

動を行い、その断片化を検出した。

4) 細胞を 70%エタノールで固定してプロピジウムイオダイドで核 DNA を染色し、FCM により核 DNA 含有量を測定して sub-diploid 細胞を検出した。

(倫理面への配慮)

ヒト検体の使用にあたっては、インフォームドコンセントを得たうえで 検査の際に同時に採取したものを使用し、匿名化を行っている。本研究に関しては、当該施設の倫理委員会の承認をすでに得ている。

C. 研究結果

1. GeneChip を用いた Prec-B ALL の発現遺伝子カタログの作成：GeneChip を用いて Prec-B ALL の発現遺伝子の網羅的解析を行い、他の病型のそれと比較することによって、同 ALL に特徴的に発現すると考えられる遺伝子群をカタログ化した。この結果、B-prec ALL により特徴的に発現する遺伝子として、刺激伝達関連分子 JAK1、SOCS2、vinexin、転写関連分子 oct-binding factor-1、FKHR、細胞周期関連分子 B-cell translocation gene-1、growth arrest-specific 1、等が選択された。さらに、小児白血病 20 症例に対する RT-PCR により、それぞれの分子の B-prec ALL における特異的な発現を確認した。また、B-prec ALL 由来の細胞株で同様の検討を行ったが、その結果は患児検体から得られた結果とは必ずしも一致せず、株化する過程で遺伝子発現様式が大きく変化する可能性が考えられた。

2. B 前駆細胞性腫瘍の新たな診断マーカーとしての CD179a/b の意義：CD179a(VpreB)/CD179b(λ5)は B 細胞抗原受容体(BCR) 関連分子である代替え軽鎖を構成し、B 前駆細胞に特異的に発現する分子であり、これまでの検討で Prec-B ALL の特異的マーカーとなり得る可能性が示されている。そこで、同 ALL と同じく B 前駆細胞に由来すると考えられている B-LBL における CD179a/b の発現について検討した。この結果、種々の CD179a/b に対する抗体のうち SL11 (抗

CD179b) と VpreB8 (抗 CD179a) がアセトン固定新鮮凍結切片を用いた免疫組織染色に用いることが可能であり、後者についてはパラフィン包埋切片に対しても使用可能であることが明らかとなった。そこで、B-LBL およびその鑑別の対象となるパーキット型リンパ腫、B 細胞性びまん性大細胞性リンパ腫、T 細胞性 LBL、ユーイング肉腫、顆粒球性肉腫、等の新鮮凍結切片に対する染色性を検討したところ、SL11 および VpreB8 とも B-LBL のみで陽性となり、また逆にほとんどの B-LBL 症例は SL11 および VpreB8 の少なくとも一方に陽性であった。

3. バイオフラボノイドによる Prec-B ALL のアポトーシス誘導：Annexin V の結合、sub-diploid 細胞の検出、ミトコンドリア膜透過性の変化、核 DNA の断片化等により検討したところ、Flavone 等の BFN が BV-173、HPB-NULL 等の Prec-B ALL 細胞株にアポトーシスを誘導することが明らかとなった。また、パーキットリンパ腫細胞株等でも同様なアポトーシス誘導を認めたが、赤白血病細胞株 K562 等ではこのアポトーシス誘導を認めなかった。また、骨髄幹細胞から分化誘導した未熟骨髄球系細胞および B 前駆細胞についても同様に検討したところ、いずれの細胞にも一定の割合でアポトーシスが誘導されることが明らかとなった。

D. 考察

1. GeneChip を用いた Prec-B ALL の発現遺伝子カタログの作成：GeneChip を用いた網羅的遺伝子発現解析が、特定白血病/リンパ腫の特異的発現遺伝子のスクリーニング方法として有用であることが確認された。今後、今回明らかになった特異的遺伝子の機能解析により、Prec-B ALL の新たな特性が明らかになっていくことが期待される。また、今後症例を増やし、予後を含む臨床データや遺伝子異常等に関する情報と組み合わせで解析していくことによって、治療予後や治療法選択の上で有用な遺伝子発現パターンが明らかになって行くことが期待される。

2. B前駆細胞性腫瘍の新たな診断マーカーとしてのCD179a/bの意義：今回の検討から、VpreB8 および SL11 を用いたCD179a/bの染色がPrec-B ALLに対するFCM解析のみならず、B-LBLの免疫組織化学的診断にも有用である可能性が示唆された。従来のB-LBLのマーカー診断はTdT、CD19、CD79a、CD20等の染色パターンを総合的に判断して行われていた。これに対して、CD179a/bはB前駆細胞にのみ発現する分子と考えられており、CD179a/bのいずれかが陽性であれば、その所見のみでB-LBLと診断し得る可能性が考えられる。また、今後CD179a/bをB前駆細胞性腫瘍の診断マーカーに加えることで、B前駆細胞に由来する腫瘍に対してよりの確な診断が可能になるものと期待される。

3. バイオフラボノイドによるPrec-B ALLのアポトーシス誘導：今回の検討から、BFNが一部の血液系細胞に対してアポトーシスを誘導することが明らかになった。この作用は、従来から言われているBFNの抗癌作用に関係するものと推定され、BFNのPrec-B ALLに対する治療薬としての可能性を示すものと考えられる。しかし一方で、BFNが持つTopoII抑制作用によってMLL遺伝子の再構成が誘導されるという報告があり、また今回の検討で、BFNが一部の正常血球に対してもアポトーシスを誘導する可能性が示唆されたことから、BFNによるアポトーシス誘導分子機構についてさらに詳細に検討し、Prec-B ALLに対する治療薬として有用性や安全性について検討する必要がある。

E. 結論

GeneChipを用いた網羅的遺伝子発現解析が、白血病/リンパ腫の特性解明に非常に有用な手段となり得ることが示された。今後、このような新たな研究技術を従来行われてきた白血病/リンパ腫研究の実験技術と有機的に組み合わせ、さらに臨床的研究によって得られた知見とも対比させていくことによって、白血病/リンパ腫の未知の特性が明らかになり、その発症

機構解明へと結びついていくことが期待される。また、B前駆細胞に由来する腫瘍の診断に関して、あらたな診断マーカーとしてのCD179a/bの有用性が示された。一方、Prec-B ALLの新たな特性として、BFNによるアポトーシス誘導が明らかとなった。今後さらに詳細に検討していくことによって、新たな治療法開発へ発展していくことが期待される。

F. 健康危険情報

該当事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 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* 170:252-260, 2003.
- 2) 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* 17:1164-1174, 2003.
- 3) 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* 121:94-96, 2003.
- 4) Furusawa T, Hosoe M, Ohkoshi K, Takahashi S, Kiyokawa N, Fujimoto J, Amemiya H, Suzuki S, Tokunaga T. Catalytic RAG1 mutants obstruct V(D)J recombination in vitro and in vivo. *Mol Immunol* 39:871-878, 2003.
- 5) 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. *J Interf Cytok Res* 23:101-111, 2003.
- 6) 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* 18:280-282, 2003.
- 7) Ohkoshi K, Takahashi S, Koyama S, Akagi S, Adachi N, Furusawa T, Fujimoto J, Izaike Y, and Tokunaga T. Caprine somatic cell nuclear transfer using in vivo matured oocytes collected by laparoscopic follicular aspiration. *Animal Science J* 74:

- 269-276, 2003.
- 8) Ohkoshi K, Takahashi S, Koyama S, Akagi S, Adachi N, Furusawa T, Fujimoto J, Takeda K, Kubo M, Izaike Y, Tokunaga T. In vitro oocyte culture and somatic cell nuclear transfer used to produce a live-born cloned goat. *Cloning Stem Cells* 5: 109-115, 2003.
 - 9) Mori T, Sugita K, Kimura K, Fuke T, Miura T, Kiyokawa N, Fujimoto J. Isolated central nervous system (CNS) relapse in a case of childhood systemic anaplastic large cell lymphoma without initial CNS involvement. *J Pediatr Hematol Oncol* 25:975-977, 2003.
 - 10) Kiyokawa N, Sekino T, Matsui T, Takenouchi H, Mimori K, Tang WR, Matsui J, Taguchi T, Katagiri YU, Okita H, Matsuo Y, Karasuyama H, Fujimoto J. Diagnostic importance of CD179a/b as markers of precursor B-cell lymphoblastic lymphoma. *Mod Pathol* (in press).
 - 11) Sekino T, Kiyokawa N, Taguchi T, Takenouchi H, Matsui J, Tang WR, Suzuki T, Nakajima H, Saito M, Ohmi K, Karagiri YU, Okita H, Nakao H, Takeda T, Fujimoto J. Characterization of a Shiga-toxin 1-resistant Stock of Vero cells. *Microbiol Immuno* (in press).
2. 学会発表
- 1) 片桐洋子, 竹野内寿美, 田口智子, 清河信敬, 藤本純一郎. 新たに樹立した単クローン性抗体 Raft1 を用いた GTP タンパク β 鎖の細胞内局在の検討. 第 92 回日本病理学会総会, 福岡, 4 月, 2003.
 - 2) 片桐洋子, 竹野内寿美, 田口智子, 清河信敬, 藤本純一郎. 抗ラフトクローン性抗体を用いた Six の結合による細胞内刺激伝達の解析. 第 76 回日本細菌学会総会, 熊本, 4 月, 2003.
 - 3) 竹野内寿美, 田口智子, 片桐洋子, 清河信敬, 奥田園爾, 藤本純一郎. Stx B サブユニットの結合による actin 細胞骨格の再構成の誘導. 第 76 回日本細菌学会総会, 熊本, 4 月, 2003.
 - 4) 清河信敬, 田口智子, 三森謙一, 藤本純一郎. 副刺激受容体による CD20 誘導性アポトーシスの調節. 第 65 回日本血液学会総会・第 45 回日本臨床血液学会総会, 大阪, 8 月, 2003.
 - 5) 田口智子, 竹野内寿美, 清河信敬, 藤本純一郎. ペロ毒素受容体 Gb3 は腎尿管上皮系細胞において細胞骨格の再構成にかかわる細胞内への刺激を伝達する. 第 38 回日本小児腎臓病学会学術集会, 東京, 7 月, 2003.
 - 6) Kiyokawa N, Takenouchi H, T. Taguchi, Y. Katagiri, Jfujimoto. Intecellular signaling events in target cells mediated by binding of Shiga toxin. The Awaji International Forum on Infection and Immunity, 淡路島, 8 月, 2003.
 - 7) 田口智子, 清河信敬, 藤本純一郎. B 細胞初期分化における IGF および IGF binding protein の役割. 第 65 回日本血液学会総会・第 45 回日本臨床血液学会総会, 大阪, 8 月, 2003.
 - 8) 田口智子, 清河信敬, 鈴木恭子, 中島敏治, 斎藤博久, 藤本純一郎. 網羅的遺伝子発現解析による小児 B 前駆細胞性急逝リンパ芽球性白血病の特性の検討. 第 62 回日本癌学会総会, 名古屋, 9 月, 2003.
 - 9) 吉原宏樹, 清河信敬, 田口智子, 竹野内寿美, 森 鉄也, 高橋孝雄, 大喜多肇, 藤本純一郎. Anaplastic large cell lymphoma における 5c11 抗原の発現に関する検討. 第 45 回日本小児血液学会, 石川, 10 月, 2003.
 - 10) 松井淳, 清河信敬, 田口智子, 藤本純一郎. バイオフラボノイドによる B 前駆細胞型 ALL 細胞のアポトーシス誘導. 第 45 回日本小児血液学会, 石川, 10 月, 2003.
 - 11) 鈴木恭子, 清河信敬, 田口智子, 塩沢裕介, 斎藤正博, 中島敏治, 森 鉄也, 斎藤博久, 藤本純一郎. GeneChip を用いた小児 B 前駆細胞性急性リンパ芽球性白血病の特性の検討. 第 45 回日本小児血液学会, 石川, 10 月, 2003.
 - 12) Katagiri YU, Takenouchi H, Taguchi T, Kiyokawa N, Fujimoto J. Involvement of G protein β chain in signaling pathways of Six binding to Gb3 in raft microdomains of human renal cell line. 第 76 回日本生化学会大会, 横浜, 10 月, 2003.
 - 13) 田口智子, 清河信敬, 藤本純一郎. IGF1 および IGF 結合蛋白の B 細胞初期分化に対する作用に関する検討. 第 33 回日本免疫学会総会, 福岡, 11 月, 2003.
 - 14) 大喜多肇, 梅澤明宏, 秦 順一, 藤本純一郎. Ewing/PNET 腫瘍群における EWS/Ets キメラ遺伝子とそのターゲットである HLH 転写因子 Id2. 第 9 回日本小児がん学会総会, 東京, 11 月 27-28 日, 2003.
 - 15) 藤本純一郎. ラフトを特異的に認識するモノクローナル抗体で見えてきたこと. マイクロドメインの機能と病態, 東京, 10 月 14 日, 2003.
- H. 知的所有権の取得状況
1. 特許取得
無し
 2. 実用新案登録
無し
 3. その他
無し

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍：該当無し

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
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	170	252-260	2003
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	17	1164-1174	2003
Mori T, Kiyokawa N, Shimada H, Miyauchi J, Fujimoto J.	Anaplastic large cell lymphoma in Japanese children: Retrospective analysis of 34 patients diagnosed at the National Research Institute for Child Health and Development.	Br J Hematol	121	94-96	2003
Furusawa T, Hosoe M, Ohkoshi K, Takahashi S, Kiyokawa N, Fujimoto J. , Amemiya H, Suzuki S, Tokunaga T.	Catalytic RAG1 mutants obstruct V(D)J recombination in vitro and in vivo.	Mol Immunol	39	871-878	2003
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.	J Interf Cytok Res	23	101-111	2003
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	18	280-282	2003
Mori T, Sugita K, Kimura K, Fuke T, Miura T, Kiyokawa N, Fujimoto J.	Isolated central nervous system (CNS) relapse in a case of childhood systemic anaplastic large cell lymphoma without initial CNS involvement.	J Pediatr Hematol Oncol	25	975-977	2003
Ohkoshi K, Takahashi S, Koyama S, Akagi S, Adachi N, Furusawa T, Fujimoto J. , Izaike Y, Tokunaga T.	Caprine somatic cell nuclear transfer using in vivo matured oocytes collected by laparoscopic follicular aspiration.	Animal Science J	74	269-276	2003
Ohkoshi K, Takahashi S, Koyama S, Akagi S, Adachi N, Furusawa T, Fujimoto J. , Takeda K, Kubo M, Izaike Y, Tokunaga T.	In vitro oocyte culture and somatic cell nuclear transfer used to produce a live-born cloned goat.	Cloning Stem Cells	5	109-115	2003
Kiyokawa N, Sekino T, Matsui T, Takenouchi H, Mimori K, Tang WR, Matsui J, Taguchi T, Katagiri YU, Okita H, Matsuo Y, Karasuyama H, Fujimoto J.	Diagnostic importance of CD179a/b as markers of precursor B-cell lymphoblastic lymphoma.	Mod Pathol	(in press)		
Sekino T, Kiyokawa N, Taguchi T, Takenouchi H, Matsui J, Tang WR, Suzuki T, Nakajima H, Saito M, Ohmi K, Karagiri YU, Okita H, Nakao H, Takeda T, Fujimoto J.	Characterization of a Shiga-toxin 1-resistant Stock of Vero cells.	Microbiol Immuno	(in press)		

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

昨年度に引き続き Gorlin 症候群の遺伝子解析を行い、13 例中 10 例で *PTCH* 遺伝子に変異が認められた。変異が認められた 10 例中 9 例がフレームシフトやスプライシングの異常によって短い蛋白質が生ずる変異であった。またヒト及びマウスにおいて 3 個の第一エクソンを選択的に用いるアイソフォーム (*PTCH_L*, *PTCH_M*, *PTCH_S*) を同定した。各アイソフォームはヒト組織毎に異なる発現プロフィールを示した。また *PTCH* 遺伝子自身が Shh シグナル伝達経路の標的遺伝子であることが知られているが、3 種のアイソフォームとも Shh の下流の転写因子 Gli で発現が誘導された。*PTCH* 遺伝子のプロモーターあるいは最初のイントロン領域には機能的な Gli 結合部位が存在することが明らかとなった。*PTCH_S* 蛋白質は他のアイソフォームに比較して不安定であることがわかった。

A. 研究目的

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。本疾患の責任遺伝子として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* が同定されている。しかしながら日本人を含む東洋人の Gorlin 症候群患者で精力的に遺伝子解析をした報告はまだないため、昨年度に引き続き *PTCH* の遺伝子解析を行うと共に、いくつか存在することが予想されている *PTCH* のアイソフォームの解析を行った。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。*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、直接塩基配列を解析した。アイソフォームの解析のため 5'-RACE を行って mRNA の 5' 端を解析し、選択的に使われる新たな第一エクソンを解析した。その結果明らかとなった 3 種のアイソフォームを特異的に増幅するようなプライマーを設計し、定量的 RT-PCR を行い、ヒト各臓器別の発現プロフィールを解析した。米国から供与された *PTCH* 発現ベ

クターを元に 3 種類のアイソフォームの発現ベクターを作成した。いくつかの細胞株にこれら *PTCH* の発現ベクターを導入し、Shh-*PTCH* の活性化の指標となる Gli 蛋白質結合配列をもつルシフェラーゼベクターを用いてレポータージーンアッセイを行うことで *PTCH* の機能解析を行った。また *PTCH* 遺伝子の上流領域をルシフェラーゼベクターに挿入し、ルシフェラーゼ活性が Gli 蛋白質の発現によって誘導されるかを解析した。

（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

Gorlin 症候群の症例数を増やすことができた。10/13 例で *PTCH* 遺伝子に変異が認められた。変異が認められた 10 例中 9 例がフレームシフトやスプライシングの異常によって短い蛋白質が生ずる変異であった。遺伝子変異の Hot Spot は認められなかった。ヒトとマウス *PTCH* 遺伝子で異なるエクソン 1 を用いる 3 種類のアイソフォーム (*PTCH_L*, *PTCH_M*, *PTCH_S*) を同定した。マウスにおけるアイソフォームの存在は本研究で始めて明らかにされたものである。各アイソフォームはヒト組織毎に異なる発現プロフィールを示した。*PTCH* 遺伝子自身が Shh シグナル伝達経路の標的遺伝子であることが知られているが、3 種のアイソフォーム全てにおいて Shh の下流の転写因子 Gli で発現が誘導された。上記アイソフォームのプロモーター領域と第一イントロンに機能的な

Gli 結合部位が存在することが明らかとなった。PTCH_LとPTCH_MはGli結合配列をもつレポーター遺伝子を同程度抑制したが、アミノ末端が短いPTCH_Sはそのコードする蛋白質が不安定なため抑制能は前2者比べ弱かった。

D. 考察

少なくとも日本人における Gorlin 症候群では PTCH 遺伝子に変異が認められる頻度が以前の欧米からの報告より多いことがより鮮明となった。それでも遺伝子変異の見出されない症例が存在することも事実である。これらの症例では PTCH の関連遺伝子 (PTCH-2, SMO 等) に変異のある可能性、今回明らかとなったプロモーター領域やイントロン領域の Gli 結合配列に変異のある可能性、PTCH 遺伝子が大きく欠損している可能性が考えられる。PTCH 遺伝子は個体発生と癌抑制の接点に位置する遺伝子であり、多様な機能が想像されるが、複数存在するアイソフォームがその理由の一部であると思われた。

E. 結論

日本人では大部分の Gorlin 症候群で PTCH 遺伝子に変異が認められる。変異の大部分はフレームシフトやスプライシングの異常によって短い蛋白質が生ずる変異である。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。ヒトとマウス PTCH 遺伝子には第一エクソンを選択的に用いる少なくとも3種類のアイソフォームが存在し、PTCH_Sがコードするアミノ末端が短い蛋白質は他の2種類に比べて不安定である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Fujii, K., Kohno, Y., Sugita, K., Nakamura, M., Moroi, Y., Urabe, K., Furue, M., Yamada, M., and Miyashita, T. 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.*, 121A: 65-68, 2003.

Miyahara, A., Okamura-Oho, Y., Miyashita, T., Hoshika, A., and Yamada, M. Genomic structure

and alternative splicing of the insulin receptor tyrosine kinase substrate of 53-kDa protein. *J. Hum. Genet.*, 48: 410-414, 2003.

Okamura-Oho, Y., Miyashita, T., Nagao, K., Shima, S., Ogata, Y., Katada, T., Nishina, H., and Yamada, M. Dentatorubral-pallidolucyian atrophy protein is phosphorylated by c-Jun NH₂-terminal kinase. *Hum. Mol. Genet.*, 12: 1535-1542, 2003.

Shikama, Y., Yamada, M., and Miyashita, T. Caspase-8 and caspase-10 activate NF- κ B through RIP, NIK and IKK α kinases. *Eur. J. Immunol.*, 33: 1998-2006, 2003.

Wu, Z., Shen, L., Inatomi, Y., U M, Miyashita, T., Toyama, K., and Miyauchi, J. 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. *Leuk. Res.*, 27: 1009-1018, 2003.

Yanagisawa, H., Miyashita, T., Nakano, Y., and Yamamoto, D. HSpin1, a transmembrane protein interacting with Bcl-2/Bcl-x_L, induces a caspase-independent autophagic cell death. *Cell Death Differ.*, 10: 798-807, 2003.

Nagao, K., Fujii, K., Yamada, M., and Miyashita, T. Identification of a novel polymorphism involving a CGG repeat in the PTCH gene and a genome-wide screening of CGG-containing genes. *J. Hum. Genet.*, 49: 97-101, 2004.

2. 学会発表

Yanagisawa, H., Miyashita, T., Yamamoto, D. HSpin1 interacts with Bcl-2 and Bcl-x_L, and induces autophagic cell death. Cold Spring Harbor Laboratory Meeting "Programmed Cell Death". 2003. 9.17-21, Cold Spring Harbor, USA

宮下俊之、藤井克則. (シンポジウム) 基底細胞母斑症候群 (NBCCS) の原因遺伝子PTCHの解析. 第9回家族性腫瘍研究会学術集会 2003.6.13-14 東京

藤井克則, 山田正夫, 宮下俊之. Nevoid basal cell carcinoma syndromeにおけるPTCH遺伝子変異の検討. 第62回日本癌学会総会. 2003.9.25-27, 名古屋

柳澤比呂子, 吉田瞳, 宮下俊之, 山元大輔. HSpin1の細胞死・オートファジー促進作用とsiRNAによるその抑制. 第26回日本分子生物学会年会. 2003.12.10-13, 神戸

禹麻美, 宮下俊之, 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アポト

ーシスへの関与の解析. 第26回日本分子生物学会年会. 2003.12.10-13, 神戸

長尾和右, 禹麻美, 宮下俊之, 山田正夫. ショートヘアピンRNAによるDRPLA蛋白質の発現抑制. 第26回日本分子生物学会年会. 2003.12.10-13, 神戸

於保祐子, 山崎麻由, 宮下俊之, 山田正夫. DRPLA蛋白質のリン酸化. 日本人類遺伝学会第48回大会. 2003. 10.21-24, 長崎

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

研究成果の刊行に関する一覧表

宮下俊之 (国立成育医療センター研究所)

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻名	ページ	出版年
Fujii K, Kohno Y, Sugita K, Nakamura M, Moroi Y, Urabe K, Furue M, Yamada M, Miyashita T.	Mutations in the human homologue of <i>Drosophila patched</i> in Japanese nevoid basal cell carcinoma syndrome patients.	Hum Mutat	21(4)	451-452	2003
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	121A(1)	65-68	2003
Miyahara A, Okamura-Oho Y, Miyashita T, Hoshika A, Yamada M.	Genomic structure and alternative splicing of the insulin receptor tyrosine kinase substrate of 53-kDa protein.	J Hum Genet	48(8)	410-414	2003
Okamura-Oho Y, Miyashita T, Nagao K, Shima S, Ogata Y, Katada T, Nishina H, Yamada M.	Dentatorubral-pallidoluysian atrophy protein is phosphorylated by c-Jun NH ₂ -terminal kinase.	Hum Mol Genet	12(13)	1535-1542	2003
Shikama Y, Yamada M, Miyashita T.	Caspase-8 and caspase-10 activate NF- κ B through RIP, NIK and IKK α kinases.	Eur J Immunol	33(7)	1998-2006	2003
Wu Z, Shen L, Inatomi Y, U M, Miyashita T, Toyama K, Miyauchi J.	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.	Leuk Res	27(11)	1009-1018	2003
Yanagisawa H, Miyashita T, Nakano Y, Yamamoto D.	HSpin1, a transmembrane protein interacting with Bcl-2/Bcl-xL, induces a caspase-independent autophagic cell death.	Cell Death Differ	10(7)	798-807	2003
Nagao K, Fujii K, Yamada M, Miyashita T.	Identification of a novel polymorphism involving a CGG repeat in the PTCH gene and a genome-wide screening of CGG-containing genes.	J Hum Genet	49(2)	97-101	2004

分担研究報告書

小児がんの遺伝的背景に関する研究

分担研究者 水谷修紀 東京医科歯科大学大学院発生病態学小児科学講座教授

研究要旨 ATM 遺伝子異常と小児がんの関連を解析する経過の中で ATM の下流に Artemis 分子が介在し、DNA 損傷によって ATM 依存性にリン酸化を受け、MRN 複合体中に取り込まれることを見いだした。Artemis の異常が放射線高感受性を伴うことから、ATM 異常と Artemis 異常は同様のメカニズムで放射線高感受性、発がん高感受性を誘導すると考えられた。

A. 研究目的

生体は環境からのストレスや、細胞分裂などの本来的な内的ストレスを処理するシステムを進化させ、高次の生命機能を発達させてきた。このような細胞の自己統御システムのかなめの分子として ATM ファミリーが存在することが知られている。ATM ファミリーには ATM, ATR, ATX, DNA-PK, mTOR などの PI-3 キナーゼドメインをもった分子が含まれる。これらは DNA 損傷、アミノ酸ストレス、mRNA 異常など各種のストレスを感知し、その修復に関与することが知られているが、その機能の全貌は明らかでない。

このような分子群の中でも、我々は ATM が DNA 損傷を感知し、修復するメカニズムの解明を目指している。ATM と同様に放射線高感受性に関わる分子として Artemis が知られており、今回 ATM と Artemis の関係を明らかにする目的で研究を行った。

B. 研究方法

正常、ATM 欠損、NBS 欠損、DNA-PK 欠損細胞を用いて種々のドースの放射線を照射

し、蛋白を抽出の後ゲル電気泳動にかけ、Artemis に対する抗体でウエスタンブロット解析を行った。また抗 NBS 抗体で免疫沈降し、沈降物を同様に電気泳動のうち抗 Artemis 抗体、抗 Mre11 抗体などでウエスタンブロット解析を行った。

（倫理面への配慮）

被験サンプルについては患者（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

Artemis に関する研究の結果 Artemis は DNA-PK によってリン酸化され、このようにリン酸化された Artemis は Ku、Ligase IV、XRCCIV などと共同で抗原受容体遺伝子の再構成を担っている事が示されている。興味深いことに Artemis は DNA-PK によってリン酸化を受けて活性化され、抗原受容体遺伝子の再構成に寄与するが、Artemis 欠損細胞は DNA-PK 欠損細胞と同様に高い放射線感受性を呈することから、病的 DNA 2 重鎖切断においても、DNA-PK が Artemis のリン酸化／活性化に関与す

ると考えられた。しかし、今回我々は種々の細胞において検索する中で、Artemis が正常細胞やDNA-PK欠損細胞ではリン酸化を受けるのに対し、ATM欠損細胞ではリン酸化を受けないことを発見した。また、さらに興味深い事にはこのようにDNA損傷に対しATM依存性にリン酸化を受けたArtemisはMre11/Rad50/Nbs1 (MRN)複合体中に含まれていることも発見した。

D. 考察

本研究によって、ATMのシグナル伝達においてArtemisが下流のリン酸化基質として、またリン酸化を受けたArtemisがMRN複合体に取り込まれることによってATMシグナル伝達に重要な役割を演じていることが判明した。

E. 結論

ArtemisはATM依存性に活性化され、DNA損傷修復に寄与すると考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Delia, D., Fontanella, E., Ferrario C., Chessa, L., and Mizutani, S. DNA damage-induced cell cycle-phase regulation of p53 and p21waf1 in normal and ATM-defective cells. *Oncogene*.2003; 22(49): 7866-9.

2. Imai K, Morio T, Zhu Y, Jin Y, Itoh S, Kajiwara M, Yata JI, Mizutani S, Ochs HD, Nonoyama S. Clinical course of patients with WASP gene mutations. *Blood*. 103(2): 456-64. 2004
3. Takagi M, Tsuchida R, Oguchi K, Shigeta T, Nakada S, Shimizu K, Ohki M, Delia D, Chessa L, Taya Y, Nakanishi M, Tsunematsu Y, Bessho F, Isoyama K, Hayashi Y, Kudo K, Okamura J, Mizutani S. Identification and characterization of polymorphic variations of the ataxia telangiectasia mutated (ATM) gene in childhood Hodgkin disease. *Blood*. 103(1): 283-90.2004
4. Yagi T, Morimoto A, Eguchi M, Hibi S, Sako M, Ishii E, Mizutani S, Imashuku S, Ohki M, Ichikawa H. Identification of a gene expression signature associated with pediatric AML prognosis. *Blood*. 2003 ; 102(5):1849-56.
5. Yamaguchi M, Yamamoto K, Miki T, Mizutani S, Miura O. T-cell prolymphocytic leukemia with der(11)t(1;11)(q21;q23) and ATM deficiency. *Cancer Genet Cytogenet*. 2003 ; 146(1) : 22-26.
6. Imai M, Mizutani S, Morio T. Coordinated regulation of

- the promoter and enhancer regions of human CD23 gene by signal through IL-4R and CD40, and the role of Ku70/80 in the enhancer activity. *J Med Dent Sci.* 2003 ; 50(2): 155-65.
7. Lin L, Nonoyama S, Oshiba A, Kabasawa Y, Mizutani S. TARC and MDC are produced by CD40 activated human B cells and are elevated in the sera of infantile atopic dermatitis patients. *J Med Dent Sci.* 2003 ; 50(1): 27-33.
8. Mizutani S. Recent advances in study of genetic environmental risk factors of childhood leukemia. *Acta Paediatr Tw.* 2003 ; 44 (3) : 130-134.
9. Oguchi K, Takagi M, Tsuchida R, Taya Y, Ito E, Isoyama K, Ishii E, Zannini L, Delia D, Mizutani S. Missense mutation and defective function of ATM in a childhood acute leukemia patient with MLL gene rearrangement. *Blood.* 2003 ; 101(9) : 3622-27.
10. Zhu Y, Nonoyama S, Morio T, Muramatsu M, Honjo T, Mizutani S. Type TwoHyper-IgM Syndrome caused by Mutation in Activation-Induced Cytidine Deaminase. *J Med Dent Sci.* 2003 ; 50 (1) : 41-46

RNA 干渉を応用した神経芽腫における N-myc 蛋白発現抑制に関する研究

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

神経芽腫における N-myc 遺伝子の増幅は、最もよく知られた予後不良因子であるが、N-myc 蛋白の機能に関しては未知の部分が多い。今回 N-myc 遺伝子に対する 21 mer の短鎖 RNA (small interfering RNA; siRNA) を作製して神経芽腫細胞株に導入し、RNA 干渉作用を介した N-myc 蛋白発現の抑制による N-myc 蛋白の機能解析を試みた。4 種類の siRNA を合成し、二本鎖にした後に、N-myc 遺伝子増幅を伴う神経芽腫細胞株 4 株 (TGW, RT-BM-1, CHP126, IMR32) にリポフェクション法による導入を試みた。ウェスタンブロット法にて siRNA 添加後の N-myc 蛋白量の発現変化を解析したが、明らかな N-myc 蛋白の減少は見られなかった。対照と比較して、細胞増殖速度や形態像にも明らかな違いは認められなかった。今回の実験では、siRNA 導入効率に問題がある可能性も考えられ、今後 siRNA 導入方法の改善を試みる予定である。

A. 研究目的

神経芽腫は乳児では自然退縮をきたすなど予後は良好であるが、N-myc 遺伝子の発現を伴う年長児症例においては未熟な組織像を示し、予後はきわめて不良である。N-myc 蛋白の機能に関しては未知の部分が多く、N-myc 遺伝子増幅による予後不良の原因も十分に解明されていない。

二本鎖 RNA による遺伝子発現阻害現象 (RNA 干渉) は従来から知られていたが、哺乳動物細胞においては 2001 年によく、短鎖 RNA (small interfering RNA; siRNA) を用いて同様の遺伝子発現抑制現象が起こることが確認された。この RNA 干渉は従来のアンチセンス・オリゴによ

る遺伝子発現抑制よりも強力な効果を発揮するが期待され、また生理的な遺伝子発現抑制機構によるため、より正確な遺伝子の機能解析が可能である。

本研究では、siRNA を用いて神経芽腫における N-myc 遺伝子の発現を阻害し、その増殖・分化に及ぼす影響の解析を試みるとともに、将来的に N-myc 蛋白を強力に阻害する方法を開発して神経芽腫の治療に応用することを目的として、以下の実験を行った。

B. 研究方法

N-myc 遺伝子の塩基配列に対応する 21 mer の siRNA (正方向と逆方向をそれぞれ 4 種類ずつ) 合成し、両鎖をアニールさ

せて二本鎖化した後に、リポフェクション法によってこの二本鎖 siRNA を培養細胞に導入した。siRNA 添加後 48 時間、72 時間後の細胞から lysate を作製し、ウェスタンブロット法によって、N-myc 蛋白の量の発現の変化を解析した。標的細胞として N-myc 遺伝子の増幅を伴った神経芽腫細胞株 4 株 (TGW, IMR32, RT-BM-1, CHPI26) を使用した。

C. 研究結果

siRNA 導入に用いた標的細胞株のいずれにおいても、siRNA 導入操作後 48 時間、72 時間後で N-myc 蛋白量の明らかな減少は確認できなかった。また細胞株の増殖速度、細胞形態は、対照と比較して明らかな変化は認められなかった。現在、RNA 導入効率の確認、他の siRNA 導入方法を試みるなど、手技的な問題点の解決を検討中である。

D. 考察

今回の実験では N-myc 遺伝子に対する siRNA 添加の明らかな効果が認められなかった。原因として細胞内への導入効率が不十分である可能性が考えられ、今後リポフェクション法以外にも、異なる導入方法を検討する必要がある。

N-myc 遺伝子に対する siRNA の効果に関する結果は、現在までに報告がみられず、今後 RNA 干渉を応用した遺伝子発現抑制により、神経芽腫の細胞増殖速度や形態像に及ぼす N-myc 蛋白の機能の詳細な機能解析が期待される。またこの蛋白の強力な発現阻害法が確立できれば、N-myc 遺伝子増幅を伴う予後不良な神経芽

腫患者の治療にも応用の可能性がある。

E. 結論

N-myc 遺伝子に対する siRNA を用い、神経芽腫における N-myc 蛋白阻害の影響の解析を試みた。siRNA 導入の導入効率の問題のためか、明らかな N-myc 蛋白の発現阻害作用は見られなかった。今後 siRNA の導入方法を改善する必要がある。

F. 健康危険情報

とくになし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Mori T, Kiyokawa N, Shimada H, Miyauchi J, Fujimoto J: Anaplastic large cell lymphoma in Japanese children: retrospective analysis of 34 patients diagnosed at the National Research Institute for Child Health and Development. Br. J. Haematol. 121:94-96, 2003
- 2) Wu Z, Shen L, Inatomi Y, U M, Miyashita T, Toyama K, Miyauchi J: Effects of TNF α on the growth and sensitivity to cytosinearabioside of blast progenitors in acute myelogenous leukemia with special reference to the role of NF- κ B. Leukemia Res. 27:1009-1018, 2003
- 3) Miyauchi J, Kiyotani C, Shioda Y, Kumagai M, Honna T, Matsuoka K, Masaki H, Aiba M, Hata J, Tsunematsu Y: Unusual chromaffin-cell differentiation of a neuroblastoma after chemotherapy

and radiotherapy: Report of an autopsy case with immunohistochemical evaluations. Am. J. Surg. Pathol. (2004, in press)

- 4) 古村 眞、本名俊郎、北野良博、鎌田弘樹、宮内 潤：頸部迷入胸腺2症例の経験. 日小外会誌 39:598-602, 2003

2. 学会発表

- 1) Iijima K, Fujimaru R, Inatomi J, Suzuki T, Matsuoka K, Miyauchi J, Tanaka K, Sasaki S: Focal segmental glomerulosclerosis in patients with complete deletion of one WT1 gene allele (WAGR syndrome). 36th Annual Meeting of American Society of Nephrology (2003) [J. Am. Soc. Nephrol. 14:112A, 2003]
- 2) 宮内 潤：神経芽腫の clonality 解析. 第 92 回日本病理学会総会 (2003 年 4 月 23-25 日、福岡) [日本病理学会誌 92:199, 2003]
- 3) 国仲伸夫、高松 潔、柿島裕樹、中村宏紀、左合治彦、北側道弘、松岡健太郎、宮内 潤、向井美和子：細胞診で子宮頸部悪性腺腫を疑った1例. 第 44 回日本臨床細胞学会総会 (2003 年 5 月 30 日～6 月 1 日、東京) [日本臨床細胞学会雑誌 42(Suppl.):230, 2003]
- 4) 中村宏紀、高松 潔、国仲伸夫、柿島裕樹、左合治彦、北側道弘、松岡健太郎、宮内 潤、向井美和子：電子カルテシステムにおける細胞診検査オンライン化の運用上の問題点. 第 42 回日本臨床細胞学会秋期大会 (2003 年 10 月 25 日～26 日、横浜) [日本臨床細胞学会雑誌 42(Suppl.):450, 2003]
- 5) 高場恵美、齋藤文護、瀧本雅文、太田秀一、宮内 潤：Transient abnormal myelopoiesis (TAM)が疑われた子宮内胎児死亡の1例. 第 23 回日本小児病理研究会 (2003 年 9 月 6 日、佐賀)、抄録集 p.5

H. 知的財産権の出願・登録状況
とくになし。

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：極低出生体重(1500g未満)では肝芽腫リスクが上昇するが、他の小児がんのリスクを調べるため、小児がん全国登録の1985～2001年診断例11,742例の資料を用いて、各小児がんの極低出生体重の比率を一般小児集団と比較した結果、肝芽腫のみで増加していた。出生体重1000g未満児の肝芽腫の相対危険度は1985-89年出生児で29.3から1995-1999年では63.6まで顕著に増加していた。出生体重が低いほど肝芽腫リスクが高いため、低出生体重の生存率の向上に伴って今後も増加が予想され、早期発見策を強化する必要がある。

A. 研究目的

小児外科医が出生体重1000g未満児の肝芽腫2例の経験に疑問をもったことを契機として、小児がん全国登録の1985～94年の資料を調べた結果、1986年頃から極低出生体重児の肝芽腫が急増し、これは低出生体重児の肝芽腫リスクの上昇と極低出生体重児の生存率の向上によることが判明した(Cancer Res 1997)。しかし、当時は年長期に至った極低出生体重児が少なく、年長期に多い小児がんと低出生体重との関係は解析不能であった。

今回は2001年診断例までの資料を用いて、極低出生体重児の年長期までの小児がんリスクを検討する。

B. 研究方法

小児がん全国登録の1985～2001年診断例11,742例の資料を用いた。極低出生体重の生存率がこの期間に急速に向上したので、出生年を考慮して解析した。

(倫理面への配慮)

本登録は「疫学の倫理指針」に則った登録体制を整備し、倫理審査を申請し、守秘に留意して行っている。本解析では、個人識別可能な情報は用いていない。

C. 結果および考察

1. がん別、極低出生体重児の比率

がんの種類別に極低出生体重児の比率を

日本の同時期に出生した生後1週間後の生存児中の比率と比較した(表1)。極低出生体重の生存率は1985年頃から上昇し始めたので、1985年以降に出生した児を対象とした。

①1985～2001年に出生し2001年迄に罹患した小児がん児中の極低出生体重児の比率は0.7%で、一般集団(生後1週)より高率であった。がん種類別には肝芽腫でのみ8.3%と顕著に高率で、他のがんでは有意差は認められなかった。

②がんの種類によって好発年齢が異なり、年長期に好発するがんでは好発年齢に至った極低出生体重児が少ないために低出生体重児の率が低い可能性も考えられるので、発生年齢層別にその年齢に至った子どもに限定して比較した。

肝芽腫以外では、いずれの年齢層でがんを発生した群も一般集団と較べて極低出生体重児の比率に有意差が認められなかった

③肝芽腫以外の肝腫瘍は発生率が低く少数例であるため、出生体重との関係を現段階では推定できないが、肝細胞癌、肝血管内皮腫が低出生体重児に発生しており(表2)、低出生体重との関係は否定できない。今後も注意して観察を続ける必要がある。

2. 低出生体重児の肝芽腫の相対危険度

①診断年別に肝芽腫の出生体重の分布をみると(図1)、より小さい出生体重児が増

加し、500g未満も出現している。

②出生体重2500g以上の群に対する相対危険度は2000～2499gで1.4、1500～1999gで2.5、1000～1499gで5.9、1000g未満で46.4と出生体重が低いほど高く、特に1000g未満で顕著に高かった(表3)。

③1000g未満児の出生年別の相対危険度は、1985～89年で29.3、1990～94年で46.7、1995～1999年で63.6と年々増加し、1000～1499g児でも同様に増加傾向が示された(表3)。

④上記3期間に、生後1週後における一般集団中の1000g未満児の比率も生存率も増加していた(表4、図2)。従って肝芽腫リスクをもつ子どもが増加していると考えられる。事実、出生体重1000g未満で肝芽腫に罹患した児の出生体重の分布を見ると、中央値も最小値も時代推移と共に低下していた。即ち、より小さく出生したために肝芽腫リスクがより高い子どもが増加し肝芽腫の相対危険度が年々上昇しているものと推察される。

3. 肝芽腫の発生年齢(図3)

一般集団では生後6ヶ月未満が最も多いが極低出生体重児では生後4ヶ月以降にずれている。一般集団の肝芽腫発生年齢分布では3歳までに8割が発生しているので、早期発見のための検査は3歳までは必要と考えられる。学齢期に達した極低出生体重児が少ないにもかかわらず、6歳と8歳の発生例があるので、今後も症例を蓄積して学齢期以降の危険性を把握する必要がある。

4. 出生体重別、肝芽腫の合併奇形

周産期因子に関する症例対照研究より、危険因子は酸素投与日数と推定され、また、新生児尿中の8-OHdG量の測定より出生後体重1500g以下の児は高値であるが、1500gを越えると低値に安定することから低出生体重児の未熟性が酸化ストレスによるDNA損傷と関係していると推察されている。

極低出生体重の肝芽腫リスクに酸素投与

が関係しているなら、低出生体重でなくても酸素投与を要する先天異常で肝芽腫が増加する可能性が予想されるので、出生体重別に肝芽腫の合併奇形を調べた(表5)。

いずれの出生体重群においても18トリソミの合併例があった。出生体重2500g以上ではBW症候群との関連性が確認された。低出生体重では奇形合併率は高いが、特定の奇形との合併はみられず、低出生体重との関連の可能性が高い種々の奇形が合併していた。

E. 結論

1. 極低出生体重でリスクが高まる小児がんは12歳まででは肝芽腫のみであった。

(思春期については今後も検討する必要がある。)

2. 低出生体重の肝芽腫リスクは出生体重が小さいほど高い。低出生体重児の生存率に伴って、今後も更なる増加が予想され、早期発見の強化が必要である。

3. 早期発見のための検査は少なくとも3歳までは必要と考えられるが、その後の危険性については現段階では不明である。

F. 健康危険情報

極低出生体重児における肝芽腫のリスクは今後も増加する可能性が高い。早期発見のための検査が重要である。

G. 研究発表

1. 論文発表

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
—2000年度成績。

小児がん 40: 102-126, 2003.

2. 学会発表

谷村雅子、河 敬世、林 富、松井一郎、
池田 均

極低出生体重児の生存率の向上と肝芽腫
リスクの上昇. 第62回日本癌学会, 2003.

H. 知的財産権の出願・登録状況 なし

表1. がん種別、発生年齢別、極低出生体重児の比率

	0-14歳発生 1985-2001年出生	0-2歳 '85-'98	3-5歳 '85-'95	6-8歳 '85-'92	9-11歳 '85-'89	12-14歳 '85-'86
ALL	0.30%(2565名中)	0.47%	0.12%	0.56%	0.66%	0.00
AML	0.32 (924)	0.44	0.63	0.00	0.00	0.00
悪性リンパ腫	0.49 (614)	0.00	0.55	0.00	1.23	0.00
神経膠腫	0.00 (383)	0.00	0.00	0.00	0.00	-
非神経膠腫	1.15 (174)	1.32	0.00	0.00	5.56	-
神経芽腫	0.47 (2995)	0.56	0.00	0.00	-	-
網膜芽腫	0.51 (585)	0.61	0.00	-	-	-
ウイルス腫瘍	0.22 (460)	0.32	0.00	0.00	-	-
肝芽腫	8.27 (387)***	8.33***	5.13**	14.29***	-	-
骨腫瘍	0.00 (123)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
男性性器腫瘍	0.56 (178)	0.71	0.00	-	-	-
女性性器腫瘍	0.00 (118)	0.00	0.00	0.00	0.00	-
軟部組織腫瘍	0.78 (258)	1.59	0.00	0.00	0.00	-
悪性奇形種	0.72 (138)	0.85	0.00	-	0.00	-
良性奇形種	0.66 (607)	0.79	0.00	0.00	0.00	-
その他	0.65 (1233)	0.61	0.53	0.90	0.00	0.00
全小児がん	0.70 (11742)**	0.90***	0.28	0.51	0.56	0.00
同年出生の一般集団						
生後一週	0.50(21095332)	0.48	0.46	0.43	0.40	0.38

***: p < 0.001, **: p < 0.01, *: p < 0.05 - : 発生数5名以下のため比較せず

表2. 肝芽腫以外の肝腫瘍の出生体重

(1985~2001年診断例)

	計	2500g未満	<1000g	1000- 1499g	1500- 1999g	2000- 2499g
肝細胞癌	47	6 12.8%	1		2	3
肝未分化肉腫	21	2 9.5%				2
肝血管内皮腫	10	3 30.0%			1	2
詳細不明肝腫瘍	7	1 14.3%	1			
その他の肝腫瘍	12	0 0.0%				
計	97	12 12.3%	2		3	7
2001年全出生	1170662	102881	8.8%			

表3. 低出生体重児の肝芽腫の相対危険度
(1985~2001年出生児の2001年までの罹患状況より)

出生体重	(A) 全出生数	(B) 肝芽腫 登録数	(B/A) ¹ 肝芽腫 発生率(/10万)	相対危険度	出生年別相対危険度		
					'85-89生	'90-94	'95-99
計	21095332	387	1.83	—	—	—	—
< 1000 g	32983	25	75.80	46.41***	29.29***	46.70***	63.60***
1000~1499	72465	7	9.66	5.91***	2.65	5.39	11.50***
1500~1999	194540	8	4.11	2.52*	2.97	2.05	3.18
2000~2499	1142586	26	2.28	1.39	1.25	1.93	1.22
2500 g ≤	19652758	321	1.63	1.00	1.00	1.00	1.00

: B/A は 肝芽腫発生率 × 登録率 を表す

表4. 出生体重1000g未満児の肝芽腫リスク上昇の理由

出生年	肝芽腫 患者数	相対危険度	出生体重		一般集団 出生体重<1000g	
			中央値	最小値	生後1週 比率	生存率
1985~1989	4	29.29	824 g	603 g	0.11%	66.87%
1990~1994	8	46.70	754 g	560 g	0.16%	77.73%
1995~1999	11	63.60	726 g	397 g	0.19%	82.70%

表5. 出生体重別、肝芽腫の合併奇形

	1500g未満出生	1500-2499g	2500g以上
肝芽腫	31	36	371
奇形合併	15 48.4%	10 27.8%	28 7.5%
症候群	18トリソミ 2	18トリソミ 1 BW 1 PW 1 HS、腎欠損 1	18トリソミ 1 Down症候群 1 BW(半側肥大) 8 NF、口蓋裂、肥厚性幽門狭窄 1
奇形	MR、CP 2 MR 4 頭部血管腫 1 水頭症 1 心奇形 2 尿道下裂 1 難聴、ソケイヘルニア 1 ソケイヘルニア 1	MR、CP、低酸素性虚血性脳症 1 MR 1 CP 1 MR 1 未熟児網膜症、難聴、尿道下裂 1 心奇形 1 停留睾丸 1	MR 2 MR、ソケイヘルニア 1 ヘル麻痺 1 先天性気管狭窄 1 心、双角子宮、多脾症 1 MR、耳介形成不全、高アーチ型口蓋 母指低位付着 1 口蓋裂 3 幽門狭窄 1 鎖肛 1 ソケイヘルニア 1 右股関節臼蓋形成不全 1 短指症 1 左多指症 1 Byler病 1

図1. 診断年別、肝芽腫の出生体重

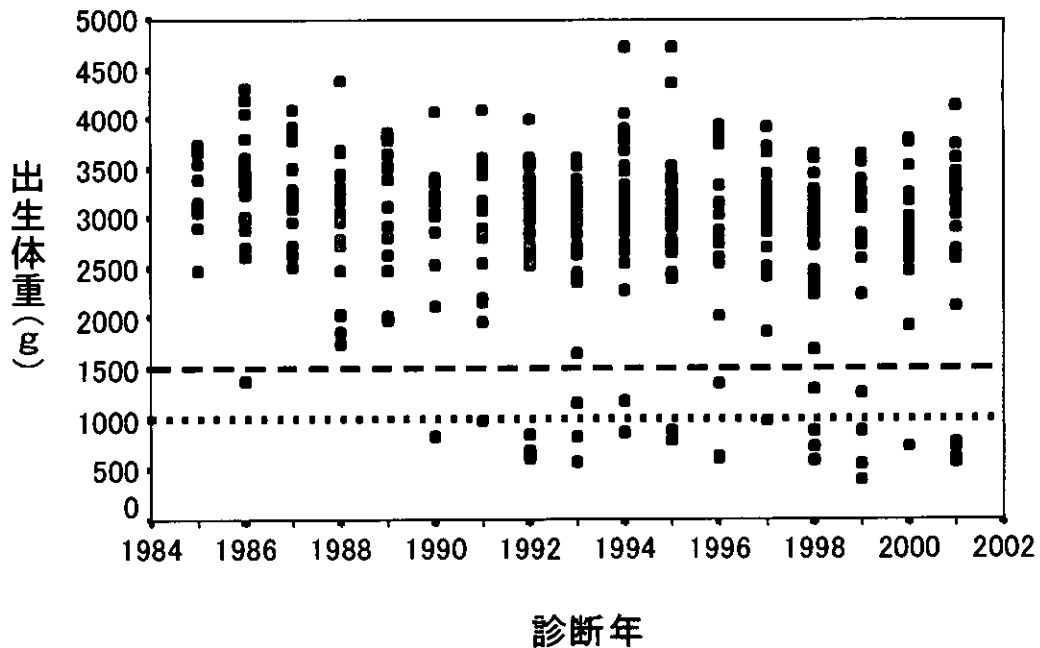


図2. 早期新生児生存率の年次推移

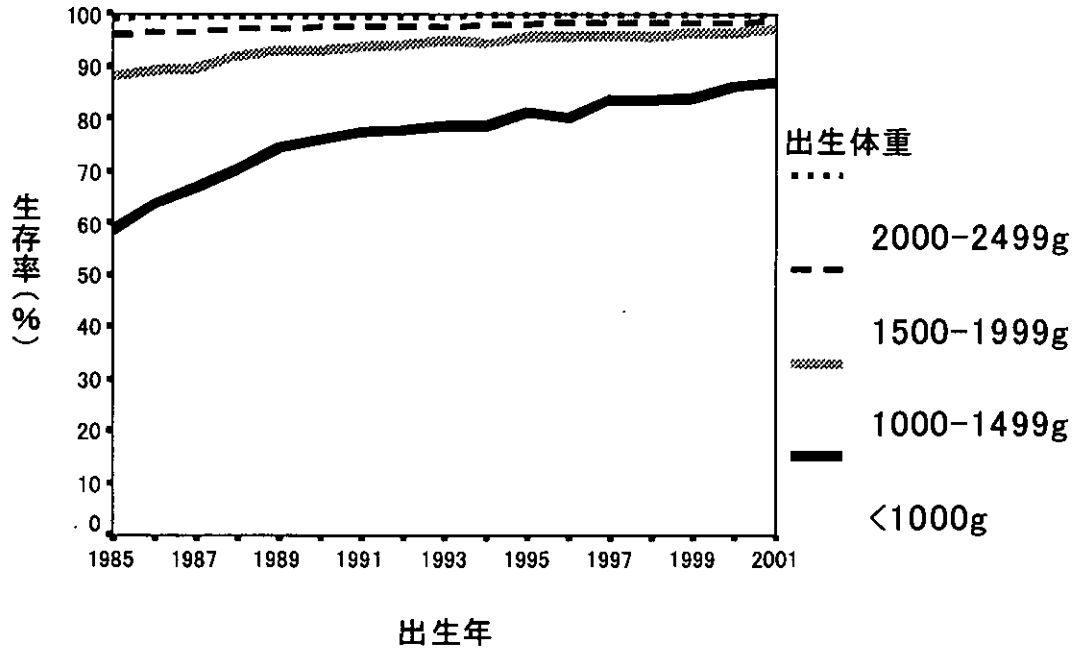


図3. 肝芽腫発生年齢と出生体重

