正博, 中島英規, 片桐洋子, 藤本純一郎: G-CSF は単球における LPS 受容体を介した刺激伝達を修飾しそのサイトカイン分泌を調節する. 第75回日本細菌学会総会, 横浜, 4月4-6日, 2002.
- 6) 関野貴臣, 清河信敬, 田口智子, 古川漸, 藤本純一郎: 腎皮質上皮細胞におけるペロ毒素の細胞内逆行性輸送と NBTI によるその

- 阻害に関する検討. 第 105 回日本小児科学会学術集会, 名古屋, 4月19-21日, 2002.
- 7) 田口智子, 清河信敬, 藤本純一郎: 腎尿管上皮細胞に対するペロ毒素の新たな細胞障害作用: 毒素の結合によって誘導される細胞内刺激伝達をともなった細胞死. 第 37 回日本小児腎臓病学会学術集会, 神戸, 7月4-6日, 2002.
- 8) 清河信敬, 中尾浩史, 藤本純一郎: 核酸輸送阻害剤 nitrobenzylthioinosine は Shiga toxin の細胞内逆行性輸送を阻害することによりその毒性を抑制する. 第 49 回毒素シンポジウム, 7月10-12日, 岐阜, 2002.
- 9) 鈴木恭子, 清河信敬, 斎藤正博, 田口智子, 松井淳, 竹野内寿美, 唐巍然, 片桐洋子, 塩沢祐介, 藤村純也, 鈴木東洋, 藤田宏夫, 山城雄一郎, 藤本純一郎: G-CSF が単球のサイトカイン分泌に及ぼす作用に関する検討. 第 64 回日本血液学会総会, 横浜, 年9月12-15日, 2002.
- 10) 田口智子, 清河信敬, 藤本純一郎: B 前駆細胞抗原受容体を介した AKT の活性化. 第 64 回日本血液学会総会, 横浜, 年9月12-15日, 2002.
- 11) 鈴木恭子, 清河信敬, 田口智子, 松井淳, 塩沢祐介, 竹野内寿美, 唐巍然, 片桐洋子, 藤村純也, 鈴木東洋, 藤田宏夫, 山城雄一郎, 中島敏治, 斎藤博久, 斎藤正博, 藤本純一郎: G-CSF によって単球に誘導される分子発現に関する検討. 第 44 回日本小児血液学会, 東京, 10月18-19, 2002.
- 12) 田口智子, 清河信敬, 松井淳, 唐巍然, 竹野内寿美, 三森謙一, 江端智彦, 板垣光子, 片桐洋子, 中島敏治, 斎藤博久, 藤本純一郎: B 細胞分化における MAPK フォスファターゼの成熟度依存的な発現. 第 44 回日本小児血液学会, 東京, 10月18-19, 2002.
- 13) 三森謙一, 清河信敬, 田口智子, 竹野内寿美, 松井淳, 唐巍然, 板垣光子, 片桐洋子, 宮内潤, 藤本純一郎: LCH 細胞およびヒト正常 Langerhans 細胞における claudin, occludin の発現. 第 44 回日本小児血液学会, 東京, 10月18-19, 2002.
- 14) 森鉄也, 清河信敬, 藤本純一郎: 単一施設で診断した小児 ALCL 例に対し選択された治療と転帰の後方視的解析. 第 44 回日本小児血液学会, 東京, 10月18-19, 2002.
- 15) 片桐洋子, 大見和宏, 田口智子, 唐巍然, 清河信敬, 藤本純一郎: ラフト/マイクロドメインを認識する単クローン抗体 Raft-1. 第 75 回日本生化学大会, 京都, 10月14-17日, 2002.
- 16) 田口智子, 清河信敬, 片桐洋子, 藤本純一郎: pre-B 細胞における AKT 刺激伝達系の活性化とその細胞死制御への関与に関する検討. 第 32 回日本免疫学会総会, 東京, 年12月4-6日, 2002.
- 17) 鈴木恭子, 清河信敬, 田口智子, 松井淳, 塩沢祐介, 唐巍然, 片桐洋子, 藤田宏夫, 山城雄一郎, 中島敏治, 斎藤博久, 斎藤正博, 藤本純一郎: G-CSF の単球のサイトカイン分泌に対する選択的調節機構に関する検討. 第 32 回日本免疫学会総会, 東京, 年12月4-6日, 2002.
- 18) 唐巍然, 塩谷順彦, 清河信敬, 田口智子,

竹野内寿美, 松井淳, 板垣光子, 江端智彦, 片桐洋子, 田口智子, 安江博, 高垣洋太郎, 藤本純一郎: プタ T 細胞抗原受容体の鎖に対する単クローン性抗体 7G3 の樹立とその解析. 第 32 回日本免疫学会総会, 東京, 年12月4-6日, 2002.

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

高発癌性遺伝病 Gorlin 症候群の解析

分担研究者 宮下 俊之 国立成育医療センター研究所

研究要旨

Gorlin 症候群は母斑基底細胞癌症候群とも呼ばれる常染色体優性遺伝を呈する小奇形を伴う神経皮膚症候群である。それと同時に基底細胞癌、髄芽腫等を多発する高発癌性遺伝疾患でもある。近年ショウジョウバエの体節形成時に作用する遺伝子 *ptc* のヒトホモログ *PTCH* がこの疾患の責任遺伝子として同定された。我々は今年度 10 例の Gorlin 症候群の遺伝子解析を行い、そのうち 8 例で *PTCH* 遺伝子の変異を同定した。同定された変異は全て従来報告のない新規のものであった。内 1 例のみがミスセンス変異であり、残りは全て 1 から 2 塩基の欠失あるいは挿入によるフレームシフト、及びスプライスの異常から *PTCH* 蛋白質の欠失変異体が生ずると考えられた。また変異の同定される頻度 (4/5) が以前の報告 (1/3) より明らかに高く、より正確な遺伝子診断が可能となった。

A. 研究目的

ショウジョウバエの体節形成時に作用する遺伝子 *ptc* のヒトホモログ *PTCH* がこの疾患の責任遺伝子として同定されたが、本疾患でこの遺伝子に変異が認められる患者は約 1/3 に過ぎず、この低い検出率が技術的な問題に由来するのか、残りの患者は他の遺伝子に変異があるのかは不明である。また、高発癌性遺伝疾患であることから、*PTCH* は癌抑制遺伝子として機能していると考えられるが、ヒトにおける *PTCH* の機能は明らかでなく、その変異が発癌にいかに関わっているかもよくわかっていない。そこで本研究において、Gorlin 症候群の遺伝子解析を行うと共に、発見された遺伝子変異が発症にいかに関与しているかを知るため、細胞生物学的解析を行うこととした。本研究は日本人に最も多い皮膚がんである基底細胞癌と、小児期に多く予後が極めて悪い脳腫瘍である髄芽腫の本態解明及びその臨床応用に寄与するものである。

B. 研究方法

臨床的に Gorlin 症候群の診断基準を満たす患者から末梢血を採取した。末梢血から得られる DNA 量には制限があるため（特に小児の場合）、各患者のリンパ球の一部を EB ウイルスで不死化した。残りのリンパ球からは高分子 DNA を抽出した。今までの報告では、遺伝子解析において、先ず PCR-SSCP 法でスクリーニングを行い、バンドシフトの見られるエクソンについてのみ塩基配列を解析していた。今回我々は、公開されているヒトゲノムデータベースから *PTCH* 遺伝子の正確な構造を解析し、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 反応を行った。シークエンス反応を行う際、反応産物を蛍光標識し、毛細管式 DNA シークエンサーを用いて塩基配列の解析を行った。一部の症例については不死化リンパ球から RNA を抽出し、スプライス異常の有無につき検討した。

（倫理面への配慮）

三省合同による「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」を遵守するとともに、国立成育医療センター倫理委員会の承認を得て行った（平成 14 年 9 月 26 日条件付承認、同年 11 月 19 日承認）。

C. 研究結果

現在までに 10 例で *PTCH* 遺伝子の解析を終了しており、そのうち 8 例で同遺伝子の変異が同定された。同定された変異は全て従来報告のない新規のものであった。内 1 例のみがミスセンス変異であり、残りは全て 1 から 2 塩基の欠失あるいは挿入によるフレームシフト、及びスプライスの異常から *PTCH* 蛋白質の欠失変異体が生ずると考えられた。ミスセンス変異は正常人の 100 以上の染色体の解析から稀な多型ではないことを確認した。スプライスの異常をきたす変異は、エクソン・イントロン境界から 5 塩基イントロン側にある塩基の置換であった。

D. 考察

欠失変異体を生ずるような変異が多いという結果は欧米からの報告と一致するものであった。しかし、*PTCH* 遺伝子に変異の同定される頻度 (4/5) が以前の報告 (1/3) より明らかに高かつ

たのは、全てのエクソンを最初からシーケンスしたからと思われるが、人種差による可能性も完全には否定できない。また我々の見出した509番目のアミノ酸のミスセンス変異は、我々の症例を含めて3例報告があることから、この部分にPTCH蛋白質の重要な機能を担う部分があると考えられた。変異の見られなかった症例は、今年度解析できなかった領域（例えばプロモーター領域）に変異があるのか、PTCH遺伝子以外の類似あるいは関連遺伝子に変異があるのかを今後明らかにする必要があると思われる。

E. 結論

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る。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Shikama, Y., Shen, L., Yonetani, M., Miyauchi, J., Miyashita, T., and Yamada, M.: Death effector domain-only polypeptides of caspase-8 and -10 specifically inhibit death receptor-induced cell death. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 291: 484-493, 2002.

Inoue, H., Takemura, H., Kawai, Y., Yoshida, A., Ueda, T., and 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.* 93: 582-590, 2002.

Yoshida, N.-L., Miyashita, T., U, M., Yamada, M., Reed, J. C., Sugita, Y., and Oshida, T.: Analysis of gene expression patterns during glucocorticoid-induced apoptosis using oligonucleotide arrays. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 293: 1254-1261, 2002.

Fujii, K., Sugita, K., Kohno, Y., Nakamura, M., Moroi, Y., Urabe, K., Furue, M., Yamada, M., and Miyashita, M.: Mutations in the human homologue of *Drosophila* patched in Japanese nevoid basal cell carcinoma syndrome patients. *Hum. Mutat.* 21: 451-452, 2003.

Fujii, K., Miyashita, T., Omata, T., Kobayashi, K., Takanashi, J., Kouchi, K., Yamada, M., and Kohno, Y.: Gorlin syndrome with ulcerative colitis in a Japanese girl. *Am. J. Med. Genet.* (in press).

Yanagisawa, H., Miyashita, T., Nakano, Y., and

Yamamoto, D.: HSpin1, a transmembrane protein interacting with Bcl-2/Bcl-xL, induces a caspase-independent autophagic cell death.: *Cell Death Differ.* (in press).

2. 学会発表

山田将輝, 平澤明, 勝間進, 塩島聡, 伊川浩司, 山下絢子, 宮下俊之, 辻本豪三: グルココルチコイドによるヒト白血病細胞のアポトーシス誘導に参与する遺伝子. 第75回日本薬理学会年会(熊本), 2002年3月

井上 仁, 武村晴行, 吉田明, 河合泰一, 上田孝典, 宮下俊之: 697 白血病細胞株における dexamethasone 及び Vincristine 同時薬剤耐性株の樹立と耐性機序の解明. 第61回日本癌学会総会(東京), 2002年10月

山田孝之, 山田聖子, 菅原祐之, 小野真, 澤正之, 三宅智, 湯浅保, 宮下俊之, 寺岡弘文, 水谷修紀: HDART は p53 の正常な機能発現に必須の遺伝子である. 第61回日本癌学会総会(東京), 2002年10月

鹿間芳明, 宮下俊之, 山田正夫: カスパーゼ8、10のプロドメインによる NF- κ B 活性化メカニズムの検討. 第61回日本癌学会総会(東京), 2002年10月

宮下俊之, 鹿間芳明, 山田正夫: 白血病細胞におけるグルココルチコイド標的遺伝子の解析. 第61回日本癌学会総会(東京), 2002年10月

Miyashita, T.: Polyglutamine-mediated cell death and caspases. 1st International Workshop "Frontiers in Molecular Neuropathology" (Wako, Japan), Nov. 2002.

藤井克則, 山田正夫, 河野陽一, 宮下俊之: Gorlin 症候群日本人家系における PTCH 遺伝子解析. 第25回日本分子生物学会年会(横浜), 2002年12月

於保祐子, 山崎麻由, 宮下俊之, 山田正夫: DRPLA 蛋白の翻訳後修飾. 第25回日本分子生物学会年会(横浜), 2002年12月

禹麻美, 宮下俊之, 宮内潤, 吉田寧, 杉田雄二, 押田忠弘, 山田正夫: グルココルチコイドによって誘導される標的遺伝子の解析. 第25回日本分子生物学会年会(横浜), 2002年12月

長尾和右, 於保祐子, 宮下俊之, 山田正夫: DRPLA 蛋白の機能解析. 第25回日本分子生物学会年会(横浜), 2002年12月

柳澤比呂子, 宮下俊之, 中野芳朗, 山元大輔: キイロショウジョウバエ Spin のヒト相同蛋白質によるカスパーズ非依存的な細胞死 . 第 25 回日本分子生物学会年会 (横浜) , 2002 年 12 月

山田孝之, 山田聖子, 菅原祐之, 小野真, 中田慎一郎, 勝木陽子, 長澤正之, 三宅智, 湯浅保, 宮下俊之, 寺岡弘文, 水谷修紀: HDART は p53 の正常な機能発現に必須の遺伝子である. 第 25 回日本分子生物学会年会 (横浜) , 2002 年 12 月

山田聖子, 山田孝之, 菅原祐之, 小野真, 中田慎一郎, 勝木陽子, 宮下俊之, 寺岡弘文, 水谷修紀: 核内レセプターの新規転写抑制因子 HDART の機能解析. 第 25 回日本分子生物学会年会 (横浜) , 2002 年 12 月

宮下俊之: 細胞死を制御する遺伝子のアイソフォームとその機能解析. 平成 14 年度 基礎生物学研究所 共同利用研究会 (岡崎) 2002 年 12 月

Shikama, Y., Yamada, M., and Miyashita, T.: NF- κ B activation pathways induced by caspase-8 and -10 prodomains. APOPTOSIS 2003 - From signaling pathways to therapeutic tools (Luxembourg, Luxembourg), Jan. 2003

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

分担研究報告書

小児がんの遺伝的背景 関する研究

分担研究者 水谷修紀 東京医科歯科大学教授

研究要旨

小児がんの遺伝的発生要因の解明を目的としてAtaxia Telangiectasia (ATM)遺伝子異常が関与している可能性を解析し、乳児白血病の一部がATM遺伝子の異常を遺伝的背景として発症していることを明らかにした。この変異はドミナントネガティブに作用することを明らかにした。またATMがトポイソメラーゼと結合し、リン酸化する可能性があることを明らかにした。

A. 研究目的

一般にがんは生活習慣と遺伝的素因により生じるが、小児がんは遺伝的素因による影響が強いと考えられる。発がんの遺伝的素因を形成する種々の因子が解明されつつあるが、中でもゲノムの安定性の維持にかかわる遺伝子の障害は重要である。

ゲノムが順調に複製、分配されていることを監視するステップとして、細胞周期チェックポイントが存在する。チェックポイント機構が変調をきたせば細胞内で日常的に生じているDNA損傷の修復に障害をきたし、悪性腫瘍の発生に至る。このDNA障害を検知し、チェックポイント機能を発揮するATM遺伝子の存在が明らかにされたが、この分子は免疫不全や小脳障害、高発がんを特徴とする劣性遺伝病であるAraxia telangiectasia(AT)の責任遺伝子であった。欧米におけるATの疫学研究によって発生頻度は4万から10万人に1人、そのキャリアーは100人から300人に1人とされ、またそのキャリアーで乳がんや胃がんの発生率が高いとする報告が見られる。

本研究では小児がん患者における発がん素因としてATM遺伝子異常の関与を明らかにすることを目的にした。

B. 研究方法

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。ウエスタン法、形質転換細胞の樹立、PCRなどは常法に従った。

(倫理面への配慮)

被験サンプルは患者（代諾者）の了解と学内倫理審査委員会の承認のもとに入手し、実験に供した。

C. 研究結果

既に報告したp53のリン酸化を指標にした方法を用いて種々の小児がん患者より樹立した末梢B細胞株を対象にATM遺伝子異常のスクリーニングを開始した。7例の乳児白血病患者からB細胞株を樹立し、解析を行った。その結果4例においてATM蛋白の発現低下を認め、それらの株においてp53のリン酸化反応の低下を確認した。そのうち1例においてATMのミスセンス変異を発見した。この変異はATMのPI3-Kドメインに位置しており、変異アレルのサブクローニングに成功したので、ATM^{-/-}細胞株を導入し、機能の解析を行った。その結果p53のリン酸化反応が完全に欠如しており、クロノジェニック活性も低下していた。またさらに重要なことにU2OS細胞(ATM^{+/+}, p53^{+/+})に本遺伝子を導入し、p53のリン酸化アッセイを行ったところ、変異蛋白が野生型p53の機能を抑制するドミナントネガティブ活性を有することが判明した。このようなATMの異常がトポイソメラーゼ阻害剤による白血病と同様の特徴を示す乳児白血病に見られたことからATMとトポイソメラーゼの関係の解析を行った。その結果両者の結合と、トポイソメラーゼ α のATMによりリン酸化を認め、ATM異常とトポイソメラーゼ阻害剤感受性の間に何らかの関係があると考えられた。

D. 考察

本研究によって、ゲノムの安定性を保証するATM遺伝子の異常が小児がんへの感受性を決定する可能性が明らかになるようとしている。今後さらに多数の症例における検討と、同様の遺伝子異常をもつ

た健常人の追跡調査、さらにはこれらの遺伝的負荷を負った患者を発がんに導く付加的な遺伝要因や環境要因について明らかにする必要がある。とりわけトポイソメラーゼ阻害剤感受性とATM異常の関連は今後発がんにおける遺伝と環境を結びつける重要な知見と考えられた。

E. 結論

小児がんにおける遺伝的素因の研究に新しい扉を明けることができた。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と考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. K. Oguchi, T. Takagi, S. Mizutani et al. Missense mutation and defective function of ATM in a childhood acute leukemia patient with MLL gene rearrangement. Blood in press
2. S. Mizutani 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
3. R.Tsuchida, J. Miyauchi, S. Mizutani et al. Expression of Cyclin-dependent Kinase Inhibitor p27/Kip1 and AP-1 Coactivator p38/Jab1 Correlates with Differentiation of Embryonal Rhabdomyo -sarcoma. Jap J Cancer Res 93(9):1000-6.2002
- 4.H. Tanaka, , S. Mizutani, et al. . Cytoplasmic p21Cip1/WAF1 regulates neurite remodeling by inhibiting Rho-kinase activity. J. Cell Biol. 158(2):321-9.2002
5. R. Tsuchida, S. Mizutani et al. 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
6. T. Onishi ,S, Mizutani et al. A highly specific heterologous enzyme immunoassay for 5 alpha-androstane-3alpha, 17 beta-diol 17-glucuronide (androstanediol-17G) and developmental patterns of urinary

androstanediol-17G excretions. Steroids. 67(3-4):175-83, 2002

H. 知的所有権の取得状況

特許出願中

P300ヒストンアセチル化酵素インヒビター
(特願2001-292206)

転写調節に関与する因子
(特願2002-217233)

神経芽腫のクローン性解析

分担研究者 宮内 潤

国立成育医療センター臨床検査部医長

研究要旨

神経芽腫は1歳未満の乳児では自然退縮が高率に見られ、4S期と呼ばれる腫瘍ではたとえ遠隔臓器に転移していても予後は良好である。一方、年長児の神経芽腫は分化が乏しく治療抵抗性で、予後はきわめて不良である。こうした神経芽腫の特異な生物学的性格が何に起因するのか現在不明である。本研究では、神経芽腫に関してよく知られていない腫瘍のクローン性を分子生物学的な手法にて解析した。女兒の2本のX染色体上に存在する human androgen receptor 遺伝子の父母間の多形性を利用して父母由来の allele を識別し、X染色体のメチル化による不活化様式を指標として、腫瘍細胞集団のクローン性を解析した。検索した乳児7例と年長児2例のいずれの神経芽腫も多クローン性であることが示された。腫瘍の大きな特徴としてその単クローン性が広く受け入れられているが、今回神経芽腫に関してはこれと異なる結果が得られ、上記の神経芽腫の生物学的特性と何らかの関係がある可能性も考えられた。

A. 研究目的

神経芽腫は1歳未満の乳児では一般に予後は良好である。自然退縮さえも期待でき、たとえ遠隔転移をきたしていても、4S期と呼ばれる症例は予後がよい。一方、年長児例では種々の遺伝子異常を伴うことが多く予後は不良であり、とくに N-myc 遺伝子の高発現を伴う症例は3年生存率が5%未満と、きわめて予後不良である。こうした神経芽腫の特異な生物学的特徴の原因を探索する目的で、本研究では腫瘍の clonality と予後との関係を解析した。

B. 研究方法

女兒のX染色体のメチル化による不活化様式から腫瘍の clonality を解析した。X染色体上に存在する human androgen receptor (HUMARA) 遺伝子のエキソン1には高率に多形性を示す CAG 繰り返し配列が存在し、母親由来と父親由来の allele を識別できる可能性が高い。また CAG 繰り返し配列の上流のプロモーター領域にはメチル化によるX染色体の不活化と関連する CG 領域が存在する。この遺伝子多形を示す領域とX染色体の不活化と関連する CG 領域を挟み込む形の polymerase chain reaction (PCR) プライマーを作製し、メチル化感受性制限酵素処理後にこの領域を PCR 法に

て遺伝子増幅することによって、クローン性を解析を行った(conventional 法)。本研究ではさらに、非メチル化 cytosine を sodium bisulfite を用いて uracil に変換する方法により、メチル化および非メチル化 allele を別個の塩基配列とし、各々に特異的なプライマーを用いたメチル化特異的 PCR 法 (methylation-specific PCR; MSP 法) を行った。材料は 7 例の乳児例と 2 例の年長児進行神経芽腫を用い、結果を比較した。

本研究に関する材料の使用に関しては患者両親の同意を得ており、また発表に関しては患者を特定しうる情報は全く出されておらず、この研究によって患者が不利益を受ける可能性はない。

C. 研究結果

まず対照となる monoclonal な細胞を検討した。conventional 法では、2 例の急性骨髄性白血病細胞および 1 例の腎明細胞肉腫はいずれも、制限酵素処置前の PCR 法では父母由来の 2 本のバンドが見られ、メチル化感受性制限酵素である HhaI 処理後の PCR 法ではバンドは 1 本であった。正常組織では酵素処置前後ともに 2 本のバンドが認められた。これらは腫瘍が monoclonal であることを示す結果であった。MSP 法ではメチル化特異的プライマー、非メチル化特異的プライマーのいずれを用いても正常組織はそれぞれ 2 本のバンドが見られ、腫瘍組織では PCR 産物はいずれも 1 本ずつであった。以上のごとく、対照組織では明瞭に monoclonality が示された。次に神経芽腫の乳児例を conventional 法にて検索

した。正常組織ではメチル化感受性制限酵素である HhaI 処理前後で父母由来の 2 本のバンドが見られたが、意外なことに 7 例のすべての腫瘍組織にて、正常組織と同様に酵素処置前後でほとんど同じ濃度を示す 2 本のバンドが認められた。MSP 法でも正常組織と同様に、メチル化特異的プライマー、非メチル化特異的プライマーのいずれを用いても、正常組織、腫瘍組織ともにそれぞれ 2 本のバンドが認められた。以上は乳児神経芽腫が polyclonal であることを示す結果であった。年長児の進行神経芽腫は乳児と異なり予後不良であることから、異なる結果を予想して 2 例を同様に検索した。しかし予想に反し進行例においても、conventional 法、MSP 法のいずれも乳児と同様に polyclonal という結果を示した。腫瘍組織が polyclonal という結果を示す原因として、正常細胞が腫瘍組織内に混在している可能性が考えられるため、これを否定するために、3 例の乳児例の凍結切片から腫瘍細胞を光学顕微鏡観察下に剥離採取し (マイクロダイセクション法)、純化された腫瘍組織について conventional 法にて clonality を解析した。しかし結果はやはり同様であった。3 例ともに正常組織と同じく酵素処理前後いずれも父母由来の 2 本のバンドが確認された。以上の結果から、神経芽腫は polyclonal な疾患と結論された。

D. 考察

腫瘍は一般に単一細胞のクローン性増殖からなると考えられているが、一部の良性腫瘍、例えば遺伝性腫瘍である

neurofibromatosis type 1 や内分泌腫瘍、一部の膵腺腫は polyclonal で、これらを基盤に発生した悪性腫瘍である neurofibrosarcoma や adenocarcinoma は monoclonal であるという報告がある。これらの報告と今回の結果から、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、自然退縮などの神経芽腫がもつ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。進行神経芽腫の2例ともに同様に polyclonal という結果であり、clonality と患者の予後は直接関連はしないものと考えられた。

E. 結論

神経芽腫は通常の腫瘍とは異なり、多クローン性の細胞集団からなる特殊な腫瘍であることが示された。このことは、神経芽腫の特異な生物学的性状と関連する可能性も考えられた。

F. 健康危険情報

とくになし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Zhenghong Wu, Lisong Shen, Yuka Inatomi, Mami U, Toshiyuki Miyashita, Keisuke Toyama and Jun Miyauchi: Effects of TNF α on the growth and sensitivity to cytosine arabinoside of blast progenitors in acute myelogenous leukemia with special reference to the role of NF- κ B. *Leukemia Res.* (in press)
- 2) Shikama Y, Shen L, Yonetani M, Miyauchi J, Miyashita T, Yamada T: Death effector domain-only polypeptides of caspase-8 and -10 specifically inhibit death receptor-induced cell death. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 291:484-493, 2002
- 3) Tsuchida R, Miyauchi J, Shen L, Takagi M, Tsunematsu Y, Saeki M, Honna T, Yamada S, Teraoka H, Kato J, Mizutani S: Expression of cyclin-dependent kinase p27/Kip1 and AP-1 coactivator p38/Jab1 correlates with differentiation of embryonal rhabdomyosarcoma. *Jpn. J. Cancer Res.* 93:1000-1006, 2002
- 4) Kohsaka T, Yuan Z, Guo S, Tagawa M, Nakamura A, Nakano M, Kawasasaki H, Inomata Y, Tanaka K, Miyauchi J: The significance of human jagged 1 mutations detected in severe cases of extrahepatic biliary atresia. *Hepatology* 36:904-912, 2002
- 5) 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
- 6) 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
- 7) 宮内 潤: Alveolar soft part sarcoma の最新知見. 小児外科 34:469-474, 2002
- 8) 宮内 潤: 組織球症の分類と病理診断. 病理と臨床 20:812-817, 2002
- 9) 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
- 10) 宮内 潤、松岡健太郎: 縦隔腫瘍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
- 11) 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
- 12) 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
- 13) 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
2. 学会発表
- 1) 国仲伸男、島倉真美子、柳橋宏子、中村宏紀、藤川淳策、宮内 潤、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. 第51回日本医学検査学会総会(2002年5月15-17日、仙台)
- 2) 宮内 潤、呉 政宏、沈 立松、稲富由香、外山圭助: 白血病幹細胞の増殖と cytosine arabinoside 感受性に及ぼす造血因子と TNF α の併用効果. 第64回日本血液学会総会(2002年9月12日~15日、横浜)
- H. 知的財産権の出願・登録状況とくになし。

分担研究報告書

小児がんの遺伝疫学的研究

分担研究者 谷村雅子(国立成育医療センター研究所成育社会医学研究部長)

研究要旨：出生体重の上昇と幾つかの小児がん発生との関連性について報告されているので、小児がん発生への成長促進因子の関与の有無を探るため、小児がん全国登録例中1985年以降に診断された14463例について、出生時の体重と身長および2歳までに発生した症例の生後の体重と身長の増加量を解析した。一般集団に比して、ALLおよび神経芽腫において、出生時の体重と身長の増加および出生後の体重と身長の増加量の有意の増加が認められ、胎生期、出生後を通しての成長促進因子の関与の可能性が示唆された。

A. 研究目的

小児がんの発生リスクと出生体重の増加との関係は、白血病、Wilms腫瘍、神経芽腫、脳腫瘍などで報告されており、その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。出生時の体重と身長および生後の体重増加と身長増加との関係を調べ、出生後も小児がん発生に成長促進因子が関与しているか否かを検討する。

B. 研究方法

小児がん全国登録の1985年以降の診断例14463例の資料を用いて、出生時の体重と身長および2歳までに発生した症例についての診断時までの体重増加と身長増加を一般集団と比較した。

1. 出生時体重および身長の標準化値

在胎週別、性別の日本人の出生時体重と身長の基準値に基づいて、各症例の出生時の体重と身長の標準化値を求め、がんの種類別に標準化値の平均値を求め、一般集団と比較した。

2. 小児がん診断時までの体重および身長増加量

月齢別、性別の日本人の体重と身長の基準値に基づいて、2歳までに発生した各症

例の小児がん診断時の体重と身長の標準化値を算出し、対応のある平均値の差の検定により、出生時の標準化値と比較した。

(倫理面への配慮)

本解析では、個人識別可能な情報は用いていない。

C. 結果

1. 出生時の体重および身長

表1に基準値に基づく標準化値の平均値を示す。一般集団に比して、小児がん全体で体重、身長共に有意に高く、がんの種類別には、ALL、非神経膠腫、神経芽腫、ウイルムス腫瘍、骨肉腫で体重と身長の両方が有意に高かった。その他、悪性リンパ腫、悪性奇形腫、良性奇形腫では体重のみ有意に高く、AMLは身長のみ有意に低かった。

2. 診断時までの体重と身長の増加量

がんの種類別に、出生時と診断時の体重の平均値を図1に、身長の平均値を図2に示した。

出生時の体重に比して診断時の体重は、ALL、神経芽腫、網膜芽腫、横紋筋肉腫、で有意に増加し、神経膠腫および非神経膠腫、良性奇形種でも増加傾向がみられた。肝芽腫およびウイルムス腫瘍では逆に診断時に有意に減少していた。

出生時の身長に比して診断時の身長は、

ALL、神経芽腫、網膜芽腫、横紋筋肉腫で有意に増加し、非神経膠腫でも増加傾向がみられた。

D. 考察

出生時体重と小児がんとの関係については、体重増加との関係が白血病、ウイルムス腫瘍、神経芽腫、脳腫瘍で、過体重および低体重との関係が肝芽腫で報告されている。体重は奇形種などの巨大腫瘍によっても増加するので、今回は体重と身長を両方を調べた。

その結果、体重と身長の出生時の増加はALL、ウイルムス腫瘍、神経芽腫、非神経膠腫において確認された他、骨肉腫でも認められた。出生時に身長の有意的増加はないが体重でのみ有意に増加していたがんは悪性奇形種、良性奇形種、悪性リンパ腫で、奇形種においては腫瘍重量による体重増加が推察される。AMLでは出生時身長が有意に低いことも興味深く、合併奇形との関係も今後検討したい。

今回は更に出生後の成長状況と発がんととの関係を調べるため、出生時から診断時までの体重および身長の増加量を比較した結果、ALLと神経芽腫においては体重、身長ともに出生時のみならず生後の成長促進が示され、また、網膜芽腫、横紋筋肉腫では成長促進のみが体重と身長の両方で認められた。これらの腫瘍においては、生後の成長促進因子の関与の可能性が考えられる。尚、ウイルムス腫瘍と肝芽腫では生後の体重増加量の抑制がみられた。

今回は2歳までに発生した症例のみを解析対象としたが、年長発生例も含めて成長促進とがん発生について検討を進めたい。

E. 結論

出生体重の上昇と小児がん発生との関連性については今までも指摘されていたが、出生時の体重と身長および生後の体重と身長の増加量の解析により、ALLおよび神経芽腫の胎生期、出生後を通しての成長促進因子の関与の可能性が示唆された。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Yamamoto K, Ohta S, Ito E, Hayashi Y, Asami T, Mabuchi O, Higashigawa M, Tanimura M.

Marginal decrease in mortality and marked increase in incidence as a results of neuroblastoma screening at 6 months of age: Cohort study in 7 Prefectures in Japan.

J Clinical Oncol 20: 1209-1214, 2002.

Matsubasa T, Uchino T, Karashima S, Kondo Y, Maruyama K, 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.

谷村雅子

新生児悪性腫瘍の疫学。

周産期医学 32: 1068-1072, 2002.

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.

2. 学会発表

谷村雅子, 松井一郎

小児がん発生の年齢特異的臓器依存性。

人類遺伝学会第47回大会, 名古屋, 11月13日, 2002.

谷村雅子

低出生体重児の肝芽腫リスク—がん登録から原因究明研究へ—。

がん特定研究 公開・合同シンポジウム, 東京, 2月6日, 2002.

H. 知的財産権の出願・登録状況 なし

表1. 出生時の体重と身長標準化値の平均

| | 体重の標準化値 | | | 身長の標準化値 | | |
|---------|---------|------|------|---------|-------|------|
| | 例数 | 平均値 | 標準偏差 | 例数 | 平均値 | 標準偏差 |
| AML | 944 | 0.19 | 1.07 | 382 | -0.06 | 1.13 |
| ALL | 3733 | 0.31 | 0.98 | 1638 | 0.14 | 1.28 |
| 悪性リンパ腫 | 1179 | 0.30 | 1.02 | 489 | 0.09 | 1.02 |
| 神経膠腫系 | 505 | 0.17 | 0.92 | 220 | 0.07 | 1.04 |
| 非神経膠腫 | 272 | 0.40 | 0.97 | 113 | 0.29 | 1.03 |
| 神経芽腫 | 2847 | 0.28 | 0.96 | 1347 | 0.07 | 1.18 |
| 網膜芽腫 | 265 | 0.23 | 1.05 | 105 | 0.00 | 1.22 |
| ウィルムス腫瘍 | 471 | 0.31 | 1.09 | 194 | 0.12 | 1.17 |
| 肝芽腫 | 389 | 0.22 | 1.19 | 154 | 0.08 | 1.06 |
| 骨肉腫 | 143 | 0.31 | 1.01 | 70 | 0.33 | 1.11 |
| 横紋筋肉腫 | 252 | 0.36 | 1.01 | 110 | 0.01 | 1.41 |
| 悪性奇形腫 | 132 | 0.32 | 0.97 | 62 | -0.28 | 1.13 |
| 良性奇形腫 | 635 | 0.33 | 1.33 | 257 | -0.18 | 1.64 |
| 全小児がん | 14352 | 0.28 | 1.01 | 6257 | 0.07 | 1.20 |

図1. 出生体重と診断時体重

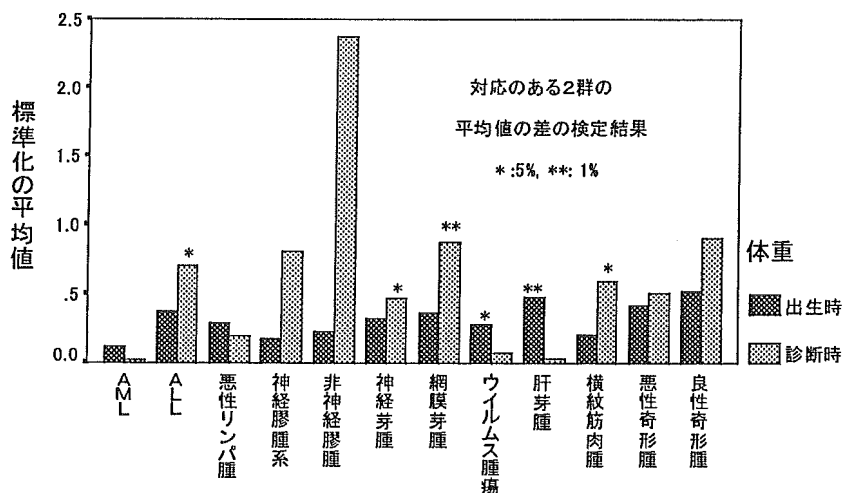


図2. 出生時身長と診断時身長

