

定されたゲノム上の異常の集積点にマップされる遺伝子を検索した。

(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

小児固形腫瘍等の遺伝子診断体制の整備：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、等については、各腫瘍の治療研究グループとの連携により、成育医療センター発生・分化研究部を中心として、各腫瘍の遺伝子中央診断の体制が整備され、検査方法の標準化が完了し、精度管理法も確立された。また、特異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（小児腎臓がん、先天性繊維肉腫、滑膜肉腫、明細胞肉腫、胞巣状軟部肉腫、等）については、昨年度までにその PCR によるキメラ遺伝子検出の検査技術を確定したが、今年度はさらにその検査方法の標準化を進め、使用するプライマー配列の性能の確認、核酸抽出方法および cDNA 合成法や PCR 法についての種々の条件検討を実施し、実際の検査に用いるプロトコールの確定作業を行い、検査体制と精度管理法の整備を進めた。また、小児がん登録事業との連携によって、これらの小児稀少腫瘍疾患の遺伝子中央診断を実際に実施するために必要な、患者登録や検体の受付方法の体制整備を試みた。

小児腫瘍および腫瘍関連先天性疾患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、昨年度までに、B 前駆細胞性急性リンパ球性白血病 122 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てきたが、今年度はさらにその解析を進めた。

昨年度までに、マイクロアレイ解析による hyperdiploid 症例における増幅染色体の傾向が明らか

になり (図 1)、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。今年度は、さらに個々の集積点にマップされる機能遺伝子についてデータベースを用いた検索を行い、上記の集積点に 255 の機能遺伝子が局在していることが明らかとなった。その内訳は、転写因子 22、細胞周期制御関連 7、刺激伝達関連 42、アポトーシス関連 3、ユビキチン化 3、その他 158、未同定 20、であった。表 1 に、転写因子および細胞周期制御関連因子を示す。

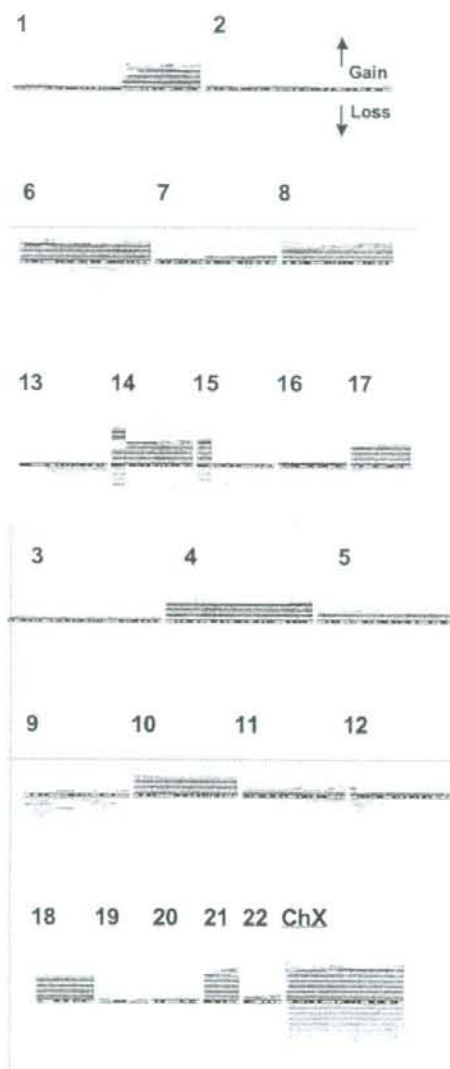


図 1 B 前駆細胞性急性リンパ球性白血病の全ゲノムの増減

表 1 ゲノム異常の集積点にマップされた転写因子および細胞周期関連因子
今回の検討によって特定された遺伝子のうち、nc

転写因子		
1	Chr-1	p36.12 Eukaryotic translation initiation factor 4
2	Chr-1	p34.1 Eukaryotic translation initiation factor 2B
3	Chr-1	p34.1 Zinc finger SWIM domain containing 5
4	Chr-1	q21.1-q21.2 Zinc finger A20 domain containing protein 1
5	Chr-1	q23.3 Pre-B-cell leukemia transcription factor 1 (PBX1)
6	Chr-1	q21.1 Zinc finger protein 364
7	Chr-3	p14.2 Zinc finger protein 312
8	Chr-4	q21-A Ring finger and CHY zinc finger domain
9	Chr-4	q31.1 ETS-related transcription factor Eif-2
10	Chr-4	q31.1 Forkhead box W7 isoform 2
11	Chr-5	p14.1 POU domain, class 6, transcription factor 2
12	Chr-5	q11.21 zinc finger protein 92 (HTF12)
13	Chr-5	p12.2 Zinc finger protein subfamily 1A (Ikaros, IKZF1)
14	Chr-6	q24.22-q24.23 Zinc finger protein 406
15	Chr-9	p24.3 Forkhead box D4 (FOX D4)
16	Chr-9	p13.2 Paired box 5 (PAX 5)
17	Chr-12	p13.31 Forkhead box J2 (FOX J2)
18	Chr-12	q13.3 Bromodomain adjacent to zinc finger domain, 2A
19	Chr-13	q14.11 E74-like factor 1 (ets domain transcription)
20	Chr-21	q21.3 GA binding protein transcription factor, α
21	Chr-22	q11.22 Zinc finger protein 280B
22	Chr-22	q11.22 Zinc finger protein 280A
細胞周期関連		
1	Chr-4	q21-A Cyclin-dependent kinase-like 2
2	Chr-5	p14.1 Cell division cycle 2-like 5 isoform 2
3	Chr-8	q22.1 Cyclin E2
4	Chr-8	q22.1 Tumor protein p53 inducible nuclear protein 1
5	Chr-9	p21.3-B Cyclin-dependent kinase inhibitor 2A isoform 1
6	Chr-9	p21.3-C Cyclin-dependent kinase inhibitor 2B isoform 1
7	Chr-19	p13.3 CDC34

finger protein subfamily 1A (Ikaros) は、以前から小児白血病における異常が知られており、最近その予後との関連が海外から報告されている。また、Paired box 5 は B 細胞の分化に関わる因子であり、やはり海外から小児白血病における異常の存在と発症機構との関連について報告されている。上記因子の他に、これまでに報告されていない因子が多数含まれていることから、これらの因子の中に小児白血病の発症に関与し、新たな診断や予後予測法開発に応用可能なものが含まれている可能性が期待される。そこで、さらに有望な因子を絞り込む目的で、今回検討した症例の RNA を用いて、マイクロアレイを用いた網羅的発現遺伝子解析に着手した。さらに、同様の手法を用いて Wilms 腫瘍等の固形腫瘍についての標的因子探索を開始した。

D. 考察

本研究の成果によって、小児固形腫瘍全般に対するキメラ遺伝子検出検査法が整備された。症例数が多い主要な固形腫瘍 (Ewing 肉腫、横紋筋肉腫、神経芽腫、Wilms 腫瘍等) については、治療研究グループとの連携によって、成育医療センターを中心として、遺伝子中央診断と検体保存体制が確立し、すでに実施されている。稀有な小児固形腫瘍については、成育医療センターにおけるキメラ遺伝子検出検査実施体制は整ったものの、疾患登録や検体送付のシステムが確立されていないため、実際の中央診断の実施には至っていない。これに対して、現在、小児がん登録と病理中央診断実施の体制整備が進められており、今後はこれと連携し、稀有な小児固形腫瘍についても病理およびキメラ遺伝子中央診断を成育医療センターを拠点として

実施することを目指す。

マイクロアレイを用いた網羅的なゲノム構造解析によって、本邦の小児 B 前駆細胞性急性リンパ球性白血病のゲノム構造異常の特徴が明らかとなり、予後判定を含めた遺伝子診断に有用性が期待される候補因子が多数同定された。今後さらに、マイクロアレイを用いた網羅的発現遺伝子解析の結果と組み合わせることにより、診断に有用な遺伝子の絞り込みを図る。また、現在、Wilms 腫瘍などの固形腫瘍に対して同様の手法による網羅的なゲノム構造解析に着手しており、今後、その成果によって、小児固形腫瘍や腫瘍関連先天性疾患における遺伝子診断法開発に応用可能な候補遺伝子の探索が期待される。

E. 結論

ほとんどの小児固形腫瘍疾患に対するキメラ遺伝子検出の検査技術が整い、主要疾患については、実際に中央診断が実施されている。さらに、現在、稀少な小児固形腫瘍疾患の中央遺伝子診断を実際に行うための体制整備を進めている。また、小児 B 前駆細胞性急性リンパ球性白血病の網羅的なゲノム構造解析によって、今後診断への有用性が期待される候補遺伝子が多数同定され、今後はさらに Wilms 腫瘍等の固形腫瘍について、同様の検討を行っていく。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- Miyagawa Y, Okita H, Nakajima H, Horiuchi Y, Sato B, Taguchi T, Toyoda M, Katagiri YU, Fujimoto J, Hata J, 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*. 2008;28(7):2125-37.
- Saito Y, Miyagawa Y, Onda K, Nakajima H, Sato B, Horiuchi Y, Okita H, Katagiri YU, Saito M, Shimizu T, Fujimoto J, Kiyokawa N. B-cell-activating factor inhibits CD20-mediated and B-cell receptor-mediated apoptosis in human B cells.

Immunology. 2008;125(12):570-590.

3. Shiozawa Y, Takenouchi H, Taguchi T, Saito M, Katagiri YU, Okita H, Shimizu T, Yamashiro Y, Fujimoto J, Kiyokawa N. Human Osteoblasts Support Hematopoietic Cell Development in vitro. *Acta Haematologica*. 2008 ;120(3):134-145.
4. Miyagawa Y, Okita H, Katagiri YU, Fujimoto J, Hata J-I, UmezawaA, Kiyokawa N. EWS/ETS regulates the expression of the Dickkopf family in Ewing's family tumor cells. *PLoS ONE*. (in press)
5. Kitamura N, Katagiri YU, Itagaki M, Miyagawa Y, Okita H, Mori A, Fujimoto J, Kiyokawa N. The expression of granulysin in systemic anaplastic large cell lymphoma in childhood. *Leukemia Research*. (in press)

2. 学会発表

1. Yoshitaka Miyagawa, Hajime Okita, Hideki Nakajima, Yasuomi Horiuchi, Ban Sato, Tomoko Taguchi, Masashi Toyoda, Yohko U. Katagiri, Junichiro Fujimoto, Jun-ichi Hata, Akihiro Umezawa, Nobutaka Kiyokawa. Induction of Ewing's family tumor-like characteristics in human bone marrow-derived mesenchymal progenitor cells by chimeric EWS/ETS proteins. The American Association for Cancer Research (AACR) Annual Meeting 2008, San Diego, CA, Apr 12-16, 2008.
2. Hajime Okita, Atsuko Nakagawa, Jun Matsui, Kentaro Matsuoka, Yohko U. Katagiri, Junichiro Fujimoto, Jun-ichi Hata, Nobutaka Kiyokawa. Determination of MYCN Gene Amplification in Archival Neuroblastic Tumors by Chromogenic in situ hybridization. *Advances Neuroblastoma Research 2008*, Chiba, May 21-24, 2008.
3. 大喜多 肇, 松井 淳, 中川 温子, 松岡 健太郎, 片桐 洋子, 藤本 純一郎, 秦 順一, 清河 信敬. パラフィン切片を用いた Chromogenic in situ hybridization による神経芽腫における MYCN 遺伝子増幅の判定. 第 97 回日本病理学会総会, 金沢, 5 月 15 日-17 日, 2008.
4. 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. Ewing's ファミリー腫瘍特

異的融合遺伝子 EWS/ETS による DKK ファミリー遺伝子群の発現制御. 第 97 回日本病理学会総会, 金沢, 5 月 15 日-17 日, 2008.

5. 清河 信敬, 加藤 元博, 藤本 純一郎, 宮川 世志幸, 恩田 恵子, 大喜多 肇, 齋藤 正博, 牧本 敦, 真部 淳, 康 勝好, 小原 明, 林 泰秀, 花田 良二, 土田 昌宏, 小川 誠司. 高密度 SNP マイクロアレイを用いた本邦の小児急性リンパ芽球性白血病の molecular karyotyping. 第 70 回日本血液学会総会, 京都, 10 月 10 日-12 日, 2008.
6. Yoshitaka Miyagawa, Hajime Okita, Ban Sato, Yasuomi Horiuchi, Hideki Nakajima, Yoko Katagiri, Akihiro Umezawa, Jun-ichi Hata, Junichiro Fujimoto, Nobutaka Kiyokawa. Transcriptional regulation of Dickkopf2 by EWS/ETS in Ewing family tumor cells. 第 67 回日本癌学会学術総会, 名古屋, 10 月 28 日-30 日, 2008.
7. 宮川 世志幸, 大喜多 肇, 佐藤 伴, 堀内 保臣, 中島 英規, 片桐 洋子, 梅澤 明弘, 秦 順一, 藤本 純一郎, 清河 信敬. Ewing ファミリー腫瘍特異的融合遺伝子 EWS/ETS による Dickkopf2 の発現制御. 第 31 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 9 日-11 日, 2008

H. 知的財産権の出願・登録状況

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

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

研究分担者 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。現在進行しているAML-05 プロトコールでは遺伝子解析システムが確立し、我々がみい出した *FLT3*-ITD の有無で治療の層別化を行なっている。さらに前方視的研究として形態、マーカー、染色体、遺伝子解析結果を用いた中央診断を立ち上げこれまでに 100 例以上の検討を行なっている。今回はさらに *WT1* 遺伝子の発現と変異および *NPM1* 遺伝子変異解析の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に応じて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。我々は昨年までに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い *FLT3*, *KIT*, *MLL*, *RAS*, *nucleophosmin(NPM1)* と *BRAF* 遺伝子の解析と予後の相関を検討してきた。また新たに開始されたAML-05プロトコール症例の形態、マーカー、染色体、キメラ遺伝子等の中央診断を開始してきた。

近年、正常核型のAMLで *WT1* 遺伝子変異が強力な予後因子となることが成人領域で報告された。*WT1* 遺伝子は、小児の腎腫瘍であるWilms腫瘍の原因遺伝子の1つとして単離され、癌抑制遺伝子と考えられている。*WT1* 遺伝子はジンクフィンガー型の転写因子をコードしており、この転写因子は成長因子遺伝子 (*PDGF α* 鎖, *CSF-1*, *IGF-II*), 成長因子レセプター遺伝子 (*IGF-IR*, *EGFR*) や、その他の遺伝子 (*RAR- α* , *c-MYC*, *c-MYC*, *BCL2*, オルニチン脱炭酸酵素, *N-MYC*) の転写を抑制する。今年度は *WT1* 遺伝子の発現と変異解析を行ない、予後との関係を検討した。また正常核型で検討した *NPM1* 遺伝子の解析をAML99の全例で行なった。

B. 研究方法

WT1 遺伝子の発現については初診時は全例で、寛解時は検体が検索可能であった76例でreal-time PCR法を用いて検索を行った。また *WT1* 遺伝子の変異の解析

は、白血病細胞株16株(AML9株, AMoL5株, AMKL2株)およびAML臨床検体138例についてRNAを抽出し、変異の報告のある *WT1* 遺伝子の exon7-9 について、直接塩基決定法にて変異の有無を検討し、予後との相関について検討した。

現行の東京小児白血病研究グループ(TCCSG)16次案における、小児急性リンパ性白血病(ALL)の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ついても、遺伝子解析の基盤整備を行う。

(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

WT1 遺伝子の real-time PCR 法による発現解析では、初診時の *WT1* の値は予後とは相関しなかったが、*FLT3*-ITD 異常と相関していた。寛解時の微小残存病変(MRD)の解析では予後と相関しており、今後RMDによる治療の層別化ができる可能性が示唆された。

AML臨床検体における *WT1* 変異の頻度は解析可能であったAML臨床検体138例中変異を認めた症例は計8例(exon75例, exon81例, exon92例)で、exon7, exon8, exon9のいずれかに alternative splicing による欠失を認めた症例は計23例(exon710例, exon81例, exon99例, exon7とexon92例, exon8とexon91例)であった。

NPM1 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。今回の150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。

また現行のJPLSGのAML-05プロトコールに登録される症例については、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人の専門家により行ない、すでに100例が検討された。

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やFBXW7遺伝子および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を行なう予定である。

D. 考察

WT1の発現に関して、成人のAMLでは初診時のWT1の値と予後が相関するとする報告と相関しないとする報告がある。これまで小児AMLの報告はほとんどみられない。今回の我々の結果は、予後とは相関しなかったが、寛解時のWT1値(MRD)は予後と相関していた。

WT1遺伝子の変異に関して、臨床検体のcDNAのみの解析では、解析対象領域にalternative splicingによるexonの欠失を認める症例が多く、正確な変異の頻度は検索できなかったが、解析しえた範囲では、WT1遺伝子変異を有する症例では有さない症例と比べ、KIT変異を有する割合が有意に高かった。また、WT1遺伝子変異を認める症例では、寛解導入率、無病生存率、全生存率が低い傾向がみられ、今後小児AMLにおけるWT1遺伝子変異の臨床的意義を検討するためには、より多数例でのDNAを用いた解析が必要である。cDNAの解析でみられた、alternative splicingの意義は不明であり、今後正常検体との比較が必要であると思われる。

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とそれを用いたMRDを行なっている。キメラ遺伝子を用いたMRDも行っており今後、臨床像との関連の解析とさらなる精度管理の検討が必要と思われる。

ALLでは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、FBXW7、HOX、ABL1遺伝子のキメラ遺伝子等を検索する予定である。さらにT細胞受容体や免疫グロブリンを用いたMRDについても行う予定である。

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行なった。これらの遺伝子の予後との関連の検討を行い、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し、治療成績の向上に貢献する予定である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 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
2. Matsuoka S, Oike Y, Onoyama I, Iwama A, Arai F, Takubo K, Mashimo Y, Oguro H, Nitta E, Ito K, Miyamoto K, Yoshiwara H, Hosokawa K, Nakamura Y, Gomei Y, Iwasaki H, Hayashi Y, Matsuzaki Y, Nakayama K, Ikeda Y, Hata A, Chiba S, Nakayama KI, Suda T. Fbxw7 acts as a critical fail-safe against premature loss of hematopoietic stem cells and development of T-ALL. *Genes Dev.* 22 :986-991, 2008
3. Tauchi H, Tomizawa D, Eguchi M, Eguchi-Ishimae M, Koh K, Hirayama M, Miyamura N, Kinukawa N, Hayashi Y, Horibe K, Ishii E. Clinical features and outcome of MLL gene rearranged acute lymphoblastic leukemia in infants with additional chromosomal abnormalities other than 11q23 translocation. *Leuk Res.* 32 : 1523-1529, 2008
4. 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
5. Chinen Y, Taki T, Nishida K, Shimizu D, Okuda 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*. 27 : 2249-2256, 2008
6. Suzuki M, Kato M, Chen Y, Takita J, Sanada M, Nannya Y, Yamamoto G, 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
 7. Manabe A, Ohara A, Hasegawa D, Koh K, Saito T, Kiyokawa N, Kikuchi A, Takahashi H, Ikuta K, Hayashi Y, Hanada R, Tsuchida M. Significance of the complete clearance of peripheral blasts after 7 days of prednisolone treatment in children with acute lymphoblastic leukemia: the Tokyo Children's Cancer Study Group Study L99-15. *Haematologica*. 93 : 1155-60. 2008
 8. Sawada T, Nishiyama C, Kishi T, Sasazuki T, Komazawa-Sakon S, Xue X, Piao JH, Ogata H, Nakayama J, Taki T, Hayashi Y, Watanabe M, Yagita H, Okumura K, Nakano H. Fusion of OTT to BSAC results in aberrant up-regulation of transcriptional activity. *J Biol Chem*. 283: 26820-26828, 2008
 9. Chen Y, Takita J, Choi YL, Kato M, Ohira M, Sanada M, Wang L, Soda M, Kikuchi A, Igarashi T, Nakagawara A, Hayashi Y, Mano H, Ogawa S. Oncogenic mutations of ALK kinase in neuroblastoma. *Nature*. 455: 971-974. 2008
 10. Hiwatari M, Ono R, Taki T, Hishiya A, Ishii E, Kitamura T, Hayashi Y, Nosaka T. Novel gain-of-function mutation in the extracellular domain of the PDGFRA gene in infant acute lymphoblastic leukemia with t(4;11)(q21;q23). *Leukemia*. 22 : 2279-2280, 2008
 11. Taketani T, Taki T, Sako M, Ishii T, Yamaguchi S, Hayashi Y. MNX1-ETV6 fusion gene in an acute megakaryoblastic leukemia and expression of the MNX1 gene in leukemia and normal B cell lines. *Cancer Genet Cytogenet*. 186 : 115-119, 2008
 12. Shimada A, Kato M, Tamura K, Hirato J, Kanegane H, Takechi Y, Park MJ, Sotomatsu M, Hatakeyama S, Hayashi Y. Hemophagocytic lymphohistiocytosis associated with uncontrolled inflammatory cytokinemia and chemokineemia which were caused by systemic anaplastic large cell lymphoma: A case report and review of the literature *J Pediatr Hematol Oncol* 30 : 785-787, 2008
 13. Matsushita H, Nakajima H, Nakamura Y, Tsukamoto H, Tanaka Y, Jin G, Yabe M, Asai S, Ono R, Nosaka T, Sugita K, Morimoto A, Hayashi Y, Hotta T, Ando K, Miyachi H. C/EBPalpha and C/EBPvarepsilon induce the monocytic differentiation of myelomonocytic cells with the MLL-chimeric fusion gene. *Oncogene* 27 : 6749-6760, 2008
 14. Ohnishi H, Taki T, Yoshino H, Takita J, Ida K, Ishii M, Nishida K, Hayashi Y, Taniwaki M, Bessho F, Watanabe T. A complex t(1;22;11)(q44;q13;q23) translocation causing MLL-p300 fusion gene in therapy-related acute myeloid leukemia. *Eur J Haematol* 81 : 475-480, 2008
 15. Jo A, Tsukimoto I, Ishii E, Asou N, Mitani S, Shimada A, Igarashi T, Hayashi Y, Ichikawa H. Age-associated difference in gene expression of pediatric acute myelomonocytic lineage leukemia (FAB M4 and M5 subtypes) and its correlation with prognosis. *Brit J of Haematol* (in press)
 16. Park MJ, Taki T, Oda M, Watanabe T, Yumura-Yagi K, Kobayashi R, Suzuki N, Hara J, Horibe K, Hayashi Y. FBXW7 and NOTCH1 mutations in childhood T cell acute lymphoblastic leukaemia and T cell non-Hodgkin lymphoma. *Brit J of Haematol* (in press)
- ## 2. 学会発表
1. Park MJ, Taki T, Oda M, Yagi K, Kobayashi R, Suzuki N, Hara J, Horibe K, Hayashi Y : FBW7 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 48 回イギリス血液学会 2008.4.5-9 イギリス
 2. 山田佳之、林泰秀: 好酸球増多症候群/好酸球性白血病マウスモデルの検討。第 111 回日本小児科学会学術集会 2008. 4.25-27 東京
 3. 滝田順子、陳玉彦、加藤元博、山本豪、南谷泰仁、真田昌、菊地陽、小川誠司、林泰秀、五十嵐隆: 横紋筋肉腫における網羅的ゲノム解析。第 111 回日本小児科学会学術集会 2008. 4.25-27 東京
 4. 加藤元博、滝田順子、陳玉彦、康勝好、井田孔明、菊地陽、滝智彦、林泰秀、小川誠司、五十嵐隆: マイクロアレイを用いた乳児白血病の網羅的ゲノム・エピゲノム解析。第 111 回日本小児科学会学術集会 2008. 4.25-27 東京

5. 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、小川誠司、林泰秀、五十嵐隆：若年性急性骨髄球性白血病における網羅的ゲノム・メチル化解析。第111回日本小児科学会学術集会 2008.4.25-27 東京
6. 黒澤秀光、奥谷真由子、萩澤進、佐藤雄也、松下卓、福島啓太郎、杉田憲一、有阪治、朴明子、林泰秀：脳血栓症で発見された JAK2 V617F 変異を伴った本態性血小板血症。第5回北関東がんセミナー 2008.5.10 高崎
7. 加藤元博、滝田順子、陳玉彦、大平美紀、山本豪、真田昌、南谷泰仁、五十嵐隆、菊地陽、中川原章、小川誠司、林泰秀：神経芽腫における網羅的ゲノム解析。第5回北関東がんセミナー 2008.5.10 高崎
8. Kato M, Takita J, Ohira M, Chen YY, Sanada M, Kikuchi A, Igarashi T, Nakagawara A, Hayashi Y, Ogawa S : Molecular allelo-karyotyping of neuroblastoma using high-resolution single nucleotide polymorphism genomic microarrays. ANR 2008.5.21-24 千葉
9. Kato M, Iio M, Takita J, Chen YY, Nakamura F, Sanada M, Watanabe T, Igarashi T, Ogawa S, Hayashi Y : Genome-wide analysis of epigenetic abnormalities in neuroblastoma using oligonucleotide tiling array
10. Takita J, Chen YY, Kato M, Yamamoto G, Sanada M, Nannya Y, Kikuchi A, Igarashi T, Ogawa S, Hayashi Y :High-resolution copy number analysis and identification of target genes in neuroblastoma using high-density SNP-genotyping microarrays. ANR 2008.5.21-24 千葉
11. Sano H, Shimada A, Hirato J, Kuroiwa M, Kikuchi A, Hanada R, Wakai K, Park MJ, Sotomatsu M, Hayashi Y : Expression of KIT and PDGFR is associated with a good clinical outcome in neuroblastoma. ANR 2008.5.21-24 千葉
12. 田内久道、富澤大輔、江口真理子、石前峰奇、康勝好、平山雅浩、宮村能子、絹川直子、林泰秀、堀部敬三、石井榮一：11q23 転座以外の付加的染色体異常を認めた MLL 再構成乳児急性リンパ性白血病の臨床的特徴及び予後。第70回日本血液学会総会 2008.10.10-12 京都
13. 小原明、真部淳、牧本敦、康勝好、小川千登世、磯山恵一、杉田憲一、杉田完爾、野口靖、太田節雄、前田美穂、矢部普正、金子隆、熊谷昌明、梶原道子、高橋浩之、菊地陽、嶋田博之、外松学、福島敬、齋藤正博、林泰秀、花田良二、土田昌宏：小児 ALL に対する化学療法早期の有効性と安全性の検討：TCCSG ALL L04-16 研究。第70回日本血液学会総会 2008.10.10-12 京都
14. 佐野弘純、朴明子、山田佳之、外松学、田村一志、金澤崇、林泰秀：CD10の発現と MLL 再構成が通常のパターンと異なった乳児急性リンパ性白血病の2症例。第70回日本血液学会総会 2008.10.10-12 京都
15. 朴明子、佐野弘純、山田佳之、外松学、菊地陽、花田良二、林泰秀：小児 AML with multilineage dysplasia の2例。第70回日本血液学会総会 2008.10.10-12 京都
16. 滝田順子、加藤元博、陳玉彦、大木健太郎、山本豪、真田昌、南谷泰仁、滝智彦、五十嵐隆、林泰秀、小川誠司：超高密度 SNP アレイを用いた MLL 再構成陽性小児白血病における molecular allelo-karyotyping。第70回日本血液学会総会 2008.10.10-12 京都
17. 大木健太郎、滝田順子、加藤元博、陳玉彦、山本豪、真田昌、南谷泰仁、菊地陽、林泰秀、五十嵐隆、小川誠司：小児急性骨髄球性白血病における Molecular allelo-karyotyping。第70回日本血液学会総会 2008.10.10-12 京都
18. 清河信敬、加藤元博、藤本純一郎、宮川世志幸、恩田恵子、大喜多肇、齋藤正博、牧本敦、真部淳、康勝好、小原明、林泰秀、花田良二、土田昌宏、小川誠司：高密度 SNP マイクロアレイを用いた本邦の小児急性リンパ芽球性白血病の molecular karyotyping。第70回日本血液学会総会 2008.10.10-12 京都
19. 大木健太郎、滝田順子、加藤元博、陳玉彦、真田昌、菊地陽、小川誠司、五十嵐隆、林泰秀：小児急性骨髄性白血病における網羅的ゲノム解析。第67回日本癌学会 2008.10.28-30 名古屋
20. 陳玉彦、滝田順子、加藤元博、大平美紀、真田昌、菊地陽、五十嵐隆、中川原明、林泰秀、小川誠司：神経芽腫における網羅的ゲノム解析および標的遺伝子の同定。第67回日本癌学会 2008. 10.28-30 名古屋
21. 滝田順子、加藤元博、陳玉彦、山本豪、真田昌、南谷泰仁、大木健太郎、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67回日本癌学会 2008.10-28-30 名古屋
22. 加藤元博、中崎久美、竹内健吾、真田昌、千葉滋、石川雄一、滝田順子、林泰秀、森茂郎、小林幸夫、黒川峰夫、小川誠司：悪性リンパ腫における網羅的ゲノム解析。第67回日本癌学会 2008. 10.28-30 名古屋
23. 朴明子、滝智彦、堀部敬三、林泰秀：小児 T 細胞型急性リンパ性白血病における PTEN 遺伝子の解析。第67回日本癌学会 2008.10.28-30 名古屋

24. 城青衣、高橋広夫、月本一郎、堀部敬三、多和昭雄、五十嵐隆、林泰秀、市川仁:DNA マイクロアレイによる小児急性骨髄性白血病の診断。第 67 回日本癌学会 2008.10.28-30 名古屋
25. 滝田順子、加藤元博、陳玉彦、大平美紀、真田昌、菊地陽、本村あい、康勝好、井田孔明、五十嵐隆、中川原章、林泰秀、小川誠司:高密度 SNP アレイを用いた神経芽腫における網羅的ゲノム解析。第 50 回日本小児血液学会・第 24 回日本小児がん学会 2008.11.14-16 幕張
26. 林泰秀:小児 T 細胞型急性リンパ性白血病の最新の仮題一分子病態を中心に。第 50 回日本小児血液学会・第 24 回日本小児がん学会 2008.11.14-16 幕張
27. 康勝好、小原明、磯山恵一、梶原道子、小池和俊、金澤崇、嶋田博之、田中竜平、熊谷昌明、木下明俊、杉田完爾、杉田憲一、真部淳、林泰秀、前田美穂、花田良二、土田昌宏:ALL 標準危険群に対する TCCSG 治療戦略の変遷:TCCSG ALL L85-12、92-13、95-14、99-15 研究。第 50 回日本小児血液学会・第 24 回日本小児がん学会 2008.11.14-16 幕張
28. 恩田恵子、清河信敬、藤本純一郎、齋藤正博、大喜多肇、梶原道子、福島敬、犬飼岳史、牧本敦、真部淳、康勝好、中川温子、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(TCCSG)急性リンパ性白血病(ALL)マーカー中央診断におけるT-ALLのマーカー解析。第50回日本小児血液学会・第24回日本小児がん学会 2008.11.14-16 幕張
29. 小川千登世、小原明、真部淳、菊地陽、康勝好、富澤大輔、藤村純也、井上裕靖、角南勝介、石井栄三郎、塩原正明、森鉄也、高橋裕之、林泰秀、花田良二、土田昌宏:B precursor-ALL に対する中枢神経白血病予防治療の変遷と成績:TCCSG ALL L89-12、92-13、95-14、99-15 研究。第 50 回日本小児血液学会・第 24 回日本小児がん学会 2008.11.14-16 幕張
30. 小嶋靖子、太田節雄、牧本敦、小原明、福島啓太郎、福島敬、犬飼岳史、秋山政晴、子川和宏、矢部普正、康勝好、清河信敬、真部淳、林泰秀、花田良二、土田昌宏:小児急性リンパ性白血病に対する寛解導入療法・早期強化療法の安全性に関する検討:TCCSG L04-16 研究。第 50 回日本小児血液学会・第 24 回日本小児がん学会 2008.11.14-16 幕張
31. 城青衣、高橋広夫、嶋田明、月本一郎、堀部敬三、多和昭雄、石井栄一、五十嵐隆、林泰秀、市川仁:DNA マイクロアレイによる小児急性骨髄性白血病の診断。第 50 回日本小児血液学会・第 24 回日本小児がん学会 2008.11.14-16 幕張
32. 木下明俊、宮地勇人、滝智彦、高橋浩之、林泰秀、多和昭雄:JPLSG AML05 臨床試験における新 WHO 分類を用いた横断的中央診断。第 50 回日本小児血液学会・第 24 回日本小児がん学会 2008.11.14-16 幕張
33. 大木健太郎、滝田順子、加藤元博、陳玉彦、真部淳、菊地陽、五十嵐隆、小川誠司、林泰秀:超高密度オリゴヌクレオチドアレイを用いた小児急性骨髄性白血病における網羅的ゲノム解析。第 50 回日本小児血液学会・第 24 回日本小児がん学会 2008.11.14-16 幕張
34. 佐野弘純、久保田知里、朴明子、山田佳之、外松学、林泰秀:急性骨髄性白血病における WT1 遺伝子変異の解析。第 50 回日本小児血液学会・第 24 回日本小児がん学会 2008.11.14-16 幕張
35. 加藤元博、滝田順子、陳玉彦、真田昌、大木健太郎、本村あい、康勝好、井田孔明、菊地陽、五十嵐隆、林泰秀、小川誠司:高密度 SNP アレイを用いた横紋筋肉腫における Molecular allelo-karyotyping。第 50 回日本小児血液学会・第 24 回日本小児がん学会 2008.11.14-16 幕張
36. 加藤元博、滝田順子、陳玉彦、真田昌、康勝好、井田孔明、本村あい、菊地陽、滝智彦、五十嵐隆、小川誠司、林泰秀:MLL 遺伝子再構成陽性白血病における網羅的ゲノム解析。第 50 回日本小児血液学会・第 24 回日本小児がん学会 2008.11.14-16 幕張
37. 陳玉彦、滝田順子、崔永林、加藤元博、大平美紀、真田昌、菊地陽、五十嵐隆、中川原章、林泰秀、間野博行、小川誠司:ALK 遺伝子の活性化型変異は神経芽腫の発症に関与する。第 50 回日本小児血液学会・第 24 回日本小児がん学会 2008.11.14-16 幕張
38. 外松学、佐野弘純、山田佳之、朴明子、林泰秀:当科で治療を受けた小児がん患者の晩期障害についての検討。第 50 回日本小児血液学会・第 24 回日本小児がん学会 2008.11.14-16 幕張
39. 佐野弘純、若井公子、朴明子、山田佳之、外松学、林泰秀:神経芽腫における receptor tyrosine kinase の発現、変異と臨床像。第 50 回日本小児血液学会・第 24 回日本小児がん学会 2008.11.14-16 幕張
40. 朴明子、滝智彦、佐野弘純、山田佳之、外松学、林泰秀:小児 T 細胞型白血病における PTEN 遺伝子の解析。第 50 回日本小児血液学会・第 24 回日本小児がん学会 2008.11.14-16 幕張

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得
2. 実用新案登録
3. その他

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)に関わる研究

研究分担者 国立国際医療センター研究所 新保卓郎
(共同研究者: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い。本調査では willingness to pay (WTP)法を用いて、難治性先天異常症を診断する遺伝子検査の価値(便益)を求めた。

(方法) 一般健康成人 324名を対象として、contingent valuation method 法により WTP 値を測定した。初期提示額を 1,000 円、10,000 円、100,000 円とするダブルバウンド法を用いた。合わせて比較のために他の医療技術についても WTP 値も求めた。

(結果) WTP 値は頭きり裾きり平均値で、約 38 万円であった。年収との相関もあり、妥当性は昨年度のパイロット調査時より改善していた。

(考察) WTP 値は、予想される B/C 比も含めて、日常診療で用いられる他の重要な検査と同様の水準と考えられた。社会的な便益は費用を上回っていた。

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、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があるからである。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増加している。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。

19 年度のパイロット調査に基づいて妥当性を改善させ、20 年度の調査を行った。

B. 研究方法

一般成人を対象として、難治性先天異常症の遺伝子

診断について説明し、その上で最大の支払意思額を質問する contingent valuation method (CVM 法: 仮想質問法)を用いた(表 1)。

対象者として 30 歳から 60 歳までの一般健康成人 910 名に調査を依頼した。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。

調査はインターネット調査であり、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。調査票は初期値として 1,000 円、10,000 円、100,000 円のいずれかを提示し、支払い意思に応じて 2 度目の値を提示するダブルバウンド法を用いた。

質問票は、診療の現場のシナリオを設定し検査を受けるかどうかを質問した。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。

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、1) 急性疾患での重要検査(髄膜炎での髄液検査、大動脈解離での胸部 CT)、2) 急性疾患での重要性の低い検査(マイコプラズマ抗体価)、3) その他の急性疾患での遺伝子検査(小児急性白血病の予後・治療反応性推定など治療支援のための遺伝子検査)、4) 慢性疾患での重要検査(慢性骨髄性白血病での染色体検査)、5) 慢性疾患での比較的重要な検査(糖尿病コントロール

でのHbA1c)、6)慢性疾患での重要性の低い検査(緊張型頭痛での頭部CT)、7)予防医療(無症候者への胃内視鏡:胃癌の検診)、8)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値を求めるためワイブル分布を仮定した。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、極端な値の影響を避けるため、主に頭きり裾きり平均値を用いた。計算にはCVM2002を使用した。

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。

(倫理面への配慮)

対象者は調査対象として既に登録された一般集団であり、連結不可能匿名化された情報のみを取り扱った。

C. 研究結果

調査対象者の特性は表2のようであった。男女はほぼ同数、年齢は 40.5 ± 7.5 歳(平均±標準偏差)であり、教育歴は多様に分布し、年収は400万-800万のものが多かった。

難治性先天異常症に対する遺伝子診断検査に対するWTP値の分布は図1のようであった。

初期提示額が1,000円、10,000円、100,000円であるときの、WTP値の平均値、頭きり裾きり平均値、中央値は図2のようであった。平均値では初期提示額の影響が大きかった。

難治性先天異常症候群(多発奇形症候群)を診断する遺伝子検査のWTP値は383,524円、小児急性白血病の治療支援のための遺伝子検査は347,111円であった(図3、表3)。他の医療技術と比較した場合、大動脈解離を診断する胸部CT 256,160円や慢性骨髄性白血病の確定診断のための染色体検査182,061円など他の重要な医療技術の使用よりWTP値は大きかった。

各医療技術のWTP値と年収との関連を求めた(表4)。WTP値と年収とのSpearman順位相関係数は0.03-0.26であり、多くの検査に関して有意な関連が

認められた。19年度の調査と比較して妥当性の改善が示された。

D. 考察

本調査ではCVM方を用いたWTP値の調査により、難治性先天異常症候群を診断する遺伝子検査について、一般健康成人が認識する価値を検討した。

収入との相関、重要性との関連があり、妥当性は昨年のパイロット調査より改善した。

難治性先天異常症候群のWTP値は約38万円であり、高いWTP値が得られた。これは他の重要な医療技術に匹敵した。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。

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、19.2であり、今回検討した医療技術の中では中等度であった。

さらに上記の結果を基に費用便益を概算した。

年間1000人の検査を実施機関で受託すると仮定し必要な費用は以下のように仮定。

費用:人件費40,000千円/年

検査(変動費用) 1000人×10千円=10,000千円

検査(固定費用) 2億/5年=40,000千円/年

施設間接経費10,000千円/年

遺伝子診断検査の費用として現在健康保険での2000点20000円を用いると、

検査実施20千円×1000人=20,000千円

検査実施機関での私的費用便益は、費用100,000千円 > 便益20,000千円であり、費用の方が大きい。一方、社会的費用便益は、一人あたり便益が384千円/人であり、費用100,000千円 < 便益384,000千円となり、便益のほうが大きい。

E. 結論

CVM法を用いて、難治性先天異常症候群を診断する遺伝子検査のWTP値を求めた。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。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表1: 調査で用いた質問例

Q17 生まれたお子様は多発奇形症候群にかかっていたと仮定してください。お子様は身体的にも知的にも障害を負っています。あなたの担当医が、新しい遺伝子検査の説明をしました。この検査により、おおむね正確に病名を決定できます。うまく病名が決定できれば、病気の今後の見通しが分かり、より適切に診療を進めることができます。また、次に生まれるお子様が同じ病気にかかる危険性などについて適切なアドバイスができる可能性があります。ただ病名が分かっても病気を治すような治療法がない場合が多いです。このような検査を受けなくても、ある程度は病名の目途はたちますが、不確実です。

担当医は、「この遺伝子検査の実施には 10,000 円かかるのですが、検査を受けますか？」とあなたに質問しました。あなたはこの金額を払って検査を受けますか。

1. はい → それでは 100,000 円なら検査を受けますか？

2. いいえ → それでは 1,000 円なら検査を受けますか？

表2: 回答者の特性(有効回答 324 名)

性別	男性	161
	女性	163
年齢	(平均±標準偏差)	40.5±7.5
教育歴	高校卒以下	31.8%
	高専・専門学校・短大卒	28.9%
	大学卒以上	37.7%
	その他	1.5%
年収	400万円未満	21.3%
	400-800万円	55.5%
	800-1200万円	15.7%
	1200万円以上	7.3%

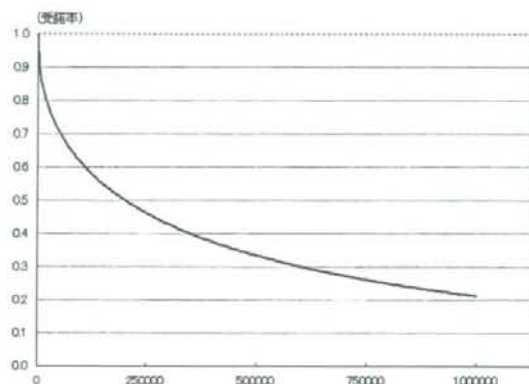


図1: 難治性先天異常症の遺伝子診断検査に対する WTP 値(支払い意思額): (ワイブル分布のあてはめ)

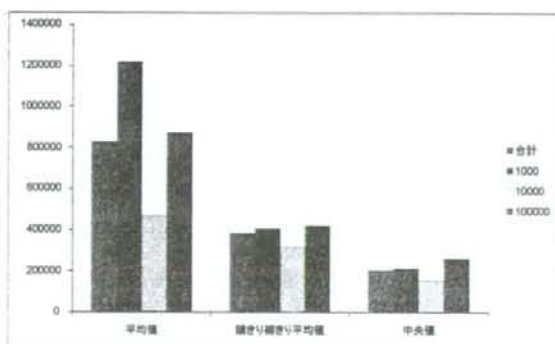


図2: 難治性先天異常症の遺伝子診断検査に対する WTP 値(初期提示額による)

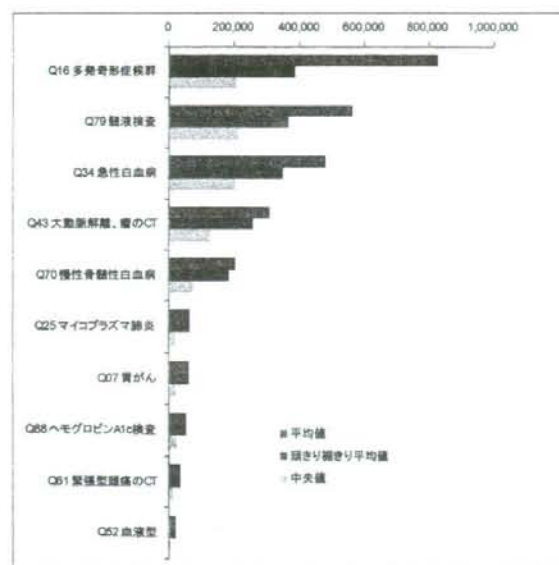


図3:様々な医療技術に対するWTP値

*難治性先天異常症候群: 図中では多発奇形症候群と記載している。

表3:様々な医療技術に対するWTP値

	頭きり裾きり平均値
多発奇形症候群	383,524
髄液検査	364,397
急性白血病	347,111
大動脈解離、瘤のCT	256,160
慢性骨髄性白血病	182,061
マイコプラズマ肺炎	61,429
胃がん	58,818
ヘモグロビンA1c検査	52,512
緊張型頭痛のCT	33,025
血液型	20,439

表4:WTP値と年収との関連(順位相関)

	Spearman	p	
多発奇形症候群	0.1843	0.0012	*
髄液検査	0.1326	0.019	*
急性白血病	0.0342	0.5465	
大動脈解離瘤のCT	0.1869	0.0009	*
慢性骨髄性白血病	0.1459	0.0109	*
マイコプラズマ	0.1969	0.01	*
胃がん検診	0.2315	<0.0001	*
ヘモグロビンA1c検査	0.2533	<0.0001	*
緊張型頭痛	0.1817	0.0035	*
血液型	0.2578	0.0002	*

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

研究分担者 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つい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 530 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、2008 年までに 40 名の遺伝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 8 校がある。

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

8) 東京女子医科大学大学院 先端生命医科学専攻 遺伝子医学分野遺伝カウンセリング専門課程

9 校目として長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科保健学専攻看護学講座が認定遺伝カウンセラー養成専門課程として 2008 年に認定され、2009 年より発足する予定である。

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い配慮が必要となる。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易く説明する手段(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利用ならびに活用を進めてゆく必要性があると考えられる。

幸い、平成20年度診療報酬改定において、「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を対象として、現在の状況についての抽出アンケート調査、それぞれの職種の未成年者の遺伝子検査に関する意識調査、カウンセリング事例の類型化調査、カウンセリング事例に関する抽出インタビュー調査などを行っている。現在のところ、個々の医療施設の臨床遺伝専門医の遺伝カウンセリング担当分野により、それぞれ特徴ある遺伝カウンセリングが行われている現状が明らかとなっているが、その結果の詳細な分析については、現在まだ進行中である。

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

1. Ohinishi K, Hayama Y, Asai A, Kosugi S. The process of whistleblowing in the nursing staff of a Japanese psychiatric hospital. *Nursing Ethics*, 2008. 15(5):631-642.
2. Nagao N, Aulisio 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 Med Ethics*, (2008) 9:2

3. Yamano E, Isowa T, Nakano Y, Matsuda F, Hashimoto-Tamaoki T, Ohira H, Kosugi S. Association study between reward dependence temperament and a polymorphism in the phenylethanolamine N-methyltransferase gene in a Japanese female population. *Compr Psychiatry* (2008) 49:503-507
4. Jin ZB, Mandai M, Yokota T, Higuchi K, Ohmori K, Ohtsuki F, Takakura S, Itabashi T, Wada Y, Akimoto M, Ooto S, Suzuki T, Hirami Y, Ikeda H, Kawagoe N, Oishi A, Ichiyama S, Takahashi M, Yoshimura N, Kosugi S. Identifying pathogenic genetic background of simplex or multiplex retinitis pigmentosa patients: a large scale mutation screening study *J Med Genet*. 2008 Jul;45(7):465-72
5. Kei Kano, Saiko Yahata, Kaori Muroi, Masahiro Kawakami, Mari Tomoda, Koichi Miyaki, Takeo Nakayama, Shinji Kosugi, Kazuto Kato. Multimedia Presentations on the Human Genome: implementation and assessment of a teaching program for the introduction to genome science using a poster and animations. *Biochem Mol Biol Edu*. 2008 36(6):395-401

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

—小児稀少遺伝性疾患の診療情報ネットワークにおける個人情報保護に関する研究—

研究分担者 掛江 直子（国立成育医療センター研究所成育保健政策科学研究室長）

研究要旨

小児稀少遺伝性疾患の自然歴や治療効果を検討する際、信頼性の高い結果を得るためには可能な限り多くの症例数を集めることが重要である。そのためには、国規模での診療情報の集積が不可欠であるし、さらに世界規模での診療情報の集積も望まれている。このようなニーズに対応するならば、データ登録の簡便性ならびに効率性からインターネットを介した情報伝達が最も有効と推察されるが、同時に個人情報漏洩のリスクは高まる。当該分担研究では、本邦での小児稀少遺伝性疾患診療情報ネットワーク構築における個人情報保護の在り方を検討するために、既に確立し運用されているムコ多糖症のグローバルレジストリーにおける個人情報保護システムを調査・分析し、本研究がめざす国内小児稀少遺伝性疾患診断コンサルテーション・システム、およびそれらを基とした国内小児稀少遺伝性疾患レジストリーに必要な個人情報保護体制について提言を行う。

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）
奥山 虎之（国立成育医療センター臨床検査部長）

A. 研究目的

小児稀少遺伝性疾患の自然歴や治療効果を検討する際、信頼性の高い結果を得るためには、可能な限り多くの症例を集めることが重要である。そのため、当該研究班では、小児稀少遺伝性疾患の診断コンサルテーションならびに、それらを基とした国内小児稀少遺伝性疾患レジストリーの構築について検討を進めてきた。しかしながら、インターネット等の簡便かつ効率的なツールを用いて情報を伝達・収集する場合には、個人情報漏洩のリスクに関する検討が不可欠となる。

そこで、当該分担研究では、既に確立し運用されているムコ多糖症のグローバルレジストリーにおける個人情報保護システムを調査・分析し、本研究がめざす診療コンサルテーションおよびそれらを基とした国内レジストリーに必要な個人情報保護体制を検討することを目的とした。

B. 研究方法

ムコ多糖症 I 型および II 型のグローバルレジストリーである MPS-I レジストリーと Hunter Outcome Survey (HOS) における個人情報保護の具体的な取り組みについて、当該稀少疾患の専門医であり本邦の代表である日本ムコ多糖症研究会常任幹事の奥山虎之氏（国立成育医療センター臨床検査部長）へのインタビュー調査、および海外情報集積部門の責任者への電子メールによる問い合わせ調査等を行った。

なお、調査対象としたレジストリー対象疾患であるムコ多糖症は、小児稀少遺伝性疾患の代表的な疾患群であるライソゾーム病の中でもっとも頻度の高い疾患である。しかも、近年、I 型（ハーラー症候群）、II 型（ハンター症候群）、および VI 型（マロトラーミー症候群）において、酵素補充療法という有力な治療法が開発され、その治療効果の評価が求められる状況にある。本調査対象とした MPS-I レジストリーならびに Hunter Outcome Survey (HOS) は、ムコ多糖症の疾患自然歴の解明と酵素補充療法の長期的有効性を検証する目的で、世界規

模での患者登録ならびに長期フォローアップ・システムとして構築されたものである。

今回、本研究が構築を進めている小児稀少遺伝性疾患のインターネットを介した診断コンサルテーション・システム、およびそれらを基にした国内レジストリーの運用のための診療情報のやり取りにおける安全性を向上させることを目的として、上記のグローバルレジストリーにおける個人情報の保護に関する取り組みを調査した。

(倫理面への配慮)

本分担研究では、人ならびに人由来資料等を用いることのない研究であることから、倫理的問題はないと考える。

C. 研究結果

Hunter Outcome Survey (HOS) の運用において、セキュリティ・システムの面では、具体的には以下のことが明らかとなった。

(データ取扱いの方針)

1. データベースへのアクセス制限は、使用者氏名とパスワードを用いて行う。
2. 通信プロトコルとして SSL (Secure Sockets Layer) を用いて、通信の安全性を担保する。具体的には、暗号化、認証、改ざん検出を SSL を用いて行う。
3. 署名アルゴリズムとしては、RSA を用いて、公開鍵証明書に基づく認証を行う。

また、情報集積部門の責任者に対する問い合わせ調査によると、上記のセキュリティ・システムの根拠は、スウェーデンの個人情報保護法 Personal Data Act (SFS 1998:204, SFS 2006:398) にあるという。

以下、参考としてスウェーデンの Personal Data protection (Information on the Personal Data Act) の項目を示すが、EU 加盟諸国は 1980 年に OECD (Organization for Economic Cooperation and Development: 経済開発協力機構) 理事会にて採択された「プライバシー保護と個人データの国際流通についてのガイドラインに関する勧告」(OECD8 原則) を踏まえて定められた EU 個人情報保護指令

(95/46/EU) (以下、EU 指令) に基づきデータ保護のルール化を行っていることから、ほぼ同様の内容から成る個人情報保護のルールを有している。

(Information on the Personal Data Act)

1. Background to the Personal Data Act
2. What does the Personal Data Act mean?
3. The terminology of the Personal Data Act
4. The scope of the Personal Data Act
5. The principle of public access to official documents and also freedom of the press and expression
6. Personal data in unstructured material
7. Fundamental requirements on the processing of personal data
8. Permitted processing of personal data
9. Persons who are registered are entitled to information
10. Certain decisions through data processing
11. Rectification
12. Security when processing data
13. Transfer of personal data to a third country
14. Notification of processing of personal data
15. Supervision
16. Damages and criminal penalties

これらの項目の中で、特に重要なものは、項目13の“Transfer of personal data to a third country”である。この項目では、「個人情報が欧州以外の国に提供されるには、欧州諸国と同等レベルの個人情報保護体制を有する国に限られる」と規定されている。これは、EU指令 第25条 第三国への個人データの移転の原則「個人データの第三国への移転は、この指令に従って採択された国内規定の順守を損なうことなく、当該第三国が十分なレベルの保護措置を確保している場合に限って行うことができることを定めなければならない。」を根拠にもつ項目である。

D. 考察

前述した個人情報保護に関する国内規定について

ては、本邦では個人情報保護に関する法律（以下、個人情報保護法）が2003年に制定され2005年に全面施行されている。本法は、基本的にOECD8原則の内容をカバーするよう構成されており、国際的にもEU指令に基づく個人情報の保護措置が「十分なレベル」にあるとの確認が得られている。このことから、本邦に小児稀少遺伝性疾患レジストリーが構築された場合、国外の国際的レジストリーと情報交換することが可能であるように思える。

しかしながら、レジストリーの基礎となる小児稀少遺伝性疾患の診断コンサルテーションは、専門家ならびに専門医によるボランティアな無償相談がほとんどであり、その情報伝達の媒体には日常的に使用している電子メールが用いられることが多い。電子メールは、通信費用の面でも、迅速さの面でも、極めて簡便なツールであるが、一方で電子メールでのやり取りは、通常情報の暗号化をしないことから、セキュアな情報の伝達には適していない。したがって、近年の個人情報保護に対する社会の意識の高まりに鑑みても、ある一定レベル以上のセキュリティを確保したコンサルテーション・システムを構築・運用が必要となる。しかし、実際にそのようなシステムを構築・運用するとすると、多くの費用と相談者ならびに被相談者の手続き上の煩雑さを受け入れなければならない。

本年度までの当該分担研究において、小児稀少遺伝性疾患の診断コンサルテーション・システム構築を目指し、以下のようなセキュリティ・システムならびに相談手順を検討してきた。

〔相談依頼時のセキュリティ〕

- 1) 暗号化された通信（https）を用いる
- 2) 初回（IDならびにパスワードを取得する前の段階では）最小限の相談内容に限り、指定の相談シートにて依頼する
- 3) 相談を受け付けた際に、相談者のIDならびに初期パスワードを発行し、その後は認証を行う

〔相談・診断時のセキュリティ〕

- 1) コンサルタント（被相談者である専門家ら）はあらかじめ登録されているUSBトークンによる物理鍵の認証を行い、診断についての議論を行う

- 2) 症例情報・相談情報に「公開／非公開」の属性を付して管理し、情報の機密レベルを権限ごとに管理する
- 3) プロトコルにSSLを採用し通信パケットの暗号化を行う
- 4) 外部ネットワークと内部ネットワークの間にファイアウォールを設置し、内部ネットワークの安全性を確保する
- 5) 内部サーバーに症例を蓄積し、レジストリーとしてデータベース化する

内容としては、前述のHOSのセキュリティ・レベルとほぼ同等と考えられる（ただし、USBトークンを用いる点において、より高いといえるかもしれない）。しかし、実際に上記の診断コンサルテーション・システムは稼働に至っておらず、提案するにとどまっている。

E. 結論

小児の稀少遺伝性疾患は、その症例数が少ないことから、医学的にはできるだけ多くの症例の診断・診療情報を蓄積し、病態解明を進めていくことが重要である。また、何より患者にとって専門家による正確な診断ができるだけ早期につくことは極めて重要である。このような理由から、小児の稀少遺伝性疾患の診断コンサルテーション・システム構築による診断の拠点化は非常に重要な課題である。さらに、疾患の稀少性を鑑みると、国内レジストリーはもとより、グローバルレジストリーとのデータの共有が、当該稀少疾患の診療情報の集積に基づく診断・治療の進歩には不可欠である。

このような観点からは、医療における個人情報保護の体制づくりは、全世界的規模で求められていると言えよう。しかしながら、本邦のように、医学専門家が無償で相談業務にあたっている状況が続くならば、この問題の解決は困難であろう。セキュリティに関する専門家の医療分野への参入をより一層推進し、またセキュリティ・システムを構築・運用するための費用等の援助、相談者・被相談者の個人情報保護に対する意識改革等に、様々な視点からの更なる支援が必要なのではないだろうか。