

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

「褐色細胞腫の遺伝子解析の実態調査」に関する研究

研究分担者 加藤 規弘 国立国際医療研究センター
遺伝子診断治療開発研究部長

研究要旨

褐色細胞腫の多くは適切な手術により寛治する。しかし良性か悪性かの鑑別は難しく、患者長期予後の推定が臨床上の大きな懸案である。同疾患の解明・克服のためには、さらなる基盤研究が推進されねばならず、その一アプローチとして遺伝子解析が有望と考えられている。本研究では文献ベースでの実態調査を行い、日本人と欧米人の中で原因遺伝子の内訳・頻度が異なること、そして日本人では未知の（注目されていない）原因遺伝子が少なからず存在する可能性があることが判明した。

A. 研究目的

カテコールアミン産生腫瘍である褐色細胞腫の多くは適切な手術により寛治する。しかし良性か悪性かの鑑別が難しく、当初、良性と診断されたにも拘らず後年になり転移巣が発見され悪性と判明する症例がある。同疾患の解明・克服のためには、さらなる基盤研究が推進されねばならず、その一アプローチとして遺伝子解析が有望と考えられており、本研究はその実態調査を行う。

B. 研究方法

褐色細胞腫の原因遺伝子に関する研究の進捗状況、日本人と欧米人の中での違いについて、文献ベースでの調査を行った。

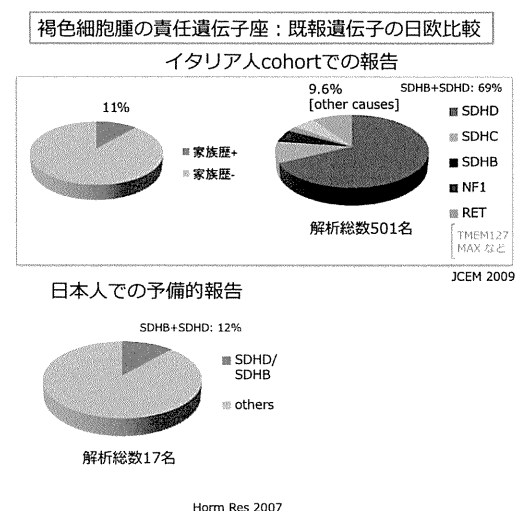
（倫理面への配慮）

症例登録に関する主任研究機関（京都医療センター）の申請内容に基づいて、施設内倫理審査での承認を得ている。

C. 研究結果

褐色細胞腫に関しては、欧米人での大規模遺伝子解析の結果、既に 10 個の責任遺伝子（SDHB、SDHC、SDHD、SDH5、VHL、

RET、PHD2 など）が同定（JCEM 2009）されている。一方、未だ予備的研究結果ではあるが、欧米人で約 70%を占めるとされる SDHB と SDHD 遺伝子変異は日本人では僅か 12% に過ぎないと報告されていた（Horm Res 2007）。



D. 考察

臨床的特徴・フェノタイプとしての人種差は明らかでないが、原因遺伝子の内訳・頻度に関して顕著な人種差が存在し、日本人では未知の（注目されていない）原因遺伝子が少なからず存在する可能性があると考えられる。

E. 結論

我が国でも大規模且つ組織的な褐色細胞腫の遺伝子解析研究に取り組む必要がある。

F. 健康危険情報（総括研究報告書にてまとめ記載）

G. 研究発表

1. 論文発表

Takeuchi F, et al. Kato N.
Genome-wide association study of coronary artery disease in the Japanese. *Eur J Hum Genet*. 2011 Oct 5.
Kato N, Takeuchi F, et al.
Meta-analysis of genome-wide association studies identifies common variants associated with blood pressure variation in east Asians. *Nat Genet*. 2011, Jun;43(6):531-8.

2. 学会発表

加藤規弘. Pathogenesis of Primary Aldosteronism. Primary Aldosteronism Symposium 2011, 東京, 12月, 2011.

H. 知的財産権の出願・登録状況
特になし。

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

「褐色細胞腫の病理解析」に関する研究

研究分担者 木村 伯子 国立病院機構函館病院
臨床研究部病因病態研究室 室長

研究要旨

全国疫学調査と疾患登録事業に並行して登録されている症例の病理組織集中解析を行った。研究は継続中であり、現時点で病理解析が終了したものは 70 例弱であるが、この中には 11 例の悪性褐色細胞腫が含まれている。全症例を 7 個のパラメーターを組み合わせ、スコアリングをする組織分化度分類（GAPP 変法）に基づいて高分化型、中分化型、低分化型に分類した。転移例は高分化型 1(3%)、中分化型 4(24%)、低分化型 6(86%)だった。GAPP 分類は転移を予測するのに有用であったが、さらに症例を重ねて診断者間の一致率の検討やパラメーターの統計学的検討が必要である。また、遺伝子検索で HPPS であることが確認されている患者の腫瘍に対して SDHB 免疫染色を施行した。HPPS は全例 SDHB の免疫染色が陰性で、SDHB 免疫染色による HPPS のスクリーニングの有用性を確認した。さらに HPPS の腫瘍に対して *SDHB* プロブを用いて、FISH 法による LOH の診断の有用性を検討した。

A. 研究目的

褐色細胞腫の約 10% は遠隔転移を伴う悪性褐色細胞腫であるが、手術時点での良・悪性の病理診断は困難である。本研究は全国疫学調査と疾患登録事業と並行して病理組織集中解析を行い、悪性褐色細胞腫の病理学的特徴を明らかにして転移前診断を可能にすることを目的とした。また、最近 10 年間程で確立した新しい疾患である「遺伝性褐色細胞腫—パラングリオーマ症候群（HPPS）」は高頻度に多発と転移をすることが報告されているが、我が国における HPPS の頻度およびその病理組織学的特徴は不明である。

本研究では再発や転移のある症例と無い症例の臨床経過と病理組織所見を対比させ、転移を予測できる病理組織学的悪性度判定の基準を作成する。さらに、我が国における HPPS の頻度とその病理組織

学的特徴を明らかにする。

B. 研究方法

1. スコアリングと組織分化度：褐色細胞腫の組織分化度と患者の予後を調べた GAPP と呼ぶ先行論文に基づき、病理医間の診断の一致率を調べ、GAPP 分類の信頼度の検証とそれの補正を試みた。

1) 本研究の疫学調査と疾患レジストリーに基づいて、病理解析用に未染標本を提供していただく。それを病理解析分担者である木村と加藤の二人がそれぞれ独自に解析をする。その際、病理組織標本のみでなく、肉眼所見と臨床データ（臨床経過、腫瘍の局在、個数、腫瘍の大きさ、転移の有無、産生カテコールアミンの血中および尿中の値）を添付してもらう。

2) 提出された未染標本は通常の HE 染色と EM 染色および免疫染色を施行して、組織パターン、細胞密度、静脈侵入、クロ

モグラニン A (CgA) と増殖細胞マーカー Ki67 陽性率、SDHB の反応を調べる。さらに必要に応じて支持細胞のマーカーである S100 やリンパ管内皮細胞のマーカーの D2-40 や血管内皮細胞のマーカーである Factor VIII 関連抗原等の免疫染色を追加する。

3) 上記の所見を GAPP 分類に基づいたスコアリングを行って、総合点を計算する。スコアリングの点数をデータベースに入力して、第 3 者が統計学的にスコアリングと転移または再発の関係を多変量解析で解析する。

2 . SDHB 免疫染色を行って HPPS のスクリーニングを行う。陰性例は HPPS と考えられるので、我が国における HPPS の頻度とその組織学的特徴を明らかにする。

3 . HPPS 例の腫瘍の原因である *SDHB* は癌抑制遺伝子であり、発がん原因として *SDHB* の LOH があることが報告されている。*SDHB* プローブ (1p36.1-p35 labeled with Texas red) と centromere 1p (CEN1p13.3) labeled with fluorescein-12-dUTP を用いて Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) 法で LOH の有無の検討を行った。

(臨床情報) 匿名化されており、個々人の特定はできないようになっている。

(倫理面への配慮) 本研究を一括して主任研究者の所属機関である国立病院機構京都医療センターの倫理委員会の許可を得ている他に、*SDHB* 変異研究は国立病院機構函館病院の倫理委員会の許可を得ている。

C. 研究結果

1. 本研究は現在研究途上にあり、病理解析がなされているのは約 70 例ほどであるが、その中に転移または再発例が 11 例含まれている。複合型褐色細胞腫等の特殊

型を除いた GAPP に基づく組織分化度の適用例では高分化型が 60%、中分化型が 27%、低分化型が 11%だった。転移・再発例の内訳は高分化型が 3%、中分化型が 24%、低分化型が 86%だった (表 1)。

2. SDHB 免疫染色陰性例は 5 例 (8%) で、そのうち 3 例は転移例だった。

本登録事業と並行して行った過去に蓄積された褐色細胞腫の総数 127 例中、SDHB 陰性例は 22 例 (17%) だった。陰性例の内訳は転移例が 60%、非転移例が 14%だった。また、*SDHB* 変異が確認されている 12 例の腫瘍の SDHB 免疫染色は全例陰性であった。

3 . *SDHB* 変異例の腫瘍に対して FISH 法で LOH の有無の検討を行った。変異の無い症例の腫瘍は *SDHB* の欠損はなかったが、変異例はいずれも *SDHB* のシグナルは 1 個しか確認されず、形態的に LOH が確認された。

D. 考察

褐色細胞腫の再発と転移は組織分化度に依存することが確認された。

今回のスタディはまだ研究途上にあり症例数が十分でないが、現在多数例が送付されてきており、これから更なる症例の蓄積と病理解析がなされる予定である。それを統計学的にパラメーターの検討を行い、より再現性と信頼性のある予後と関連する組織分化度分類の作成をする予定である。また、患者を長期間追跡することにより、さらに転移率が高くなることが予想されるので、随時臨床情報を追加する必要がある。また、腹腔鏡等の手術操作による腹腔内播種は本来の悪性とは区別する必要があり、その鑑別は今後に残された問題点である。SDHB の免疫染色は HPPS の鑑別診断に有用であり、悪性度の評価項目に入れる価値があるだろう。SDHB 陰性例では遺伝子変異の解析と共に

FISHによるLOHを確認するのもHPPSの診断に有用である。

E. 結論

褐色細胞腫の多数例の臨床病理学的解析により、腫瘍の再発転移を推測する組織学的診断基準の完成が目前である。

F. 健康危険情報（総括研究報告書にてまとめて記載）

G. 研究発表（2011.04.01～2012.03.31発表）

1. 論文発表

1. Kimura N, Saito J, Horii A, Ito S. The significance of SDHB immunohistochemistry and FISH analysis on pheochromocytomas and extra-adrenal paragangliomas. *Int J Mol Med* 2011;28(suppl.1):S20.

2. 木村伯子. 褐色細胞腫診療マニュアル(改訂第2版) 分担 第II章 I 褐色細胞腫 病理組織診断 診断と治療社 2011年 印刷中.

3. 木村伯子 褐色細胞腫診療指針2011 分担「第1章 7. 病理組織診断」 厚生労働省 難治性疾患克服研究事業「褐色細胞腫の実態調査と診療指針の作成」研究班 2011年 印刷中.

4. 木村伯子: 内分泌性高血圧症「第4章 病理・病態生理:褐色細胞腫の病理」 「最新医学」別冊 新しい診断と治療のABC シリーズ[73] 2011;最新医学社 印刷中.

5. 木村伯子: 褐色細胞腫における病理診断の進歩. 特集 / 褐色細胞腫の診断と治療 UPDATE. ホルモンと臨床 2011年 印刷中.

6. 木村伯子: 悪性褐色細胞腫の病理組織診断. 褐色細胞腫の診断と治療—最近の進歩と今後の展開 医学のあゆみ 2011; 240 (2): 印刷中.

7. 平野景子、天野 篤、木村伯子、松村武史、山城景子、工藤杏子、酒井 謙、永井史子、大村寛敏、高瀬 優、成瀬光栄、代田浩之. 左房浸潤した心臓傍神経節腫の1手術例. *心臓* 2011; 43: 803-810.

2. 学会発表

1. N. Kimura, J. Saito, A. Horii, S. Ito. The significance of SDHB immunohistochemistry and FISH analysis on pheochromocytomas and extra-adrenal paragangliomas. 16th World Congress on Advances in Oncology and 14th International Symposium on Molecular Medicine. October 2-8, 2011, Rhodes, Greece.

2. 木村伯子、堀井 明: 褐色細胞腫・パラグングリオーマにおける免疫染色とFISHによるSDHB変異の検討 第100回日本病理学会総会 2011年4月28～30日 於 東京

3. 木村伯子 難治性副腎疾患シンポジウム: 診療の課題と新たな展開: Session 1 褐色細胞腫: SDHB免疫染色の診断的意義.

厚生労働省科学研究費補助金難治性疾患克服事業 褐色細胞腫の診断及び治療法の推進に関する研究 第3回班会議 2011年7月2日 於 東京.

4. 木村伯子、竹越一博、堀井 明. コハク酸脱水素酵素変異を伴う褐色細胞腫・パラグングリオーマの病理所見. 第91回北海道医学大会病理分科会・第44回北海道病理談話会 2011年9月10日 於 旭川市

5. 竹越一博、緑川早苗、山田正信、齊藤朋人、杉澤千穂、大塚裕一、稲垣朱美、今井常夫、村井孝児、木村伯子: コハク酸脱水素酵素遺伝子変異を伴う褐色細胞腫・パラグングリオーマのSDHB免疫染色

所見。第 15 回日本内分泌病理学会 2011 年 11 月 23 日～25 日 於 東京
 6. 田辺晶代、上小鶴弘孝、西川俊郎、木村伯子、山本雅一、市原淳弘：術後の病理検査で傍神経節細胞腫と診断された後腹膜偶発腫瘍の一例。第 15 回日本内分泌病理学会 2011 年 11 月 23 日～25 日 於 東京

H. 知的財産権の出願・登録状況： 無
 1. 特許取得
 2. 実用新案登録
 3. その他

表 1. 組織分化度と再発・転移

| 腫瘍局在 | 症例数 (%) | 高分化型 (スコア0-2) | 中分化型 (スコア3-6) | 低分化型 (スコア7-10) |
|------|---------|---------------|---------------|----------------|
| 副腎片側 | 44 | 29 | 13 | 2 |
| 転移 + | 5(11%) | 1(3%) | 2(15%) | 2(100%) |
| 両側副腎 | 5 | 5 | 0 | 0 |
| 転移 + | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 副腎外 | 13 | 3 | 4 | 5 |
| 転移 + | 6(46%) | 0 | 2(50%) | 4(80%) |
| 後腹膜 | 8 | 2 | 3 | 3 |
| 転移 + | 5 | 0 | 2 | 3 |
| 膀胱 | 4 | 1 | 1 | 2 |
| 転移 + | 1 | 0 | 0 | 1 |
| 症例総数 | 62 | 37(60%) | 17(27%) | 7(11%) |
| 転移総数 | 11(18%) | 1(3%) | 4(24%) | 6(86%) |

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

褐色細胞腫の実態調査と診断指針の作成

研究分担者 山崎 力 東京大学大学院医学系研究科・
臨床疫学研究システム学講座 特任教授

研究要旨

臨床疫学研究において、「治療行為の意義（結果）を測る尺度」のことをエンドポイント（Endpoint）という。これには、

1. プライマリエンドポイントとセカンダリエンドポイント
2. 真のエンドポイントと仮の（あるいは代替の）エンドポイント
3. ハードエンドポイントとソフトエンドポイント

があり、研究の目的に応じて最も適切なものを設定する必要がある。

「臨床疫学研究において、治療行為の意義（効果）を測る尺度」のことをエンドポイント（Endpoint）という。エンド（目標）となるポイント（項目）がその語源である。日本語では評価項目と訳される。このエンドポイントには下記の分類がある。

1. プライマリエンドポイントとセカンダリエンドポイント
2. 真のエンドポイントと仮の（あるいは代替の）エンドポイント
3. ハードエンドポイントとソフトエンドポイント

プライマリエンドポイント（主要評価項目、一次評価項目）は、その臨床試験で最も明らかにしたい項目であり、これを証明するために必要最小限の症例を登録、追跡する。たとえば、プライマリエンドポイントに「非致死的心筋梗塞、非致死的大脑卒中、心血管死のいずれかひとつ」が設定されるとする。また、先行研究等の結果から、コントロール群の発症率が 2.4%/年、実薬群のそれが $2.4 \times 0.8 = 1.92\%$ /年と予想された場合、この差を 87%の検

出力（本当は差がある場合に正しい結果を出す確率が 87%であることを表している）、 $p < 0.05$ （本当は差がない場合に差があると誤った結果を出す確率が 5%未満であることを表している）で証明するためには、5,800 人の患者さんを平均 5.6 年追跡する必要があると計算される。プライマリエンドポイントは、通常ひとつだけ設定され、その結果は信頼性の高いものと理解される。一方でセカンダリエンドポイントはひとつの試験の中で複数設定されることが一般的である。多重比較を行うことによる偽陽性の危険が生じるため、得られた結果は示唆された程度と考えるべきであり、このことは新たにプライマリエンドポイントに設定した別の臨床試験で検証すべきである。

真のエンドポイントは、その治療が最終的に求めているもので、死亡、QOL の悪化がその代表例である。心筋梗塞、脳卒中も真のエンドポイントと考えられる。一方、仮のエンドポイントは、真のエンドポイントと強く関連していてその代替となりうるものをいう。血圧値、血糖値、

脂質値、頸動脈の内膜中膜複合体厚といったものがよく使われる。真のエンドポイントと比べて短期間かつ少ない症例数で評価することが可能である。また、一般的には、真のエンドポイントは患者の自覚症状を伴うものであり、仮のエンドポイントは自覚症状を伴わないものである。

ハードエンドポイントとソフトエンドポイントは「一次、二次」「真、仮」とは別の観点からの分類である。ここで“hard”は「確かな」「信頼できる」の意で使われており、“soft”はその逆の「確度の低い」「推論的な」という意である。死亡、血圧値が前者の代表であり、心不全による入院、冠血行再建術といった医療処置が後者の代表的な例である。死亡や血圧値はだれであつても同じ判定を下すことになるが、心不全入院や外科処置となると、A先生の場合なら入院、手術を行うが、B先生なら行わない、といった可能性が考えられるからである。別の例でいうと、糖尿病の新規発症を、「3ヶ月毎に測定した空腹時血糖で126 mg / dℓ以上が2回認められた症例」と定義すればハードとなり、「主治医が糖尿病治療薬を開始した症例」とすればソフトとなる。

臨床疫学研究をデザインする際は、以上のことを十分に理解した上でその目的に応じて最も適切なエンドポイントを設定しなければいけない。

健康危険情報

特記すべきことなし

研究発表

1. 論文発表

永井良三、山崎力 監修、森田啓行、興祐貴英、今井靖 編集：循環器大規模臨床試験要約集 2011年版 アトリクス 2011

2. 学会発表

なし

知的財産権の出願・登録状況

3. 特許取得

特記すべきことなし

4. 実用新案登録

特記すべきことなし

5. その他

特記すべきことなし

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

褐色細胞腫の診断および治療法の推進に関する研究
「新しい研究デザインの疫学的特性」

研究分担者 川村 孝 京都大学保健管理センター

研究要旨

難病における治療の効果や増悪の因子は、臨床医にとっても行政にとっても大きな関心事であるが、通常の観察研究のデザインでは解析が難しい。そこで、観察研究の中で治療効果を検証しやすくする傾向スコア、短期的に変動する因子の影響を調べるケース・クロスオーバー・デザインが用いられる。両研究デザインの特性について記述した。

A. 研究目的

本研究班では 2009 年度の有病調査（記述疫学研究）をベースラインとして、その後発生した転帰事象を調べる追跡調査が 2010 年度から行われている。また副腎バンクの設立も計画されている。

この種の中～大規模な観察研究において求められる結果を引き出す上で研究デザインは重要であり、また留意すべきいくつかの問題点があるため、本稿で整理する。

B. 研究方法

特定疾患の疫学に関する研究班の活動に長年従事し、また有病実態を明らかにする全国疫学調査、予後を解明する長期追跡調査、危険因子を分析する症例対照研究などを率いた経験から、疫学的諸問題を記述し、論考を行う¹⁾。

（倫理面への配慮）

方法論の考察であり、個人情報や機密情報を用いないため、倫理的問題は生じない。

C. 研究結果および考察

[1] 傾向スコア propensity score

観察研究の中で治療や予防の効果を検証することがある。しかし、コホート研

究など通常の観察研究では交絡因子の混入が避けられず、群間の比較性（internal validity）が低いという問題がある。

最近、観察研究ながら RCT のように治療を評価できるという傾向 *1 スコア（propensity score）が注目されている。「褐色細胞腫の治療法として手術療法と放射線療法のどちらがよいか」という命題を考えたとき、手術ができないから放射線で…というように、治療手技の選択は自ずと患者の年齢や病態によって決まる面がある。そのため治療効果の違いはその背景因子の違いを強く反映してしまう。

そこで、「一方の治療法が選択される確率」すなわち propensity（傾向、性癖）を多変量解析で求め、それで調整して治療効果を群間で比較するというものである。実例として、難病の一つである IgA 腎症におけるステロイド治療の有効性を検証する研究を表 1 に示す。

傾向スコアの使い方には、①多変量解析で得られたこのスコア自体を変数の一つとして（最も簡単なものは治療法とこのスコアの 2 変量で）多変量解析を行う方法（表 1 の 1～3 段目）、②このスコアでマッ

チングして（つまり両群の背景因子が揃うところだけ抽出して）群間比較する方法（表1の4段目）、③このスコアで層化し、各層において両群を比較したものをそのまま、または統合して示す方法（表1の5～9段目）——の3通りがある。①は傾向スコアを算定するのに用いた諸因子をそのまま投入する多変量解析とほとんど同じことになる。ただし、各調整因子をバラバラに扱うより集約して処理する分だけ解析の安定性が増す。②は傾向スコアならではのやり方で、③はその中間型である。

現実に行われる多変量解析のほとんどは、多数の因子をロジット化したり微分形にしたりして、最終的には直線モデル（一次式）*2 に入れる。しかしこの関数モデルに適合しない *3 場合、あるいは端の方で歪んでいる *4 場合は、モデルから外れた部分が悪影響を及ぼす可能性がある。傾向スコアを変数に入れても、この問題は避けられない。

傾向スコアの計算自体は多変量解析によるが、マッチングする場合はマッチングの候補者を選ぶのに多変量解析を使うだけで群間比較は直接対決なので、影響は相対的に小さいと言える。

またロジスティック・モデルでは両群がマッチしない部分も含めてすべての

データを使用するが、傾向スコアによるマッチングでは十分に一致するところだけを切り出して群間比較するので（どこまで切り出すかは任意に調節）、不揃いの懸念が少ないことになる。ただし、その分、解析に投入する症例数は少なくなる。

傾向スコアを主要な因子として多変量解析を行っても、実際には傾向スコアを使わない多変量解析をそれほど上回るものではない。傾向スコアの強みは、多変量解析の前提となる直線モデルに乗らないところや両群がうまく対応しないところを除いて考えられることなので、②のマッチングか③の層別化こそ傾向スコアらしい解析だと言える。

傾向スコアは観察研究でも無作為化対照試験（randomized controlled trial = RCT）のように取り扱うところから人を引きつけるところがあるが、元来が観察研究なので未知・未測定因子については調整できないことを十分承知しておく必要がある。

*1 傾向 傾向と訳される術語には、「trend」（数量で表わされる曝露要因の増加によって転帰事象の発生頻度が増えるまたは減る）、tendency（有意には達しないが、要因と転帰の関連が見られる）、そして「propensity」がある。

| | 患者数(割合) | | 透析導入患者数(割合) | | ハザード比 (95%CI) |
|--------------------------|-------------|------------|-------------|-----------|------------------|
| | 非ステロイド群 | ステロイド群 | 非ステロイド群 | ステロイド群 | |
| Unadjusted | 1449 (65.5) | 763 (34.5) | 152 (10.5) | 93 (12.2) | 1.14 (0.88-1.48) |
| Adjusted (傾向スコア以外)* | 1074 (65.4) | 569 (34.6) | 114 (10.6) | 63 (11.1) | 0.66 (0.47-0.93) |
| Adjusted (傾向スコアのみ) | 1044 (65.3) | 554 (34.7) | 110 (10.5) | 61 (11.0) | 0.52 (0.34-0.78) |
| Propensity score-matched | 325 (50) | 325 (50) | 50 (15.4) | 31 (9.5) | 0.60 (0.38-0.93) |
| Quintile 1 | 306 (95.9) | 13 (4.1) | 14 (4.6) | 0 (0) | -- |
| Quintile 2 | 279 (87.2) | 41 (12.8) | 20 (7.2) | 2 (4.9) | 0.72 (0.17-3.07) |
| Quintile 3 | 237 (74.1) | 83 (25.9) | 34 (14.4) | 5 (6.0) | 0.38 (0.15-0.99) |
| Quintile 4 | 164 (51.2) | 156 (48.8) | 30 (18.3) | 19 (12.2) | 0.65 (0.37-1.16) |
| Quintile 5 | 58 (18.2) | 261 (81.8) | 12 (20.7) | 35 (13.4) | 0.67 (0.35-1.28) |

表 1 IgA 腎症におけるステロイド治療の有効性²⁾

*2 関数モデル

《ロジスティック・モデル》

$$\ln \frac{p(x_a)/1-p(x_a)}{p(x_b)/1-p(x_b)} = \ln \frac{p(x_a)}{1-p(x_a)} - \ln \frac{p(x_b)}{1-p(x_b)}$$

$$= \beta_1(x_{1a} - x_{1b}) + \beta_2(x_{2a} - x_{2b}) + \dots + \beta_n(x_{na} - x_{nb})$$

- p は事象の発生割合
- オッズ比の対数値を他の要因の一次式で説明する。

《Cox の比例ハザード・モデル》

$$\ln \frac{\lambda(t; Z)}{\lambda_0(t)}$$

$$= \beta_1(x_1 - \bar{x}_1) + \beta_2(x_2 - \bar{x}_2) + \dots + \beta_n(x_n - \bar{x}_n)$$

- λ は瞬間発生率
- 瞬間発生率の比の対数値を他の要因の一次式で説明する。

*3 モデルからの逸脱 目的変数の対数値と要因（数量）との関係が直線であるためには、生の値における量 - 反応関係は指数関数的である必要がある。

*4 モデルの歪み 例えば転帰事象の発生頻度が高い場合、 $p(x)/1-p(x)$ （=オッズ）

が（=発生割合）に近似しなくなり、また観察期間が著しく長いと、曝露要因の如何に関わらず生存曲線は 0 付近に到達してしまう。

[2] ケース・クロスオーバー・デザイン case-crossover design

介入試験のクロスオーバー・デザインと名前が似ているが、これは介入試験ではなく観察研究の方法で、症例対照研究（case-control study）の一型である。

通常のコホート研究や症例対照研究では、曝露要因の影響が永続的につづくことを前提としている。運動と突然死との関連でも日頃の運動習慣とその後の心疾患との関連であれば通常の方法でよいが、「激しい運動は突然死の引き金になるか」というリサーチ・クエスチョンには十分答えられない*1。このように短期的に変動し、影響が短期間にとどまる曝露要因と転帰発生との関連の解明に向いているのがケース・クロスオーバー・デザインである。

同一者において、転帰事象が発生したとき（症例期）と発生しないとき（対照期）の、それぞれの曝露状況を調べて比較する。黄砂が小児の喘息を誘発するかどうかを検証した研究（図 1）³⁾ では、喘息入院する日とその 2 週間前と後、4 週間前と後の大気中の黄砂の状態を比較している。

通常の様例対照研究では症例を集める

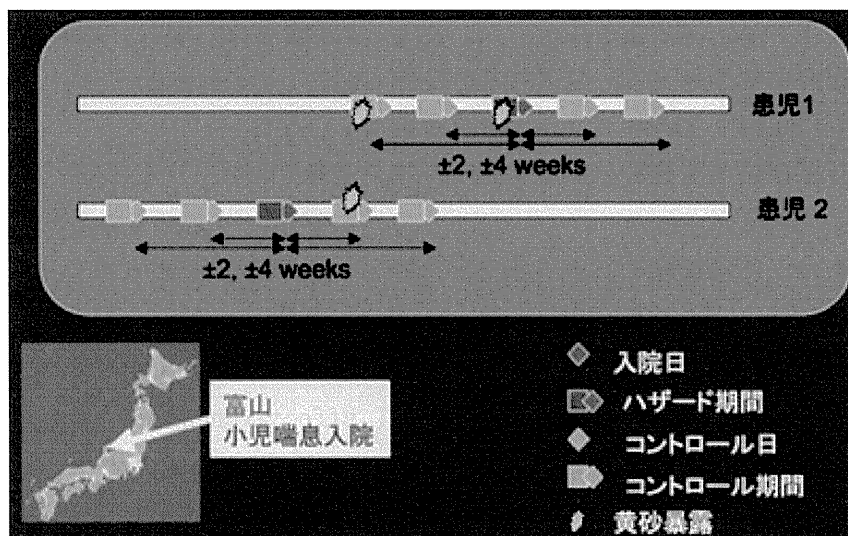


図 1. 黄砂の小児喘息入院に対する影響³⁾

のは比較的容易であるが、対照を集めるのに苦勞する。対照は基本的に症例と同じポピュレーションにすることが必要だが、それに合致し、代表性があつてかつ研究に参加してくれる集団を見つけることは簡単ではない。その点、ケース・クロスオーバー・デザインの研究では症例自身が対照となるので、これ以上マッチングのよいものはなく、症例だけ集めれば対照が設定できるので、別の集団を集める苦勞は生じない。

問題は、①対照期が症例期に十分対応する時期か、②(対照期は症例期の前になることが多いので)曝露要因の時間変化がどのくらいか、そして、③症例期と対照期の要因への曝露状況を等しく正確に把握できるか——という点である。

さきの黄砂と喘息入院の研究では、対照の時点を前後の2週と4週に4時点を取っている。対照をどれにとっても同じ結果が出れば、得られた結果はより確か(robust)になる。対照となる時期が何年も離れていると、黄砂以外の要因の変化が喘息の発生に影響してしまうが、数週のことなら無視できる。

曝露状況については、環境省のLIDARシステムによる恒常性のある客観的なデータを使っている。聞き取りなどの方法では、転帰発生期と何もない時期との思い出しの差(recall bias)が入りやすくなる(これは症例対照研究に共通の問題)。

難治性疾患は一般に慢性の経過を辿るが、急性増悪や合併症の発生に関してこのデザインが有用と思われる。

*1 **途中で変わる要因** 生活習慣はしばしば変動するため、長期に追跡するコホート研究では登録時に測定した曝露要因が

大きく変わってしまうことも珍しくない。曝露要因の変動を加味した「時間依存性変数(time-dependent variable)」を用いる方法がある。要因と転帰との関連はより正確に出るが、追跡を開始するときには将来の要因変動は予測できず、我々が行う研究はある時点における意思決定のためであることを考えると、この方法が果たして有用であるかどうか疑問が残る。

D. 結論

難病における治療の効果や増悪の因子は、臨床医にとっても行政にとっても大きな関心事であるが、通常の観察研究のデザインでは解析が難しい。そこで、観察研究の中で治療効果を検証しやすくする傾向スコア、短期的に変動する因子の影響を調べるケース・クロスオーバー・デザインを用いることが考えられる。それぞれの特性を踏まえ、リサーチ・クエスチョンやデータ特性に合わせた解析を行うことが重要である。

E. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

F. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

なし

参考文献

1) 川村孝. エビデンスをつくる: 陥りやすい臨床研究のピットフォール. 医学書院: 東京, 2003.

2) Goto M, Kawamura T, Wakai K, et al. Effectiveness of corticosteroids on IgA nephropathy: a propensity score analysis for long-term renal survival. (submitted)

3) Kanatani K, Ito I, Al-Delaimy WK,
et al. Desert-dust exposure is
associated with increased risk of
asthma hospitalization in children.
Am J Respir Crit Care Med
2010;182:1475-81

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

「褐色細胞腫の診断及び治療法の推進に関する研究のためのデータマネジメント作業」
に関する研究

研究分担者 新保 卓郎 国立国際医療研究センター 医療情報解析研究部 部長
鈴木 知子 国立国際医療研究センター 医療情報解析研究部 室員

研究要旨

褐色細胞腫の診断及び治療法の推進に関する研究にて、前年度に構築した WEB による疾患レジストリーシステムの本番公開、症例登録のモニタリングにおいて、データマネジメント作業を行った。

A. 研究目的

褐色細胞腫の疾患レジストリーとして、前年度に構築した Web 入力システムへの症例登録を開始し、データマネジメントを行う。

B. 研究方法

- (1) ID パスワード発行。
- (2) Web 入力システムの使用方法の助言。
- (3) Web 入力マニュアルレビュー。
- (4) 事務局による代行入力の際の欠損値・不整合データへの対応策の検討。
- (5) 重複登録症例・誤登録への対応策考案。
- (6) 重複登録疑いの症例の抽出
- (7) 基準値カテコールアミンの設定
- (8) モニタリングレポート作成
- (9) ベースラインデータの集計
(倫理面への配慮)

研究実施責任施設である国立病院機構 京都医療センター倫理委員会にて承認を得ている。

C. 研究結果

- (1) 3 種類の Web 入力システムの権限（各施設用、病理解析者用、事務局用）の ID パスワード発行に際し、まず、事務局用権限を最初に発行し、Web 入力システムの

使用方法を確認した。既に回収済みの登録時情報記載の CRF を事務局にて代行入力後に、各施設用、病理解析者用の ID パスワードの発行とした。また、ID パスワードについての問合せ専用メールアドレスを作成した。

(2) Web 入力システムの使用方法について、事務局からの問合せ（事務局権限と各施設用権限の違い、データ欠損時の入力方法、ID パスワードの発行方法、施設、ユーザーの設定方法等）都度、回答した。また、システムの改善が必要な場合は、修正を行った。

(3) 事務局の作成した各施設用と病理解析者用の Web 入力マニュアルのレビューを行った。

(4) 回収済みの紙ベースの CRF によるベースライン時（新規登録、登録時の患者情報 1 初回診断時、2 登録時、3 登録時前の治療）データの Web 入力システムへの代行入力の際の欠損値、不整合データへの扱いの対応策を提案し、「読み替えマニュアル」を更新し、事務局での代行入力が完了した。

(5) 重複登録症例・誤登録をした際の対応策として、症例は削除せず各施設の入

力画面からは除かれるように、架空のダミー施設、ダミー入力者の作成を提案し、該当症例をダミー入力者の症例に修正するような手順とした。

(6) 重複登録疑いの症例に対して入力システムで自動的に注意メッセージが表示される仕様となっているが、システムでは抽出不可能な症例があるため、該当症例の抽出を2回(7月7日28組、11月16日11組)行った。事務局からの問合せにより、7月7日抽出の28組中26組は重複登録が判明し、2組は回答待ちとなっている。11月16日抽出分については確認中である。

(7) 各施設の科ごとにカテコールアミンの基準値を設定し入力システムに表示される仕様としたが、同一施設同一科にて時期によりカテコールアミンの基準値が異なる症例があった。この対応策として、システムでは対応不可のため、同一施設同一科にて一基準値を設定し、設定基準値と異なる症例は、事務局内にて記録を残し解析時に該当症例の基準値は差し替えを行うこととした。

(8) 6月12日時点のデータについてモニタリングレポートを作成した。

(9) 11月16日時点のデータについてベースラインデータの集計を行った。

D. 考察

今後、事前に対応可能な問題点には予め準備し対応していきたい。

E. 結論

褐色細胞腫の疾患レジストリーとして、前年度に構築した Web 入力システムへの症例登録を開始し、データマネジメントを行った。

F. 健康危険情報(総括研究報告書にてまとめ記載)

G. 研究発表 なし

H. 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（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

PHEO レジストリーにおける 30 歳未満登録症例の初回診断時情報に関する研究

研究分担者 棚橋 祐典 旭川医科大学 小児科 助教

研究要旨

わが国で最初の褐色細胞腫に対する疾患レジストリー（PHEO レジストリー）登録症例から若年発症の褐色細胞腫について初診時の臨床像を解析した。30 歳未満登録症例は 36 例と少数であった。発症部位では副腎外の比率が多く、悪性の頻度は少なかった。しかし、レジストリーは登録時 20 歳以上の症例を対象としており、若年発症の解析には限界があると考えられる。

A. 研究目的

褐色細胞腫は一般には成人期以降に発症する疾患であり、最初の腫瘍が発症する平均年齢は 30 代後半から 40 代前半がピークである。

本研究班では疾患レジストリー（PHEO レジストリー）を開始している。この PHEO レジストリーの登録症例から 30 歳未満登録症例を抽出し、若年発症の褐色細胞腫について解析することにより、その臨床的特徴を明らかにすることを目的とする。

B. 研究方法

2008 年 4 月 1 日以降対象診療科を受診した症例で、調査対象期間以前に既に診断が確定している、あるいは既に治療を受けている症例も含んでいる（既往の診断名で当該期間中に受診した患者も含む）。疾患登録時満 20 歳以上の症例を登録対象としている。

（対象）

PHEO レジストリーに登録された症例のうち、登録時年齢が満 30 歳以下であった 36 例を対象とした。それぞれの症例の臨床情報（腫瘍の性状、病変部位、多発性・単発性、転移の有無など）について解析

をおこなった。

（倫理面への配慮）

PHEO レジストリーにおける臨床情報は、厚生労働省「疫学研究に関する倫理指針」（平成 19 年 8 月）およびヘルシンキ宣言を遵守して管理されている。

C. 研究結果

1) 年齢、性別

初回診断時の年齢が判明したのは 19 例（53%）であり、その平均年齢は 18.6 歳（8-27 歳）であった。男 16 例、女 20 例で性差はなかった。

2) 家族歴

褐色細胞腫の家族歴があったものは 8 例（22%）あった。

3) 発生部位

全 36 例のうち、副腎原発のものは 26 例（72%）で右副腎 16 例、左副腎 7 例、両側性 3 例であった。副腎外原発のものは 10 例（28%）であった。

4) 単発／多発および良性／悪性

単発例は 31 例（86%）であり、多発例は 5 例であった。

36 例のうち初回診断時に悪性と診断された症例は 2 例（6%）であった。

D. 考察

本研究では、レジストリー登録時満 30 歳未満の 36 症例を対象としたが、本レジストリーは、登録時に 20 歳以上の同意を得られた症例に対する調査であるので、バイアスがかかっている可能性が否定できない。

昨年度の分担研究では初回診断時満 20 歳未満の症例を抽出できているが、今回の調査解析では、限界があると考えられる。

PHEO レジストリーは疾患登録システムであり、今後の継続的な調査によって予後が明らかになると思われる。治療および予後の解析には今後の症例の蓄積を待たなければならない。特に若年、小児期発症の褐色細胞腫については、初診時に良性と診断されても、悪性化する可能性もあり、継続的な観察が必要である。このような長期フォローアップ体制を確立する上で、本疾患レジストリーの役割は非常に重要なものとなるであろう。

E. 結論

PHEO レジストリーの登録症例から登録時 30 歳未満の症例 36 例の初回診断時の臨床像について解析した。発症部位では副腎外の比率が多く、悪性の頻度は少なかった。この解析では、若年発症、小児期発症の褐色細胞腫の臨床像には新たな知見は得られなかった。

F. 健康危険情報（総括研究報告書にてまとめて記載）

G. 研究発表

褐色細胞腫に関連するものはなし

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

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（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

「褐色細胞腫の診断及び治療法の推進：病理学的解析」に関する研究

研究分担者 加藤 良平 山梨大学大学院医学工学総合研究部・人体病理学講座

研究要旨

本研究は、現在まで効果的治療法が確立されていない褐色細胞腫の疫学調査を基盤に、疾患ジオメトリーにより治療成績、予後を解明するとともに、悪性マーカー（病理・遺伝子）基準を確立することを目的とする。病理学的解析には、連結可能匿名化した症例を多数検討し、現在まで不分明とされている褐色細胞腫の悪性度診断を可能にする。病理組織の集中解析環境が整備されてきており、分担研究者施設および研究協力者施設から、匿名化された未染色標本が研究事務局を通じて郵送され、解析を進めている。

A. 研究目的

病理学的解析には、褐色細胞腫組織を多数検討し、本腫瘍の悪性度のスコアリングに基づいて解析する。

B. 研究方法

1) 以前に Kimura らが報告した、褐色細胞腫のスコアリングシステムを改変し、各症例の病理学的解析を行う。

2) 増殖、転移に関するマーカーの免疫組織化学的解析を行う。

（倫理面への配慮）

倫理指針に従い、各症例は連結匿名化して解析する。

C. 研究結果

分担研究者施設および研究協力者施設において、決められた切り出し法で未染色標本が作成され、研究事務局を介して、送付されてきている。現在、褐色細胞腫のスコアリングシステムにより、病理学組織学的な解析を行い検討中である。

D. 考察

1) スコアリングシステムによる病理学的解析と PHEO- レジストリーの臨床情報との対比により、本腫瘍の悪性度、転移の

推測に有用な病理組織診断法の確立が可能と考えられる。

2) 増殖、転移に関する免疫組織化学的マーカーを組み合わせることは、組織学的な診断にさらなる客観性をもたらす。

E. 結論

病理学的解析は、本腫瘍の生物学的態度（悪性度）や予後の推定に有用と考える。

F. 健康危険情報（総括研究報告書にてまとめて記載）

G. 研究発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 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（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

「褐色細胞腫の診断および治療法の推進」に関する研究

研究分担者 吉本 貴宣 東京医科歯科大学医学部附属病院
内分泌・代謝内科 助教
研究協力者 三原 正朋 東京医科歯科大学医学部附属病院
内分泌・代謝内科 助教

研究要旨

褐色細胞腫にしばしば合併する耐糖能異常につき、褐色細胞腫患者自験 21 例を対象に尿中カテコールアミン排泄量によりアドレナリン (A) 優位型、ノルアドレナリン (NA) 優位型の 2 群に分類し、各種糖代謝関連パラメーター、尿中カテコラミン排泄量との関連につき検討した。耐糖能は 21 例中、正常型 6 例 (29%)、境界型 9 例 (43%)、糖尿病型 6 例 (29%) で、15 例 (71%) に耐糖能異常を認めた。A 優位型では NA 優位型に比しより有意な insulinogenic index (I. I.) の低下と HbA1c の増加を認めた。褐色細胞腫においては耐糖能異常が高率に合併するが、A 優位型でより顕著であり、その機序としてインスリン分泌の低下の関与が示唆される。

A. 研究目的

褐色細胞腫は副腎髄質、傍神経節などに存在するクロム親和性より発生するカテコールアミン産生腫瘍である。多くは適切な手術により寛治するが、良性か悪性かの鑑別が難しく、当初、良性と診断されたにも拘らず、後年になり転移巣が発見され、悪性と判明する症例がある。

本研究では 2009 年度の全国疫学調査に基づき、症例登録による治療成績・予後の解明と、病理組織マーカー策定による早期診断法の確立、診療水準の向上を目的とする。

今年度は褐色細胞腫にしばしば合併する耐糖能異常につき、その臨床的特徴およびカテコラミン分泌異常との関連性を検討した。

B. 研究方法

昨年度の Pheo-J 登録症例に過去の当科症例を合わせた褐色細胞腫患者 21 例を対

象に尿中カテコラミン排泄量によりアドレナリン (A) 優位型 (12 例)、ノルアドレナリン (NA) 優位型 (9 例) の 2 群に分類し、各種糖代謝関連パラメーター (insulinogenic index (I. I.), HOMA-R, HbA1c) の比較解析および尿中カテコラミン排泄量との相関解析を行った。また 9 例については腫瘍摘出後に同様のパラメーターにつき再評価した。

(倫理面への配慮)

本研究は、説明文書を用いて文書による同意 (または口頭同意とカルテ記載) を取得した患者の診療に際して取得した基本検査データ、臨床情報、手術に際して得られる病理組織標本の二次利用に基づくものである。診療情報、既存病理標本の調査・登録は連結可能匿名化とし、被験者個人のプライバシーの保護に配慮した。

C. 研究結果

耐糖能は 21 例中、正常型 6 例 (29%)、境界型 9 例 (43%)、糖尿病型 6 例 (29%) で、15 例 (71%) に耐糖能異常を認めた。また肥満 (10%)、HOMA-R 高値 (20%)、insulinogenic index (I. I.) 低下 (73%) を認め、A 優位型ではほぼ全例で I. I. の低下が認められた。A 優位型で NA 優位型より HbA1c が有意 ($p < 0.05$) に高く、I. I. は有意に低値 ($p < 0.05$)、尿中 CPR 排泄も低値傾向を示した (図)。しかしながら各種糖代謝関連パラメーター (insulinogenic index (I. I.), HOMA-R, HbA1c) と尿中カテコラミン排泄量 (アドレナリン、ノルアドレナリン、メタネフリン、ノルメタネフリン) との相関解析ではいずれも有意な相関は認められなかった。

D. 考察

褐色細胞腫は高頻度 (25 ~ 75%) に耐糖能異常を合併することが知られおり^{1,2}、本研究でも自験例の 71% に耐糖能異常の合併を認めた。本症での耐糖能異常の機序としては、カテコラミンの過剰分泌による 1) $\alpha 2$ 受容体を介したインスリン分泌の抑制、2) β 受容体を介したグルカゴン分泌の亢進、肝糖新生の促進、末梢組織糖利用の低下、などの要因が複合的に関与すると考えられる。

今回の検討において、A 優位型で NA 優位型より HbA1c が高く、I. I. が低いという結果が得られた。膵 β 細胞からのインスリン分泌のカテコラミンによる制御として、 β 受容体刺激は促進的に、 $\alpha 2$ 受容体を介して抑制的に作用する。またアドレナリンはノルアドレナリンに比し $\alpha 2$ 受容体親和性が高く、インスリン分泌抑制作用がより強いことが報告されている^{3,4}。A 優位型症例では $\alpha 2$ 受容体を介してイン

スリン分泌抑制がより顕著であったことが、糖代謝悪化に関与した可能性が考えられる。

E. 結論

褐色細胞腫においては耐糖能異常が高率に合併するが、A 優位型でより顕著であり、その機序としてインスリン分泌の低下の関与が示唆される。

参考文献

1. Rofougaran R, Mooraki A, Bastani B. Insulin-requiring diabetes mellitus, hyperlipidemia, and anginal chest pains as prominent features of pheochromocytoma. *Am J Nephrol.* 1997;17(5):474-6.
2. Winocour PH, Masud T, Clark F, Cooper BG, Laker MF, Alberti KG. Lipid and lipoprotein metabolism in familial combined hyperlipidaemia during treatment of sporadic phaeochromocytoma: a case study. *Postgrad Med J.* 1992;68(799):371-5.
3. Porte D Jr, Graber AL, Kuzuya T, Williams RH. The effect of epinephrine on immunoreactive insulin levels in man. *J Clin Invest.* 1966;45(2):228-36.
4. Porte D Jr, Williams RH. Inhibition of insulin release by norepinephrine in man. *Science.* 1966;152(3726):1248-50.

F. 健康危険情報

特記なし。

G. 研究発表

論文発表

1. Tani Y, Sugiyama T, Izumiyama H, Yoshimoto T, Yamada S, Hirata Y. Differential gene expression profiles of POMC-related enzymes,