

なし

/TRPS1 (8q24.12) ; WAGR症候群 : WT1 (11p13)
/PAX6 (11p13) ; Rubinstein-Taybi症候群 : CBP
(16p13.3) ; Townes-Brocks症候群 : SALL1
(16q12.1) ; 神経線維腫症 I 型 : NF1 (17q11.2)
; 多発性骨癒合症 : NOG (17q21-q22) ; Campomelic
Dysplasia : SOX9 (17q24.3-q25.1) ; Alagille症候
群 : JAG1 (20p12) ; Leri-Weill Dys-
chondro-steosis : SHOX (Yp/Xp) .

3) 患者臨床情報の把握、蓄積、解析に供するため
疾患データシートの活用を考え、データシート原案
作成を進めた。

D. 考察

ハプロ不全で発症しうる常染色体優性遺伝病の確定
診断上、遺伝子内変異の解析だけでは不十分の場合
があり、当該責任遺伝子を含む微細欠失などの染色
体構造異常への注意も必要である。これらのハプロ
不全疾患について包括的なFISH診断体制を作り、疾
患の病因分類の解明と、微細欠失を病因とする場合
の症状特性を検討することによる新たな隣接遺伝子
症候群発見も期待される。

E. 結論

FISH解析対象疾患をリストアップし、診断プローブ
の調整に着手した。今後さらに、診断プローブの整
備をすすめ、広く国内からの診断ニーズに対応する
本班のシステムへの位置づけをめざしたい。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- 1) 大橋博文、坂爪悟、大橋裕子、加古結子。先天
異常症候群における染色体微細欠失のFISH診断。日
本小児科学会。平成18年4月21日（金沢）。
- 2) 加古結子、坂爪悟、大橋裕子、大橋博文。MITF
遺伝子欠失を伴う3番染色体短腕内欠失
del(3)(p13p14.2)の一例。日本小児遺伝学会。平成
18年10月21日（米子）。

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（子ども家庭総合研究事業）

分担研究報告書

小児固形腫瘍および腫瘍関連先天性疾患における遺伝子診断法の標準化と制度管理

分担研究者 清河 信敬

国立成育医療センター研究所 発生・分化研究部 部長

研究要旨：本邦において検査体制の整っていない希少な小児固形腫瘍に対するキメラ遺伝子検出の検査技術を整備し、特に小児腎臓がんについてその有用性を確認した。この結果、小児難治性固形腫瘍のほとんどの疾患に対する遺伝子診断技術が整備された。症例数が多い疾患については、すでに中央遺伝子診断体制が整備されているが、今後は希少な小児固形腫瘍疾患の遺伝子診断に対して今回整備した検査技術を実際に活用していく体制構築を目指す。小児B前駆細胞性急性リンパ芽球性白血病に対して網羅的ゲノム異常解析を実施し、これまでに報告されていないものを含めた多数の異常集積点を同定した。今後、その生物学的意義の検討を通じて新規遺伝子診断法開発をめざした研究を行っていく。

A. 研究目的

本研究の目的は、小児難治性腫瘍疾患における標準的遺伝子診断法の確立と国内実施施設の拠点化を行い、遺伝子診断研究の成果を医療に還元すると共に、将来にわたって医療上必要とされる遺伝子診断の継続的実施を可能とすることである。このために、拠点施設の設定や機能整備、診断法の標準化や制度管理法の確立を行う。さらに、貴重な臨床症例検体の研究的な分子解析を通じて、小児難治性腫瘍疾患の治療上有用性の高い、新たな遺伝子診断法の開発を目指す。

固形腫瘍を中心とした小児難治性腫瘍疾患は、一般に組織形態学的な特徴に乏しく、病理診断が困難な症例が多い。しかし、Ewing肉腫や、胞巣型横紋筋肉腫を代表とする一部の腫瘍には特徴的な染色体転座によって発現するキメラ遺伝子の存在が明らかになっており、これらのキメラ遺伝子の検出が診断の決め手になる場合が少なくないため、その診断的意義は極めて高い。また、神経芽腫におけるMYCN遺伝子の増幅のように予後と直結した遺伝子異常も明らかにされており、その検出は治療法選択や長期予後判定に不可欠である。しかも、これらの遺伝子異常は各腫瘍の発症病態に直接関係しているため、その生物学的な機能を解析することによって新たな診断/予後判定に有用な因子の発見に結びつき、新規治療法開発にも応用できる可能性が期待される。

B. 研究方法

小児腫瘍のOCT包埋凍結組織を薄切して回収し、RNeasyキット(QIAGEN社)を用いてtotal RNAを抽出後、1st strand cDNA合成キット(Amersham社)によってcDNAを合成した。過去に報告されている情報により、各腫瘍に特徴的なキメラ遺伝子の塩基配列に基づいて設計したプライマーを用いて、PCR法によって各キメラ遺伝子cDNAを増幅、検出した。陽性コントロールとして各腫瘍の培養細胞株から調整したcDNA等を用いた。患者検体から分離した白血病およびリンパ腫細胞、腫瘍細胞組織からDNeasyキット(QIAGEN社)を用いてゲノムDNAを抽出し、GeneChip Mapping 500K Array(Affimetrix社)による網羅的なゲノム構造解析を行った。得られた結果は東京大学小川誠司博士らが開発した専用のアルゴリズム“CNAG”を用いて解析した。

(倫理面への配慮)

本研究は原則的に体細胞変異を対象としたものであり、ヒトゲノム・遺伝子研究には該当しないが、三省合同のヒトゲノム・遺伝子研究に関する倫理指針に準拠して、当該研究機関の倫理委員会の承認を得た上で研究を行っている。腫瘍細胞および組織の臨床検体については、インフォームドコンセントを得た上で、匿名化して保存し、遺伝子解析に用いている。

C. 研究結果

小児固形腫瘍の遺伝子診断体制の整備：

これまでに、症例数が比較的多い固形腫瘍である横紋筋肉腫、Ewing肉腫、Wilms腫瘍、神経芽腫については、すでに各腫瘍の治療研究グループによって主導される治療研究の中で、それぞれの遺伝子中央診断と検体保存が実施しており、成育医療センター発

生・分化研究部でその多くの部分を担当している。本年は、これまでに特徴的なキメラ遺伝子の存在が報告されているものの、症例数が非常に少なく、本邦における検査体制が整っていない疾患に対する検査技術を整備した。その一覧を表に示す。

表 新たに特異的キメラ遺伝子の検査技術を整備した小児固形腫瘍

小児腎臓がん	t(X;1)(p11.2;q25)	<i>ASPL-TFE3</i>
	t(X;1)(p11.2;q21)	<i>PRCC-TFE3</i>
	t(X;1)(p11.2;p21)	<i>PSF-TFE3</i>
	Inv(X)(p11;q12)	<i>NonO-TFE3</i>
	t(X;17)(p11.2;q23)	<i>CLTC-TFE3</i>
	t(6;11)(p21;q13)	<i>Alpha-TFEB</i>
先天性繊維肉腫	t(12;15)(p13;q25)	<i>TEL-TRKC</i>
先天性間葉芽腎	t(12;15)(p13;q25)	<i>ETV6-NTRK3</i>
繊維形成小細胞腫瘍	t(11;22)(p13;q12)	<i>EWS-WT1</i>
巨細胞性繊維芽細胞腫	t(17;22)(q22;q13)	<i>COL1A1-PDGFB</i>
隆起性皮膚繊維肉腫	t(17;22)(q22;q13)	<i>COL1A1-PDGFB</i>
乳児繊維肉腫	t(12;15)(p13;q25)	<i>ETV6-NTRK3</i>
滑膜肉腫	t(X;18)(p11;q11)	<i>SYT-SSX1</i>
	t(X;18)(p11;q11)	<i>SYT-SSX2</i>
明細胞肉腫	t(12;22)(q13;q12)	<i>EWS-ATF1</i>
胞巣状軟部肉腫	t(X;17)(p11;q12)	<i>ASPL-TFE3</i>

このうち、小児腎臓がんについては、成育医療センターに保存されていた過去の臨床検体を用いて解析を行い、今回整備したキメラ遺伝子の検出が診断に有用であることを確認した。

小児白血病の網羅的なゲノム構造異常の解析：新規遺伝子診断法開発に応用するため、B前駆細胞性急性リンパ球性白血病142例の臨床検体について、マイクロアレイ(SNPアレイ)を用いた網羅的ゲノム構造解析を行った。同白血病では、比較的予後良好の亜群として染色体数が近3倍体に増加しているhyperdiploid症例が知られているが、今回の検討からこれらの群で増幅している染色体は決してランダムではなく、1番染色体長腕q12～遠位側、4、5、6、8、

10、14、17、18、21番の特定の染色体が増幅していることが明らかであった。特徴的な所見として、14番短腕～p11.2遠位側および15番短腕～p11.2遠位側では、増幅している症例と欠失している症例の双方が認められた。また、以上の他に、微小な染色体異常(増幅および欠失)の集積点を45箇所同定した。この中には、7p12.2の欠失(Zinc finger protein subfamily 1A 1, Ikars遺伝子が局在)、9p13.2の欠失(Pax5遺伝子が局在)等のように海外からの報告で既知の異常集積点の他に、7q11.21の欠失

(Zinc finger protein 92遺伝子が局在)や14.1の増幅(Cell division cycle 2-like 5 isoform 2遺伝子が局在)等のようにこれまで報告のない異常集積点も多数含ま

れていた。

D. 考察

今回行った稀有な小児固形腫瘍に対するキメラ遺伝子検出技術の整備により、既知の小児固形腫瘍の遺伝子診断についてはそのほとんどを成育医療センターで実施可能となった。しかし、比較的症例数が多い主な固形腫瘍（Ewing肉腫、横紋筋肉腫、神経芽腫、Wilms腫瘍等）については治療研究グループの主導によって国内における遺伝子中央診断体制が整備されているが、稀有な小児固形腫瘍については疾患登録の制度もいまだ確立されてはおらず、本邦における発症の実態さえも明確ではない。今後、今回確立した検査技術を国内の小児腫瘍治療施設に周知するとともに、これらの希少小児固形腫瘍疾患の体系的な登録/中央診断実施体制を整備することが急務である。また、マイクロアレイを用いた網羅的なゲノム構造解析は、従来の染色対分析やアレイCGHと比較してはるかに解像度の高い解析が可能で、微細な欠失や増幅を検出できる。特にその解像度が一層改善されていることからこれまでに報告されていない新たな異常の検出が期待されるほか、人種差による本邦の症例固有のゲノム異常検出も可能であると考えられる。今後この解析が進展して各ゲノム異常の生物学的機能の意義が明らかになることによって、新たな診断法、予後判定法開発に結びつくことが期待される。

E. 結論

小児難治性固形腫瘍のほとんどの疾患に対する遺伝子診断技術を整備した。今後は、特に稀少な小児固形腫瘍疾患の遺伝子診断に対してこれらの検査技術を実際に活用していく体制構築を目指すとともに、網羅的ゲノム異常解析を通じて新規遺伝子診断法開発をめざした研究を行っていく。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Suzuki K, Kiyokawa N, Taguchi T, Takenouchi H, Saito M, Shimizu T, Okita H, Fujimoto J. Characterization of monocyte-macrophage-lineage cells induced from CD34+ bone marrow cells in vitro. *Int J Hematol* 85:384-389, 2007.
- 2) Taguchi T, Takenouchi H, Shiozawa Y, Matsui J, Kitamura N, Miyagawa Y, Katagiri YU, Takahashi T, Okita H, Fu

jimoto J, Kiyokawa N. Interleukin-7 contributes to human pro-B-cell development in a mouse stromal cell-dependent culture system. *Exp Hematol* 35:1398-1407, 2007.

- 3) Miyagawa Y, Okita H, Nakaijima H, Horiuchi Y, Sato B, Taguchi T, Toyoda M, Katagiri YU, Fujimoto J, Hata J-I, Umezawa A, Kiyokawa N. Inducible expression of chimeric EWS/ETS proteins confers Ewing's family tumor-like phenotypes to human mesenchymal progenitor cells. *Mol Cell Biol* (in press)

2. 学会発表

- 1) 宮川世志幸, 大喜多肇, 梅澤明弘, 藤本純一郎, 秦順一, 清河信敬. ヒト間葉系幹細胞培養系を用いたEwing肉腫ファミリー腫瘍発症モデルの確立. 第96回日本病理学会総会, 大阪, 3月13日-15日, 2007.

- 2) 宮川世志幸, 大喜多肇, 中島英規, 片桐洋子, 藤本純一郎, 秦順一, 梅澤明弘, 清河信敬. Regulation of Dickkopf family protein expression by EWS/ETS. 第66回日本癌学会学術総会, 横浜, 10月3-5日, 2007.

- 3) 宮川世志幸, 大喜多肇, 梅澤明弘, 藤本純一郎, 清河信敬. ヒト間葉系前駆細胞におけるEwing腫瘍特異的融合遺伝子EWS/ETS発現はEwing腫瘍様形質を誘導する. 第30回日本分子生物学会第80回日本生化学会大会合同大会, 横浜, 12月11日-15日, 2007.

- 4) 宮川世志幸, 大喜多肇, 中島英規, 梅澤明弘, 藤本純一郎, 清河信敬. Ewing family tumor特異的融合遺伝子EWS/ETSによるWntシグナル関連因子Dickkopf familyの発現制御. 第49回日本小児血液学会総会・第23回日本小児がん学会学術集会 合同開催, 仙台, 12月14日-16日, 2007

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得
該当なし
2. 実用新案登録
該当なし
3. その他
該当なし

厚生労働科学研究費補助金（子ども家庭総合研究事業）
分担研究報告書

小児血液系腫瘍における遺伝子診断法の標準化と精度管理に関する研究

分担研究者 林 泰秀
群馬県立小児医療センター院長

研究要旨

小児血液系腫瘍では細胞遺伝学的診断の標準化と精度管理は重要な課題である。今年度は、これまでに行われた急性骨髄性白血病（AML）のAML99プロトコールにおける遺伝子解析結果をさらに詳細に解析し、臨床像との関係を検討した。既に開始されたAML-05プロトコールでは遺伝子解析システムが確立し、前方視的研究が可能となり、形態、マーカー、染色体、遺伝子の中央診断を立ち上げた。今回は*FLT3*、*KIT*、*MLL*、*RAS*遺伝子以外に*nucleophosmin*遺伝子と*BRAF*遺伝子の解析結果と予後との関係を明らかにし、治療成績の向上に役立っている。

A. 研究目的

これまでに小児血液の分子細胞遺伝学的診断の基準のガイドラインの作成を行い、実際の検体の採取、保存、運搬等の標準化と、診断に必要な遺伝子解析を必要度に応じたランク付けを行ってきた。血液系腫瘍の正確な分子診断は、根拠に基づく治療を行うにあたっての基盤である。

今年度は、小児急性骨髄性白血病（AML）について、日本小児白血病治療委員会で行われたAML99プロトコールにより治療された150症例の遺伝子解析の詳細な解析とその臨床的意義の検討を行う。さらに、*FLT3*、*KIT*、*MLL*、*RAS*遺伝子の解析に加え*nucleophosmin* (*NPM*)と*BRAF*遺伝子の解析を加え、予後の相関を検討する。また新たに開始されたAML-05プロトコールの染色体、キメラ遺伝子等の中央診断を開始する。

まだ全国統一プロトコールが行われていない小児急性リンパ性白血病（ALL）についても、東京小児白血病研究グループ（TCCSG）において、キメラ遺伝子解析のシステムの確立を行っており、これから開始される再発ALLとT-ALLの全国統一プロトコールにおいてALLの遺伝子解析の基盤整備を行う。

B. 研究方法

小児AML150例の細胞について、*FLT3*、*KIT*、*MLL*、*RAS*、*NPM*、*BRAF*遺伝子を解析し、臨床像や予後との関係を検討した。

*FLT3*遺伝子のinternal tandem duplication (ITD)と、キナーゼ領域に位置する835番目のAsp残基 (D835)の点変異 (D835Mt)につき、reverse transcripts

e (RT) -PCRを行い直接塩基配列によりAML99プロトコールに登録された小児AML150症例について解析を行った。

*KIT*遺伝子については、AML99症例中t(8;21)の46例とさらにAML99以降の42例で*KIT*遺伝子のextracellular (EC) domain、juxtermembrane (JM) domain、tyrosine kinase 2 (TK2) domainを検討した。t(8;21)以外のAMLにおいても両様の検討を行った。特にinv(16)-AML 9例については詳細な検討を行った。

MLL-partial tandem duplication (PTD)について、*MLL*-PTDと他の遺伝子変異 (*FLT3*、*MLL*、*KIT*、*RAS*遺伝子) について、AML細胞株14株、ALL細胞株15株、11q23-AML臨床検体20検体を含むAML99 150例について変異の解析を行った。

また*RAS*と*BRAF*遺伝子については全例で、*NPM*遺伝子については正常核型症例で検討した。

(倫理面への配慮)

遺伝子解析にあたっては、三省合同のゲノム指針に則り、患者又は両親から同意を得、当センターの倫理委員会の承認を得て行った。

C. 研究結果

*FLT3*遺伝子の解析では、昨年度AML150例中ITDを22例 (13.8%)、D835Mtを12例 (7.5%)に認め、ITD陽性例は有意に予後不良であった (文献11)。

*KIT*遺伝子の解析では、TK2 domainの変異がt(8;21)-AML 46例中8例 (17.4%) (N822K 3例、N822T、D816H、D816V、V825A、A814S 各1例) に認められた。AML全体での検討においても*KIT*遺伝子変異陽性例は陰性例より有意に予後不良であった。AML99とそれ以

降の合計88例のt(8;21)-AML中17例(19.3%)に変異を認め、このうちD816変異は6例に、N822変異は5例に認められた。N822変異はヨーロッパでの報告はほとんどなく、本邦と中国の報告のみであり、人種差の存在が示唆された。

inv(16)-AMLは予後良好群に分類されるが、近年KIT遺伝子変異が成人inv(16)-AMLの30-50%にみつき、予後との相関が報告されている。今回小児inv(16)-AMLにおけるKIT遺伝子変異の解析を行ない、あわせてFLT3, NRAS遺伝子について解析を行った。inv(16)が判明しているか、CBF-MYH11キメラ遺伝子が検出された年齢が8ヶ月から14歳の20例のKIT, FLT3, NRAS遺伝子の解析ではKIT遺伝子のexon 8変異が20例中1例(5%)にのみみられた。この1例は、小児AML共同治療研究で治療された7例中の1例で、再発がみられた。この他FLT3 kinase domain変異が3例に、NRAS遺伝子変異が3例にみられたが、予後との相関はみられなかった。またFLT3-ITDは全例でみられなかった。小児inv(16)-AMLではKITは成人よりも頻度が低く、KIT遺伝子変異はまれで、成人の頻度と大きく異なっていた。

11q23転座型AMLの解析では、11q23転座をもつAML細胞株2株でMLL-PTDが認められた。11q23転座をもつ8細胞株中6株にMLL-PTD, FLT3-ITDまたはD835変異が認められた。解析した11q23-AML20例中、MLL-PTDが5例、FLT3-D835変異を1例に認めた。MLL-PTDの年齢中央値は10歳と年長児に多く見られ、2歳未満ではみられなかった。MLL-PTDの有無で予後に明らかな差がみられた。またNRAS変異は1例で、FLT3-ITDとKIT変異はみられなかった。

NPM遺伝子変異は成人のAMLでは約35%にみられ、とくに正常核型をもつ症例の50%以上に存在することが明らかにされている。またFLT3-ITDの陽性例に多く、予後と相関すると報告された。我々の小児の正常核型33例の検討では陽性例はみられなかった。欧米の小児例の報告でも、いずれも13歳以上の年長児に多くみられており、NPMの変異は年齢に依存することが示唆された。

また一昨年からはまったJPLSGのAML-05 プロトコールに登録される症例については、必要な遺伝子診断項目をリストアップし、全例にキメラ遺伝子を行うことにより診断の精度を上げ、細胞保存を国立成育医療センター研究所で行い、診断の標準化と精度管理を行っている。また、AML-05プロトコールのキメラ遺伝子と染色体結果の不一致例の中央診断を5人の専門家により開始した。

今後、再発ALLとT-ALLの統一プロトコールが予定されており、NOTCH1遺伝子やALLに関連する遺伝子の解析と微小残存病変(MRD)を解析し、それによる治療の層別化の準備を進めている。

D. 考察

今回、小児のAML99プロトコールにおいて、t(8;21)-AMLのみならず全体としてもKIT遺伝子変異は予後不良因子であることが明らかになった。AML-05プロトコールでは、FLT3-ITDは予後因子として層別化に用いられることになり、陽性例は造血幹細胞移植の対象となったが、KIT遺伝子はAML-05では付随研究として前方視的に研究し、その結果によって治療の層別化に用いるようにと考えている。成人では予後と相関するとする報告が多いが、治療の層別化は

まだ行われていない。

inv(16)-AML 7例でKIT変異のあるものが再発したことにより、AML99以前のinv(16) 13例を集めて検討を行ったが、KIT変異のない症例でも再発がみられ、プロトコールが異なる症例を含めると有意差がみられなかった。KIT変異は予後因子であるか否かは、AML-05での解析を待つことになる。

近年転写因子の異常(クラスI変異)と細胞増殖に関わる遺伝子の異常(クラスII変異)変異が白血病発症に必須と考えられている。これまでの解析結果より11q23-AMLの進展にはFLT3のみならずMLL-PTDがクラスII変異の役割を担う可能性が示唆された。MLL-PTDの小児AMLでの意義は今後多数例での前方視的検討が必要と考えられ、AML-05で検討する予定である。

AML-05で初診時に国立病院機構名古屋医療センター臨床研究センターでmultiplex real-time PCRによるキメラ遺伝子解析を開始した。キメラ遺伝子を用いたMRDも行っているが今後、業者も含めた精度管理の検討も必要と思われる。

ALLでは関東のTCCSGグループでキメラ遺伝子検索や細胞保存のシステムを立ち上げて基盤整備を行っている。再発ALLと症例の少ないT-ALLについては統一プロトコールの作成が始まっており、NOTCH1やHOX遺伝子、ABL1遺伝子のキメラ遺伝子等検索する遺伝子の準備を行っている。さらにT細胞受容体や免疫グロブリンを用いたMRDを行う予定である。

E. 結論

これまでのAML99における遺伝子の検討を通じて、診断のシステムの整備を整えた。これらの遺伝子の予後との相関の検討を行い、層別化に用いる遺伝子を同定し、AML-05プロトコールでは初診時のキメラ遺伝子および染色体分析結果の中央診断を開始した。今後さらに層別化に用いる遺伝子を同定する予定である。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Ashihara E, Nakamura S, Inaba T, Taki T, Hayashi Y, Shimazaki C. A novel AF10-CALM fusion transcript in gamma/delta-T cell type lymphoblastic lymphoma. Am J Hematol 82 : 859-860, 2007
2. Chen Y, Takita J, Mizuguchi M, Tanaka K, Ida K, Koh K, Igarashi T, Hanada R, Tanaka Y, Park MJ, Hayashi Y. Mutation and expression analyses of the MET and CDKN2A genes in rhabdomyosarcoma with emphasis on MET overexpression. Genes Chromosomes Cancer 46: 348-358, 2007
3. Shimada A, Ichikawa H, Taki T, Kubota C, Hongo T, Sako M, Morimoto A, Tawa A, Tsukimoto I, Hayashi Y. Low Frequency of KIT Gene Mutation in Pediatric Acute Myeloid Leukemia with inv(16)(p13q22): A Study of the Japanese Childhood AML Cooperative Study Group. Int J Hematol 86 : 289-290. 2007
4. Furuichi Y, Goi K, Inukai T, Sato H, Nemoto A, Takahashi K, Akahane K, Hirose K, Honna H, Kuroda I, Zhang X, Kagami K, Hayashi Y, Harigaya K, Nakazawa S, Sugita K. Fms-like tyrosine ki

- nase 3 ligand stimulation induces MLL-rearranged leukemia cells into quiescence resistant to antileukemic agents. *Cancer Res* 67 : 9852-9861. 2007
5. Shimada A, Taketani T, Kikuchi A, Hanada R, Arakawa H, Kimura H, Chen Y, Hayashi Y. AML1 mutation and FLT3-internal tandem duplication in leukemia transformed from myelodysplastic syndrome. *J Pediatr Hematol Oncol* 29 : 666-667. 2007
 6. Tomizawa D, Koh K, Sato T, Kinukawa N, Morimoto A, Isoyama K, Kosaka Y, Oda T, Oda M, Hayashi Y, Eguchi M, Horibe K, Nakahata T, Mizutani S, Ishii E. Outcome of risk-based therapy for infant acute lymphoblastic leukemia with or without an MLL gene rearrangement, with emphasis on late effects: a final report of two consecutive studies, MLL96 and MLL98, of the Japan Infant Leukemia Study Group. *Leukemia* 21 : 2258-2263. 2007
 7. Nemoto N, Suzukawa K, Shimizu S, Shinagawa A, Takei N, Taki T, Hayashi Y, Kojima H, Kawakami Y, Nagasawa T. Identification of a novel fusion gene MLL-MAML2 in secondary acute myelogenous leukemia and myelodysplastic syndrome with inv(11)(q21q23). *Genes Chromosomes Cancer* 46 : 813-819. 2007
 8. Shimada A, Taki T, Kubota C, Itou T, Tawa A, Horibe K, Tsuchida M, Hanada R, Tsukimoto I, Hayashi Y; Japanese childhood AML cooperative study group. N822 mutation of KIT gene was frequent in pediatric acute myeloid leukemia patients with t(8;21) in Japan: a study of the Japanese childhood AML cooperative study group. *Leukemia* 21 : 2218-2219. 2007
 9. Shimada A, Taki T, Kubota C, Tawa A, Horibe K, Tsuchida M, Hanada R, Tsukimoto I, Hayashi Y. No nucleophosmin mutations in pediatric acute myeloid leukemia with normal karyotype: a study of the Japanese Childhood AML Cooperative Study Group. *Leukemia* 21 : 1307. 2007
 10. Shimada A, Hayashi Y, Ogasawara M, Park MJ, Katoh M, Minakami H, Kitoh T, Kojima S, Kawakami Y, Kimura H. Pro-inflammatory cytokinemia is frequently found in Down syndrome patients with hematological disorders. *Leuk Res* 31:1207-1211, 2007
 11. Komuro H, Saihara R, Shinya M, Takita J, Kaneko S, Kaneko M, Hayashi Y. Identification of side population cells (stem-like cell population) in pediatric solid tumor cell lines. *J Pediatr Surg*. 42:2040-2045. 2007
 12. Shimada A, Taki T, Tabuchi K, Taketani T, Hanada R, Tawa A, Tsuchida M, Horibe K, Tsukimoto I, Hayashi Y. Tandem duplications of MLL and FLT3 are correlated with poor prognoses in pediatric acute myeloid leukemia: A study of the Japanese childhood AML Cooperative Study Group. *Pediatr Blood Cancer* 50 : 264-269, 2008.
 13. Shimada A, Hirato J, Kuroiwa M, Kikuchi A, Hanada R, Wakai K, Hayashi Y. Expression of KIT and PDGFR is associated with a good prognosis in neuroblastoma. *Pediatr Blood Cancer* 50 : 213-217, 2008.
 14. Kawamura M, Kaku H, Taketani T, Taki T, Shimada A, Hayashi Y. Mutations of GATA1, FLT3, MLL-partial tandem duplication, NRAS, and RUNX1 genes are not found in a 7-year-old Down syndrome patient with acute myeloid leukemia (FAB-M2) having a good prognosis. *Cancer Genet Cytogenet* 180 : 74-78, 2008.
 15. Suzuki M, Kato M, Chen Y, Takita J, Sanada M, Nannya Y, Yamamoto G, Atsushi Takahashi A, Ikeda H, Kuwano H, Ogawa S, Hayashi Y. Whole genome profiling of chromosomal aberrations in hepatoblastoma using high-density single nucleotide polymorphism genotyping microarrays *Cancer Science* 99 : 564-570, 2008
 16. Chinen Y, Taki T, Nishida K, Shimizu D, Okudaira T, Yoshida N, Kobayashi C, Koike K, Tsuchida M, Hayashi Y, Taniwaki M. Identification of the novel AML1 fusion partner gene, LAF4, a fusion partner of MLL, in childhood T-cell acute lymphoblastic leukemia with t(2;21)(q11;q22) by bubble PCR method for cDNA. *Oncogene* (in press)
 17. Shimada A, Kato M, Tamura K, Hirato J, Kanegane H, Takechi Y, Park MJ, Sotomatsu M, Hatkeyama S, Hayashi Y. Hemophagocytic lymphohistiocytosis associated with uncontrolled inflammatory cytokinemia and chemokinemia which were caused by systemic anaplastic large cell lymphoma: A case report and review of the literature *J Pediatr Hematol Oncol* (in press)
2. 学会発表
 - 1) 朴明子、滝智彦、嶋田明、外松学、滝田順子、五十嵐隆、花田良二、堀部敬三、林泰秀：T細胞型白血病におけるNOTCH1とP53遺伝子変異についての解析。第110回日本小児科学会学術集会 京都 2007. 4
 - 2) 加藤元博、滝田順子、陳玉彦、山本豪、南谷泰仁、真田昌、滝智彦、小川誠司、林泰秀：小児骨髄性疾患におけるMolecular allelo-karyotyping. 第4回JPLSG研究会 名古屋 2007.6.
 - 3) 嶋田明、滝智彦、多和昭雄、花田良二、堀部敬三、土田昌宏、月下一郎、林泰秀：小児急性骨髄性白血病におけるWT1の高発現はFLT3遺伝子変異と相関する。第4回JPLSG研究会 名古屋 2007.6
 - 4) 朴明子、滝智彦、鈴木信寛、小田慈、八木啓子、小林良二、原純一、堀部敬三、林泰秀：小児T-ALLとT-NHLにおけるNOTCH1遺伝子の解析と臨床的意義。第4回JPLSG研究会 名古屋 2007.6
 - 5) 城青衣、月本一郎、石井榮一、林泰秀、市川仁：マイクロアレイ解析により明らかとなった単球系AMLの発症年齢依存的な遺伝子発現と予後。第4回JPLSG研究会 名古屋 2007.6
 - 6) 滝智彦、清水大介、知念良顕、柳井文男、滝田順子、迫正廣、林泰秀、谷脇雅史：同一の遺伝子が関与するキメラ遺伝子産物の多様性とその

- 評価。日本人類遺伝学会第52回大会 東京 2007.9
- 7) 加藤元博、中村文彦、滝田順子、山本豪、陳玉彦、真田昌、菊地陽、五十嵐隆、林泰秀、小川誠司：高密度オリゴヌクレオチドアレイを用いた神経芽腫における網羅的エピゲノム解析。第66回日本癌学会学術総会 横浜 2007.10
 - 8) 朴明子、滝智彦、小田慈、堀部敬三、林泰秀：小児T細胞型白血病におけるNOTCH1細胞周期関連遺伝子の解析。第66回日本癌学会学術総会 横浜 2007.10
 - 9) 滝田順子、陳玉彦、山本豪、加藤元博、真田昌、王茉莉、南谷泰仁、菊地陽、五十嵐隆、林泰秀、小川誠司：神経芽腫における網羅的ゲノム解析と17q上の候補がん遺伝子であるNBA17遺伝子の同定。第66回日本癌学会学術総会 横浜2007.10
 - 10) 小埜良一、熊谷英敏、中島秀明、殿塚行雄、菱谷愛、滝智彦、林泰秀、北村俊雄、野阪哲哉：Hoxa9とRas-MAPキナーゼ系の協調作用がMLL融合蛋白による急性白血病の発症に重要である。第66回日本癌学会学術総会 横浜 2007.10
 - 11) 知念良頭、滝智彦、西田一弘、清水大介、奥田隆史、吉田直久、小林千恵、小池和俊、土田昌宏、林泰秀、谷脇雅史：バブルPCR法を応用した新しいキメラ転写産物同定法によるt(2;21)を有するT-ALLからのAML1-LAF4融合遺伝子の単離。第66回日本癌学会学術総会 横浜2007.10
 - 12) 城青衣、月下一郎、石井榮一、麻生範雄、五十嵐隆、林泰秀、市川仁：単球系およびMLL遺伝子再構成急性骨髄性白血病における発症年齢依存的な遺伝子発現。第66回日本癌学会学術総会 横浜 2007.10
 - 13) 嶋田明、滝智彦、多和昭雄、花田良二、堀部敬三、土田昌宏、月本一郎、林泰秀：急性骨髄性白血病におけるWT1 mRNAの高発現はFLT3遺伝子変異と相関する。第69回日本血液学会、第49回日本臨床血液学会 横浜 2007.10
 - 14) 小埜良一、熊谷英敏、中島秀明、殿塚行雄、菱谷愛、滝智彦、林泰秀、北村俊雄、野阪哲哉：MLL融合蛋白はRas-MAPキナーゼ系の活性化と相乗的に協調して急性白血病を発症する。第69回日本血液学会、第49回日本臨床血液学会 横浜2007.10
 - 15) 滝田順子、加藤元博、中村文彦、山本豪、真田昌、南谷泰仁、陳玉彦、井田孔明、康勝好、古屋彩夏、五十嵐隆、林泰秀、小川誠司：高密度アレイを用いた乳児白血病の網羅的なゲノム・エピゲノム解析。第69回日本血液学会、第49回日本臨床血液学会 横浜2007.10
 - 16) 知念良頭、滝智彦、西田一弘、清水大介、奥田隆史、吉田直久、小林千恵、小池和俊、土田昌宏、林泰秀、谷脇雅史：バブルPCR法を応用した新しいキメラ転写産物同定法によるt(2;21)を有するT-ALLからのAML1-LAF4の同定。第69回日本血液学会、第49回日本臨床血液学会 横浜2007.10
 - 17) 滝智彦、清水大介、知念良頭、柳井文男、迫正廣、滝田順子、林泰秀、谷脇雅史：切断点集中領域の外側に切断点を有するMLL再構成陽性白血病症例の解析。第69回日本血液学会、第49回日本臨床血液学会 横浜2007.10
 - 18) 朴明子、滝智彦、小田慈、八木啓子、小林良二、鈴木信寛、原純一、堀部敬三、林泰秀：小児T細胞型白血病におけるNOTCH1遺伝変異についての解析と臨床的意義。第69回日本血液学会、第49回日本臨床血液学会 横浜2007.10
 - 19) 陳玉彦、加藤元博、中村文彦、山本豪、真田昌、南谷泰仁、井田孔明、康勝好、古屋彩夏、滝田順子、五十嵐隆、小川誠司、林泰秀：最新のマイクロアレイ技術を用いた若年性急性骨髄単球性白血病における網羅的ゲノム・メチル化解析。第69回日本血液学会、第49回日本臨床血液学会 横浜 2007.10
 - 20) 大西宏明、吉野浩、滝智彦、滝田順子、井田孔明、康勝好、古屋彩夏、谷脇雅史、林泰秀、渡邊卓、別所文雄：MLL-p300キメラ遺伝子を認めた二次性白血病の1例。第69回日本血液学会、第49回日本臨床血液学会 横浜 2007.10
 - 21) 林泰秀、嶋田明、朴明子：小児造血器腫瘍におけるチロシンキナーゼの臨床的意義。第45回癌治療学会総会 京都 2007.10
 - 22) 坂爪悟、椎原隆、丸山健一、林泰秀：小脳低形成を伴う若年型ハンチントン病。第176回日本小児科学会群馬地方会講話会 群馬 2007.11
 - 23) Chinen Y, Taki T, Nishida K, Shimizu D, Okuda T, Yoshida N, Kobayashi C, Koike K, Tsuchida M, Hayashi Y, Taniwaki M : Cloning of AML1-LAF4 Fusion Gene in Childhood T-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia with t(2;21)(q11;q22) by Bubble PCR Method for cDNA. 第49回アメリカ血液学会(ASH) アトランタ 2007.12
 - 24) Park MJ, Taki T, Suzuki N, Oda M, Yagi K, Kobayashi R, Hara J, Horibe K, Hayashi Y : CDC4 and NOTCH1 Mutations in Childhood T-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia and T Cell Non-Hodgkin's Lymphoma; a Japan Association of Childhood Leukemia Study Group. 第49回アメリカ血液学会(ASH) アトランタ 2007.12
 - 25) Jo A, Tsukimoto I, Ishii E, Asou N, Igarashi T, Hayashi Y, Ichikawa H : Age-Associated Difference in Gene Expression of Pediatric Myelomonocytic and MLL-Rearranged AML. 第49回アメリカ血液学会(ASH) アトランタ 2007.12
 - 26) Takita J, Kato M, Nakamura F, Chen Y, Yamamoto G, Nannya Y, Sanada M, Taki T, Kikuchi A, Igarashi T, Hayashi Y, Ogawa S : High-Resolution Analyses of Genetic and Epigenetic Aberrations in Infant Leukemia with MLL Rearrangement. 第49回アメリカ血液学会(ASH) アトランタ2007.12
 - 27) 富澤大輔、磯山恵一、小原明、福島啓太郎、金子隆、加藤陽子、野口靖、太田節雄、嶋田博之、矢部普正、康勝好、真部淳、林泰秀、花田良二、土田昌宏：1歳の小児急性リンパ性白血病の臨床像及び治療成績の検討：東京小児がん研究グループ(TCCSG)からの報告。第49回日本小児血液学会、第23回日本小児がん学会学術集会 仙台 2007.12
 - 28) 高橋浩之、小原明、齋藤正博、福島敬、梶原道

- 子、小嶋靖子、菊地陽、小川千登世、前田美穂、塩原正明、康勝好、真部淳、林泰秀、花田良二、土田昌宏：急性リンパ性白血病の染色体・遺伝子異常と予後：TCCSG ALL L95-14・L99-15研究。第49回日本小児血液学会、第23回日本小児がん学会学術集会 仙台 2007.12
- 29) 清河信敬、藤本純一郎、田口智子、塩沢裕介、斉藤洋平、大喜多肇、梶原道子、福島敬、河崎裕英、犬飼岳史、牧本敦、真部淳、康勝好、小原明、林泰秀、花田良二、土田昌宏：東京小児がん研究グループALL治療第16次研究（TCCSG LO4-16/06-16）におけるマーカー中央診断。第49回日本小児血液学会、第23回日本小児がん学会学術集会 仙台2007.12
- 30) 城青衣、嶋田明、月本一郎、五十嵐隆、林泰秀、市川仁：DNAマイクロアレイによるAML99登録130症例の網羅的遺伝子発現解析。第49回日本小児血液学会、第23回日本小児がん学会学術集会 仙台 2007.12
- 31) 加藤元博、滝田順子、陳玉彦、中村文彦、山本豪、南谷泰仁、真田昌、康勝好、井田孔明、古屋彩夏、滝智彦、五十嵐隆、林泰秀、小川誠司：乳児白血病における網羅的エピゲノム解析。第49回日本小児血液学会、第23回日本小児がん学会学術集会 仙台 2007.12
- 32) 嶋田明、滝智彦、多和昭雄、花田良二、堀部敬三、土田昌宏、月本一郎、林泰秀：急性骨髄性白血病の化学療法後のWT1mRNAの高発現はFLT3遺伝子変異および予後と相関する。第49回日本小児血液学会、第23回日本小児がん学会学術集会 仙台 2007.12
- 33) 滝田順子、陳玉彦、加藤元博、山本豪、南谷泰仁、真田昌、古屋彩夏、康勝好、井田孔明、菊地陽、五十嵐隆、林泰秀、小川誠司：横紋筋肉腫における網羅的ゲノム解析。第49回日本小児血液学会、第23回日本小児がん学会学術集会 仙台 2007.12
- 34) 陳玉彦、加藤元博、滝田順子、中村文彦、山本豪、真田昌、南谷泰仁、井田孔明、康勝好、古屋彩夏、林泰秀、五十嵐隆、小川誠司：若年性急性骨髄単球性白血病における網羅的ゲノム・メチル化解析。第49回日本小児血液学会、第23回日本小児がん学会学術集会 仙台2007.12
- 35) 加藤元博、滝田順子、陳玉彦、中村文彦、山本豪、真田昌、南谷泰仁、康勝好、井田孔明、古屋彩夏、菊地陽、五十嵐隆、林泰秀、小川誠司：神経芽腫におけるDNAメチル化領域の網羅的解析。第49回日本小児血液学会、第23回日本小児がん学会学術集会 仙台 2007.12
- 36) 川村眞智子、賀来秀文、滝智彦、林泰秀：JAK2遺伝子が転座に関与したt(9;17)(p24;q23)をもつ急性リンパ性白血病(ALL)。第49回日本小児血液学会、第23回日本小児がん学会学術集会 仙台 2007.12
- 37) 朴明子、滝智彦、鈴木信寛、小田慈、八木啓子、原純一、小林良二、堀部敬三、林泰秀：小児T-ALLとT-NHLにおけるNOTCH1とCDC4遺伝子の解析と臨床的意義。第49回日本小児血液学会、第23回日本小児がん学会学術集会 仙台2007.12
- H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）
1. 特許取得
なし
 2. 実用新案登録
なし
 3. その他
なし

厚生労働科学研究費補助金（子ども家庭総合研究事業）
分担研究報告書

難治性先天異常症の遺伝子診断の支払い意思額（willingness to pay値）
に関わる検討

分担研究者 新保卓郎
国立国際医療センター研究所
（協同研究者：高橋由光、酒井未知）

研究要旨

（目的）難治性先天異常症の診断のための遺伝子診断技術に関して、医療経済的検討は従来から十分には行われていなかった。本調査ではwillingness to pay (WTP)法を用いて、多発奇形症候群・骨系統疾患を診断する遺伝子検査と、小児白血病の治療支援のための遺伝子検査の価値（便益）を求めた。本調査は予備調査として、WTP値の予想値をえること、調査の妥当性を検討することを主目的とした。

（方法）一般健常成人118名を対象として、contingent valuation methodによりWTP値を測定した。多発奇形症候群・骨系統疾患を診断する遺伝子検査と、小児白血病の治療支援のための遺伝子検査のそれぞれについて、利用可能性（オプション価値）に関する支払意思額、診療現場で利用する場合の支払意思額を質問した。合わせて比較のために他の医療技術のWTP値も求めた。

（結果）利用可能性（オプション価値）の測定では、WTP値はそれぞれ年間629円、854円であった。診療現場での利用に関わるWTP値は、それぞれ24.7万円、28.0万円であった。（考察）これらのWTP値は、予想されるB/C比も含めて、現在健康保険に収載されている他の重要と考えられる検査と同様の水準と考えられた。今回の調査では、対象者の収入との相関が小さく、妥当性についての懸念は残った。また初期値バイアスが認められた。

本年度は上記の解析を行った。また予備調査の結果を踏まえ、新たに各検査の初期値として一定の3群を設定し、各検査間の比較が容易にできるような形とし、対象数を増やして調査を実施した。

A. 研究目的

難治性先天異常症の診断のために、近年遺伝子診断技術が確立されてきた。このような遺伝子診断技術に関わる費用対効果などの医療経済的側面に関しては、従来から十分には検討されていない。

通常最も多く用いられている医療経済的研究手法は、モデルを用いた費用効果分析、あるいはランダム化比較試験の中で実施される費用効果分析である。その中では効果の評価として通常Quality adjusted life years (QALY)が用いられる。しかし、このような手法は本研究では適応し難い。一つ

には、難治性先天異常症の遺伝子診断から得られる情報の利得が患者のみに留まらずその両親に及ぶこと、また QALYの概念をもちいた時に、患児では費用/QALYが相対的に悪化してしまうという重大な倫理的問題を生じるからである。近年、様々な医療技術や医療サービス提供の価値を評価するため、willingness to pay(WTP)（支払意思額）を利用した報告が国内でも漸次が増加しつつある。本研究では、WTPを用いた医療技術の価値の測定を行うこととした。そして、その後の費用便益分析に資することとした。

調査の実施は、平成19年3月である。インターネットを通じた調査を行うこととし、Web上に質問紙に回答するシステムを構築して調査を行った。20年度にこの解析を行い、結果も踏まえて、新たに各検査の初期値として一定の3群を設定し、各検査間の比較が容易にできるような形とし、対象数を増やして調査を実施した。この解析は、21年度の予定である。

B. 研究方法

今回の調査は予備調査として位置づけ、WTP値の予想値を得ること、調査の妥当性を検討することを目標とした。一般成人を対象として、難治性先天異常症に対する遺伝子診断について説明し、その上で最大の支払意思額を質問して調査するcontingent valuation method (CVM法：仮想質問法)を用いた。

対象者は30歳から60歳までの一般健康成人100名を目標とした。対象者は、PLAMED社に調査対象者としてあらかじめ登録されており、学歴・年収は既知である。学歴・年収の情報は調査結果と連結して使用した。

調査票は、2系統の質問紙を用いた。いずれの調査票でも初期値を提示し、その後、自由回答で支払意思額を質問した。どの程度の支払意思額になるかの予測は困難であり、また初期値の影響を検討するため、初期値の低額群と高額群の2群をそれぞれの系統で設定した。

調査票Aでは、先天性難治性疾患や小児白血病に対して遺伝子診断のできる体制が整備され利用可能であること価値（オプション価値）を検討する質問した。設問では、対象となる技術や体制の意義を簡略に説明し、そのうえで、毎年10円あるいは1000円の給料天引きが承知できるか質問し、その後、何円まで支払い可能か自由回答を求めた。他の一般的な公共サービスについて

も質問した。参考として警察、消防、ゴミ処理のための平均的な支出額を提示した。

質問票Bでは、診療の現場のシナリオ設定で検査を受けるかどうかを質問した。調査票Aと同様に、疾病の状況と対象となる医療技術の意義を簡略に説明し、そのうえで、支払額を提示して、検査を受けるか質問した。その後、何円まで支払い可能か自由回答を求めた。小児関連疾患に関わる設問では対象者の負荷も予想され、「いくらでも支払う」という回答を可能とした。比較のため、その他の医療技術の利用に関しても同様に質問した。比較として取り上げたのは、成人の急性疾患での重要検査（大動脈解離を診断する胸部CT）、成人の急性疾患での重要性の低い検査（マイコプラズマ肺炎の確定のためのマイコプラズマ抗体価）、成人の慢性疾患での重要検査（慢性骨髄性白血病の確定診断のための染色体検査）、成人の慢性疾患での比較的重要な検査（糖尿病コントロールの把握のためのHbA1c）、成人の慢性疾患での重要性の低い検査（緊張型頭痛における除外診断のための頭部CT）、予防医療（無症候者への胃内視鏡：胃癌の検診）、不必要な検査（希望による血液型検査）などである。

質問紙の作成に関しては、研究者以外の一般人の意見を求め、またマーケティング調査の専門家から意見を求めた。

解析では各医療技術に対するWTP値を求めるために、ワイブル分布を仮定し、提示額初期値と自由回答の支払意思額の中央値を利用したダブルバウンド法を主要な方法とした（図）。提示された初期値の低値群と高値群を一つの群としてWTP値を求めた。代表値として平均値、頭きり裾きり平均値、中央値を利用できる可能性があるが、今回は対象者数が少なく極端な値の影響を避けるため頭きり裾きり平均値を用いた。計算にはCVM2002を使用した。また副次的な方

法として、自由回答による支払意思額の平均によるWTP値を求めた。この時、「いくらでも支払う」という回答肢の場合は、支払額最大値に置換した。

一部の医療技術については、必要な費用との比較を行った。予算の制約下では便益(B)/費用(C)の比率の大きな医療技術から導入すべきと考えられるため、この比率を求めた。費用は健康保険の立場から考察することとし、診療報酬医科点数表によった。

調査の妥当性の検証のため、年収のWTP額に及ぼす影響を順位相関により検討した。また初期値バイアスの影響を検討した。

C. 研究結果

調査対象者の特性は表1のようである。平均年齢は40歳前後であり、男女はほぼ同数、学歴は多様に分布し、年収は400万-800万円のものが多かった。

検査の利用可能性に関する価値を検討したとき、そのWTP値は表2aのようであった。多発奇形症候群・骨系統疾患を診断する遺伝子検査と、小児白血病の治療支援のための遺伝子検査のWTP値は、それぞれ年間629円、854円であった。同様に質問した小児救急医療の体制整備や災害医療の体制整備と比較して低額ではあるが、同様の水準のWTP値と考えられた。

診療現場での検査の利用に関する価値を検討したときのWTP値は、表2bのようであった。多発奇形症候群・骨系統疾患を診断する遺伝子検査は246,950円、小児白血病の治療支援のための遺伝子検査は280,230円であった。大動脈解離を診断する胸部CT 489,558円よりやや小さいが、慢性骨髄性白血病の確定診断のための染色体検査303,946円など他の重要な医療技術の使用と同様の水準のWTP値であった。

それぞれの医療技術のB/C比をみると(表2b)、大動脈解離を診断する胸部CT、

慢性骨髄性白血病の確定診断のための染色体検査では、それぞれ36.3、12.2であった。マイコプラズマ肺炎の確定のためのマイコプラズマ抗体価、希望による血液型検査のWTP値は10000円以下の低値であるが、費用が小さいため、B/Cは24.5、19.3と大きくなった。

多発奇形症候群・骨系統疾患を診断する遺伝子検査、小児白血病の治療支援のための遺伝子検査では健康保険収載はされていないので、健康保険に関わるB/C比を直接計算することはできない。しかし、悪性腫瘍遺伝子検査20000円を仮に用いれば、それぞれのB/Cは12.4、14.0と比較的良好となる。

各医療技術のWTP値と年収との関連を求めた(表3a,b)。調査票Aでは、相関係数は0から-0.1と関連はみられなかった。調査票Bでは、相関係数は0.07-0.37であり、一部の医療技術については有意な相関関係がみられたが、多発奇形症候群・骨系統疾患を診断する遺伝子検査、小児白血病の治療支援のための遺伝子検査では相関は小さかった。

最初に提示された支払意思額の低額群と高額群でのWTP値(自由回答による最大支払い額)の差を確認することにより、初期値バイアスの検討を行った。低額群で有意に低値であった医療技術は、調査票Aのすべて、調査票Bの無症候者への胃内視鏡

(胃癌の検診)、マイコプラズマ肺炎の確定のためのマイコプラズマ抗体価、緊張型頭痛における除外診断のための単純CT、糖尿病コントロールの把握のためのHbA1cであった。一方、有意差がなかったものは、多発奇形症候群・骨系統疾患を診断する遺伝子検査、小児白血病の治療支援のための遺伝子検査、大動脈解離を診断する胸部CT、希望による血液型検査、慢性骨髄性白血病の確定診断のための染色体検査であった。

多くの医療技術のWTP値で初期値バイアスがあると考えられた。

D. 考案

本調査ではWTP法により、多発奇形症候群・骨系統疾患を診断する遺伝子検査と、小児白血病の治療支援のための遺伝子検査について、一般健常成人が認識する価値を検討した。

まず利用可能性に関する価値（オプション価値）は、年間600円-900円であった。同様に質問した小児救急医療の体制整備や災害医療の体制整備と比較して、低額ではあるが同様の水準のWTP値と考えられた。国内の納税者数を700万人とすれば、40億円-60億円に相当する。

また、診療現場での検査の利用に関わる価値を調査した。多発奇形症候群・骨系統疾患を診断する遺伝子検査と、小児白血病の治療支援のための遺伝子検査は他の重要と考えられ医療技術に匹敵する高いWTP値が得られた。実際の検査に必要な費用はなお評価しておらず、また健康保険にも収載されていない。しかし実際に必要な費用を上回る可能性が大きいほど高いWTP値であり、その点で純便益をうむ医療技術の可能性が考えられた。また健康保険制度のような資源の制約下では、B/Cの比率のよいものから漸次予算の制約まで導入することが有限の資源の効率的な運用と考えられる。B/C比は悪性腫瘍の遺伝子診断検査費用20000円を用いれば、12.4-14.0であり、今回検討した医療技術の中では中等度であった。

妥当性の検討のため、収入とWTP値との相関を検討した。しかし、一部の医療技術に関して有意な相関がみられたが、全体に相関は低かった。各医療技術に関する説明内容をさらに具体的にするなど、より妥当性を高める必要があると考えられた。またWTP値の計算において収入との関連が小

さいため、収入によるWTP値の調整は行わなかった。

初期値バイアスを検討するため、最初に提示する金額によりWTP値が異なるかを検討した。多くの医療技術で高い金額を最初に提示した群でWTP値が有意に高くなっており、初期値バイアスの影響が考えられた。今回のWTP値を計算するにあたっては、初期値の低い群と高い群を同時に計算し、片方だけの影響がでないようにした。今後の調査では提示する初期値が重要と考えられる。今回のWTP値の結果に基づいた初期値設定が望ましいと考えられた。

今回の調査はあくまで予備調査であり、対象者数も少ない。そのため妥当性や信頼性は必ずしも十分ではない。またWTP値を求める方法は、医学研究における医療技術の評価としてなお確立しているとは言い難い。報告により使用される手法が様々であり、基準となる方法も確立していない。この領域での方法論の進展も求められる。

D. 結論

CVM法を用いて、多発奇形症候群・骨系統疾患を診断する遺伝子検査と、小児白血病の治療支援のための遺伝子検査のWTP値を求めた。今回は予備調査であるが、これらの医療技術のWTP値や予想されるB/C比は、他の重要な医療技術と同様の水準である可能性が考えられた。ただ、収入との相関が小さい点など妥当性についての懸念はある。また初期値バイアスが認められ、これらの問題点を踏まえた今後の調査を考慮する必要がある。

参考文献

- 1) 康永秀生, 井出博生, 今村知明, 大江和彦
保健医療サービスに対する仮想評価法

(Contingent Valuation Method) 本邦研究のレビューと海外研究の概要 日本公衆衛生雑誌 53:818-830,2006

2) 樋田美智子, 武村真治 機能訓練教室の費用便益分析 仮想評価法によって測定された支払意思額を用いて 日本公衆衛生雑誌 49:29-40,2002

3) Yasunaga H, Ide H, Imamura T, Ohe K. Willingness to pay for health care

services in common cold, retinal detachment, and myocardial infarction: an internet survey in Japan. BMC Health Serv Res. 20:6:12,2006

4) Sach TH, Smith RD, Whynes DK. A 'league table' of contingent valuation results for pharmaceutical interventions: a hard pill to swallow? Pharmacoeconomics 25:107-27,2007

表 1 : 調査対象者の特性

	調査票A	調査票B
性別		
男性	26	28
女性	29	35
年齢(平均±標準偏差)	40.13±6.61	38.38±7.01
教育歴		
高校卒以下	38.2%	33.4%
高専・専門学校・短大卒	30.9%	33.3%
大学卒以上	30.9%	33.3%
年収		
400万円未満	14.5%	20.7%
400万円－800万円	58.2%	49.2%
800万円－1200万円	23.6%	28.5%
1200万円以上	3.6%	1.6%

表 2 : 各医療技術に対するWTP値

a) 利用可能性に関する価値の検討

調査票A	WTP(B1)	WTP(B2)
多発奇形症候群・骨系統疾患の遺伝子検査施設の設置運営	629	916
白血病の遺伝子検査施設の設置運営	854	783
小児救急医療の体制整備	982	760
災害医療の体制整備	1759	1865

年間の支払意思額を示す。

*WTP(B1)はダブルバウンド法により求めたWTP値。

*WTP(B2)は自由回答によるものを平均して求めたWTP値。

b) 診療現場での検査の利用に関する価値の検討

調査票B	WTP(B1)	WTP(B2)	費用(C)	B1/C
多発奇形症候群・骨系統疾患を診断する遺伝子検査	246,950	247,818		
小児白血病の治療支援のための遺伝子検査	280,230	271,992		
大動脈解離を診断する胸部CT	489,558	459,611	13,500	36.3
マイコプラズマ肺炎の確定のためのマイコプラズマ抗体価	7,831	6,122	320	24.5
慢性骨髄性白血病の確定診断のための染色体検査	303,946	316,635	24,900	12.2
糖尿病コントロールの把握のためのHbA1c	9,215	9,114	550	16.8
緊張型頭痛における除外診断のための頭部CT	13,069	6,681	8,500	1.5
無症候者への胃内視鏡：胃癌の検診	19,705	15,603	11,400	1.7
希望による血液型検査	4,047	2,135	210	19.3

*WTP(B1)はダブルバウンド法により求めたWTP値。

*WTP(B2)は自由回答によるものを平均して求めたWTP値。

表 3 : WTP値と年収との関連(順位相関)

a) 利用可能性に関する価値の検討

調査票A	相関係数
多発奇形症候群・骨系統疾患の遺伝子検査施設の設置運営	0.00
白血病の遺伝子検査施設の設置運営	-0.05
小児救急医療の体制整備	-0.01
災害医療の体制整備	-0.10

b) 診療現場での検査の利用に関する価値の検討

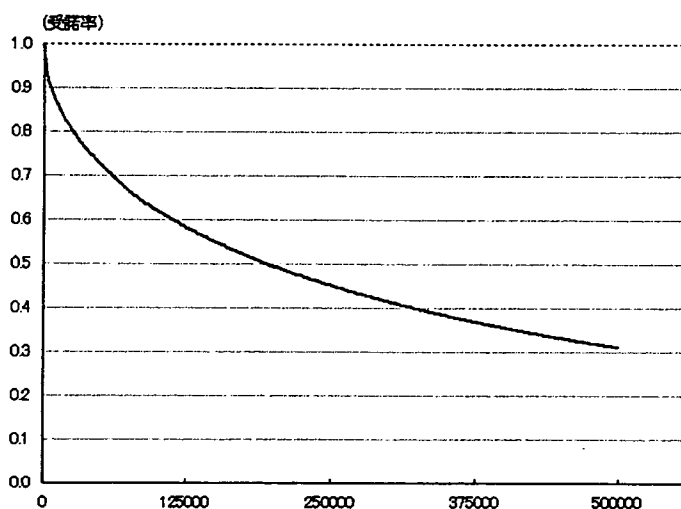
調査票B	相関係数
多発奇形症候群・骨系統疾患を診断する遺伝子検査	0.12
小児白血病の治療支援のための遺伝子検査	0.04
無症候者への胃内視鏡(胃癌の検診)	0.37(**)
マイコプラズマ肺炎の確定のためのマイコプラズマ抗体価	0.17
大動脈解離を診断する胸部CT	0.14
緊張型頭痛における除外診断のための単純CT	0.28(*)
希望による血液型検査	0.07
慢性骨髄性白血病の確定診断のための染色体検査	0.10
糖尿病コントロールの把握のためのHbA1c	0.18

** . 相関は、1 % 水準で有意 (両側)。

* . 相関は、5 % 水準で有意 (両側)。

図

多発奇形症候群に対する遺伝子診断の支払意思額: ワイブル分布のあてはめ



厚生労働科学研究費補助金（子ども家庭総合研究事業）
分担研究報告書
遺伝カウンセリング体制の基盤の整備についての研究

分担研究者 小杉 眞司
京都大学大学院医学研究科教授

研究要旨 研究要旨 小児先天性疾患および難治性疾患における遺伝子診断を実施するにあたって、遺伝カウンセリング体制の基盤整備は欠かせないものとなっている。本分担研究では、日本国内における遺伝カウンセリング体制の基盤の整備状況に関して調査を行った。その結果、遺伝子診療部門を設置する医療施設ならびに臨床遺伝専門医の増加、ならびに認定遺伝カウンセラー養成施設の増加が見られたが、実際の遺伝カウンセリングの需要に対応するためには更なるチーム医療体制の整備が必要となると考えられた。

研究協力者

沼部博直（京都大学大学院医学研究科
准教授）

A. 研究目的

小児先天性疾患および難治性疾患における遺伝子診断を実施するにあたって、被検者およびその家族に対する遺伝カウンセリングは重要である。本分担研究では、日本国内における遺伝カウンセリング体制の基盤の整備状況の実態に関しての調査を行うとともに、その問題点を考察した。

B. 研究方法

遺伝カウンセリングに関連する職種を認定する日本人類遺伝学会ならびに遺伝カウンセリング学会を中心として構成されている臨床遺伝専門医認定制度委員会ならびに認定遺伝カウンセラー制度委員会より、最新の情報を入手し、本邦における遺伝カウンセリングの実態を調査した。

C. 研究結果・考察

1. 遺伝カウンセリング職種の現状

既に本邦においては、日本人類遺伝学会ならびに日本遺伝カウンセリング学会の認定による約540名の臨床遺伝専門医が、遺伝医療の現場において遺伝カウンセリングに対応しているが、両学会による非医師の遺伝カウンセリング職種としての認定遺伝カウンセラー制度も2005年より発足し、2007年までに17名のカウンセラーが認定を受けて、臨床遺伝専門医とともにチーム医療としての遺伝カウンセリングを実施している。

認定遺伝カウンセラー養成専門課程としては、現在、以下の7箇所がある。

1) お茶の水女子大学大学院 人間文化研究科 特設遺伝カウンセリングコース

2) 川崎医療福祉大学大学院 医療福祉学研究科 保健看護学専攻修士課程 遺伝カウンセリングコース

3) 北里大学大学院 医療系研究科 医科学専攻修士課程 遺伝カウンセリング養成プログラム

4) 京都大学大学院 医学研究科 社会健康医学系専攻 専門職学位課程 遺伝カウンセラー・コーディネータユニット

5) 近畿大学大学院 総合理工学研究科 理学専攻 遺伝カウンセラー養成課程

6) 信州大学大学院 医学研究科 医科学修士課程(医科学専攻) 遺伝カウンセリングコース

7) 千葉大学大学院 医学薬学府 医学系修士課程医科学専攻 応用医学医科学コース

また、これらとは別に東海大学大学院 健康科学研究科 看護学専攻では遺伝看護学分野を開設し、遺伝看護師の養成を行っている。

養成人員は各施設とも1学年あたりお茶の水女子大学の10名が最高で、他は数名～6名程度となっている。

2. 遺伝医療における役割分担

実際の医療現場においては、遺伝医療専門職のほかに、カウンセリングを支える臨床心理士、遺伝子検査を施行する臨床検査技師、社会福祉の専門家であるメディカル・ソーシャル・ワーカーなど、多くの職種が遺伝カウンセリングには関与してくる。これらの職種がチーム医療として対応する必要があるのは言うまでもないが、それらの職種がどのよう

な役割分担でカウンセリングに参加するかに関しては、個々の遺伝カウンセリングの状況によって大きく変わってくる。

そのため、遺伝カウンセリングをその目的や参加職種の点からおおまかに類型化すると以下の通りとなると思われる。

1) 現在罹患している疾患の確定診断を目的とする遺伝子検査(診断的遺伝子検査)

遺伝子検査の意義がほぼ確立しているもので、診療行為のひとつとして行われるもの。

将来的には主治医からの要請により、認定遺伝カウンセラーがインフォームド・コンセントを得るまでの説明や、診断後のカウンセリングを行うことになるとと思われる。

2) 発症する可能性の高い疾患の遺伝子診断を目的とするもの(発症前診断)

遺伝子検査の意義は確立しているが、疾患が難治性あるいは進行性の晩年発症の疾患などである場合には、心理的な支援が重要となる。また、検査前の意思確認を反復して行い、検査結果の受容をしやすくする配慮が必要となる。このため、心理職の関与が必要となる可能性が高い。また、遺伝子検査の意義やそのベネフィットならびにリスクに精通した臨床遺伝専門医の参加も要する遺伝子診断である。

3) 現在罹患している疾患の遺伝子を同定するための研究的遺伝子検査(遺伝子診断研究)

主として、研究者からの要請(臨床研究者・基礎研究者を問わない)による、臨床的意義がまだ確立していない遺伝子検査。特定の遺伝子解析だけを目的とする場合と、不特定の遺伝子解析を目的とする場合とがある。

臨床的意義が不確定であることを正確に伝える、また、遺伝子検査で異常が出た場合の意味するものを被検者に理解できる内容で説明することが要求される。この点でも、研究参加へのインフォームド・コンセントを得るに際しては、将来的には認定遺伝カウンセラーがその役割を担うものと考えられる。しかし、この種の研究では、複数の遺伝子解析を行う可能性があり、それぞれの遺伝子に関する詳細な知識が要求されること、具体的な遺伝子解析方法などについての説明も必要とされることなどから、認定遺伝カウンセラーが遺伝子検査一般に関する説明を行った後で、研究者自身や臨床検査技師、臨床遺伝専門医などが、適切な時期に被検者が十分な理解を得られるような説明を追加する必要がある。

4) 罹患している疾患への遺伝子の関与を研究するための遺伝子検査(疫学的遺伝子研究)

主として、罹患者集団を対象とした遺伝

子解析研究で、目的とする遺伝子が未知である場合や遺伝子の関与が明確ではない場合など。

多くの場合には、連結不能匿名化をされた検体によるSNPsを含めた遺伝子解析が行われるため、被検者にその解析結果が直接開示されることはない。このことは重要な点であるため、これをインフォームド・コンセントの時点で、被検者に十分説明を行い、理解を得た上で、自己決定に基づく同意を得られるようにする必要がある。

通常の場合、対象とする集団は人数が多いため、事前に研究内容自体を分かりやすく説明する手段(パンフレット、ビデオ、プレゼンテーションなど)を用意し、これを用いて認定遺伝カウンセラーや、この種の説明に特化して養成されたメディカル・コーディネータが説明を行い、研究参加者が追加の質疑に応じ、場合によってはインフォームド・コンセントを一括して得ることも考えられる。また、適宜、臨床遺伝専門医などが加わって、より高度な遺伝学に関する疑問に応じられるバックアップ体制も整備しておく必要がある。

5) その他

臨床的遺伝子検査における基本は1)に述べた通りであるが、その中でも以下の2つについては、より幅広い職種の参加が必要とされると思われるので、特記する。

a. 出生前診断・着床前診断

出生前診断や着床前診断に関しては、発生学の知識も有する産婦人科の臨床遺伝専門医により詳細な説明が行われることが望ましい。また羊水検査や絨毛検査に関しても、その手技、検査の具体的方法、その結果の解釈などについて正確な知識を持つての説明が要求される。

これらを出生前の限られた時間内に産婦人科臨床遺伝専門医によって行うことは困難であることから、将来的には認定遺伝カウンセラーが基本的説明を行った後に、臨床遺伝専門医が質疑に応じるといった体制になると思われる。また、不妊専門看護師、生殖医療コーディネータなどが、これらの過程において一定に役割を担う可能性もある。

b. 家族性腫瘍遺伝子検査

家族性腫瘍の検査に際しては、家系内の他のメンバーへの遺伝情報の開示が、腫瘍の早期発見・早期治療に結びつくベネフィットがある反面、未発症のメンバーに関しては、発症前診断になることから心理的問題を生じる可能性もある。このため、実際の治療に関わる臨床医、家族性腫瘍に詳しい臨床遺伝専門医、認定遺伝カウンセラー、臨床心理職などがチームを構成して対処することが望ましい。

D. 結論

現在、遺伝子診療部門を設置している医療施設が増加しており、臨床遺伝専門医の研修に必要な要件を満たす医療機関も60近く存在する。しかし、臨床遺伝専門医ならびに遺伝子診療部門担当の看護師などは、ほとんどの施設では、専任ではなく兼任であることから、遺伝子医療の進歩に伴い増加が予想される遺伝カウンセリングなどの遺伝医療には時間的な制約等から対応が困難となるものと考えられる。

この事態に対応すべく、各地で認定遺伝カウンセラーの養成が進められているが、受け入れ側の医療施設としても、チーム医療としての遺伝カウンセリング体制を整え、明確な役割分担を行う中で認定遺伝カウンセラーが十分に活動を行える環境を整備することが望まれる。

また、小児先天性疾患および難治性疾患における遺伝子診断を実施する全国の小児科ならびに関連各科を有する医療施設においては、今後、これらの診断に対応すべく、臨床遺伝専門医のみならず、認定遺伝カウンセラーをはじめとする遺伝医療関連職種の雇用ならびに活用を進めてゆく必要があると考えられる。

幸い、2008年2月13日発表の中央社会保険医療協議会平成20年度診療報酬改定における主要改定項目について(案)の中には、「医療機関が、遺伝病的検査を行う場合には、臨床遺伝学の専門的知識を持ち、本人及び家族等の心理社会的支援を行うことができる者が、遺伝カウンセリングを実施する必要があることから、遺伝カウンセリング実施について評価を行う」として、月1回に限って遺伝カウンセリング加算 500点が認められることとなった。

その要件としては、

1 遺伝カウンセリング加算は、遺伝カウンセリングを要する治療に係る十分な経験を有する常勤の医師が、遺伝病的検査を実施し、その結果について患者やその家族に対し情報提供を行う際に遺伝カウンセリングを実施した場合に算定できる

2 遺伝カウンセリングの実施にあたっては厚生労働省「医療・介護関係事業者における個人情報の適切な取扱いのためのガイドライン」(平成16年12月)及び関係学会による「遺伝学的検査に関するガイドライン」を遵守する

の2点があげられているが、「臨床遺伝専門医」ならびに「認定遺伝カウンセラー」という具体的な職種名はなく、実施主体は不明確なままであるほか、対象となる遺伝学的検査もまだ一部に限られているのが現状である。

なお、本邦における臨床遺伝専門医ならびに認定遺伝カウンセラーの現状についてのインタビュー調査も現在開始されており、その結果についても現在分析中である。

E. 謝辞

本研究の調査ならびに項目整理にあたっては、将来遺伝カウンセラーとして活動すべく研修中である科学技術振興調整費受託事業 京都大学大学院医学研究科社会健康医学系専攻遺伝カウンセラー・コーディネータユニットの大学院生の協力を得た。ここに謝意を表す。

F. 論文発表

Sakazume S, Okamoto N, Yamamoto T, Kurosawa K, Numabe H, Ohashi Y, Kako Y, Nagai T, Ohashi H. (2007) GPC3 mutations in seven patients with Simpson-Golabi-Behmel syndrome. *Am J Med Genet A* 1;143(15):1703-7.

沼部 博直 (2007) Maffucci症候群. *Visual Dermatology* 6(9): 948-949

沼部 博直, 松原 洋一, 小崎 健次郎, 小杉 眞司 (2007) 遺伝子検査ネットワーク. *臨床検査* 51(12): 1621-1623

沼部 博直 (2008) Down syndrome: ダウン症候群. *アレイCGH診断活用ガイドブック*, p.178-180. 稲澤 謙治・蒔田 芳男・羽田 明編, 医薬ジャーナル社, 大阪

小野 晶子, 小杉 眞司. 遺伝学的検査に関連する指針・ガイドライン、インフォームド・コンセント. *臨床検査*. 51:1602-1606

小杉 眞司. 遺伝子解析と倫理審査. *遺伝医療と倫理・法・社会*. *メディカルドゥ* 121-127. 2007

小杉 眞司. 薬剤疫学シンポジウム閉会の辞. *臨床評価*. 34:1-2(2007)

Ohinishi K, Hayama Y, Asai A, Kosugi S. The process of whistleblowing in the nursing staff of a Japanese psychiatric hospital: From the viewpoint of the whistleblowers. *Nursing Ethics*, in press.

Ohinishi K, Hayama Y, Kosugi S. An analysis of patient rights violations in psychiatric hospitals in Japan after the enhancement of the Mental Health Act 1987. *Issues in Mental Health Nursing*, in press

Nagao N, Auliso MP, Nukaga Y, Fujita M, Kosugi S, Youngner S, Akabayashi A. Clinical ethics consultation: examining how American and Japanese experts analyse an Alzheimer's case. , *BMC Medical Ethics*, In press

厚生労働科学研究費補助金（子ども家庭総合研究事業）

分担研究報告書

遺伝子診断の拠点化に伴う倫理的基盤の確立に関する研究
－臨床診断と診断研究の整理の必要性と現状－

分担研究者 掛江 直子
国立成育医療センター研究所成育政策科学研究部
成育保健政策科学研究室長

研究要旨

本分担研究では、小児先天性疾患および難治性疾患における遺伝子診断の拠点化に伴う様々な倫理的問題を検討し、その基盤を確立することを目指した。本年度は、当該研究班において検討している「小児先天性疾患ならびに難治性疾患に対する診断コンサルテーション・システム」の運用の際に、臨床診断と診断研究（遺伝子解析研究）の整理をどのようにすればよいか、それに伴い個人情報保護等にどのような相違が求められるかを倫理学的見地から検討した。

研究協力者

緒方 勤（国立成育医療センター研究所
小児思春期発育研究部長）

についても検討を行うこととする。

A. 研究目的

本分担研究では、小児先天性疾患および難治性疾患における遺伝子診断の拠点化に伴う様々な倫理的問題を検討し、その基盤を確立することを分担課題としている。本年度は、当該研究班において検討している「小児先天性疾患ならびに難治性疾患に対する診断コンサルテーション・システム」の運用の際に、臨床診断と診断研究（遺伝子解析研究）の整理をどのようにすればよいかを倫理学的見地から検討することを目的とした。さらに、患者情報の匿名化のリスクとベネフィットについて併せて検討し、各々の場合における個人情報保護の在り方

B. 研究方法

稀少疾患の診断に際しては、診断経験の少ない医療機関から、対象稀少疾患の診断経験があると推察される拠点医療施設もしくは研究者に対して、診断コンサルテーションがなされてきた。これらは、患者の診断・治療を目的とした医療専門家間の意見交換として、慣例的に許容されてきた行為でと考えられる。近年インターネットや電子メールの普及に伴い、これらの診断相談がネットを介して行われる状況がでてきている。当然のことながら、診断に必要な情報というのは、患者のプライバシー情報であり、かつ先天性疾患もしくは難治性疾患の診断に関する相談に必要な情報というのは家族歴等を含む極めてセンシティブな情報となる。また、場合によっては遺伝子解