

古村南夫、中山樹一郎	福岡大学医学部皮膚科
三宅吉博	福岡大学医学部公衆衛生学
高木廣文	新潟大学医学部
金城芳秀	沖縄県立看護大学
李廷秀	東京大学健康増進科学
柳 修平	東京女子医大学
河 正子	東京大学医学部ターミナルケア学

A. 研究目的

個人情報保護は、疫学研究を実施する上では重要な要件である。個人情報保護に関する流れは、1980年のOECD理事会勧告に始まり、わが国では1988年「行政機関の保有する電子計算機処理に係る個人情報の保護に関する法律」が公布された。その後、2003年には「個人情報の保護に関する法律」が成立した(2005年4月完全実施)。そこでは、個人情報提供に関し本人の同意が求められ、適用除外5主体に関しては、ある程度の自由はあるものの、学術研究活動には多くの制約がつくこととなった。

また、研究倫理指針として、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」(平成13年3月29日、文部科学省、厚生労働省、経済産業省)、「疫学研究に関する倫理指針」(平成14年6月17日、文部科学省、厚生労働省)、「臨床研究に関する倫理指針」(平成15年7月30日、厚生労働省)なども公表され、医学研究実施の指針となった。

特定疾患の疫学に関する研究班では、臨床研究班と共同で、大腿骨頭壊死、神経線維腫症1(NF1)に関し、(定点)モニタリング調査を実施している¹⁾⁻³⁰⁾。定点モニタリングは、3つの主目的をもった疫学研究を進める際の方法論である。特に、

NF1の定点モニタリングは過去3回行われており(1997-2000年)、その間、NF1も治療対象研究疾患(1998年)となり、患者の最近の実態把握は急務とされ、2003年には第4回が実施された。このような状況の中、「個人情報保護と定点モニタリング研究」に関し、研究の進め方も含め検討したので、その経過を踏まえ、結果の概略を報告する。

B. 研究方法

実際の疫学研究としては、前述のNF1(神経線維腫症1)の定点モニタリング調査を対象とした。まず、福岡大学(神経皮膚症候群調査研究班班長所属)、順天堂大学(特定疾患の疫学に関する研究班班長所属)に研究計画書を提出し、倫理審査委員会の審査を受けた。また、個人情報保護基本法に関する資料も収集した。

実際には2003年4月に、モニタリング研究を開始できるよう、まず、福岡大学に申請を行ったが、特殊事情により承認が予定より大分遅れた。また、モニタリング調査の場合、過去数回研究を重ねているので、そのデータとのリンケージを考えると、対象者の氏名、生年月日など個人情報が必要となる。これらを考慮し、倫理委員会に申請した。調査方法は、過去3回のモニタリング調査に準拠している。督促は2004年5月初旬に実施した。

なお、解析はsasv8.2を用い、本文、表中のpは限界確率を示し、f-pはFisherの正確検定での確率を示す。

C. 研究結果

対象病院の倫理委員会の指示による調査拒否が3件あった。2004年4月末まで(督促前)では、

返送機関 13、患者数は 128 名であった。2000 年調査では返送機関 34、患者数は 358 名であった。一方、督促後では、返送機関 12、患者数は 16 名であった。同様期間の 2000 年調査では返送機関 12、患者数は 98 名であった。このように、2000 年調査に比べ、督促前では返送機関で 35.8%、患者数で 38.2%に減少しているが、督促後では返送機関では同数、患者数で 16.2%に減少しており、特に、督促後の報告患者数の減少が目立つ (表 1)。

また、表 2、表 3 に見るように診療科別返送医療機関数、回収率でも過去のモニタリング調査では 46--55 の診療科から返送があった (回収率 64.8--76.4%) が、今回は 26 と半減し、回収率も 36.2%になっている。

2004 年 11 月 10 日現在、144 名の患者個人情報収集された。

性別では男は 64 名 (44.8%)、女は 79 名 (55.2%) であった。

調査時年齢は男 (n=63) 36.8±20.3 歳、女 (n=78) 35.3±20.2 歳 (p=0.6631) であった。過去の 4 調査 (1985 年全国調査、1994 年全国調査、1997 年モニタリング調査、2000 年モニタリング調査、表 4) と比べ調査時年齢は高くなっている。

発症年齢は男 (n=51) 5.7±11.5 歳、女 (n=59) 1.9±6.2 歳 (p=0.0602) であった。これも過去の 4 調査 (1985 年全国調査、1994 年全国調査、1997 年モニタリング調査、2000 年モニタリング調査、表 5) と比べると、高年齢化しており、とくに、モニタリング調査 (1997、2000 年) と比較して、高い年齢となっている。

初診年齢は男 (n=50) 23.0±16.1 歳、女 (n=60) 21.5±14.6 歳 (p=0.6048) で、診断年齢は男 (n=49) 14.9±12.9 歳、女 (n=59) 15.0±12.0 歳 (p=0.9729) であった。この診断年齢は過去の 4 調

査 (1985 年全国調査、1994 年全国調査、1997 年モニタリング調査、2000 年モニタリング調査、表 6) と比べると、若年齢化しており、とくに、モニタリング調査 (1997 年) やそれ以前の全国調査と比較して、低い年齢となっている。

虹彩確認年齢は男 (n=14) 32.5±19.6 歳、女 (n=15) 29.7±17.5 歳 (p=0.6838) で、入院回数は男 (n=38) 2.8±2.0 回、女 (n=42) 1.7±2.1 回 (p=0.4420) であった。

家族歴 (n=142) はなし 95 名 (66.9%)、あり 47 名 (33.1%) であった。

結婚歴 (n=144) は未婚 104 名 (72.2%)、既婚 36 名 (25.0%)、死別 1 名 (0.7%)、離別 3 名 (2.1%) であった。

子供 (n=141) はなし 117 名 (83.0%)、あり 24 名 (17.0%) であった。

初診医療機関 (n=137) は貴施設 41 名 (29.9%)、他施設 96 名 (70.1%) であった。

初診時主訴 (n=136) は皮膚症状 93 名 (68.4%)、皮膚症状+整形外科的症狀 24 名 (17.7%)、整形外科的症狀 5 名 (3.7%)、皮膚症状+中枢神経症状 5 名 (3.7%) などであった。

診断根拠 (n=144) は多発神経線維腫+cafe au lait 斑 90 名 (62.5%)、cafe au lait 斑 19 名 (13.1%)、多発神経線維腫+cafe au lait 斑+両親の病状 14 名 (9.7%) などであった。

診断 (n=141) は確実 127 名 (90.1%)、小児色素斑 13 名 (9.2%)、疑い 1 名 (0.7%) であった。これも過去の 4 調査 (1985 年全国調査、1994 年全国調査、1997 年モニタリング調査、2000 年モニタリング調査、表 7) と比べるとパターンが異なっており、確実例の割合が増加している。

診断医療機関 (n=123) は貴施設 55 名 (44.7%)、他施設 68 名 (55.3%) であった。

治療費の公費負担の有無(n=137)は なし 75 名(54.7%)、あり 62名(45.3%)であった。

治療費の公費負担が特定疾患治療研究費か(n=48)は 特定疾患研究費 47 名(97.9%)、その他 1 名(2.1%)であった。

受療状況(最近1年間)(n=141)は 主に入院 1 名(0.7%)、主に通院 122 名(86.5%)、入院と通院 16 名(11.4%)、その他 2 名(1.4%)であった。これも過去の4調査(1985年全国調査、1994年全国調査、1997年モニタリング調査、2000年モニタリング調査、表8)と比べるとパターンが異なっており、主に入院の減少、主に通院の増加などが見られている。

日常生活(最近1年間)(n=143)は 社会生活をしている 135 名(94.1%)、社会生活が困難 8 名(5.6%)であった。

経過(最近1年間)(n=116)は 軽快 6 名(5.2%)、不変 61 名(52.6%)、徐々に悪化 49 名(42.2%)であった。これも過去の4調査(1985年全国調査、1994年全国調査、1997年モニタリング調査、2000年モニタリング調査、表9)と比べるとパターンが異なっており、徐々に悪化例の割合が増加している。

重症度分類(n=111)は 1. 日常社会生活にほとんど問題ない 17 名(15.2%)、2. 日常社会生活に問題あるも軽度 23 名(20.7%)、3. 日常生活に問題はないが、社会生活上の問題が大きい 12 名(10.9%)、4. 日常生活に軽度の問題があり、社会生活上の問題が大きい 18 名(16.2%)、5. 身体的異常が高度で、日常生活の支障が大きい 41 名(36.9%)であった。

臨床症状の皮膚病変に関しては、カフェオレ斑(n=143)は なし 3 名(2.1%)、5 個以下 15 名(10.5%)、10 個以下 63 名(44.1%)、11 個以上 62 名(43.4%)であった。これも過去の4調査(1985年全国調査、1994年全国調査、1997年モニタリ

ング調査、2000年モニタリング調査、表10)と比べるとパターンが異なっており、過去2回のモニタリング調査に比べ、10 個以下は増加し、11 個以上が減少している。

小レックリングハウゼン斑(n=131)は なし 10 名(7.6%)、少数 61 名(46.6%)、多数 60 名(45.8%)であった。

カフェオレ斑、小レックリングハウゼン斑が整容上問題か(n=103)は なし 46 名(44.7%)、あり 57 名(55.3%)であった。

皮膚の神経線維腫：全身(n=140)は なし 18 名(12.9%)、少数 51 名(36.4%)、多数-無数 71 名(50.7%)であった。

皮膚の神経線維腫：顔面(n=139)は なし 49 名(35.3%)、少数 57 名(41.0%)、多数-無数 33 名(23.7%)であった。

皮膚の神経線維腫が整容上問題か(n=98)は なし 17 名(17.4%)、小さい 19 名(19.4%)、中等度 19 名(19.4%)、大きい 43 名(43.9%)であった。

皮膚の瀰漫性神経線維腫(n=132)は なし 84 名(63.6%)、あり 48 名(36.4%)であった。

皮膚の瀰漫性神経線維腫による機能障害(n=46)は なし 34 名(73.9%)、あり 12 名(26.1%)であった。

皮膚の瀰漫性神経線維腫による腫瘍内出血(n=44)は なし 39 名(88.6%)、あり 5 名(11.4%)であった。

悪性神経鞘腫(n=126)は なし 123 名(97.6%)、あり 3 名(2.4%)であった。

中枢神経病変の痙攣(n=140)は なし 129 名(92.1%)、あり 11 名(7.9%)であった。

知能低下(n=142)は なし 122 名(85.9%)、軽度 13 名(9.2%)、中等度 4 名(2.8%)、高度 3 名(2.1%)であった。

脳波(n=98)は正常型21名(63.64%)、異常12名(36.4%)であった。過去の調査(1985年全国調査、1994年全国調査、1997年モニタリング調査、2000年モニタリング調査、表11)に比べ、丁度2回のモニタリング調査の中間値を示している。

CTまたはMRI検査(n=126)は異常なし69名(54.8%)、異常22名(17.5%)、検査せず35名(27.8%)であった。

脳または脊髄腫瘍(n=101)はなし86名(85.2%)、あり15名(14.9%)であった。

整形外科的病変の長管骨変形(n=131)はなし114名(87.0%)、あり17名(13.0%)であった。

脊柱変形(n=128)はなし88名(68.8%)、あり40名(31.3%)であった。

脊髄腫瘍(n=112)はなし106名(94.6%)、あり6名(5.4%)であった。

神経症状(n=128)はなし118名(92.2%)、あり10名(7.8%)であった。

眼病変の虹彩小結節(n=112)はなし50名(44.6%)、あり62名(55.4%)であった。

D. 考察

今回のモニタリング調査は、本疾患が治療対象疾患となったこともあり、重症度分類の項目が追加され調査された。4.日常生活に軽度の問題があり、社会生活上の問題が大きい18名(16.2%)、5.身体的異常が高度で、日常生活の支障が大きい41名(36.9%)で、50%以上を占めており、かなり重症患者が対象となっていると考えられる。平成14年末で、受給患者は1800名であるので、実際、全患者の中でも重症の患者が受給者となっているのであろう。治療費の公費負担の有無(n=137)はなし75名(54.7%)、あり62名(45.3%)であり、そのう

ち、治療費の公費負担が特定疾患治療研究費か(n=48)は特定疾患研究費47名(97.9%)であった事からも推察できよう。

今回の調査研究で見られるこれら疫学像の分布は多くの場合、今までのモニタリング研究とは異なる部分が見られた。

また、担当医との連絡の際に気づくことは、忘れていた、気にしていなかったなども含め、まだまだ、個人情報保護への理解、認識が担当医側に希薄であることであった。また、疫学倫理指針ではインフォームドコンセントをとる方法を介入研究と観察研究、資料採取の侵襲性の有無等にわけ詳述し、一方、その簡略化、免除に関しても細則に定めている。2004年1月厚生労働省健康局長は、ある保健事業に関しては、個人情報保護法第16条第3項第3号及び第23条第1項第3号に規定する「利用目的による制限」及び「第3者提供の制限」の適用除外の事例に該当するとする通知を出した(健発第0108003号)。NF1も詳細で綿密な研究、事業を進めるには、同様の処置が必要であろう。

E. 結論

個人情報保護に関する認識は、定点モニタリングを担当する機関、医師の側では、我々の予測よりも低く、提供情報も少ない事が判明した。また、督促の方法、その後の資料収集法に検討が必要であること、収集される患者データは過去のインフォームドコンセントを必要としない場合と違う可能性も判明した。担当医への個人情報保護の啓蒙活動の普及、インフォームドコンセントの免除規定などを十分活用することを考えねば、大規模で、患者を継続的に追跡しようとする疫学研究はかな

り難しくなるであろう。

F. 研究発表

なし

文献

- 1) 橋本修二、中村好一、永井正規、柳川洋、玉腰暁子、川村孝、大野良之。難病患者のモニタリングシステムに関する基礎的検討。厚生省特定疾患難病の疫学研究班平成5年度研究業績 24-31, 1994
- 2) 橋本修二、中村好一、永井正規、柳川洋、玉腰暁子、川村孝、大野良之。難病患者のモニタリングシステムに関する基礎的検討 受療患者のモニタ施設割合の年次変化」。厚生省特定疾患難病の疫学研究班平成7年度研究業績 94-100, 1996
- 3) 橋本修二、川村孝、大野良之、縣俊彦、大塚藤男。神経線維腫症1の定点モニタリング研究計画。厚生省特定疾患難病の疫学研究班平成8年度研究業績 41-3, 1997
- 4) Poyhonen M, Kytola S, Leisti J. Epidemiology of neurofibromatosis type 1 (NF1) in northern Finland. *J Med Genet.* 2000 Aug;37(8):632-6.
- 5) Friedman JM. Epidemiology of neurofibromatosis type 1. *Am J Med Genet.* 1999 Mar 26;89(1):1-6.
- 6) 新村真人。Recklinghausen 病、日本臨床:50:増刊:168-175, 1992
- 7) 縣俊彦、西村理明、高木廣文、稲葉裕。レックリングハウゼン病と結節性硬化症の疫学研究の現状。厚生省特定疾患神経皮膚症候群調査研究班平成5年度研究業績 5-12, 1994
- 8) 縣俊彦、西村理明、門倉真人、新村真人、本田まり子、舟崎裕記、大塚藤男、中内洋一、吉田純、玉腰暁子、川村孝、大野良之、高木廣文、稲葉裕。神経皮膚症候群全国疫学調査・第1次調査中間報告。厚生省特定疾患神経皮膚症候群調査研究班平成6年度研究業績 5-9, 1995
- 9) 縣俊彦、西村理明、門倉真人、新村真人、本田まり子、舟崎裕記、大塚藤男、中内洋一、吉田純、玉腰暁子、川村孝、大野良之、高木廣文、稲葉裕。神経皮膚症候群の家系内発症に関する研究。厚生省特定疾患神経皮膚症候群調査研究班平成7年度研究業績 5-10, 1996
- 10) 縣俊彦、西村理明、浅尾啓子、清水英佑、新村真人、大塚藤男、玉腰暁子、川村孝、大野良之、高木廣文、稲葉裕。非回答集団を考慮したNF1の有病率推計。厚生省特定疾患神経皮膚症候群調査研究班平成8年度研究業績 5-9, 1997
- 11) 縣俊彦、西村理明、浅尾啓子、清水英佑、新村真人、大塚藤男、玉腰暁子、川村孝、大野良之、高木廣文、稲葉裕。NF1患者のQOLと臨床症状に関する基礎的研究。厚生省特定疾患神経皮膚症候群調査研究班平成8年度研究業績 10-14, 1997
- 12) 縣俊彦、西村理明、浅尾啓子、新村真人、大塚藤男、高木廣文、稲葉裕、玉腰暁子、川村孝、大野良之、柳修平。linear logistic regression modelにおけるsmoothing効果の検討。第16回SASユザ会研究論文集 129-136, 1997.
- 13) 縣俊彦。神経線維腫症1(NF1)の遺伝形式・家族歴に関する研究。医学と生物

- 学. 135:1:17-21, 1997
- 14) 縣俊彦. NF 1 (神経線維腫症 1、レックリングハウゼン病) 患者の疫学特性と QOL に関する研究. 医学と生物学. 135:3:93-97, 1997
 - 15) 新村真人: 神経皮膚症候群、からだの科学:190:210-211, 1996
 - 16) 川戸美由紀、橋本修二、川村孝、大野良之、縣俊彦、大塚藤男「神経線維腫症 1 の定点モニタリング 1997・1998 調査成績」厚生省特定疾患難病の疫学研究班平成 10 年度研究業績 119-126, 1999
 - 17) 縣俊彦、清水英佑、大塚藤男、大野良之、橋本修二、高木廣文、稲葉裕 「NF 1 の定点モニタリング重複把握者の特性」厚生省特定疾患神経皮膚症候群調査研究班平成 11 年度研究業績 2000、5-9
 - 18) 縣俊彦、清水英佑、橋本修二、柳修平、稲葉裕、高木廣文、大塚藤男「NF1 モニタリング調査の解析」厚生省特定疾患の疫学に関する研究班平成 11 年度研究業績 149-57, 2000
 - 19) 田中隆、山本博、広田良夫、竹下節子. 「特発性大腿骨頭壊死症定点モニタリング経過報告」厚生省特定疾患の疫学に関する研究班平成 11 年度研究業績 218-225, 2000
 - 20) 縣俊彦、豊島裕子、清水英佑、高木廣文、早川東作、稲葉裕、柳修平、大塚藤男. NF1 定点モニタリング 1994-2000. 厚生省特定疾患の疫学に関する研究班平成 12 年度研究業績 2001:213-7.
 - 21) 縣俊彦、豊島裕子、清水英佑、高木廣文、早川東作、稲葉裕、柳修平、大塚藤男. NF1 定点モニタリングの継続性と問題点. 厚生省特定疾患神経皮膚症候群調査研究班平成 12 年度研究業績. 2001:5-7.
 - 22) 田中隆、山本博、広田良夫、竹下節子. 特発性大腿骨頭壊死症定点モニタリングについて. 厚生省特定疾患の疫学に関する研究班平成 12 年度研究業績 156-162, 2001
 - 23) 縣俊彦、豊島裕子、清水英佑、高木廣文、早川東作、稲葉裕、柳修平、大塚藤男. NF1 モニタリングでの継続把握者の特徴. 厚生労働省特定疾患の疫学に関する研究班平成 13 年度研究業績 2002:213-7.
 - 24) 縣俊彦、豊島裕子、清水英佑、高木廣文、稲葉裕、黒沢美智子、柳修平、西川浩昭、河正子、金城芳秀、新村真人、大塚藤男. あせび会 NF1 患者の特性. 厚生労働省特定疾患神経皮膚症候群の新しい治療法の開発と治療指針作成に関する研究 平成 13 年度研究業績. 2002:9-14.
 - 25) 縣俊彦、清水英佑、高木廣文、河正子、早川東作、稲葉裕、黒沢美智子、柳修平、金城芳秀、新村真人、大塚藤男. NF1 (neurofibromatosis 1) の 1985-2000 年での臨床疫学的傾向の研究. 厚生労働科学研究研究費補助金 特定疾患対策研究事業 特定疾患の疫学に関する研究班 平成 14 年度研究業績 2003:103-112.
 - 26) 縣俊彦、清水英佑、中山樹一郎、三宅吉博、稲葉裕、黒沢美智子、新村真人、大塚藤男. 神経皮膚症候群調査研究班との NF1 (神経線維腫症 1) の定点モニタリング調査: 進捗状況 厚生労働科学研究 研究費補助金 特定疾患対策研究事業 特定疾患の疫学に関する研究班 平成 14 年度研究業績 2003:113-116.
 - 27) 縣俊彦. 神経線維腫症 1 (NF1) の過去 20 年での臨床疫学研究の総括 厚生労働科学研究

研究費補助金 特定疾患対策研究事業 神経皮膚症候群に関する研究班 平成 14 年度研究業績 2003:5-12.

28) 縣俊彦、中村晃士、西岡真樹子、佐野浩斎、清水英佑、高木廣文、河正子、早川東作、柳修平、金城芳秀、稲葉裕、黒沢美智子、大塚藤男、新村真人、三宅吉博、中山樹一郎、定点モニタリングのあり方の検討 厚生労働科学研究費補助金 難治生疾患克服研究事業特定疾患の疫学に関する研究班 平成 15 年度研究業績 2004:105-111.

29) 縣俊彦、清水英佑、松平透、佐浩斎、中村晃士、西岡真樹子、稲葉裕、黒沢美智子、古村南

夫、中山樹一郎、三宅吉博、高木廣文、金城芳秀、柳修平、河正子、神経線維腫症 1 定点モニタリング 2003、厚生労働科学研究費補助金 難治生疾患克服研究事業 特定疾患の疫学に関する研究班 平成 15 年度研究業績 2004:99-104.

30) 縣俊彦、清水英佑、松平透、佐野浩斎、中村晃士、西岡真樹子、稲葉裕、黒沢美智子、古村南夫、中山樹一郎、三宅吉博、高木廣文、金城芳秀、柳修平、河正子、神経線維腫症 1 モニタリング研究、厚生労働科学研究費補助金 難治生疾患克服研究事業 神経皮膚症候群に関する研究班 平成 15 年度研究業績 2004:9-15.

表 1. 診療科別報告患者数

年次	1997	1998	2000	2003
診療科				
眼科	55	56	56	2
形成外科	45	59	40	7
耳鼻科	0	0	0	0
小児科	23	46	10	2
整形外科	34	38	24	4
脳外科	7	3	6	0
皮膚科	305	342	320	129
合計	469	544	456	144

表 2. 診療科別返送機関数

年次 診療科(送付数)	1997	1998	2000	2003
眼科(8)	5	5	3	2
形成外科(13)	9	10	8	2
耳鼻科(1)	0	0	0	1
小児科(7)	3	4	2	1
整形外科(6)	3	4	3	2
脳外科(2)	2	1	1	0
皮膚科(35)	27	31	29	17
合計(72)	49	55	46	25

表 3. 診療科別回収率 (%)

年次 診療科	1997	1998	2000	2003
眼科	62.5	62.5	37.5	25.0
形成外科	69.2	76.9	66.7	15.4
耳鼻科	0	0	0	100
小児科	42.9	57.1	28.6	14.3
整形外科	50.0	66.7	50.0	33.3
脳外科	100	50.0	50.0	0
皮膚科	77.1	88.6	82.9	53.1
合計	68.1	76.4	64.8	36.2

表4. 4調査の調査時年齢の平均と標準偏差.

(上段男 $p=0.076$, 女 $p=0.240$) (下段男 $p=0.332$, 女 $p=1.0$)

年・項目	性	N	平均	S.D.	P
1985	男	783	28.0	19.9	0.877
全国	女	799	27.8	18.6	
1994	男	724	25.4	19.0	0.177
全国	女	821	26.7	19.0	
1997	男	147	26.5	18.5	0.832
モニタ	女	174	26.1	16.8	
2000	男	198	28.5	20.5	0.213
モニタ	女	252	26.1	19.0	

表5. 4調査の初診時年齢の平均と標準偏差.

(上段男 $p=0.001$, 女 $p=0.013$) (下段男 $p=0.269$, 女 $p=0.028$)

年・項目	性	N	平均	S.D.	P
1985	男	762	24.6	19.9	0.875
全国	女	769	24.4	18.6	
1994	男	677	20.1	19.1	0.057
全国	女	770	22.0	19.1	
1997	男	140	21.0	19.5	0.874
モニタ	女	156	20.7	16.3	
2000	男	166	18.6	15.9	0.138
モニタ	女	209	16.3	13.9	

表 6. 4 調査の診断年齢の平均と標準偏差.

(上段男 $p=0.079$, 女 $p=0.392$) (下段男 $p=0.139$, 女 $p=0.01$)

年\項目	性	N	平均	S.D.	P
1985	男	648	21.2	18.9	0.905
全国	女	638	21.1	17.8	
1994	男	572	19.3	18.8	0.017
全国	女	648	22.0	19.5	
1997	男	117	20.2	19.8	0.867
モニタ	女	136	20.6	16.8	
2000	男	127	16.6	15.5	0.351
モニタ	女	169	15.0	13.7	

表 7. 4 調査の診断 (全体 $p=0.023$) (上段 $p=0.025$) (下段 $p=0.051$)

年		确实	小児カフエオレ斑のみ	疑い	計
1985	N	1226	221	106	1553
全国	%	78.9	14.2	5.1	
1994	N	1166	252	76	1494
全国	%	78.0	16.9	5.1	
1997	N	246	34	24	304
モニタ	%	80.9	11.2	7.9	
2000	N	324	63	18	406
モニタ	%	80.0	15.6	4.4	

表 8. 4 調査の治療状況

(全体 $p=0.000$) (上段 $p=0.000$) (下段 $p=0.016$)

年		主に入院	主に通院	通院と入院	転院	その他	計
1985	N	113	887	310	38	97	1445
全国	%	7.8	61.4	21.5	2.6	6.7	
1994	N	35	1150	189	24	68	1466
全国	%	2.4	78.4	12.9	1.6	4.6	
1997	N	6	219	54	9	18	306
モニタ	%	2.0	71.6	17.6	2.9	5.9	
2000	N	21	332	50	6	20	429
モニタ	%	4.9	77.4	11.7	1.4	4.7	

表 9. 4 調査の予後 (全体 $p=0.000$) (上段 $p=0.000$) (下段 $p=0.097$ 、統合後).

年		改善	不変	徐々に悪化	急速に悪化	死亡	計
1985	N	159	861	200	6	28	1254
全国	%	12.7	68.7	15.9	0.5	2.2	
1994	N	65	856	181	6	15	1123
全国	%	5.8	76.2	16.1	0.5	1.3	
1997	N	13	175	38	1	2	229
モニタ	%	5.7	76.4	16.6	0.4	0.9	
2000	N	14	222	76	3	2	317
モニタ	%	4.4	70.0	24.0	0.9	0.6	

表 1 0. 4 調査での皮膚病変 ; カフェオレ斑の出現状況.

(全体 p=0.000) (上段 p=0.000) (下段 p=0.008)

年		0	1-5	6-10	11--	計
1985	N	108	297	408	584	1397
全国	%	7.7	21.3	29.2	41.8	
1994	N	47	120	409	713	1288
全国	%	3.6	9.3	31.8	55.3	
1997	N	6	29	63	136	234
モニタ	%	2.6	12.4	26.9	58.1	
2000	N	10	28	68	261	367
モニタ	%	2.7	7.6	18.5	71.1	

表 1 1. 4 調査での中枢神経症状 ; 脳波異常の出現状況.

(全体 p=0.083) (上段 f-p=0.941) (下段 f-p=0.017)

年		正常	異常	Total
1985	N	238	131	369
全国	%	64.2	35.8	
1994	N	269	150	419
全国	%	64.2	35.8	
1997	N	40	13	53
モニタ	%	75.5	24.5	
2000	N	65	52	117
モニタ	%	55.6	44.4	

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

結節性硬化症において減少する蛋白 p40
—Tuberin, Hamartin と p40 の関与—

分担研究者 片山 一朗 大阪大学大学院医学研究科分子病態医学皮膚科教授

研究要旨

結節性硬化症は原因遺伝子である tuberin, hamartin が同定されて以来その病態が急速に解明されつつある。しかしながら tuberin, hamartin の異常のみでは説明し得ない病態も残されている。また、本症は遺伝子検査を行っても、40% 近くに tuberin, hamartin のいずれにも異常が認められない症例が存在する。そこで、tuberin, hamartin 以外のものが本症病態に関与している可能性を考慮し、我々が以前から報告している、本症において特異的に減少する蛋白 p40 と本症の症状との関係、あるいは、p40 と tuberin, hamartin との関係を解析した。その結果、p40 の発現量の低下と臨床症状、特に知能障害との相関が認められた。また、tuberin, hamartin と p40 が共沈しており、tuberin, hamartin それぞれと p40 が結合している可能性が示唆された。

金田 真理
大阪大学大学院医学研究科分子病態医学皮膚科

その成果を基にして疾患の診断、治療法の開発を目指す。

また、tuberin, hamartin の蛋白の発現量と臨床症状あるいは遺伝子型との関係を解析する。

A. 研究目的

結節性硬化症の病態解明は飛躍的に進んできているが、tuberin, hamartin の作用だけでは十分に説明し得ないことが多々ある。そこで、我々が以前から報告している、本症において特異的に減少する蛋白 p40 と本症の症状との関係、あるいは、p40 と tuberin, hamartin との関係を解析することにより、p40 が本症において果たす役割を検討し、結節性硬化症の分子レベルでの病態解析に役立て、

B. 研究方法

- 1) 患者リンパ球の抽出液を tuberin, hamartin に対する抗体を用いたウェスタンブロッティング法で検査する事により tuberin, hamartin の発現量を調べ、臨床症状や遺伝子型との相関を調べた。

- 2) 染色体周囲およびリボソームに存在する蛋白 p40 の抗体を使って、ウェスタンブロッティング法を用いて、p40 の本症における発現量と臨床症状との関係を調べた。
- 3) T7-p40 のステーブルトランスフォーマントを tuberin, hamartin, p40 に対する抗体で免疫沈降し、あるいは、エピトープタグをつけた tuberin, hamartin, p40 の cDNA をリポフェクションで Hela 細胞に導入し、各エピトープタグに対する抗体を用いて免疫沈降を行い、免疫沈降物を各々 tuberin, hamartin, p40 に対する抗体を用いてウェスタンブロッティングを行って、各蛋白の相互関係を解析した。

倫理面への配慮

患者および患者家族の DNA の分析をし、その個人情報を得ることになるが、その情報は本研究、診断以外の目的では使用されない事、被験者のプライバシーは完全に保護される事、結果は原則的に本人告知であり、結果を知る権利、知らされない権利がある事、検査は被験者の希望に基づいて行われるものであり、検査に協力しなくとも何の不利益も受けない事など倫理上の問題点は、文部科学省、厚生労働省、経済産業省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して行った。さらに、臨床症状のない患者家族の検査にあたっては、検査の結果、原因遺伝子をもって、将来的に発症する可能性が判明し、精神的な打撃を受ける可能性がある事も十分に

説明して行った。

C. 研究結果

- 1) 遺伝子検査で結果がわからなかった患者であっても、リンパ球における、tuberin, hamartin の発現量を検索することにより、TSC1 TSC2 の同定が可能であった(表1)。但し、tuberin, hamartin の発現量と臨床症状との明らかな関係は認められなかった。
- 2) p40 の発現量の低下と臨床症状、特に知能障害との相関が認められた。また(表2)。
- 3) Tuberin, hamartin と p40 が共沈しており、tuberin, hamartin それぞれと p40 が結合している可能性が示唆された(図1, 2)。

D. 考察

結節性硬化症は原因遺伝子である tuberin, hamartin が同定されて以来その病態が急速に解明されつつある。しかしながら tuberin, hamartin の異常のみでは説明し得ない病態も残されている。また、本症は遺伝子検査を行っても、40% 近くに tuberin, hamartin のいずれにも異常が認められない症例が存在する。さらに、tuberin, hamartin の異常が同定できてもその結果から臨床症状を推測することはできない。一方我々は以前から本症において特異的に減少する蛋白 p40 を同定し、p40 の本症における役割を検討してきた。今

回我々は患者リンパ球を用いて p40, tuberin, hamartin 量を測定し、臨床症状との相関の有無を検討した。その結果 p40 と精神発達遅滞との間に強い相関が認められた (表 2)。そこで、各蛋白の相互関係を解析した。その結果 tuberin, hamartin と p40 が共沈しており (図 1, 2)、tuberin, hamartin それぞれと p40 が結合し、これら 3 蛋白がコンプレックスを形成し、本症の病態形成にかかわり合っている可能性が示唆された。したがって、p40 の解析を行うことにより、tuberin, hamartin の異常のみでは説明し得なかった病態を説明できる可能性が考えられた。さらに、患者リンパ球を用いたウエスタンブロットリング法で tuberin, hamartin の発現量を調べることにより、遺伝子検査で異常が認められなかった症例でも簡便に遺伝子型 (TSC1, TSC2) を決定できる可能性が示唆された。

E. 結論

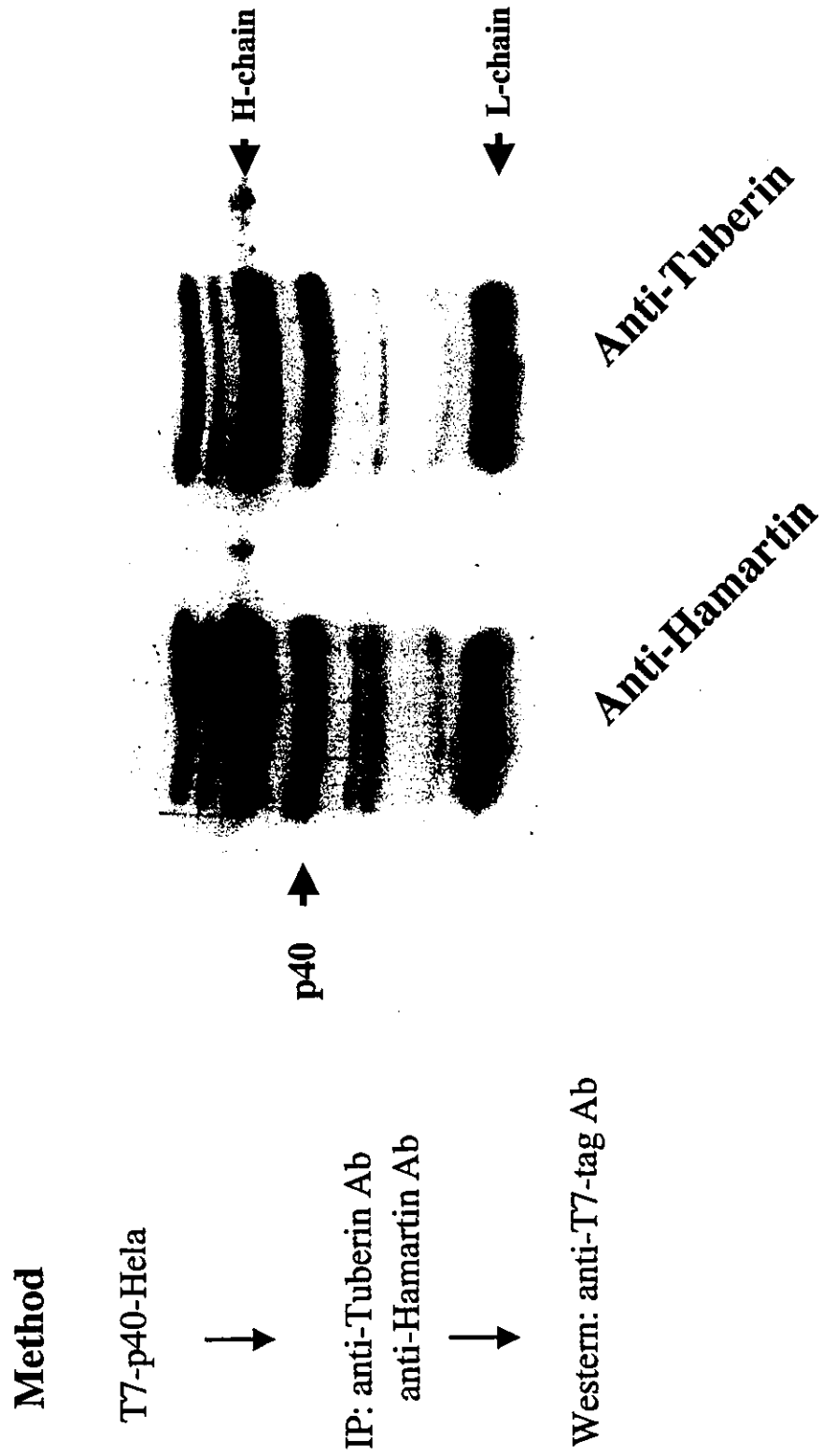
結節性硬化症の病態解明は飛躍的に進んできているが、tuberin, hamartin の作用だけでは十分に説明し得ないことが多々ある。したがって臨床症状と相関関係を示し、tuberin, hamartin と結合しうる蛋白を同定し、その機能を解明することは、本症の病態解明に有効である。

また今回の研究より患者リンパ球を tuberin, hamartin に対する抗体を用いたウエスタンブロットリング法で検査する事により、結節性硬化症の遺伝子型 (TSC1, TSC2) を簡便に同定できる可能性が示唆された。本方法が確立できれば、患者の遺伝子型が簡単に短時間で確定でき有用と考えられる。

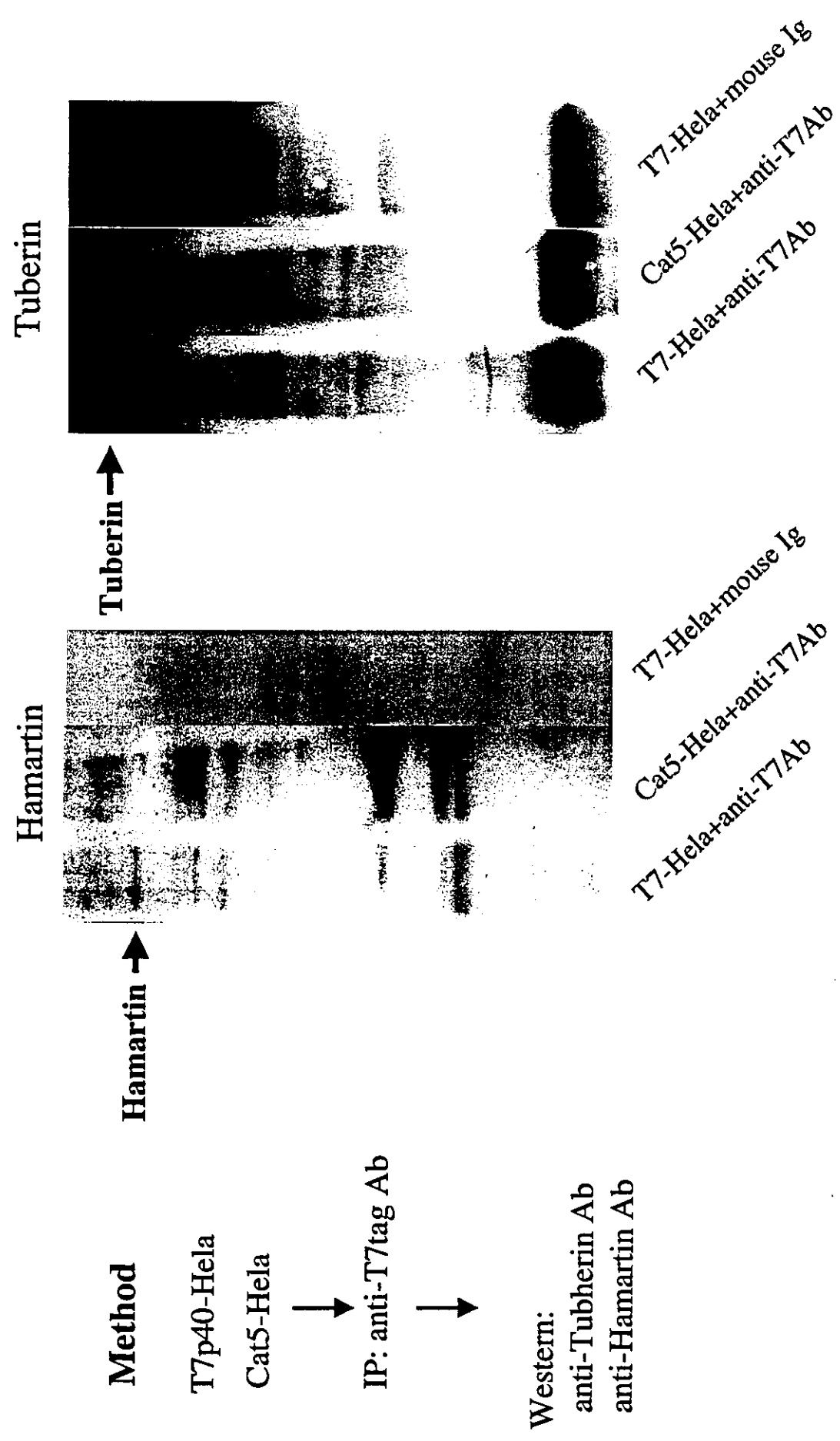
F. 研究発表

1. Horiuchi Y, Bae S, Katayama I. Pro-inflammatory cytokine IL-1alpha potential for tissue repair in chemically and mechanically induced injury in cultured human keratinocytes. *J Dermatol Sci*. 2004 Sep;35(3):224-6.
2. Iwata K, Takamura N, Nakashima M, Alipov G, Mine M, Matsumoto N, Yoshiura K, Pronglo Y, Sekine I, Katayama I, Yamashita S. Loss of heterozygosity on chromosome 9q22.3 in microdissected basal cell carcinomas around the Semipalatinsk Nuclear Testing Site, Kazakhstan. *Hum Pathol*. 2004 Apr;35(4):460-4.

Western blotting using anti T7-tag antibody



Western blotting using anti tuberin and hamartin antibody



Western:
anti-Tuberin Ab
anti-Hamartin Ab

表 1 Tuberin, Hamartin の発現量と結節性硬化症の遺伝子型

	Tub	Ham
Normal Control	+	+
Control (NF1)	+	+
Case1 (TSC1)	-	-
Case2 (TSC2)	-	+
Case3 (TSC1)	+	-
Case4 (TSCX)	-	+
Case5 (TSCX)	+	-
Case6 (TSCX)	+	-
Case7 (TSCX)	+	-
Case8 (TSCX)	+	+
Case9 (TSCX)	+	-
Case10 (TSCX)	+	-
Case11 (TSCX)	-	+
Case12 (TSC)	-	+
Case13 (TSC)	-	+
Case14 (TSC)	+	-

患者リンパ球の tuberin, hamartin の発現の有無を tuberin, hamartin に対する抗体を用いたウエスタンブロッティング法で調べ遺伝子型との相関を検討した。
 NF1; 神経線維腫症 1 型、TSC1; 遺伝子検査で TSC1 が確定している症例、TSC2; 遺伝子検査で TSC2 が確定している症例、TSCX; 遺伝子検査で TSC1, 2 いずれにも異常が見付からなかった症例、TSC; 遺伝子検査を施行していない症例 +; ウエスタンブロッティング法でバンドが確認されたもの -; ウエスタンブロッティング法でバンドが確認されなかったもの

表 2

p40 and clinical symptoms

p40 (+)	Sex	gene	Famil	mental	Convall	Kid	heart
Case 1	F	X	-	-	-	+	-
Case 2	F	X	+	+	+	+C	-
Case 3	M	X	-	-	+·-	+	-
Case 4	F	X	+	+	+	+	-
Case 5	M	X	f	+	+	-	-
Case 6	F	X	f	-	-	+	-
p40 (m)							
Case 7	M	2	+	+	+·-	-	-
Case 8	F	X	f	-	+·-	-	-
Case 9	F	X	-	-	-	+	-
Case 10	M	1	f	+	+	+c/d	+
Case 11	F	2	-	-	+·-	+	-
p40 (-)							
Case 12	M	X	f	+	+	-	-
Case 13	F	X	+	+	+	-	+
Case 14	M	1	+	+	+	n	-
Case 15	M	X	+	+	+	e	-
Case 16	F	2	+	+	+	+A	-
Case 17	M	2	+	+	+	+C	+
Case 18	F	X	+	+	+	-	+
Case 19	M	1	+	+	+	+A	-

p40の抗体を用いた、ウエスタンブロッティング法で、各患者のリンパ球におけるp40の発現量を測定し発現量を3段階に分けて臨床症状との相関を検討した。遺伝子検査でTSC1が確定している症例、2; 遺伝子検査でTSC2が確定している症例、X; 遺伝子検査でTSC1,2いずれにも異常が見付かなかった症例 f; 家族歴あり

厚生科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

結節性硬化症の遺伝子変異と臨床症状の関係について

分担研究者 大野 耕 策 鳥取大学医学部脳幹性疾患研究施設脳神経小児科教授

研究要旨

結節性硬化症の2つの原因遺伝子が明らかにされ、日本人の結節性硬化症について、これまで約140人の遺伝子解析を行ってきた。TSC2の遺伝子変異は49例、TSC1の遺伝子変異を20例に認めた。明らかに疾患の原因変異と確定できるナンセンス変異、アミノ酸配列の変わる欠失と挿入について、TSC1とTSC2での臨床症状の重症度を比較した。2つの原因遺伝子のうちTSC2変異の方が知的障害の重症例が多く、重症てんかんである點頭てんかんもTSC2に頻度が高かった。また同じナンセンス変異を持つ例の臨床症状を比較した。同じ変異でも知的障害のレベルは多様であり、遺伝子変異が知的障害の重症度を決定するのではない可能性を示した。我々の過去の研究成果および最近の欧米での研究とあわせ、知的障害の重症度は點頭てんかんの合併、てんかんの発症年齢と関連している可能性があると考えた。

A. 研究目的

1993年にTSC2遺伝子、1997年にTSC1遺伝子が単離され、結節性硬化症の遺伝子診断が可能になった。遺伝子検査の実施にあたってTSC1は21エクソン、TSC2は41エクソンからなり、解析に労力と時間がかかることが問題である。また、変異の報告の蓄積によって多様な変異があることが明らかになり、またPCR-SSCP法を中心とした検索では約半数にしか異常が検出できないことも明らかになった。さらに、アミノ酸置換の場合、両親は正常で患者にのみ認められる変異と過去に病気の原因と報告された変異しか病的と評価できない点

が問題である。

我々は、TSC1/TSC2の解析を2000年までに91人の検体を、2001年以降49人の検体を受け入れて検討してきた。これまで結果が得られた140例について、その異常の検出率、遺伝子変異と臨床症状の関係について検討した。

B. 研究方法および結果

1) 遺伝子解析の依頼先施設と遺伝子変異と遺伝子変異検出の頻度

遺伝子検査はTSC1は21エクソン、TSC2は41