

神経芽腫の遺伝子異常からスクリーニングの有効性を実証

－予後良好な腫瘍の一部は、予後不良な腫瘍に変化している－

平成 20 年 9 月 29 日

◇ポイント◇

- ・ 世界に先駆けて本邦で施行された神経芽腫検査事業の有効性を実証
- ・ 欧米のデータと比較して、予後の悪い年長児の進行例が明らかに減少
- ・ 遺伝子変化のデータから、予後不良な遺伝子増幅例が明らかに減少
- ・ 本腫瘍の早期発見こそが治療成績向上の治療戦略であることを示唆

広島大学(所在地:広島、学長:浅原利正)の自然科学研究支援開発センターの檜山英三教授を中心とするグループは、死に至る悪性度の高い神経芽腫は、悪性度の低い神経芽腫から派生することを明らかにしました。これは厚生科学研究の「登録症例に基づいた神経芽細胞腫マスキングの効果判定と医療体制の確立」プロジェクトにおいて構築した神経芽腫データベースを用いて、諸外国特にINRG(国際神経芽腫リスク検討グループ)のデータベースと比較を行った成果です。

神経芽腫は、白血病を除く小児がんの中で最も多い腫瘍で、従来から自然に退縮するような予後の良いもの(Favorable 腫瘍: 治りやすい腫瘍)から、きわめて悪性度の高い予後不良な腫瘍が存在し、特に1才半をすぎた年長児には予後の悪い腫瘍(Unfavorable 腫瘍: 治りにくい腫瘍)が多いことが知られています。このために、日本では世界に先駆けて、乳児(生後6ヶ月)の間に尿検査をして早期に発見する神経芽細胞腫検査事業が1984年から2003年まで行われました。そこで、この成果を解析し、本年4月にその有効性を実証しました。しかし、一方で、治療の必要のない自然に消えていくような予後良好な腫瘍(Favorable 腫瘍)を検査事業(スクリーニング)で診断し治療しているという過剰診断が問題視されてきました。今回、スクリーニングを行っていない同時代の外国のデータベースと比較することで、予後良好なタイプの腫瘍(Favorable 腫瘍)の一部が予後不良な腫瘍(Unfavorable 腫瘍)に変化していることが明らかになりました。この成果から、神経芽腫の早期発見の重要性和、そのためのスクリーニングのあり方についての再評価が必要で、早期発見こそが神経芽腫の有効な治療戦略であることを示す結果となりました。本研究結果の一部は、厚生労働省科学研究費補助金(子ども家庭総合研究事業) H16-子ども012の助成金を得て実施され、ドイツで開催される第40回国際小児がん学会(10月6日付け、日本時間10月7日)で発表します。

1. 背 景

診断や治療法の進歩により、小児がん全体では70%以上のこどもが治癒できる時代となってきまし

たが、未だに治療成績が不良ながんも存在し、その代表が神経芽腫で、米国ではこの 50 年間でほとんど治療成績が向上しなかったがんとされています。また、このがんは、古くから1才未満の乳児で診断された症例は予後が良い腫瘍(Favorable 腫瘍: 治りやすい腫瘍)が多く、一部では自然に消失するものがある一方で、1 才半以降に発見される症例は進行したもの(Unfavorable 腫瘍: 治りにくい腫瘍)が多く死に至る子どもも少なくありません。また、このがんはカテコラミンを産生するために、カテコラミンの代謝産物 VMA(バニールマンデル酸)、HVA(ホモバニリン酸)が尿中にたくさん排泄されるので、これらの測定を診断に用いてきました。そこで、乳児期にこの腫瘍を早期発見すれば治療成績が向上するとの期待から、乳児全員の尿中 VMA、HVA を測定して早期に発見しようとした神経芽細胞腫検査事業(マス・スクリーニング)が、世界に先駆け 1973 年に京都市で開始され、その後、1984 年頃から生後 6 ヶ月児を対象としてとして全国的に施行されました。この事業の結果、驚くことに神経芽腫の罹患数は2倍以上に増加し、意外にも乳児期の予後の良い腫瘍が予想される数よりも多くみいだされる結果となりました。この事実から、従来診断されずに知らないままに消失していた腫瘍を過剰診断しているとされ、また、北米やドイツの短期間の介入研究が死亡率を低下させる効果に対して否定的結果であったことを受けて、本邦においての解析を待たずに、平成 15 年度に休止されました。

この休止の際の検討会「**神経芽細胞腫マススクリーニング検査のあり方に関する検討会報告書**」(平成15年7月30日)では、休止とともに以下の課題の解決が提言されました。

- (1) 神経芽細胞腫の罹患と死亡の正確な把握
- (2) 神経芽細胞腫マススクリーニングの実施時期変更等、新たな検査方法の検討・評価
- (3) 神経芽細胞腫による死亡の減少を目指した、臨床診断と治療の向上のための研究の推進と実施体制の確立

これらの課題を解決すべく、研究班を立ち上げ、神経芽細胞腫マススクリーニングの効果判定を行ない、本年4月にこの事業が死亡率を半減させていたとの結果を得ました(図1, Lancet 2008;371:1173-80)。この結果は、長年の本邦で行われてきたこの事業の総括ですが、罹患率の増加が物語る過剰診断の存在への回答は十分に得られていませんでした。そこで、人種差はあるものの、診断・治療レベルが同等である北米、ドイツ、イタリアの同時期の神経芽腫症例のデータと比較することで、悪性度の高い腫瘍がどのようにして発生してくるかを解析できると考えました。幸運にも、国際的にこの腫瘍の悪性度を分類する診断基準を策定する会議(INRG: International neuroblastoma risk grouping)が行われており、諸外国からデータベースが集約されており、この会議の了承を得てこの研究を開始しました。

2. 研究手法と成果

(1) 本邦における神経芽腫スクリーニングの有効性の検証

日本には、公的な小児がん登録のシステムはありません。そこで、今回は、日本小児外科学会、日本小児がん学会と、さらに乳児神経芽腫スタディグループからの各々の神経芽腫登録症例を集計し、1 症例1 登録としたデータベースを作成しました。さらに、死亡票や小児慢性特定疾患治療研究事業のデータベースと照合し、このデータベースは全体のほぼ65%を捕捉していることがわかりました。そこで、

このデータベースを用いて解析しました。1984年に全国的に開始された検査事業は当初は定性法が用いられ、1990年頃からHPLC法による定量法に変更されていたため、生年月日から1986-89年の定性法(529万出生、受診率77.4%)と1990年以降の定量法の時期(1,087万出生、受診率86.0%)と1980-1983年の施行前の対象群(613万出生)の3群で比較しました。1984-85年は受診率が低く、移行期であるために検討から除外しました。この後向きコホート研究には多くのバイアスが存在しうることの非難はありますが、2,300万人を超える多数のコホートであることで世界に類をみない解析結果になり、また、くしくも、骨髄破壊的大量化学療法が導入されても治療成績が有意に向上していないことも示されました。

6才までの神経芽腫の累積罹患率は、検査が施行された時期に検査を受診しなかった群が1983年までの施行前の値とほぼ同じで、また、生後6ヶ月までの累積罹患率はどの群も同じでした。これに対して、生後6ヶ月の検査を受診した例では生後6-72ヶ月の累積罹患率が高くなり、全体で、定性法で1.7倍、定量法で2.5倍に増加していました(図1)。一方、6才までに発症する腫瘍での累積死亡率は施行前が5.38で、定性法が3.90、定量法が2.83となり、6ヶ月の検査後6才までに発症する腫瘍での死亡は100万出生あたり26人少なくなっていたという結果が得られました。(図1)。受診しなかった群の6-72ヶ月発症例の累積死亡率の変化はほとんどなく、診断や治療効果による治療成績の向上はみられず(図2)、スクリーニング検査による死亡の低下と結論されました。この検討で、HPLCという定量法の導入で累積死亡率が低下した理由としては、検査を行っている方々の厳しい精度管理のもとで値を正しく判定されたために、人口対の2-6才に発症する神経芽腫症例特にUnfavorable腫瘍である病期4期の進行神経芽腫症例の累積罹患率が明らかに低下したためと考えられました($P < 0.0001$)。一方、スクリーニングによって全体の累積罹患率が明かに上昇しており、スクリーニングで自然に治癒している腫瘍を一部で過剰診断している可能性が残されていました。

(2) 欧米のデータベースとの比較検討

そこで、過剰診断例を評価する目的で、同時期の諸外国のデータを比較検討しました。スクリーニングのなかった時期の本邦の累積罹患率は、出生10万あたり11.56と算出され、諸外国データ10-14とほぼ同じのデータであり、約7,000-10,000人に1人の自然発生との従来の報告とも一致し、死亡率も従来の報告や諸外国の値とほぼ同様でした。そこで、定量法となった1990年以降の症例に限って、INRGデータ(11.055例)とくに北米、ドイツの症例と比較検討しました。その結果、神経芽腫のスクリーニングを行ってきた本邦では、6-11ヶ月で診断される症例が増加している一方で、2才以降に診断された症例の有意の低下が認められました(図3)。また、病期4(INSS分類)症例においても2才以降の症例が明かに減少していました。また、このがんの悪性度を決定している最も大きな遺伝子変化であるMYCN遺伝子増幅がみられる症例(Unfavorable腫瘍: 治りにくい腫瘍)の頻度が本邦で明かに減少し、これらが、死亡率の低下に関与していることが示されました(図4)。スクリーニング検査によってこのMYCN遺伝子の増幅した乳児症例が増加していないことは、この性質は腫瘍の進行とともに獲得されるものであることを示しており、神経芽腫の予後良好な腫瘍(Favorable腫瘍)の一部が経過とともにこうした性質を獲得し、年長児の予後不良な腫瘍(Unfavorable腫瘍)と転換していることが示されました(図5)。

3. 今後の期待

神経芽細胞腫検査事業は、当時は過剰診断の存在と、死亡率の低下へのエビデンスが明かでなかったことから休止されました。今回の我々の研究であきらかな死亡率の低下が示され、さらに、諸外国のデータとの比較から予後良好なタイプの腫瘍は予後不良なタイプになる前段階であるとの結果は、「過剰診断」と推定されていたものが「**悪性度を増すリスクのある腫瘍**」の**早期診断**であったことを示す結果となりました。結果的には、治療しなくとも自然退縮した腫瘍が存在していることは確実ですが、これらと悪性度を増して死に至る腫瘍をこの時期に判別する方法や示標は現在持ち合わせていません。むしろ、予後良好なタイプの腫瘍は悪性度の高い予後不良な（治りにくい）腫瘍に変化する前段階と考えることが合理的であり、こうした観点から神経芽腫のスクリーニングを再評価する時期であると考えます。

現在、小児がんで治癒する子どもたちが増えることと裏腹に、大量の化学療法や強力な治療によって治癒した子どもたちが一生背負う晩期合併症が注目され、また、それらによる二次がんの発生も少なくありません。強力な治療を重ねて治療成績を上げることも重要ですが、予防医学の時代である21世紀は、腫瘍を早期に発見し、副作用の少ない治療を提供することが大事です。過剰診断が少なく効果のあるスクリーニング法の構築とともに、予後不良例を確実に分別するマーカー探索、さらに、経過観察を含めた悪性度別の治療ガイドラインの作成が、副作用や晩期合併症のない小児がんの治癒に近づくものと考えています。

この研究は、細胞の形態がほとんど同じである腫瘍がなぜ、予後の良好なタイプと死に至るような予後不良なタイプに分かれるのかという疑問を解き明かす糸口を与えてくれました。すなわち、子ども自身も時間とともに大きく成長している時期のがんは、「がんも時間とともに変化している」ということを教えてくれていて、これらへの対応が小児がんの治療成績を向上させる鍵であり、こうした研究を続けていきたいと考えています。

（問い合わせ先）

広島大学自然科学研究支援開発センター

センター長 檜山 英三（ひやま えいそう）

Tel:082-257-5951/Fax:082-257-5416

Mail: eiso@hiroshima-u.ac.jp

（報道担当）

広島大学学長室

広報グループリーダー 山下 博司

Tel:082-424-6013/Fax:082-424-6040

Mail: koho-gl@office.hiroshima-u.ac.jp

<補足説明>

※1 神経芽細胞腫(神経芽腫)

子どもの固形がんのなかで最も多く、正常な神経細胞になるはずの芽である「神経芽細胞」が成長の途中で異常に増え始める病気で、腎臓の上にある、副腎や交感神経細胞から発生します。交感神経は背骨の両側に沿って走っているため、首(頸部)、胸(後縦隔)、お腹(後腹膜)、骨盤のどこからも発生します。悪性腫瘍ですが、自然に消失したり成熟して良性腫瘍に変化したりする一方で、進行が早く死に至る腫瘍も少なくなく、同じ神経芽腫であってもその性状はそれぞれ大きく異なっていることが知られています。

※2 VMA(バニールマンデル酸), HVA(ホモバニリン酸)

神経芽腫の産生するカテコラミンが分解されてできる産物。尿中でこの2種を測定するとこの腫瘍の95%に排泄増加が見られ、通常の診断にも用いられています。

※3 INRG (International neuroblastoma risk grouping)

国際神経芽腫リスクグループ: 最近の神経芽腫の治療は、患者のリスク別のテーラード医療が行われています。そこで国際共通リスク分類を構築するために、1990-2002年に診断された北米と豪州(COG)、欧州(SIOPEN とドイツ)と日本の約10,000例のデータベースを構築して検討を行っているグループで、日本から4名が参加しています。

※4 HPLC(高速液体クロマトグラフィー(High performance liquid chromatography)法

さまざまな有機化合物の分離や定量的ための代表的な手法として、幅広く利用されている。液体クロマトグラフィー(LC)は、微粒子等(充填剤)を詰込んだ筒状のカラムに水や有機溶媒などの液体を流しながら、サンプルの成分分離を行う装置で、分離性能を向上させるために高圧に対応できるポンプや配管などで構成され、微量分析に対応する高感度の検出器をそなえたLCをHPLCと呼びます。

※5 MYCN遺伝子

神経芽腫で見つかったmycがん原遺伝子のこと。進行神経芽腫のがん組織のDNAでしばしば増幅していて(数十倍から数百倍に増えること)、この増幅が見つかった症例は、非常に予後が悪いことが知られています。

※6 後向きコホート研究

すでに曝露や介入があるなしで分けられた群を、研究者が事後的に(後ろ向きに)その状況を調べ、さらにそこから、その集団を追跡調査することで、疾病の発生、アウトカムを解析する研究をさします。

※7 累積罹患率、累積死亡率

観察開始時の集団の人数を用いて、罹患、死亡数を観察した率をさしています。

※8 INSS 病期分類(International neuroblastoma staging system)

神経芽腫の国際共通の病期分類で、病期が1, 2, 3, 4と4Sに分けられ、病期4は遠

隔転移特に骨や眼窩などに転移した症例で最も進展した病期です。

※9 小児慢性特定疾患治療研究事業

治療が長期にわたる18才未満で発症した疾病に対する医療給付事業で、小児がんは昭和46年度から公費負担が行われている。

※10 二次がん

がんの治療中あるいは治療によってすでに治癒した人が、転移とは別に、新たにがんを発症することを二次がんと呼びます。二次がんは、最初のがんの際に受けた放射線治療や化学療法が原因となることもあります。小児では、治癒した後でも30年の間に15%に発症したとの報告があります。

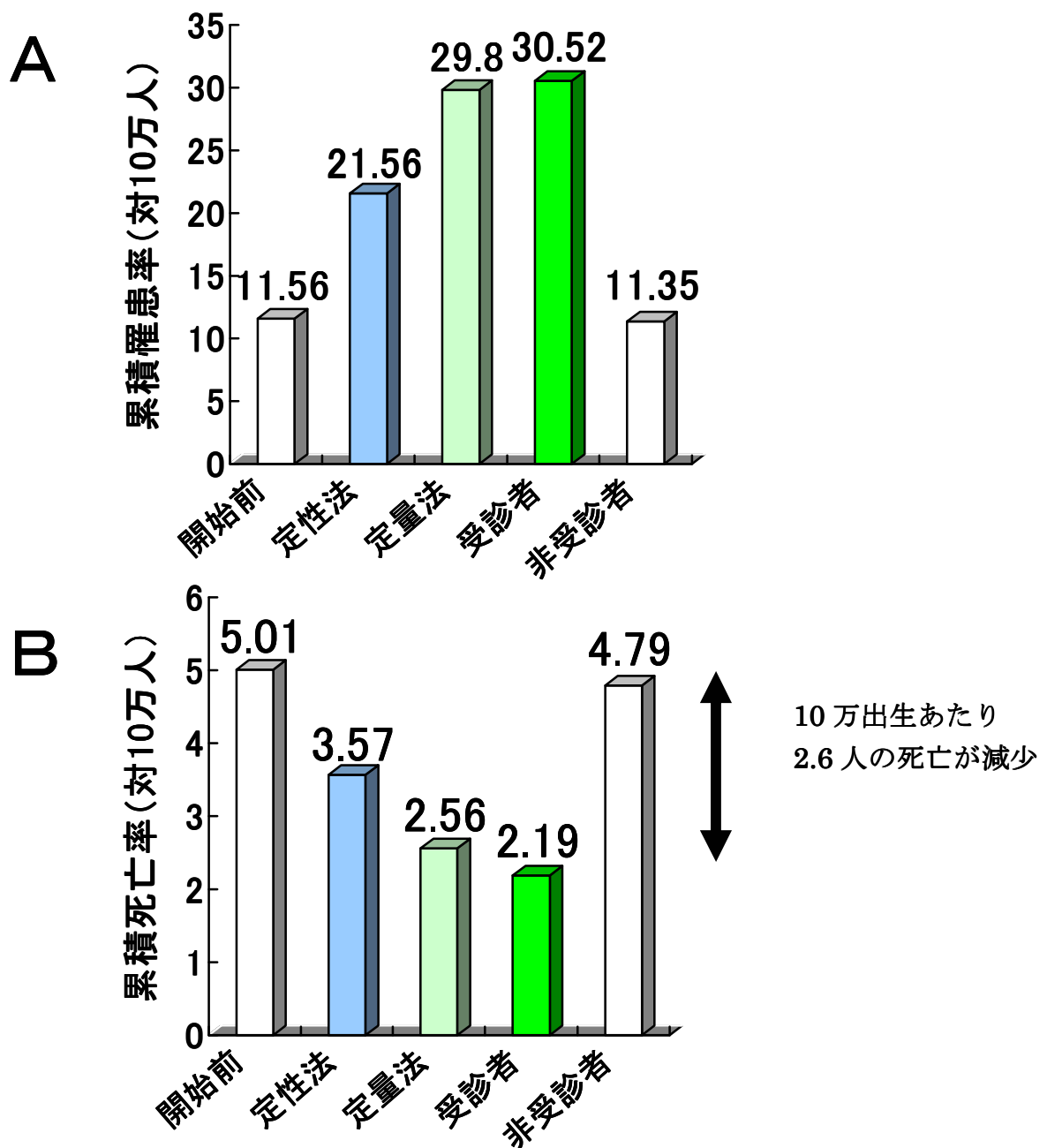


図 1 神経芽腫スクリーニング開始前、定性法、定量法での生後6才までの累積生存率と累積死亡率の比較

A: 対 10 万出生あたりの罹患率は、定性法で 1.7 倍、定量(HPLC)法で 2.5 倍に増加していた。また、定量法の受診者の罹患率は上昇していたが、非受診者は開始前と同程度であった。

B: 対 10 万出生あたりの死亡率は、定性法で 0.7 倍、定量(HPLC)法で 0.5 倍に減少していた。また、定量法の受診者の死亡率は 2.19 で、非受診者が 4.79 であり、10 万出生あたり 2.6 人の死亡を減少させていた。

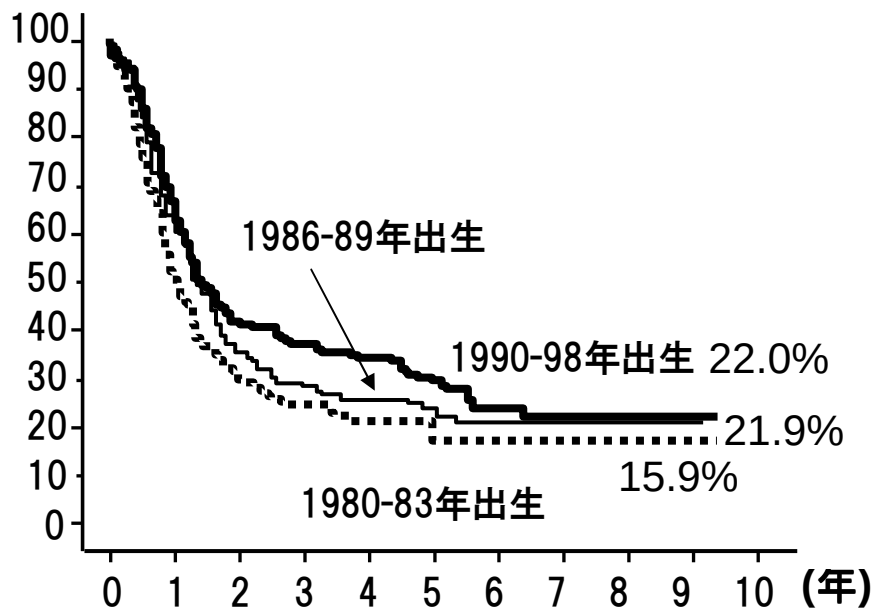


図2: 予後不良(治りにくい)腫瘍とされている1才以上で診断された病期4(遠隔転移のある)症例の生存曲線

1980-83 年 出生: スクリーニング施行前、1986-89 年 出生: 定性法によるスクリーニングの時期、1990-98 年 出生: 定量法によるスクリーニングの時期

1990-98 年 出生例の時代は延命できる症例が増加しているが、最終の長期生存率に差はなく、治療法の進歩による治療成績の向上はみられなかった。

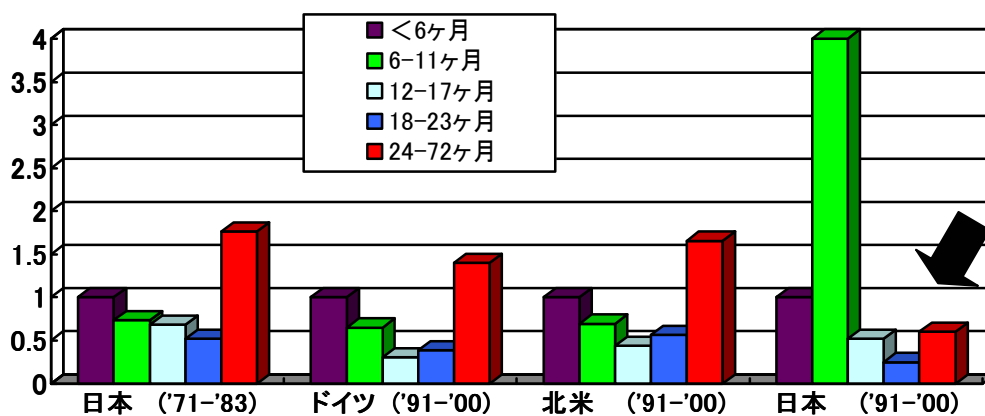


図3: 診断時月例別の頻度

6 ヶ月未満の診断例を 1 として算出すると、矢印のようにスクリーニング施行中の日本では 24 ヶ月以降の症例が明らかに減少していた。

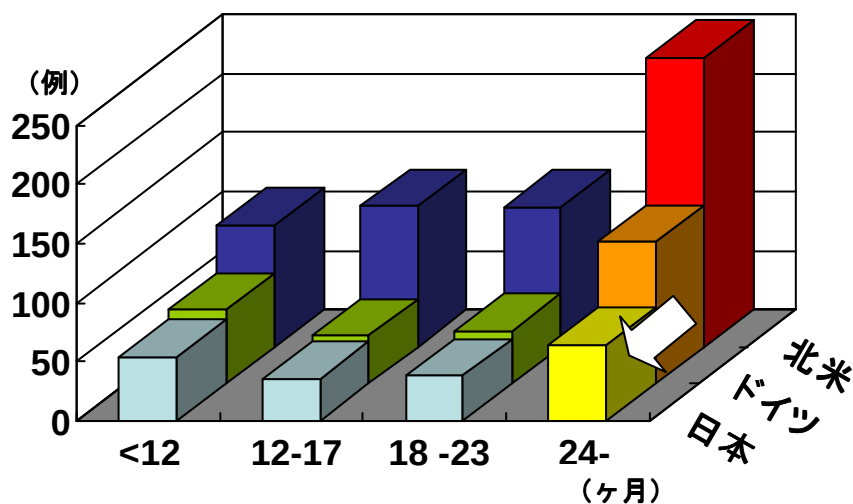


図4: 予後が明らかに不良な *MYCN* 遺伝子増幅を認めた症例数の分布

1991-2000 年の診断例のうち、*MYCN* 遺伝子増幅例の診断時月例別分布では、矢印のようにスクリーニング施行中の日本では 24 ヶ月以降の症例が明らかに減少していた。

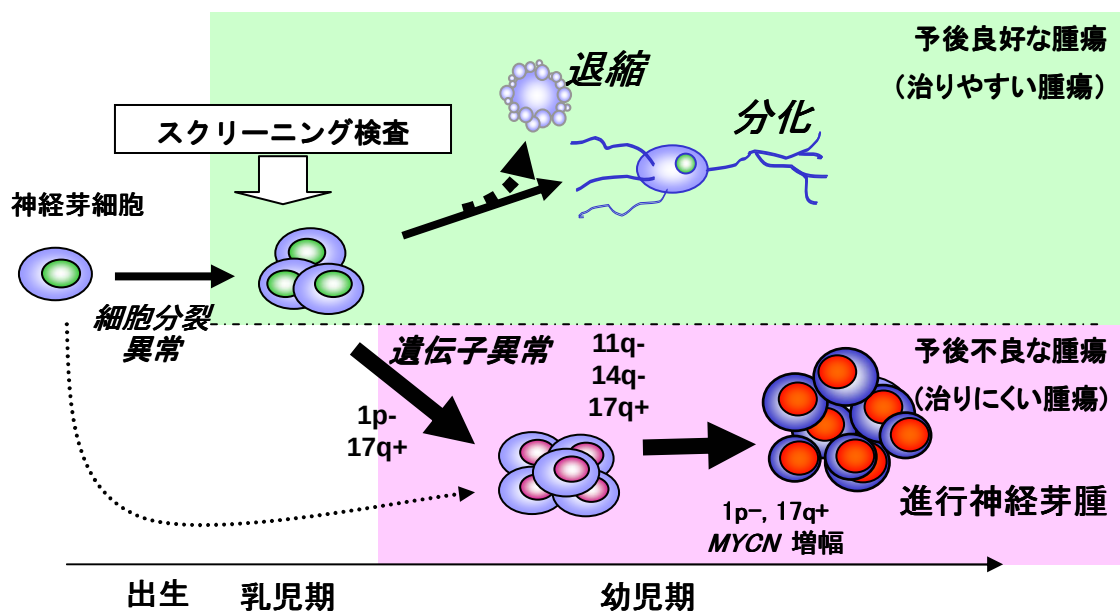


図5: 神経芽腫の発生挙序

神経芽細胞(神経になる元の細胞)が増殖し、乳児期の神経芽腫を形成し、一部は良性に分化したりあるいは自然退縮するが、一方で悪性度が増して進行神経芽腫になることが明らかになった。乳児期の神経芽腫は、いわゆる前がん病変ともいえる疾患であり、この腫瘍のスクリーニングについての有効性とあり方を再考すべき時期であると考えられる。従来、予後不良な治りにくい腫瘍は、予後良好な腫瘍とは別の経路で発生すると考えられていましたが、それを示唆する結果は得られなかった(点線)。