

第5回電磁界フォーラム

～小児白血病！これからの研究をどうするか～

平成 23 年 9 月 30 日（東京）

平成 23 年 10 月 25 日（大阪）

主催

一般財団法人電気安全環境研究所

電磁界情報センター





電磁界情報センター

第5回電磁界フォーラム

～小児白血病！これからの研究をどうするか～

開催のご案内

(東京：9/30(金)、大阪：10/25(火))

電磁界情報センターでは、電力設備や家電製品などから発生する50/60Hzの電磁波（電磁界）に関して、さまざまな視点から議論する機会を設け、11回シリーズの電磁界フォーラムを開催しています。

第5回目のテーマは「小児白血病！これからの研究をどうするか」です。

疫学研究のプール分析結果によれば、超低周波磁界の強さが平均0.4マイクロテスラを超える居住環境で小児白血病の発症率が倍増することが示されていますが、そもそも小児白血病とはどういう病気なのか、電磁界と小児白血病との関連はあるのか、それを明らかにする新たな疫学手法や他の研究アプローチはあるか、などについてそれぞれ専門家を招いて説明いただくとともに、参加者の皆さまとの質疑応答により、理解を深めたいと思います。

このような趣旨から、下記のとおり電磁界フォーラムを開催いたします。

なお、本フォーラムは、上記テーマに特化した内容で実施いたします。電磁波全般の基礎的な内容についての説明・質疑応答は予定しておりませんので、予めご了承ください。

記

《東京会場》

- 日 時：平成23年9月30日（金）13:00～16:30
- 場 所：日本科学未来館 みらいCAN ホール
(住所：東京都江東区青海2-3-6)
- 定 員：200名（参加無料）

《大阪会場》

- 日 時：平成23年10月25日（火）13:00～16:30
- 場 所：大阪国際交流センター 会議室A・B
(住所：大阪府大阪市天王寺区上本町8-2-6)
- 定 員：200名（参加無料）

《プログラム》

※東京会場、大阪会場ともプログラムは同じです。

- 13:00～13:05 開会挨拶・事務連絡 電磁界情報センター 事務局
- 13:05～13:25 商用周波磁界と小児白血病-研究の経緯と今後-
電磁界情報センター 所長 大久保 千代次
- 13:25～14:15 こどもの白血病について
－疾患の概説とその病因について－
大阪市立総合医療センター 副院長 原 純一 氏
- 14:15～14:30 休 憩
- 14:30～15:10 疫学研究の最近の動向と今後について
東京女子医科大学 教授 山口 直人 氏
- 15:10～15:40 新たな研究アプローチの可能性について
電力中央研究所 上席研究員 中園 聡 氏
- 15:40～15:55 休 憩
- 15:55～16:25 質疑応答 司会 電磁界情報センター 事務局
- 16:25～16:30 閉 会

以 上

第5回電磁界フォーラム

「小児白血病！
これからの研究をどうするか」

講演者のご紹介

大久保 千代次

【講演テーマ】

『商用周波磁界と小児白血病-研究の経緯と今後-』

○役職

(財)電気安全環境研究所 電磁界情報センター所長
明治薬科大学 客員教授
WHO国際電磁界プロジェクト国際諮問委員会委員
総務省生体電磁環境に関する検討会 座長

○主な経歴

東京薬科大学卒 医学博士
元世界保健機関(WHO)放射線・環境衛生ユニット
サイエンティスト(国際電磁界プロジェクトスタッフ)
元経済産業相電力設備電磁界対策ワーキンググループ委員
元国立公衆衛生院 生理衛生学部長
元国立保健医療科学院 生活環境部部長

原 純一 氏

【講演テーマ】

『こどもの白血病について～疾患の概説とその病因について』

○役職

大阪市立総合医療センター

副院長 兼 小児医療センター血液腫瘍科部長

大阪大学大学院 医学系研究科 臨床教授

厚生労働省がん対策推進協議会委員

○主な経歴

大阪大学 医学部 卒業

トロント小児病院 免疫学部門フェロー

市立吹田市民病院 小児科 部長

大阪大学 小児科 助教授

山口 直人 氏

【講演テーマ】

『疫学研究の最近の動向と今後について』

○役職

東京女子医科大学

衛生学公衆衛生学教室第二講座 教授

○主な経歴

医学博士

慶應義塾大学 医学部 卒業

慶應義塾大学 医学部衛生学公衆衛生学教室 助手

産業医科大学 環境疫学教室 助教授

国立がんセンター研究所 疫学部 室長

国立がんセンター研究所 がん情報研究部 部長

中園 聡 氏

【講演テーマ】

『新たな研究アプローチの可能性について』

○役職

財団法人電力中央研究所 環境科学研究所
環境リスク評価領域 上席研究員
東京農工大学 客員准教授
電気学会 調査専門委員会 幹事

○主な経歴

東京農工大学 工学部 卒業 工学博士
漁網用海洋生物付着防止技術検討会 委員
東京電機大学 講師
ニューヨーク州立大学客員研究員

商用周波磁界と小児白血病 —研究の経緯と今後—

一般財団法人 電気安全環境研究所
電磁界情報センター
大久保 千代次

WHO国際電磁界プロジェクト



2010.8.20 電磁界セミナー(東京)



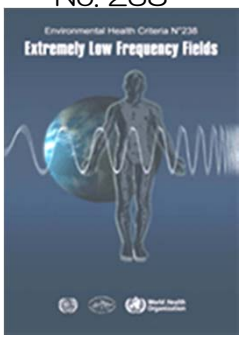
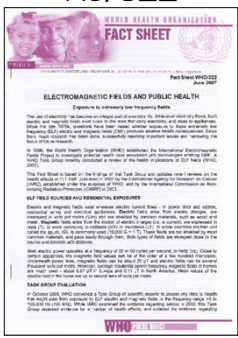
2007年6月

WHOが 環境保健クライテリアNo. 238と超低周波電磁界に関するファクトシートNo. 322を公表

環境保健クライテリア
No. 238

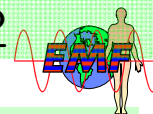



ファクトシート
No. 322



ファクトシート No.322



商用周波電磁界の短期的影響

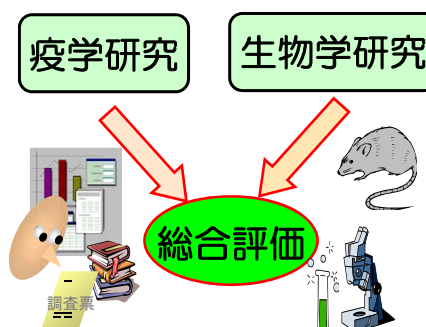
- 短期的ばく露については、誘導電流による健康への悪影響が科学的に確立されている。
- 国は、これらの影響から人々を護るために国際的なばく露ガイドラインを採用すべきである。

2010.8.20 電磁界セミナー(東京)



商用周波電磁界の長期的影響

- ・ 疫学研究から、長期的な影響として居住環境磁界ばく露 ($0.3-0.4 \mu\text{T}$ 以上) と 小児白血病との間に、弱いながらも統計的な関連性があることが報告されている。
- ・ 生物学的な研究からは、悪影響を及ぼす再現性のある結果は得られていない。



5

2010.8.20 電磁界セミナー(東京)



ファクトシート No.322

- IARCはELF磁界を「ヒトに対して発がん性があるかもしれない」と分類。その後に追加された研究は、この分類を変更するものではないと結論。
- 疫学的証拠は、潜在的な選択バイアス等の問題がある。
- 大多数の動物研究では影響は示されていない。
- がん進展に関係して、受け入れられている生物物理学的メカニズムはない。影響があるならば、未知の生物学的メカニズムがある筈。
- 全体として、小児白血病に関連する証拠は因果関係と見なせるほど強いものではない。
- 他の健康影響に関する証拠は、小児白血病よりも更に弱い。

6 JQIC

ファクトシート No.322

WHOのガイダンス

長期的影響に関しては、ELF磁界へのばく露と小児白血病との関連についての証拠が弱いことから、ばく露低減によって健康上の便益があるかどうか不明である。

ELF電磁界ばく露の健康影響に関する科学的証拠の不確かさを低減するため、科学を注視し、**研究プログラムを推進すべきである。**

- 1.加盟各国には、全ての利害関係者との効果的で開かれた**コミュニケーション・プログラム構築が奨励される。**
- 2.新たな設備を建設する、または新たな装置（電気製品を含む）を設計する際には、**ばく露低減のための低費用の方法を探索しても良い。**但し、恣意的に低いばく露限度の採用に基づく政策は承認されない。

7 JQIC

我が国の動き

2007年6月



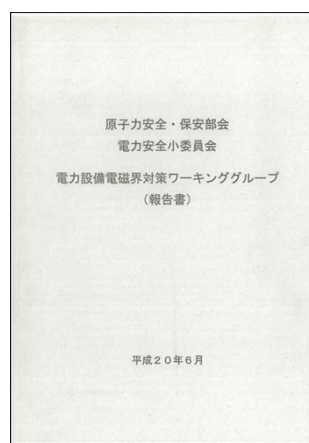
経済産業省が日本での電力設備に関する電磁界政策のあり方を検討するWGを開催



WGの報告書 2008年6月

WGの提言

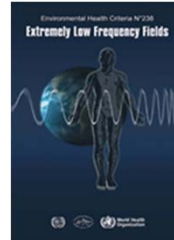
- (1) 高レベルの磁界による短期的な健康影響に係る対応
- (2) 低レベルの磁界による長期的な健康影響の可能性に係る対応
 - ① 更なる研究プログラムの推進
 - ② リスクコミュニケーション活動の充実
 - ③ ばく露低減のための低費用の方策



環境保健クライテリア（ELF-EHC）238

2007年6月18日

- 1 要約と更なる研究に対する推奨
- 2 発生源、計測、曝露
- 3 体内ドシメトリー
- 4 生物物理学メカニズム
- 5 神経行動反応
- 6 神経内分泌系
- 7 神経変性障害
- 8 心臓血管系疾患
- 9 免疫、血液系
- 10 生殖と発達
- 11 がん
- 12 健康リスク評価
- 13 防護措置（一般的課題、科学的結果、議論と推奨）



http://www.who.int/peh-emf/publications/elf_ehc/en/index.html

日本語訳は、

http://www.env.go.jp/chemi/electric/material/ehc238_j.pdf

19 JQIC

小児白血病に関するWHOの研究提言

疫学データ（ELF磁界ばく露と小児白血病のリスク上昇との関連性を示している）と実験およびメカニズムに関するデータ（上記の関連性を支持していない）との不一致を解決することが、この領域における研究の中で優先順位が最も高い。

これについて、疫学者と実験科学者との共同研究を勧告する。

11 JQIC

小児白血病に関するWHOの 研究提言

新たな疫学研究を有益なものとするには、ばく露の新たな側面、他の因子との潜在的相互作用、または高ばく露群に着目するか、あるいはこの研究領域における革新的な別の方法を用いなければならない。

ELF磁界ばく露の影響を研究するための適切な実験動物モデルを提供するため、小児白血病についての遺伝子導入による齧歯類モデルを開発すべきである。

12



欧州では 2010年7月

小児白血病の原因について理解を深める研究の推奨
Meeting Report: Research recommendations toward a
better understanding of the cause of childhood leukemia

Blood Cancer J 2011 [online 28 January 2011]

急性リンパ芽球性白血病(ALL)の、特に前駆B細胞性ALL(B-ALL)に焦点が絞られた。会議では、多様な学問分野の専門家(疫学、臨床、実験的モデル、理論的モデル、分子生物学、遺伝学)の見解の発表に基づき、主要な特徴と小児のALLに関する主要な疑問が作成された。それを受けて、最終的に、研究の推奨がまとめられた。

そして今年

FP7-ENV-2011 ARIMMORA 282891

13



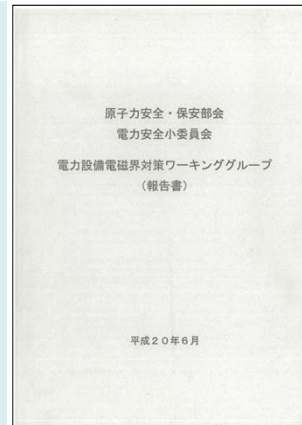
WGの報告書 2008年6月

WGの提言

(1) 高レベルの磁界による短期的な健康影響に係る対応

(2) 低レベルの磁界による長期的な健康影響の可能性に係る対応

- ① **更なる研究プログラムの推進**
- ② **リスクコミュニケーション活動の充実**
- ③ **ばく露低減のための低費用の方策**



我が国として何をすべきか？



こどもの白血病について ～疾患の概説とその病因について～

大阪市立総合医療センター
小児医療センター血液腫瘍科
原 純一

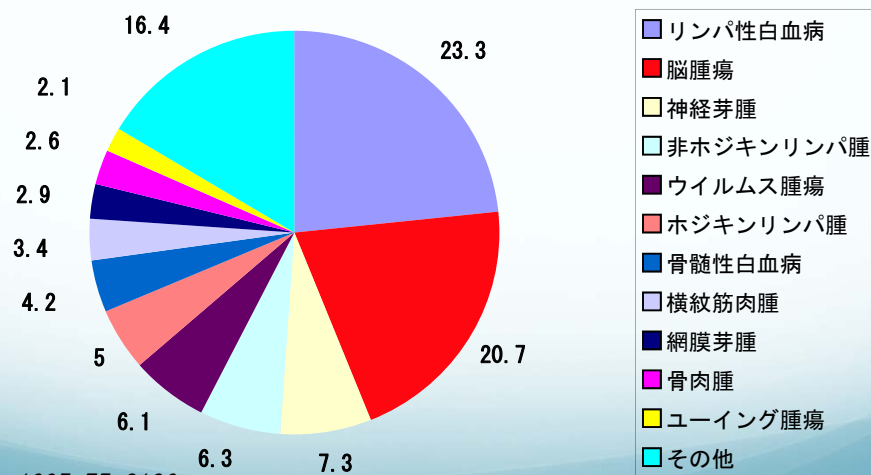
年齢別にみた死因順位

	1位	2位	3位
1-4歳	不慮の事故	先天異常	悪性新生物
5-9歳	不慮の事故	悪性新生物	先天異常
10-14歳	不慮の事故	悪性新生物	心疾患

(2001年度国民衛生の動向)

14歳以下の全死亡の30%が悪性新生物が死因
20-29歳の1000人に一人は小児がんからの生存者

各小児がんの頻度 (%)



小児がんの診療体制

日本での小児がん発生数は毎年推定2000人(1万人に一人)
白血病は500人

全国200カ所以上の病院で治療されている。
年間5人以下の患者数の施設が大半



経験が乏しくなり、治療うまくいかない。

疫学データなど情報を集めるににくい。(がん登録が進まない)

患者支援のためのインフラ、人的サポートの整備が困難



がん対策推進協議会で小児がん拠点病院の整備を答申

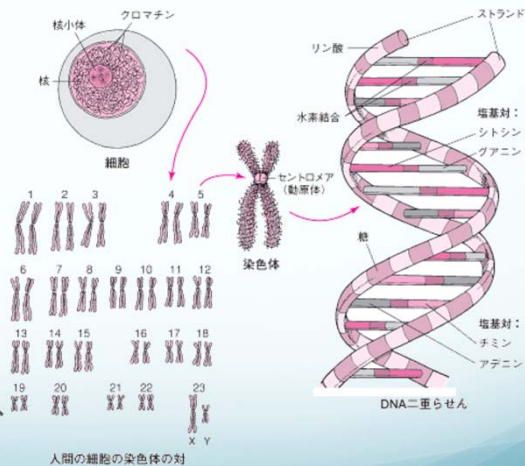
本日お話すること

- がんの基礎知識
- 白血病とは
- 小児白血病の発病メカニズム
- 小児白血病の発症時期
- まとめ

がんと白血病の基礎知識

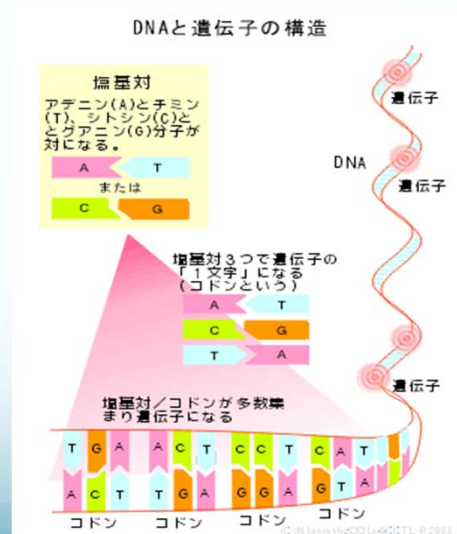
細胞、染色体、DNA、遺伝子

- 生物のからだは細胞の集まり
- ひとつの細胞は細胞質と核からできている。
- 核の中には染色体が存在
- 染色体はDNAが折り畳まれたもの
- DNAとは4種類の塩基と糖、リン酸がつながったもの

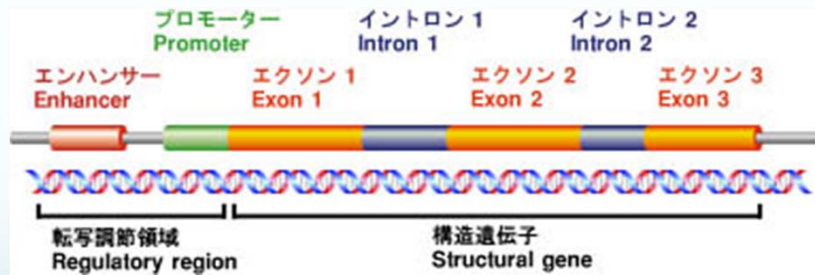


細胞、染色体、DNA、遺伝子

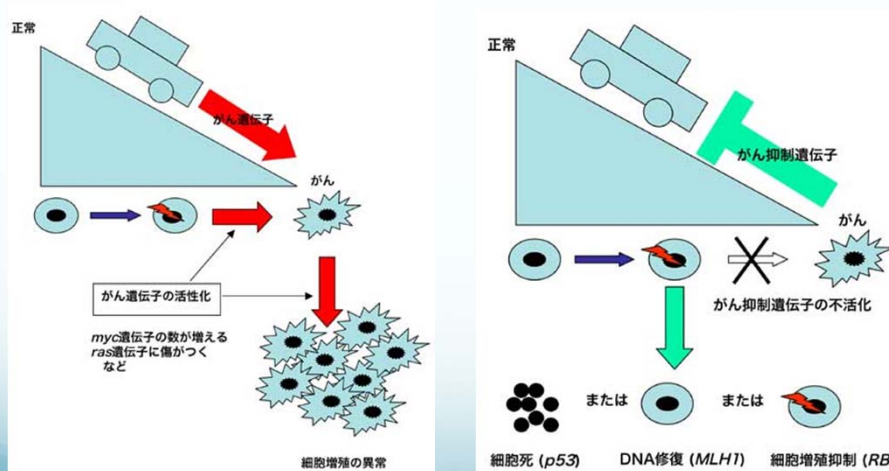
- 連続する3個の塩基の並び方で対応するアミノ酸が決まる。
- 連続したアミノ酸の種類でタンパクの種類も決まる。
- 遺伝子とは、タンパクの情報に対応する情報が書き込まれているDNA上のある長さをもった特定の領域を指す。



遺伝子とは

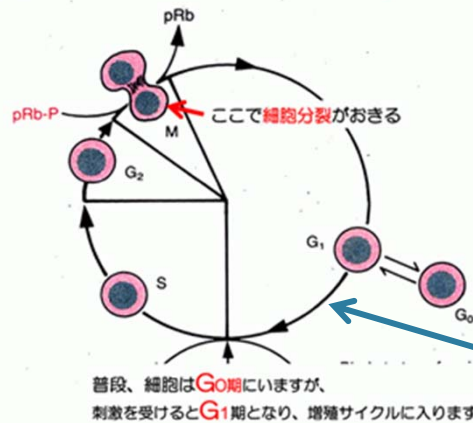


がん化のしくみ



細胞増殖の周期

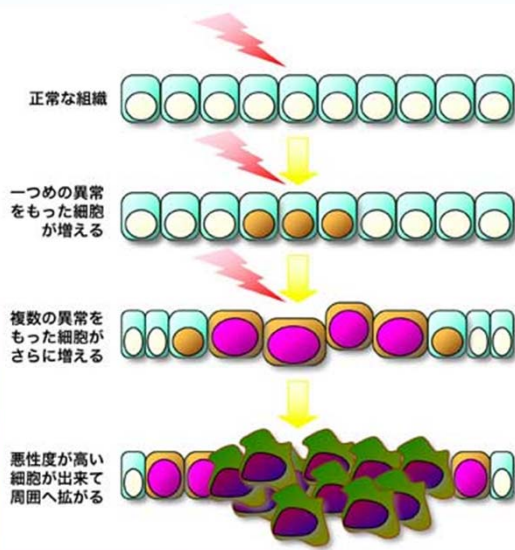
細胞が増えるサイクル (Cell cycleという)



- 細胞周期の各所で進めるかどうかのチェックがはいる。
- 最も重要なものがG1チェックポイント
- チェックポイントが潰れると細胞増殖が無制限に生じる。

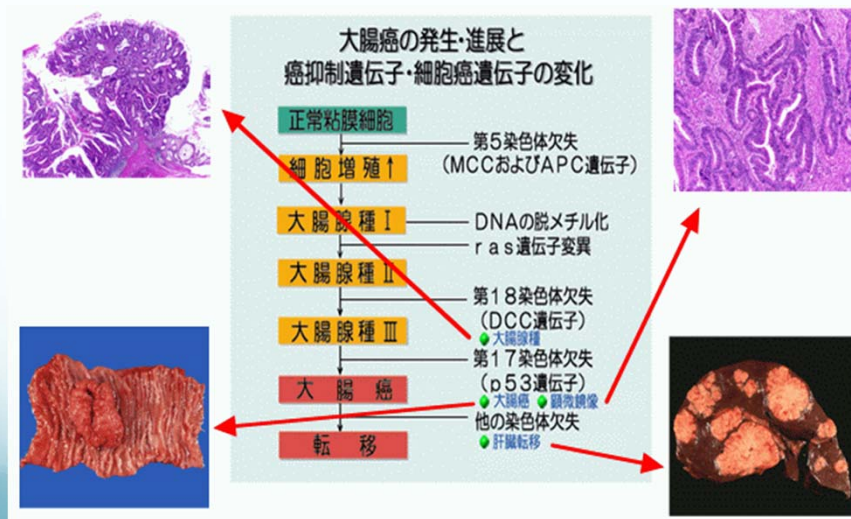
G1チェックポイント

がんとはどんなものでしょうか



- 正常な細胞の遺伝子に傷がつくことでがんの発生が始まる。
- 複数の傷が時間をかけて少しずつ増えて発がんに至る。
- ひとつだけの傷では発がんしない。
- これを多段階発がんと呼ぶ。

多段階発がんの例(大腸がん)

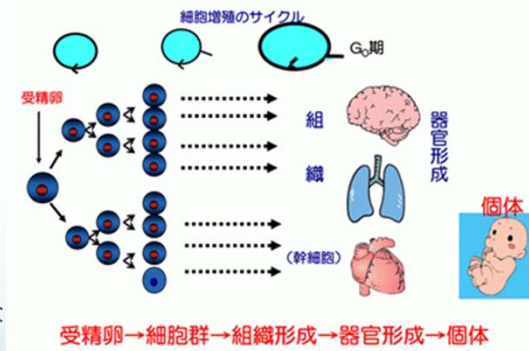


どのようにして遺伝子に傷がつくのでしょうか。

- 長年にわたり、発がん因子(紫外線、放射線、有機溶媒、喫煙、アスベスト、ホルモン、食物、など)により遺伝子についての傷が次第に増えてくる。
- 細胞が2つに分裂する時に、DNAは複製され、それぞれのセットがひとつの細胞に分配される。
- 複製の時にエラーが生じる。
- 加齢とともに発がん率が上昇する。
- 細胞増殖が盛んな部分でがんが発生しやすい。
- 骨肉腫は身長伸びる思春期に多い。

受精卵から赤ちゃんが生まれるまで

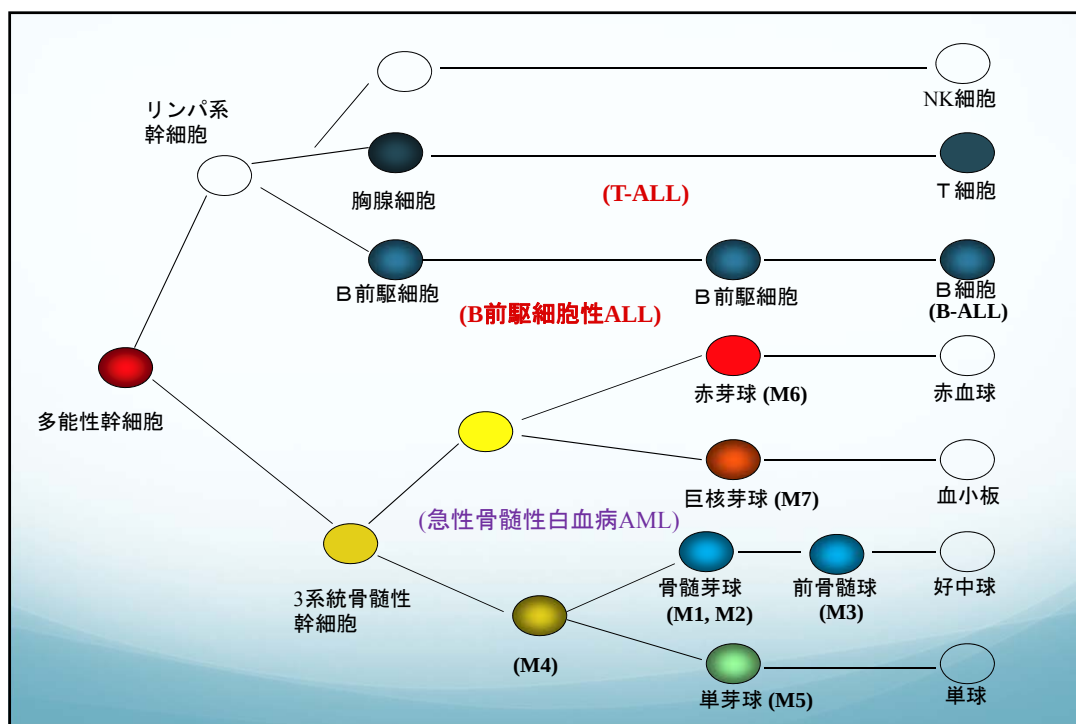
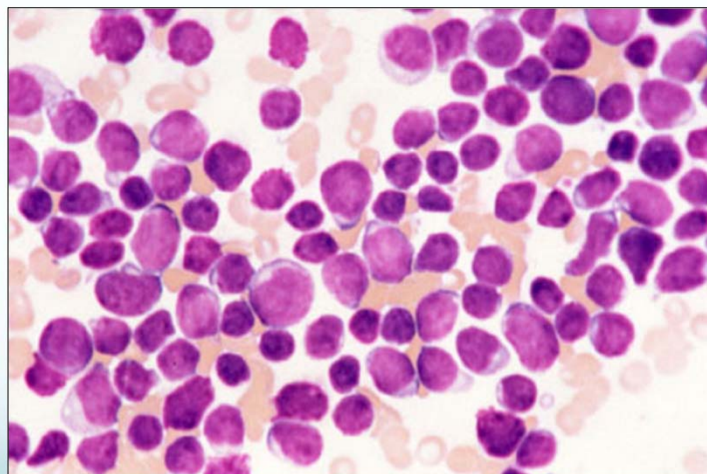
- 子どもは1個の受精卵が分裂を繰り返して60兆個の細胞になって誕生する。
- 分裂と同時に分化という現象が細胞に生じ、様々な機能をもった細胞になる。
- 一生の間で最も多くの細胞分裂が生じ、遺伝子の複製エラーも起きやすい。
- エラーが多く生じた場合や致命的なエラーを生じた場合は流産となる。

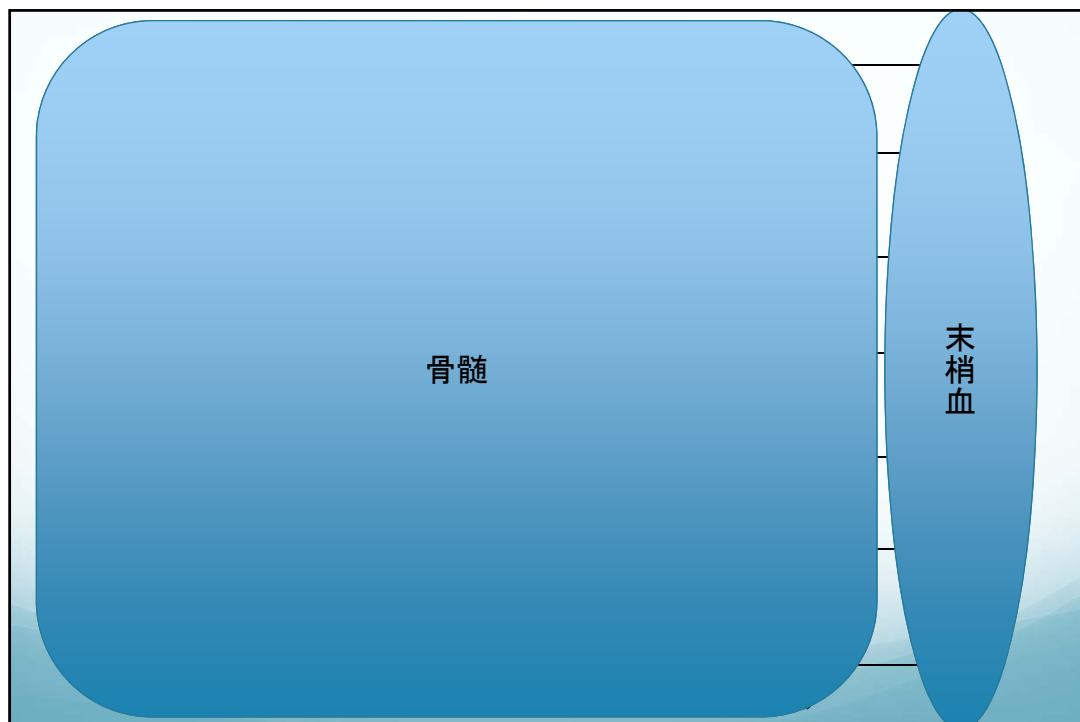


白血病とは

- 血液は血漿と呼ばれるタンパクを多く含む液体成分と白血球、赤血球、血小板の細胞成分からできている。
 - 白血病は血液細胞のがん
 - 血液細胞は消耗品 白血球、血小板は数日、赤血球は3ヶ月の寿命
- ↓
- 血液の元となる細胞(血液幹細胞)から、継続的に作られる。
 - 作られる過程でがん化を生じる。

白血病の細胞（骨髓）

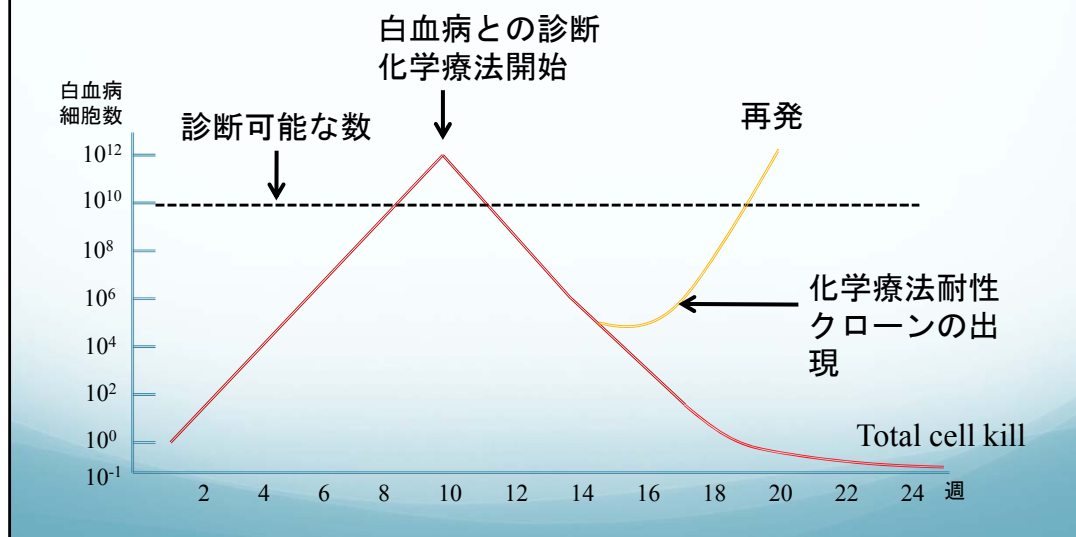




白血病の病態と症状

- 最初は骨髓で白血病細胞が増加するため、骨髓で正常な血液細胞が作られなくなる。
 - 赤血球の減少(貧血)、血小板の減少(鼻血、出血斑)、白血球の減少(感染症による発熱)
- 白血病細胞がさらに増加すると、血液中や身体中の組織に浸潤してくる。
 - 白血球の増加(正常な白血球ではない)、肝臓や脾臓、リンパ節が腫れる、など。

白血病の発症と治療の効果



小児の白血病の病型

急性リンパ球性白血病 (ALL)

小児白血病の約80%を占める。

B前駆細胞性 (B-pre ALL) : 80%

T細胞性 (T-ALL) : 20%

成熟B細胞性 (B-ALL) : 1-2%

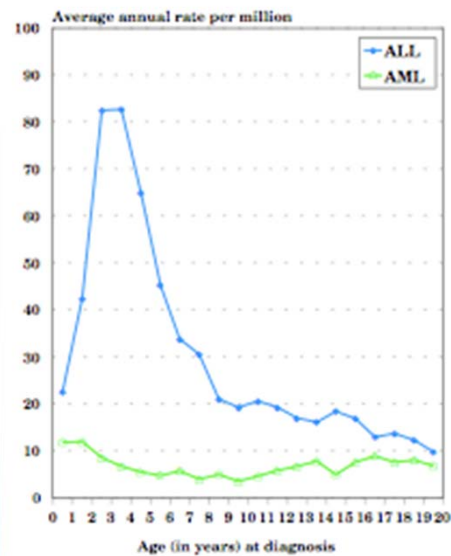
急性骨髄性白血病 (AML)

成人に比べ巨核芽球性白血病が多い。

小児白血病の年齢別頻度

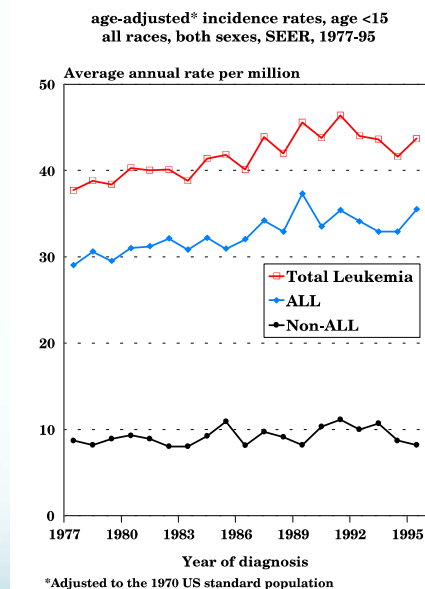
- ALLの発症ピークは2-5歳だが、このピークはイギリスで1920年代、アメリカでは1940年代、日本で1960年代に現れた。
- 発症原因となる環境因子の存在を疑わせる。

Figure 1.2a: ALL (1a): 1986-94, and AML (1b): 1976-84 and 1986-94 age-specific incidence rates, all races both sexes, SEER



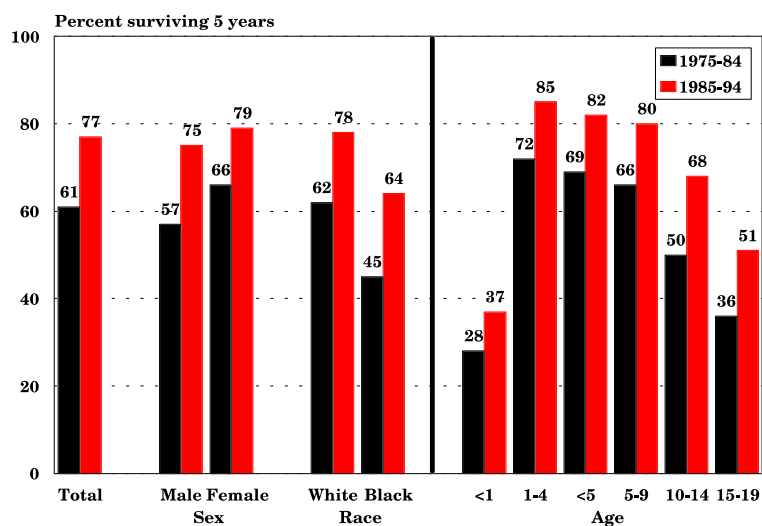
発生頻度の年次推移

- 米国では、ALLは増加しつつある。
- 日本では不明



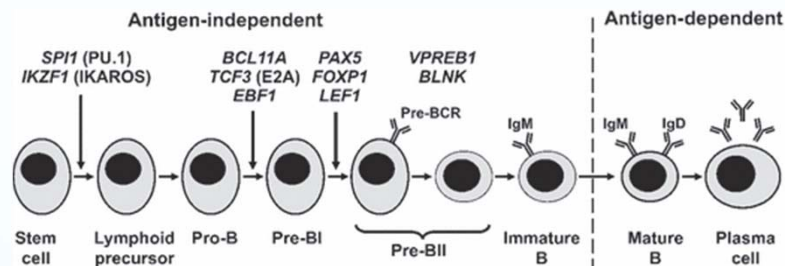
小児ALLの 治療成績の 推移

Figure I.8: ALL 5-year relative survival rates by sex, race, age and time period, SEER (9 areas), 1975-84 and 1985-94



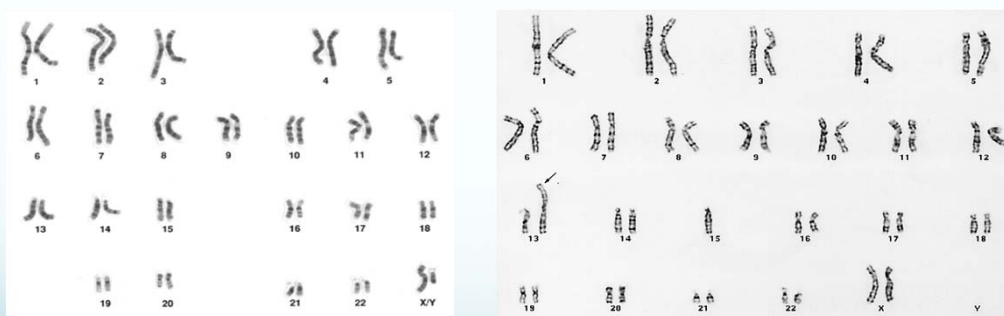
小児白血病の発がんメカニズム

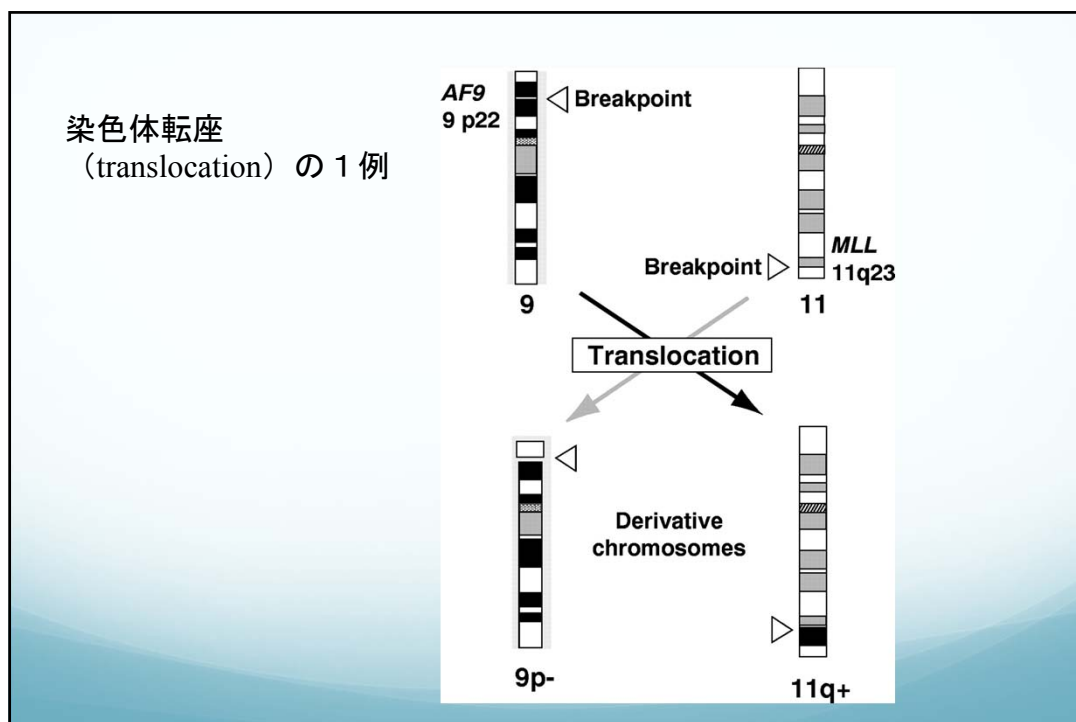
Bリンパ球の発分化



- B細胞が完成するまでに種々の遺伝子が順に働く。
- これらの遺伝子の複数の異常によってB前駆細胞ががん化(白血病化)する。

染色体とその異常





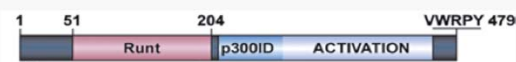
遺伝子の転座の例

TEL



Chromosome 12

AML1



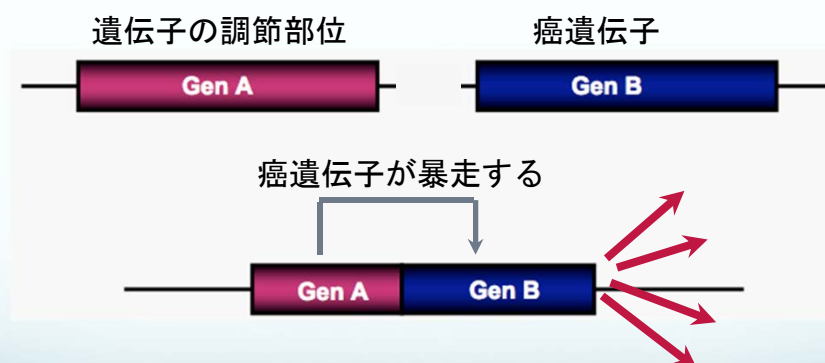
Chromosome 21

TEL-AML1 (t12;21)



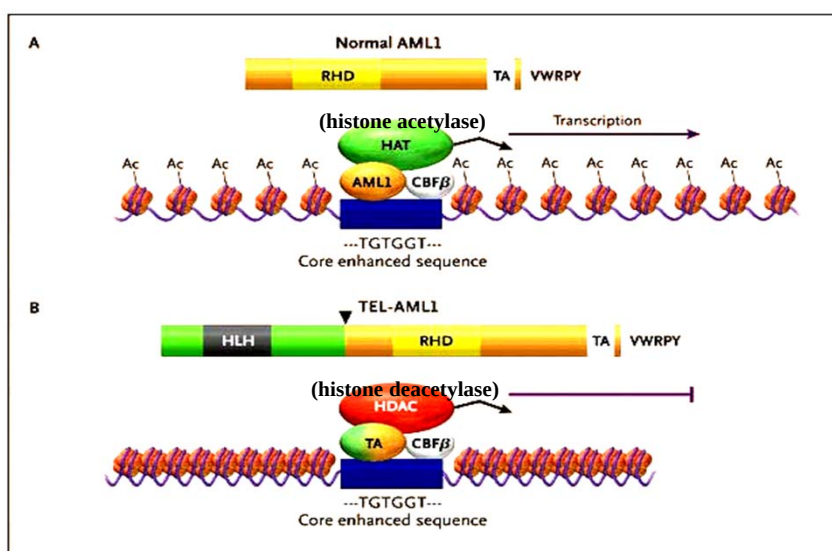
→ TELと結合することでAML1の機能が異常を来すが、これだけでは白血病にはならない。小児B前駆細胞性ALLの20%で見られる異常。

遺伝子の転座による遺伝子の調節の異常



実際に白血病を発症するには
もうひとつ異常が生じる必要がある。→ 2-hit仮説

Mechanism of Transcriptional Repression by TEL-AML1



正常なAML1はHATと結合して転写を促進するが、TELと結合することによりHDACと結合して転写を阻害する。

Pui, C.-H. et al. N Engl J Med 2004;350:1535-1548

AT Hook

DNA Methyltransferase

***Drosophila trx* Enhancer of zeste**

centromere
5' ←

5 kb

1

2 3 4abc 5 6 7 8 9-14 15-20 21-25 26-29 30-34

Transrepression

Transactivation

telomere
→ 3'

B bcr B

8.3 kb

Felix, C. A. et al. Oncologist 1999;4:225-240

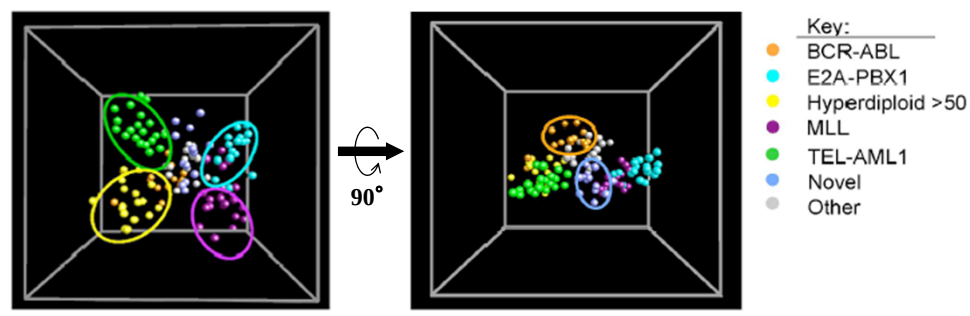


Copyright ©1999 AlphaMed Press

*This subtype of leukaemia has phenotypical features of both early B-lineage progenitors and monocytes. [†]MLL might modify chromatin structure and control the expression of key developmental genes (such as *HOX*). [‡]AML1, which is an important positive transcriptional regulator, might be switched to a transcriptional repressor in these fusions.^{15,16}

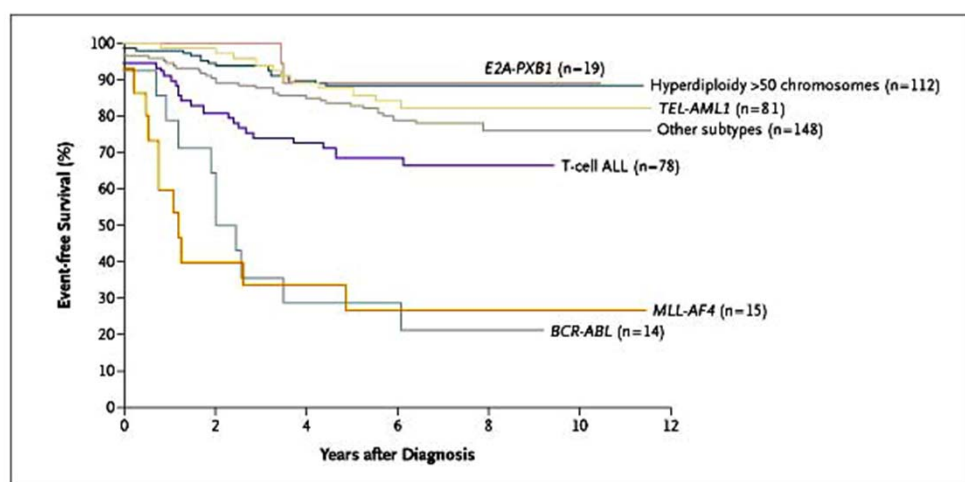
Classification of pediatric acute lymphoblastic leukemia by gene expression profiling.

Ross ME, et al. *Blood*. 2003, May 1



遺伝子異常の種類ごとに異った遺伝子発現プロファイルを示す。
つまり、生物学的に異った白血病。

Kaplan-Meier Analysis of Event-free Survival According to the Subtype of Leukemia in 467 Children with ALL Who Were Enrolled in Three Consecutive Treatment Protocols at St. Jude

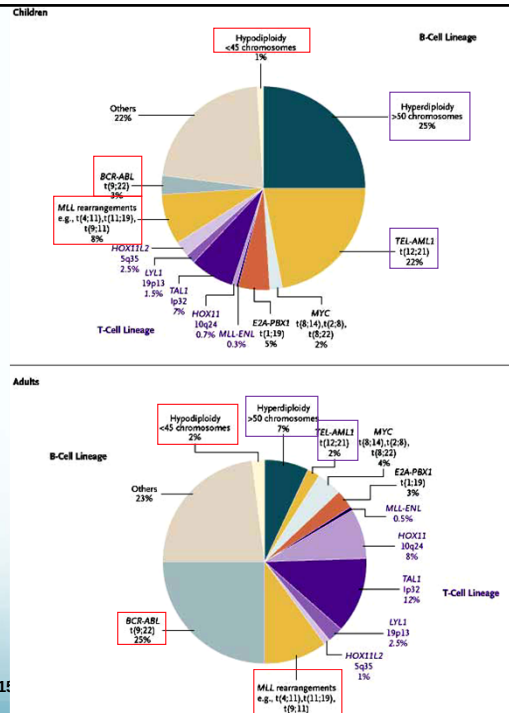


Pui, C.-H. et al. *N Engl J Med* 2004;350:1535-1548

Estimated Frequency of Specific Genotypes of ALL in Children and Adults

1. ALLの多くは転座型染色体異常を有する。
2. 小児では予後良好とされる染色体異常が約半数を占める。
3. これに対し、成人では予後不良であるBCR/ABL転座（フィラデルフィア染色体）を有する症例が1/4を占める。

Pui, C.-H. et al. N Engl J Med 2004;350:1535-1543

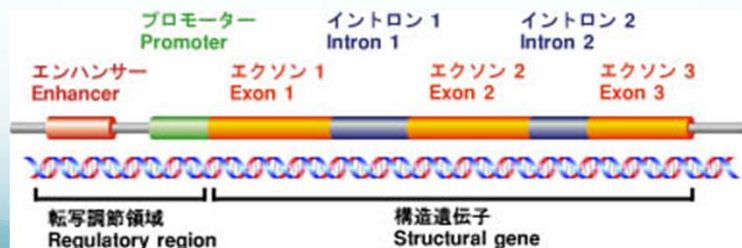


B前駆細胞性ALLの発症機序

- 染色体転座 (*TEL-AML1*, *E2A-PBX1*, *MLL-AF4*, *BCR-ABL*, etc)
- 遺伝子の欠失や変異
 - 細胞分化: *IKZF1*, *PAX5*, *EBF1*, *TEL*, *E2A*, etc
 - 細胞増殖シグナル: *JAK*
 - 細胞増殖抑制: *CDKN2A/B*, *RB1*, *BTG1*
- 上記のものが合わさってがん化する。
- 素因(体質)も一部関与
 - *IKZF1*, *ARID5B*, *CEBPE*の特定の塩基配列(SNP)を有する場合、発症確率が1.6倍になる。

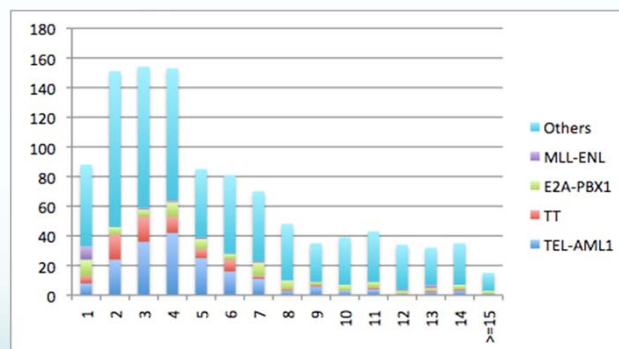
一塩基多型 (Single Nucleotide Polymorphism: SNP)

- プロモーターの塩基配列には個人差がある。
- それによってプロモーターの活性が異なり、遺伝子の転写活性が影響を受ける。
- 素因(体質)はSNPで説明される。

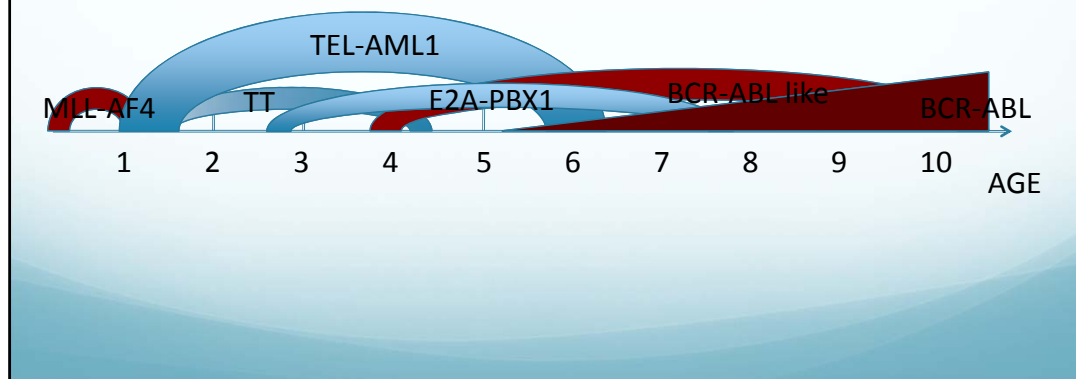


ALLの種別別頻度

- 日本のデータ
- 小児白血病研究会 (2002-2008年)
- 時代とともに増えた2-5歳のALLはTEL-AML1転座を有する白血病？



B前駆細胞性ALLの各サブグループと年齢の関係



B前駆細胞性ALL

- B前駆細胞性ALLといっても発がんの原因となっている遺伝子異常の種類によって悪性度や好発年齢が異なり、異なった疾患の集合体と考えたほうがよい。
- 特徴的なもの
 - MLL遺伝子転座: ほとんどが乳児期に発症。予後不良
 - TEL-AML1遺伝子転座: 2～4歳に多い。予後良好。全体の2割を占める。先進国で増加している？

こどもの白血病はいつから発病しているのでしょうか？

乳児の白血病が胎生期に発症することの証明

In utero rearrangements in the trithorax-related oncogene in infant leukaemias.

Ford AM, Ridge SA, Cabrera ME, Mahmoud H, Steel CM, Chan LC, Greaves M.
Nature. 1993 May 27;363(6427):358-60.

一卵性双生児に発症した乳児白血病で調べた3組の白血病が同一クローンであることを初めて証明した。

ひとりに胎内で発生した白血病細胞が、胎盤を通じて他の一人に転移したことを意味する。

すなわち、白血病は胎生期に発症していることを初めて示した。

一卵性双生児の白血病

- 双子のふたりが相次いで発症することがある。(10-15%)
↓
- ひとりの胎児で発生した白血病細胞が残り一人に胎盤を通して転移する。

Twin pairs	Age at diagnosis (years)	Leukemia Type
1	1	Infant pro-B ALL with MLL fusion
2	1	Infant pro-B ALL with MLL fusion
3	1	Infant pro-B ALL with MLL fusion
4	1	Infant pro-B ALL with MLL fusion
5	1	Infant pro-B ALL with MLL fusion
6	1	Infant pro-B ALL with MLL fusion
7	1	Infant pro-B ALL with MLL fusion
8	1	Infant pro-B ALL with MLL fusion
9	1	Infant pro-B ALL with MLL fusion
10	1	Infant pro-B ALL with MLL fusion
1	2	ALL with TEL-AML1 fusion
2	2	ALL with TEL-AML1 fusion
3	2	ALL with TEL-AML1 fusion
4	2	ALL with TEL-AML1 fusion
5	2	ALL with TEL-AML1 fusion
6	2	ALL with TEL-AML1 fusion
7	2	ALL with TEL-AML1 fusion
8	2	ALL with TEL-AML1 fusion
9	2	ALL with TEL-AML1 fusion
10	2	ALL with TEL-AML1 fusion
1	3	T-ALL/NHL with TCRβ marker
2	3	T-ALL/NHL with TCRβ marker
3	3	T-ALL/NHL with TCRβ marker
4	3	T-ALL/NHL with TCRβ marker
5	3	T-ALL/NHL with TCRβ marker
6	3	T-ALL/NHL with TCRβ marker
7	3	T-ALL/NHL with TCRβ marker
8	3	T-ALL/NHL with TCRβ marker
9	3	T-ALL/NHL with TCRβ marker
10	3	T-ALL/NHL with TCRβ marker
1	4	ALL with hyperdiploidy and IGH/TCRδ markers
2	4	ALL with hyperdiploidy and IGH/TCRδ markers
3	4	ALL with hyperdiploidy and IGH/TCRδ markers
4	4	ALL with hyperdiploidy and IGH/TCRδ markers
5	4	ALL with hyperdiploidy and IGH/TCRδ markers
6	4	ALL with hyperdiploidy and IGH/TCRδ markers
7	4	ALL with hyperdiploidy and IGH/TCRδ markers
8	4	ALL with hyperdiploidy and IGH/TCRδ markers
9	4	ALL with hyperdiploidy and IGH/TCRδ markers
10	4	ALL with hyperdiploidy and IGH/TCRδ markers
1	5	AML with multiple markers of chromosome instability
2	5	AML with multiple markers of chromosome instability
3	5	AML with multiple markers of chromosome instability
4	5	AML with multiple markers of chromosome instability
5	5	AML with multiple markers of chromosome instability
6	5	AML with multiple markers of chromosome instability
7	5	AML with multiple markers of chromosome instability
8	5	AML with multiple markers of chromosome instability
9	5	AML with multiple markers of chromosome instability
10	5	AML with multiple markers of chromosome instability
1	6	No leukaemia
2	6	No leukaemia
3	6	No leukaemia
4	6	No leukaemia
5	6	No leukaemia
6	6	No leukaemia
7	6	No leukaemia
8	6	No leukaemia
9	6	No leukaemia
10	6	No leukaemia

一卵性双生児の白血病（続き）

- MLL遺伝子の異常を持つ白血病はふたりほぼ同時に発症
 - ↓
- 胎児ですでに白血病を発症（二つ以上の遺伝子異常が発生している？）
- TEL-AML1転座白血病は数年間の間隔がある。
 - ↓
- 胎児では一つの遺伝子異常のみ。残りは出生後に生じる。

Twin Pairs	Age at diagnosis (years)	Leukemia Type
1	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
2	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
3	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
4	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
5	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
6	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
7	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
8	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
9	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
10	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
11	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
12	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
13	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
14	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
15	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
16	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
17	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
18	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
19	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
20	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
21	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
22	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
23	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
24	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
25	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
26	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
27	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
28	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
29	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
30	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
31	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
32	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
33	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
34	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
35	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
36	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
37	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
38	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
39	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
40	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
41	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
42	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
43	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
44	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
45	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
46	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
47	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
48	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
49	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
50	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
51	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
52	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
53	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
54	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
55	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
56	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
57	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
58	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
59	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
60	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
61	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
62	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
63	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
64	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
65	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
66	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
67	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
68	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
69	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
70	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
71	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
72	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
73	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
74	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
75	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
76	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
77	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
78	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
79	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
80	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
81	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
82	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
83	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
84	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
85	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
86	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
87	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
88	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
89	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
90	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
91	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
92	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
93	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
94	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
95	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
96	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
97	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
98	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
99	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion
100	1.0	Infant pro-B ALL with MLL fusion

白血病患児の出生時の血中に白血病と同じ遺伝子異常を有する細胞が存在する

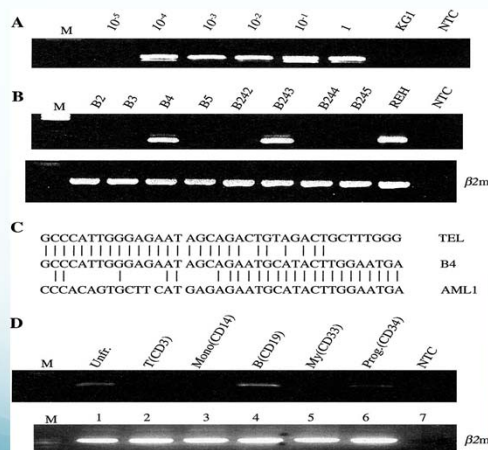
Table 2 | **Backtracking paediatric leukaemias to birth: Guthrie blood spots**

Leukaemia subtype	Genetic lesion*	Frequency of lesion in neonatal blood spots (%)	References
Infant ALL	<i>MLL-AF4</i>	~100	97,100 [‡] ,101 [‡]
Childhood ALL	<i>TEL-AML</i>	~75	98,141
Childhood ALL	<i>E2A-PBX1</i>	~10	17
Childhood ALL	Hyperdiploidy [‡]	Most? [‡]	102 [‡] ,103 [‡]
Childhood AML	<i>AML1-ETO</i>	~50	99

*Clonotypic fusion-gene (genomic) sequences were detected, except for cases of hyperdiploidy and those studies marked [‡], for which unique immunoglobulin heavy chain (IGH) sequences were used as clone-specific markers. [‡]It is unclear what proportion of cases are prenatal as judged by IGH clonal markers, but 100% of neonatal blood spots were positive for the genetic lesion in one study^{102, ||}. In addition to these cases with *AML1-ETO*, McHale et al.¹⁴² report one case (aged 10 years, 7 months) with neonatal blood spots positive for *PML-RAR*, and another (aged 9 years, 4 months) positive for *CBFB-MYH11*. ALL, acute lymphoblastic leukaemia; AML, acute myeloid leukaemia.

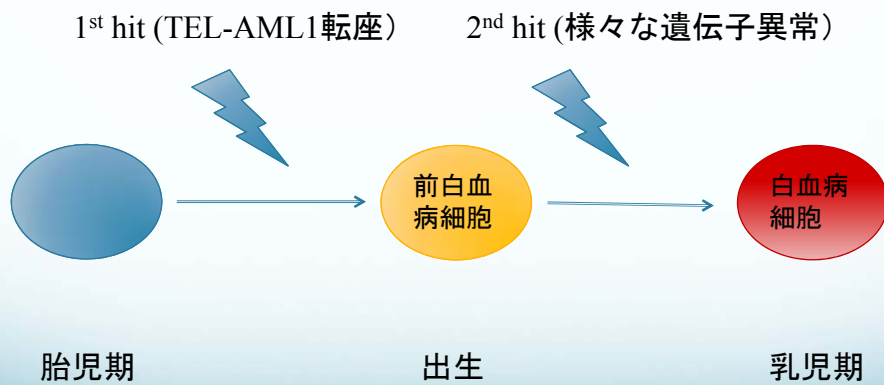
但し、極めて少ない数の細胞

TEL-AML1転座を有する細胞は健康新生児にも存在する

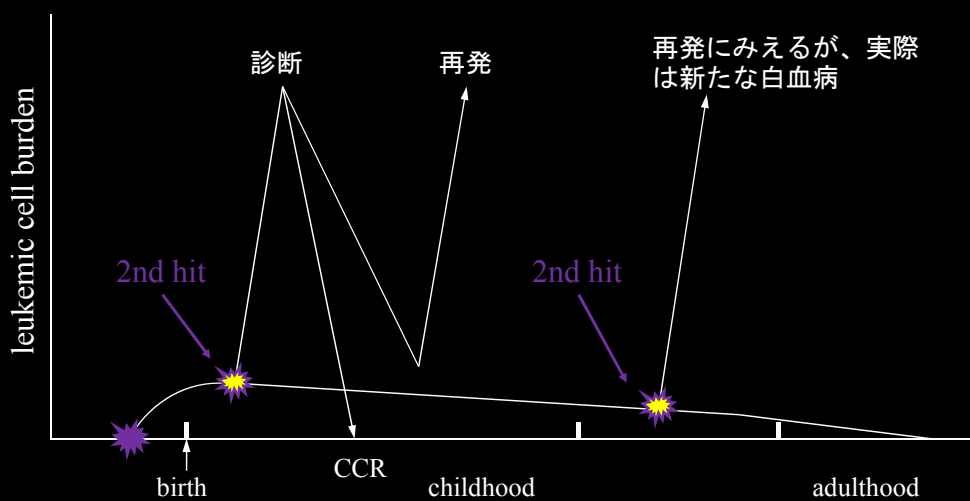


567人中6人で見つかった
↓
約100人に一人で最初のヒットあり。
↓
ヒットの起きた1000人に一人ですらに別のヒットが生じる。
↓
10万人あたり1人の発症

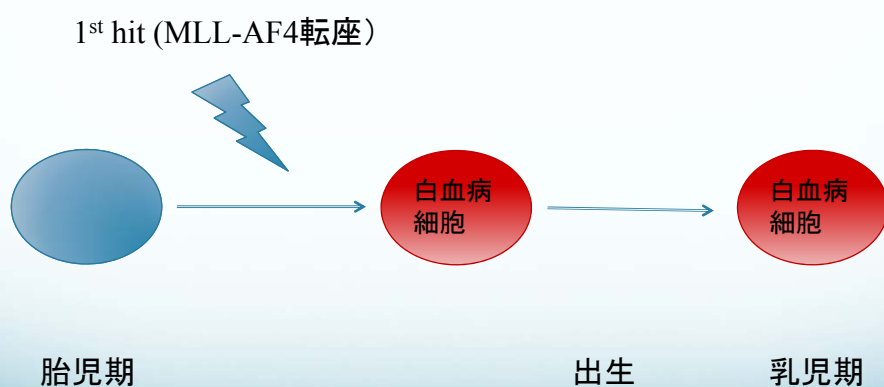
小児白血病の発症



Fate of TEL/AML1 positive clones



乳児白血病 (MLL-AF4) の発症



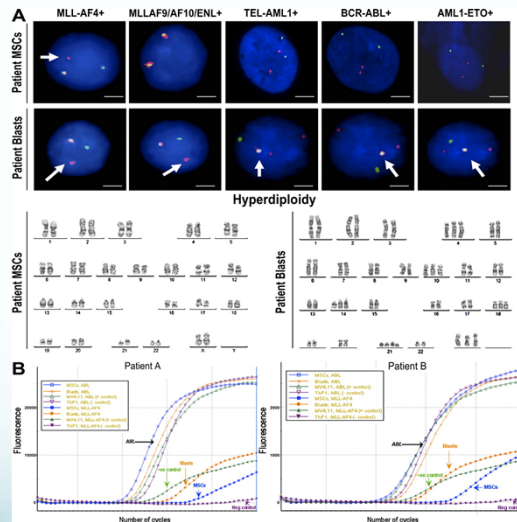
t(4;11) (MLL-AF4) の特殊性

- 特に予後不良
- MLL-AF4ノックインモデルでは、B-lymphomaを発症。しかし、発症までに時間がかかる。
 - MLL-AF4 & AF4-MLLをLin-/Sca1+細胞に導入すると高率に白血化
 - AF4-MLLはAF4がリクルートするDOT1LのH3K79とMLLのH3K4の methyltransferase活性を有する。

MLL-AF4 fusion gene is present and expressed in BM-MSCs from infants with MLL-AF4+ pro-B-ALL.

MLL-AF4白血病患者のみにmesenchymal stromal cellにもMLL-AF4 fusion geneが存在する。

MLL-AF4白血病でのfirst hitはHSCとMCSの前段階のmesodermal prehematopoietic precursorで生じる？



Menendez P et al. J Exp Med 2009;206:3131-3141

© 2009 Menendez et al.

JEM

小児白血病の疫学

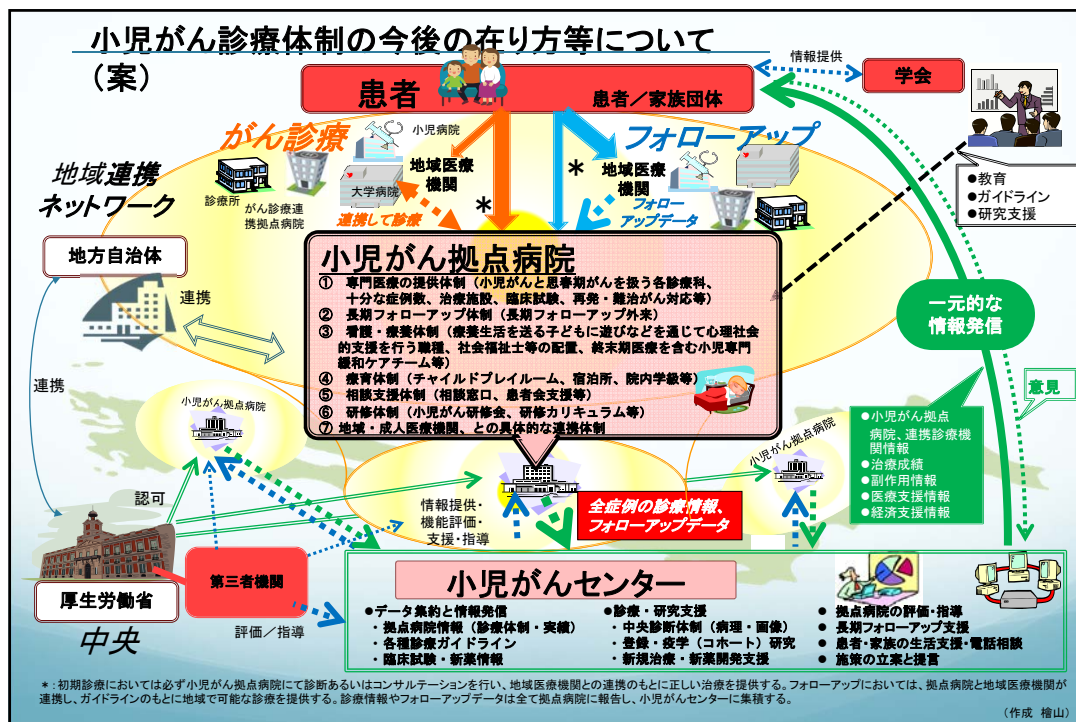
- 人種差
 - ALLは北アフリカや中東では比較的まれ。中国、インド、フィリピンではAMLが多く、約半分を占める。
- 性差
 - ALLは男子に多いが、AMLでは差はない。
- 2-4歳での発症のピーク
 - 先進国で著明だが、途上国では不明瞭
 - 米国ではアフリカ系ではピークは低い。

抗がん剤(トポイソメラーゼII阻害剤)による白血病の誘発

- トポイソメラーゼII阻害剤は高率に白血病を誘発する。
 - ほとんどの誘発白血病はMLL遺伝子の転座を有する。
 - 乳児白血病の75%もMLL遺伝子の転座を有する。
- ↓
- 仮説:環境に存在するトポイソメラーゼII阻害物質の母体による摂取が乳児白血病の発症に関与？
- ↓
- topoisomerase II阻害作用を有する環境因子
 - キノロン系抗生剤、フラボノイド、カテキン、ベンゼン代謝物、エストロゲン
 - 疫学
 - NSAID: dipyrrone, 殺虫剤: Baygon, 抗真菌剤: metronidazole, 薬草

結局……？

- 白血病は転座を主とする遺伝子異常によって発症する。
- 小児白血病も多段階発がんである。
- 同じ白血病でも原因ごとに別の疾患と考えたほうがよい。
- 1st hitは胎児期に起こり、前白血病細胞が生じる。ほとんどはそのような細胞は消滅するが、一部の細胞が2nd hitによりがん化する。
- 2nd hitは出生後に生じる。
- 2nd hitは素因と環境要因（？）による遺伝子異常
- 成人癌と同様に環境因子が誘因と考えられるが、発生頻度が低いことがその解明を妨げている。
- 白血病は予防可能な疾患では？との考え方が広がりつつある。



電磁界フォーラム 2011

疫学研究の最近の動向と
今後について

東京女子医科大学
山口 直人

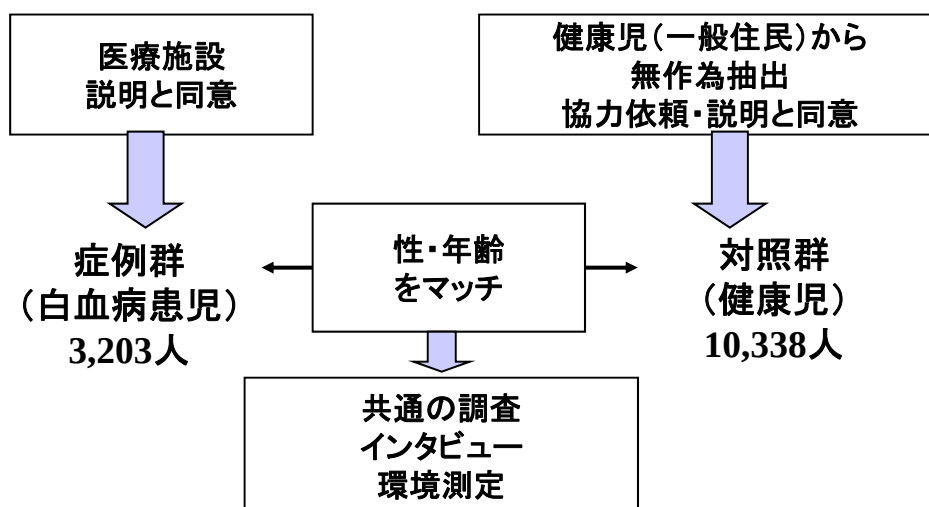
WHO: IARCモノグラフ(2002)

疫学調査のプール分析

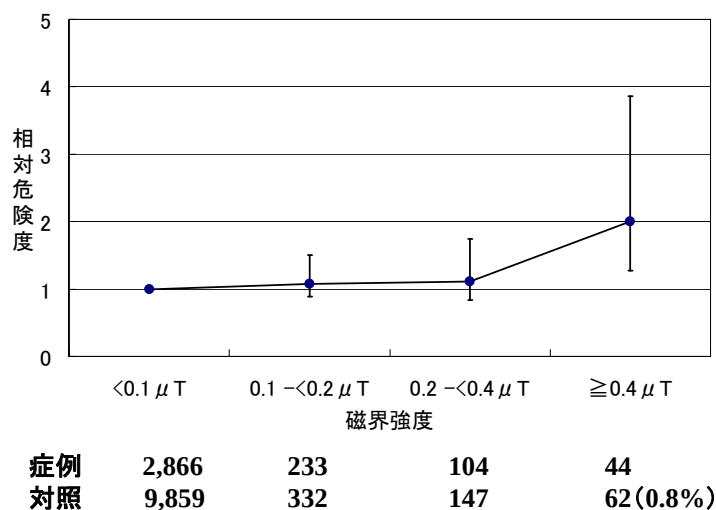
(Ahlbom BJC 2000)

- 9カ国(米国、カナダ、英国、ドイツ、デンマーク、フィンランド、ノルウェー、スウェーデン、ニュージーランド)で行われた小児白血病の症例対照研究のデータをすべてプールして行った分析
- 総症例数: 3, 203人、対照数: 10, 338人
- 磁界強度を $<0.1\mu\text{T}$, $0.1-<0.2\mu\text{T}$, $0.2-<0.4\mu\text{T}$, $\geq 0.4\mu\text{T}$ に分類すると、 $\geq 0.4\mu\text{T}$ 群は $<0.1\mu\text{T}$ 群と比較して有意に白血病リスクが高かった
- $\geq 0.4\mu\text{T}$ 群は全体の0.8%を占める

研究デザイン



9カ国の小児白血病の症例対照研究のプール分析 (Ahlbom BJC 2000)



IARCモノグラフ 2002 小児白血病

- 限定的証拠 (Limited evidence) : 疫学研究でリスクの増加を示唆する知見が得られているが、参加バイアス (selection bias)、情報バイアス (information bias) や交絡因子の影響による可能性を否定しきれない
- 動物実験、生物学的研究と総合して、グループ 2B: 人に発がん性を有する可能性あり
- さらなる研究が必要

真実と研究結果は異なる可能性がある

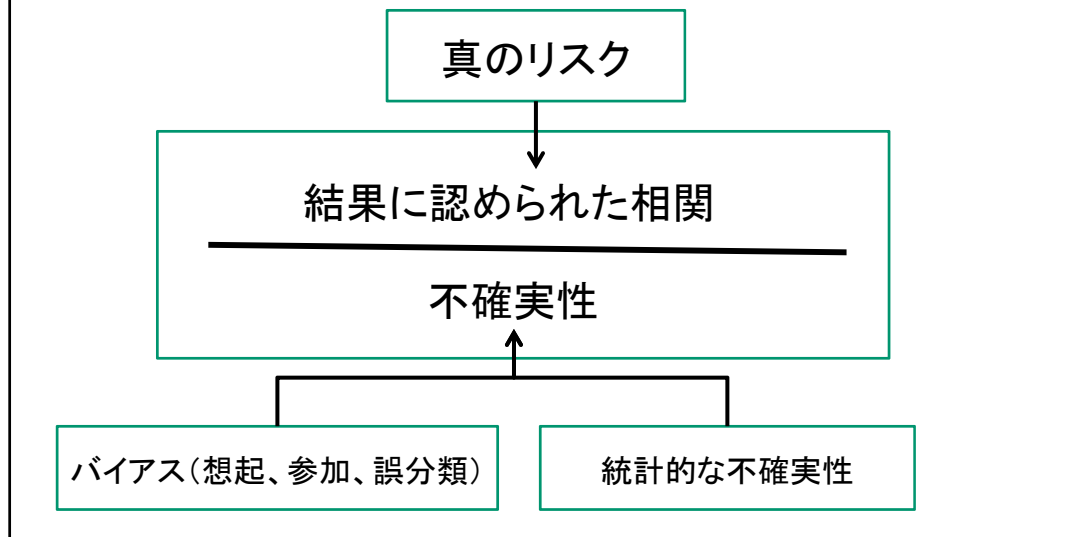
		真実	
		リスクなし	リスクあり
研究結果	相関なし		偽陰性
	相関あり	偽陽性	

真実と研究結果は異なる可能性がある

		真実	
		リスクなし	リスクあり
研究結果	相関なし	「なし」に十分な証拠 証拠不十分	
	相関あり	限定的な証拠	十分な証拠

判定不可能
バイアスの可能性を否定できない
・高い相対リスク
・一致した結果
・量反応関係
・メカニズム
→ バイアスでない

疫学研究の信頼性を左右する諸因子



エビデンスレベル

- ・ 相関(+) ≫ 不確実性 → 十分な証拠
- ・ 相関(+) < 不確実性 → 限定的な証拠
- ・ 相関(-)~(+) ≪ 不確実性 → 証拠不十分
- ・ 相関(-) ≫ 不確実性 → 「なし」の十分な証拠

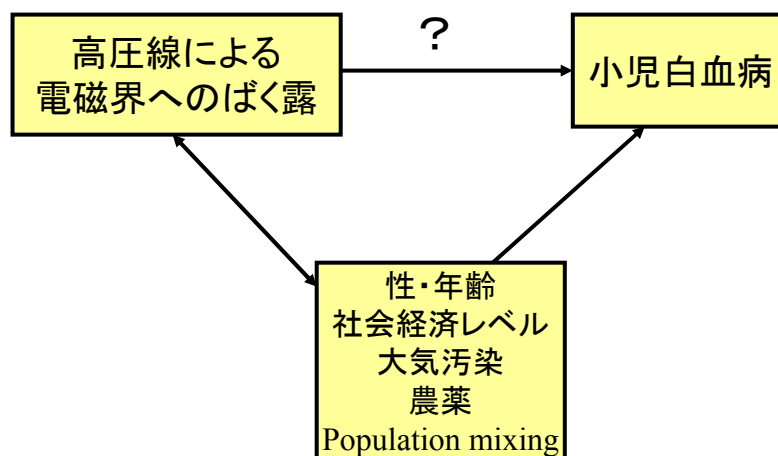
参加バイアスの可能性 過大評価しているのではないか？

	ケース群	コントロール群
44 (参加率100%)	44	62 (参加率40%)
5,732 (参加率50%)	2,866	9,859 (参加率50%)

観察されたオッズ比 = $(44/2,866) \div (62/9,859) = 2.44$

真のオッズ比 = $(44/5,732) \div (155/19,718) = 0.98$

交絡因子

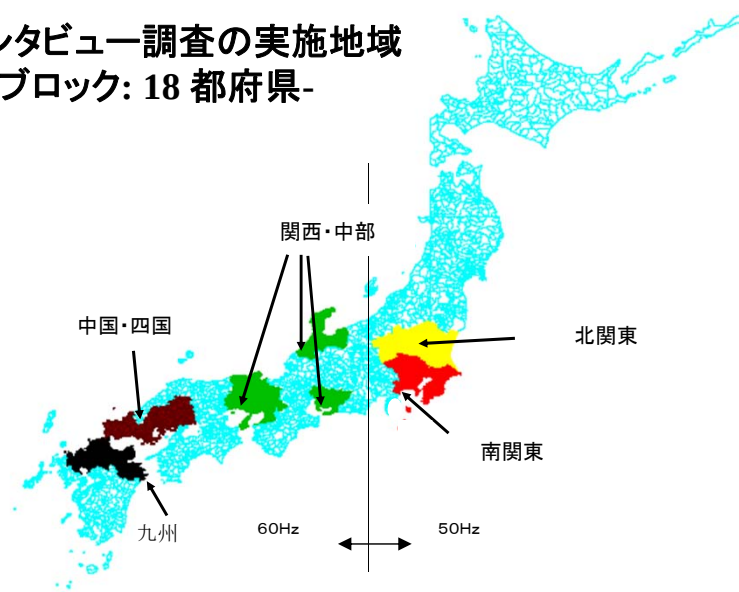


WHO：環境保健クライテリア(2007)

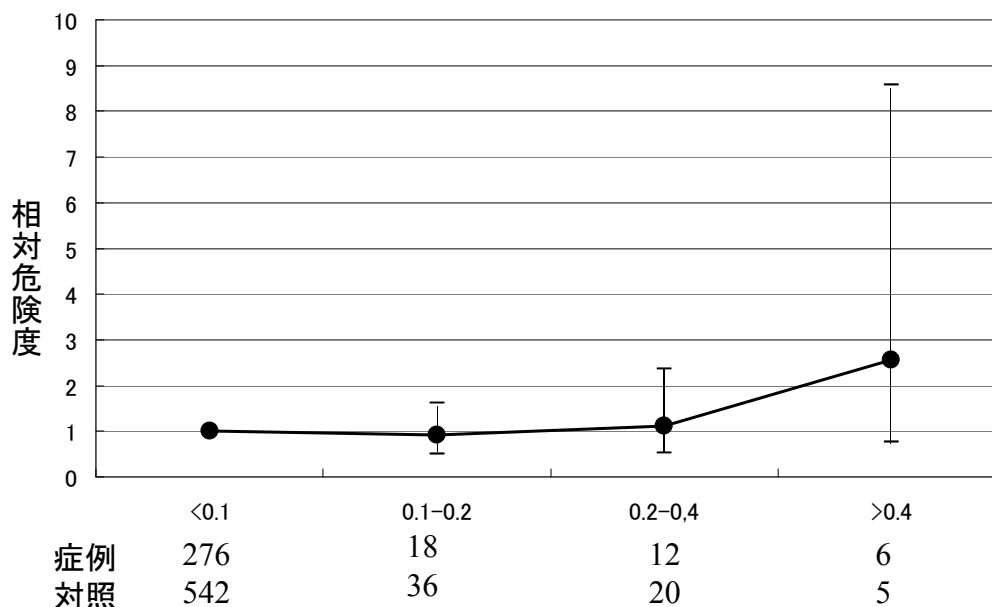
わが国で実施された症例対照研究

(Kabuto IJC 2006)

インタビュー調査の実施地域
- 5ブロック: 18 都府県 -



急性リンパ性白血病+急性骨髄性白血病



英国の全国規模の症例対照研究

(Draper BMJ 2005)

- 症例: 英国 (England, Scotland, Wales) で1962-95に診断された0-14歳の小児がん29,081症例、その中で白血病は9,700症例
 - National Registry of Childhood Tumours (National Cancer Registration System, UK Children's Cancer Study Group) に登録された症例
- 個人マッチングした対照: 性、出生日、出生地 (birth registration district: 400) をあわせた
 - Birth Registers から無作為抽出
- ばく露指標: 出生時の住所と高圧線との距離
 - National Grid から21,800鉄塔の位置情報を得た

高圧線からの距離と小児白血病リスク

Distance, <i>d</i> (metres)	RR (95% CI)	RR* (95% CI)
0-49	1.67 (0.40 to 6.97)	1.65 (0.39 to 6.89)
50-69	1.51 (0.48 to 4.79)	1.53 (0.48 to 4.83)
70-99	2.02 (0.76 to 5.39)	2.00 (0.75 to 5.32)
100-199	1.64 (1.00 to 2.71)	1.64 (0.99 to 2.70)
0-199	1.69 (1.13 to 2.53)	1.68 (1.12 to 2.52)
200-599	1.23 (1.02 to 1.49)	1.22 (1.01 to 1.47)
≥600 (reference group)	1.00	1.00

*Adjusted for socioeconomic status.

英国の全国規模の症例対照研究

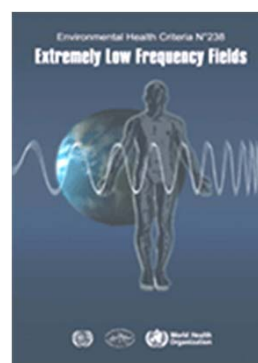
(Draper BMJ 2005)

- 強み: 参加バイアスなし
- 不正確なばく露指標: 高圧線からの距離
- 交絡因子の調整が不十分
 - 性、年齢は適切に調整
 - 社会経済レベルは個々の症例、対照の出生地の国勢調査地区のCarstairs deprivation indexを割り当て

Socioeconomic status	Leukaemia
1 (most affluent)	1.00
2	0.96
3	0.94
4	0.90
5 (most deprived)	0.88
χ^2 for trend	6.79, P=0.009

WHO EHC No.238 2007

- 2002年のIARCモノグラフで評価された研究に、その後の2研究を追加しても、評価は基本的に変わらない



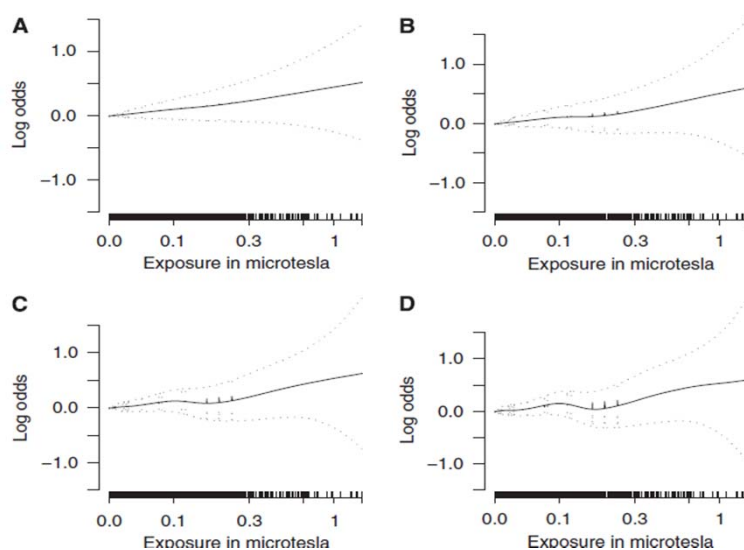
AFTER EHC

2000年以降の小児白血病の症例対照研究のプール分析 (Kheifets BJC 2010)

国	症例	対照	診断年
– Brazil	162	565	2001 – 2009
– Germany	514	1301	1988 – 1994
– Italy1	119	476	1978 – 1997
– Italy2	46	184	1986 – 2007
– Japan	312	603	1999 – 2001
– Tasmania	47	47	1972 – 1980
– UK	9695	9695	1962 – 1995

OR	磁界密度	OR (95% CI)
	<0.1 μ T	1.
	0.1–0.2 μ T	1.07 (0.81–1.41)
	0.2–0.3 μ T	1.16 (0.69–1.93)
	$\geq 0.3 \mu$ T	1.44 (0.88–2.36)

Figure 2 Nonparametric estimates of trend in log odds of being a case with a range of levels of smoothing (A. 2 d.f.; B. 3 d.f.; C. 4 d.f.; D. 5 d.f.) from a generalised additive model, with adjustment for study, age of diagnosis and sex. Outer dotted lines represent 95% confidence limits.



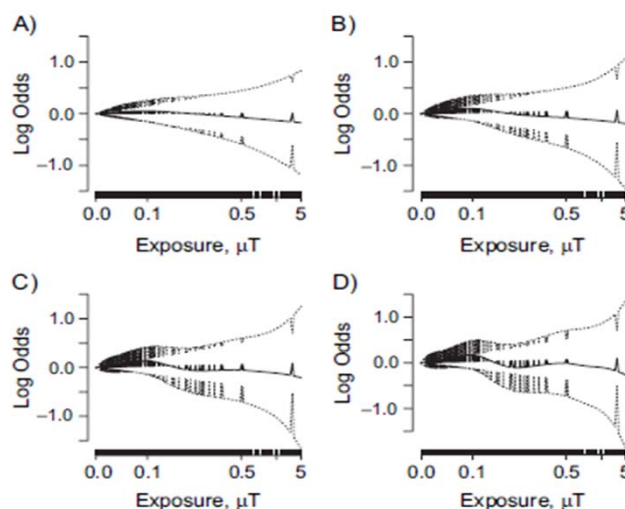
小児脳腫瘍の症例対照研究のプール分析 (Kheifets AJE 2010)

Author, year	Country	case/control	Yr Diagnosis
• Feychting, 1993	Sweden	33/549	1960–1985
• Kroll, 2010	UK	6,593/6,584	1962–1995
• UKCCS, 1999	UK	602/611	1991–1994
• Verkasalo, 1993	Finland	39/391	1974–1996
• Preston-Martin, 1996	US	183/139	1984–1992
• Savitz, 1988	US	24/198	1976–1983
• Schuz, 2001	Germany	64/414	1988–1994
• Saito, 2010	Japan	54/97	1999–2001
• Olsen, 1993	Denmark	624/1,872	1968–1986
• Tynes, 1997	Norway	156/639	1965–1989

• OR	磁界密度	OR (95% CI)
	<0.1 μT	1.
	0.1–0.2 μT	0.95 (0.65, 1.41)
	0.2–0.4 μT	0.70 (0.40, 1.22)
	$\geq 0.4 \mu\text{T}$	1.14 (0.61, 2.13)

Figure 2. Nonparametric estimates of trend with a range of smoothing levels from a generalized additive model using a natural cubic smoothing spline. Results were adjusted for age at diagnosis, gender, and study.

Panel A, 2 df; panel B, 3 df; panel C, 4 df; panel D, 5 df. Dashed lines, 95% confidence interval.



英国の全国症例対照研究アップデート

(Kroll BJC 2010)

- Draper論文(Draper BMJ 2005)のアップデート
- 各症例・対照が生後1年に経験した高圧線からの磁界ばく露を推定
 - 高圧線の位置情報を「National Grid」から得て、各自宅から高圧線までの距離を推定した(Draper 2005)
 - The National Grid computer programme EM2Dを用いて、自宅近くの高圧線からの磁界を推計した。この方法は、実測定との対比で妥当性評価されている(Swanson, 1995)。

小児白血病の症例数・対照数

	症例	対照
<0.1	9645	9647
0.1 to <0.2	6	3
0.2 to <0.4	0	2
≥0.4	2	1
Total	9653	9653

小児白血病リスク

OR (95% CI)

<0.1	1.
0.1 to <0.2	2.00 (0.50–7.99)
0.2 to <0.4	-
≥0.4	2.00 (0.18–22.04)

連続変数として 1.14 (0.57–2.32) trend P=0.7
(/0.2μT)

ダウン症患者を対象とした症例対照研究

(Mejia-Arangure Epidemiology 2007)

- 背景：ダウン症患者は急性白血病への感受性が高い（相対リスクは約20倍）。そのダウン症患者で超低周波電磁界ばく露の影響を検討する。
- ダウン症患者で1995 – 2003年に小児急性白血病（年齢0 – 16歳）に罹患した症例42例と、罹患していない対照124例（メキシコシティの2施設から）。
- ばく露評価：スポット測定（EMDEX II）

白血病リスク

Exposure	Case	Control	Adjusted* OR
≤1.00	14 (33%)	43 (35%)	1.0
1.01–3.99	16 (38%)	55 (44%)	0.94 (0.37–2.4)
4.00–5.99	2 (5%)	13 (11%)	0.88 (0.15–5.1)
≥6.00	10 (24%)	13 (11%)	3.7 (1.05–13)

*出生体重、性、年齢、母親の年齢、社会経済レベル、癌の家族歴、交通密度、居住地を調整

遺伝・環境相互作用に関するケースオンリー研究

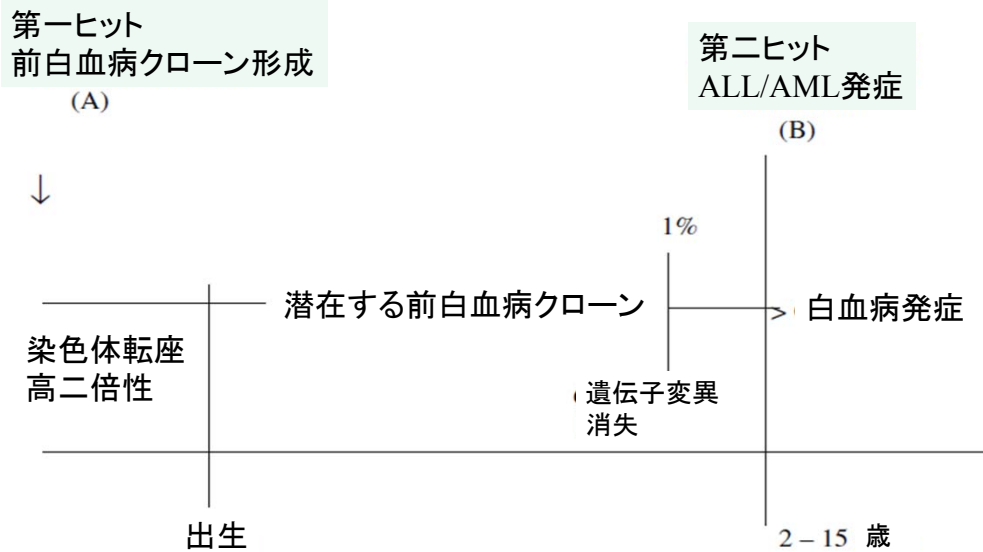
(Yang Leukemia & Lymphoma 2008)

- 2006 – 2007年に上海の小児医療センター血液内科に入院した小児急性白血病123症例(年齢0–15歳)
- ばく露評価: 現(前)居住地を訪問して、変圧器、高圧線からの距離を測定、さらに、EMF detector (TriField Meter, AlphaLab, USA)でスポット測定を実施して、距離がばく露指標となることを確認。平均磁界強度は、100m以内で0.14 μ T、50m以内で0.18 μ T。
- SNP: MassARRAY (Sequenom, USA)を使用
 - hMLH1 Ex8–23A>G (rs1799977)
 - APEX1 Ex5+5T>G (rs1130409)
 - MGMTEx7+13A>G (rs2308321)
 - XRCC1 Ex9+16G>A (rs25489)
 - XPD Ex10–16G>A (rs1799793)
 - XPD Ex23+61 T>G (rs13181).

Table V. Gene–environment interactions for combination of *XRCC1* Ex9 + 16G > A and electric transformers and power lines in childhood AL.

Electric transformers and power lines	<i>XRCC1</i> Ex9 + 16G > A		OR (95%CI)*
	G/G	A/G+A/A	
Within 500 m from houses			
No	66	16	1.00 (Ref)
Yes	25	16	2.37 (0.94–5.97)
Within 100 m from houses			
No	75	17	1.00 (Ref)
Yes	16	15	4.31 (1.54–12.08) [#]
Within 50 m from houses			
No	82	21	1.00 (Ref)
Yes	9	11	4.39 (1.42–13.54) [#]

今後の研究の方向性について



- (A) 胎児期の前白血病クローン形成は希ではない。TEL-AML融合遺伝子は再対決の1%に見いだされる。
- (B) 第二の変異は、1%のさらに1%で、希な現象。

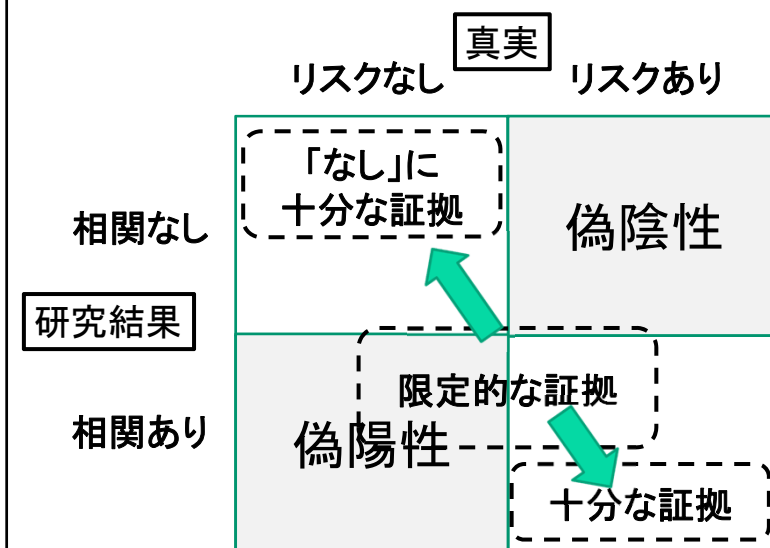
小児白血病の発症に関する知見

- 第一ヒットと前白血病クローンの形成
 - 多くの前駆B細胞ALLと一部のAMLで重要な役割を果たす。
 - 変異は正常の胎児発生でも起こりえる。
 - 環境因子や内部因子が、この遺伝子変化に影響するかどうかは不明。
- 第二ヒットと白血病の発症
 - ALL・AMLの多くでは出生後の第二の遺伝子変化が必要。
 - 明確なリスク因子は、電離放射線、化学物質（ベンゼン、アルキル化剤、トポイソメラーゼII阻害物質など）のみ。
 - 前駆B細胞ALLでは、普通に見かける感染因子への反応が、遅れて(delayed)、制御の悪い(dysregulated)状況で起こることが前白血病クローンが白血病として発症する際に重要な役割を果たすことが明らかになりつつある。

超低周波電磁界の影響について

- 影響はない versus ある
- 発症プロセスのどこに影響するか
 - 第一ヒットと前白血病クローン形成に関与
 - 第二ヒットと白血病発症に関与
- 遺伝・環境相互作用
- 特定のサブタイプの発症にのみ関与している可能性(例えば、前駆B細胞ALL)

影響がある versus ない



ベイズ流の考え方

- 「影響がない」を示すには
 - 偽陰性率の低い(＝感度が高い)研究デザインを採用すべき
 - それで陰性の結果が出れば、「影響がない」可能性は高くなる
- 「影響がある」を示すには
 - 偽陽性率の低い(＝特異度が高い)研究デザインを採用すべき
 - それで陽性の結果が出れば、「影響がない」可能性は高くなる

偽陰性率を低くするための方策

- ばく露の誤分類がない：
 - 測定方法： 距離；スポット測定；長期測定
 - 測定場所： 出生地；現住所
 - クリティカルなばく露時期(window of exposure)： 出生前ばく露；出生後ばく露；累積ばく露
 - 他のばく露ソース： 電気製品など
- 疾患の誤分類がない：
 - 疾患分類による適切な絞り込み：
例として、前駆B細胞ALL versus 小児白血病全体
- 電磁界と内的因子(遺伝子など)との交互作用の考慮
- 交絡因子の十分な調整

偽陽性率を低くするための方策

- 参加バイアスがない:
 - 症例対照研究では、コホート内症例対照研究が望ましい
 - コホート研究の実施
- 交絡因子の十分な調整
 - 特に白血病リスクを上げる諸因子：大気汚染；Population mixingなど
- 両親への影響の考慮
 - 両親の喫煙；職業ばく露

まとめ

- 数多くの疫学調査が実施されたが、「限定的な証拠」という状況は変わらない
- 白血病の発症プロセスが解明されつつあり、その知識を疫学調査に活用することが求められる
- ベイズ流の考え方に基づいて、研究の方向性を研究デザインに反映させることも重要

電磁界と小児白血病 —新たな研究アプローチの可能性 について—

(財)電力中央研究所
環境科学研究所
中園 聡
nakasono@criepi.denken.or.jp

目次

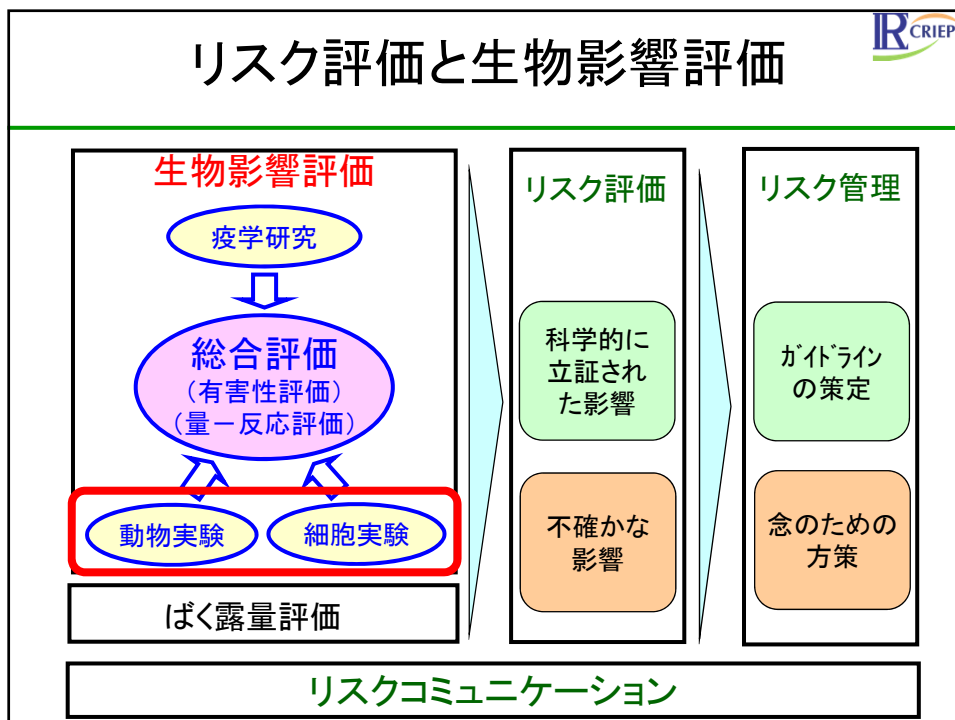
1. 小児白血病のリスク評価における実験研究の意味
2. 実験研究における今後の課題
3. 新たな研究アプローチの提案
(ヒト化マウスを用いた小児白血病評価モデル)

電磁界と小児白血病 —国際機関の見解—



- ・ 国際がん研究機関(IARC)モノグラフ 2002年
 - ELF磁界を「ヒトに対して発がん性があるかもしれない(2B)」と分類。
- ・ 世界保健機構(WHO)環境保健クライテリア(EHC238) 2007年
 - その後に追加された研究は、IARCの分類を変更するものではないと結論。
- ・ 国際非電離放射線防護委員会(ICNIRP)改定ガイドライン 2010年
 - 曝露とリスク上昇の因果関係に関する科学的証拠は、曝露ガイドラインの根拠とするには非常に弱い。

リスク評価と生物影響評価



疫学研究と実験研究

(長所) ヒトへの影響を直接評価できる。
 (短所) 偶然、バイアス、交絡因子によるエラーの可能性、
因果性の評価ができない。

因果関係を評価するHillの判定規準

1. 強固性
2. 一致性
3. 特異性
4. 時間的前後関係
5. 量-反応関係
6. 妥当性
7. 一貫性
8. 実験的研究
9. 類似性

ここに、実験研究の意味がある！

生物学的実験研究の重要性
 (「生物学的にあり得るか」の検証)



多段階発がん機構

遺伝毒性作用

DNA鎖切断
 変異原性
 染色体異常
 など

非遺伝毒性作用

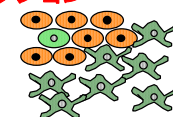
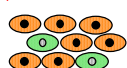
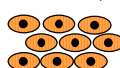
プロモーション作用
 受容体結合
 シグナル伝達
 がん遺伝子などの
 発現異常
 補助的な作用 など

環境因子

イニシエーション
 (DNA 傷害)

プロモーション

プログレッション



正常細胞

前がん細胞

単一のがん細胞

悪性腫瘍

発がん性の初期スクリーニング (細胞研究)



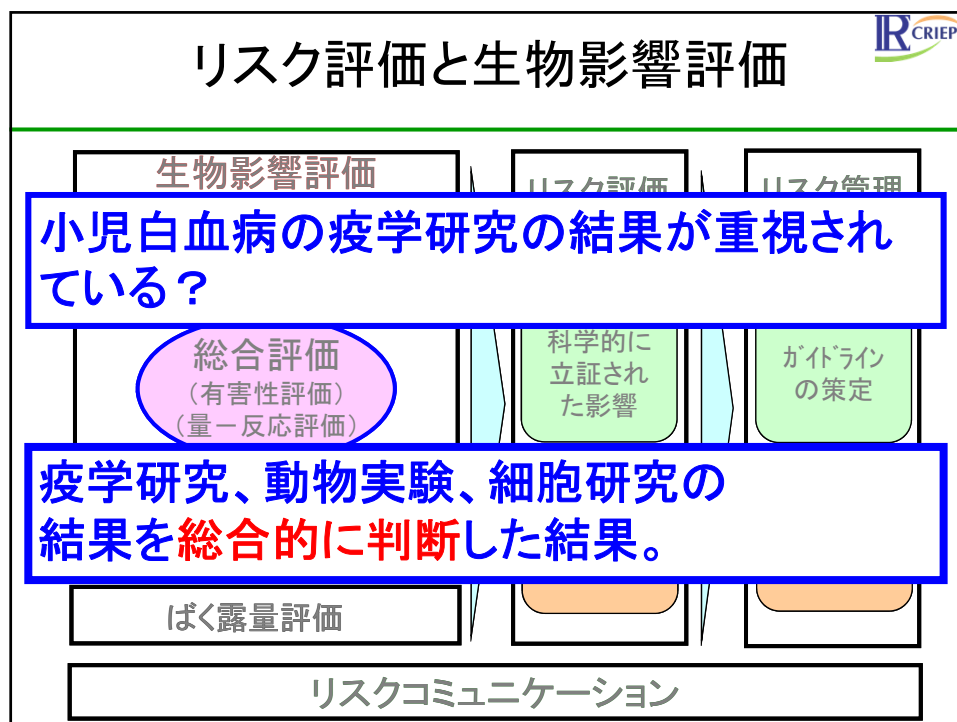
- ・ 遺伝毒性
 - 様々な実験方法で確認されたが、再現性のある陽性の結果は得られていない。(最高4000G)
 - 商用周波磁界は、電離放射線とは異なり、直接DNA損傷を引き起こさない。
- ・ 非遺伝毒性(主にプロモーション作用)
 - 様々な実験方法で確認されたが、再現性のある陽性の結果は得られていない。
 - 発がんに関連した影響があるという証拠はない。

発がん性(動物実験)



- ・ 5Gまでの磁界には、がんを引き起こす作用はなかった。
- ・ プロモーション作用を増強させる作用(コプロモーション作用)も再現できなかった。





IR CRIEPI

WHO-EHC の推奨(生物実験関連)

分野	項目	優先順位
・生物物理学メカニズム	1 表現型機能の一部として活性酸素種を生成する免疫細胞内でのラジカルペア・メカニズムのさらなる研究	中
	2 ELF磁界への感受性におけるマグネタイトの役割の可能性についてのさらなる理論的および実験的研究	低
	3 理論的およびin vitroアプローチを用いた、ELFによって誘導される内部電界が神経網等の多細胞組織に及ぼす閾値反応の決定	高
・神経行動	1 ボランティア(小児および職業的に曝露される被験者を含む)の記録、睡眠およびEEG研究、高い磁束密度の広範なELF周波数を用いる出生前および出生後の動物の曝露がその後の認識機能に及ぼす影響に関する研究	中
	2	中
	3 動物のオピオイドおよび子輸生の反応についてのさらなる研究	低
・神経内分泌系	なし	
・神経変性疾患	「電氣的」職業における、およびELF磁界曝露に関連する筋萎縮性側索硬化症のリスクについてのさらなる研究、およびELF磁界曝露に関連するアルツハイマー病についてのさらなる研究	高
・心血管系疾患	なし	
・免疫学と血液学	1 ELF磁界曝露が未成熟の動物の免疫および造血系の発育に及ぼす影響に関する研究	低
・生殖および発育	1 流産とELF磁界曝露との相関の可能性についてのさらなる研究	低
・がん	1 小児白血病に関する既存のプール分析の新たな情報による更新	高
	2 小児の脳腫瘍に関する既存の研究のプール分析	高
	3 成人の白血病、脳腫瘍、職業的に曝露される集団に関する既存のプール分析およびメタ分析の更新	中
	4 ELF研究に用いるための小児白血病のトランスジェニックげっ歯類モデルの開発	高
	5 in vitroおよび動物研究を用いた発がん補助作用の評価	高
	6 in vitro 遺伝毒性評価の再現	中

WHO-EHC の推奨(生物実験関連)



分野	項目	優先順位
・生物物理学メカニズム	1 表現型機能の一部として活性酸素種を生成する免疫細胞内でのラジカルペア・メカニズムのさらなる研究	中
	2 ELF磁界への感受性におけるマグネタイトの役割の可能性についてのさらなる理論的および実験的研究	低
	3 理論的およびin vitroアプローチを用いた、ELFによって誘導される内部電界が神経網等の多細胞組織に及ぼす調性反応の決定	高

小児白血病に関する科学的に不確実な部分を、解明していく必要がある。

優先順位 高:

**ELF研究に用いるための小児白血病
トランスジェニックげっ歯類モデルの開発**

2 小児の脳腫瘍に関する既存の研究のプール分析	高
3 成人の白血病、脳腫瘍、職業的に曝露される集団に関する既存のプール分析およびメタ分析の更新	中
4 ELF研究に用いるための小児白血病のトランスジェニックげっ歯類モデルの開発	高
5 in vitroおよび動物研究を用いた発がん補助作用の評価	高
6 in vitro 遺伝毒性評価の再現	中

EHC後 —EUでの検討—



Meeting Report: Research recommendations toward a better understanding of the cause of childhood leukemia

(小児白血病の原因について理解を深める研究の推奨)

— Blood Cancer J [online 28 January 2011]



Seventh Framework Programme (FP7)にて、

2011年より

ELF磁界と小児白血病に関する研究プロジェクト
が開始される。

目次



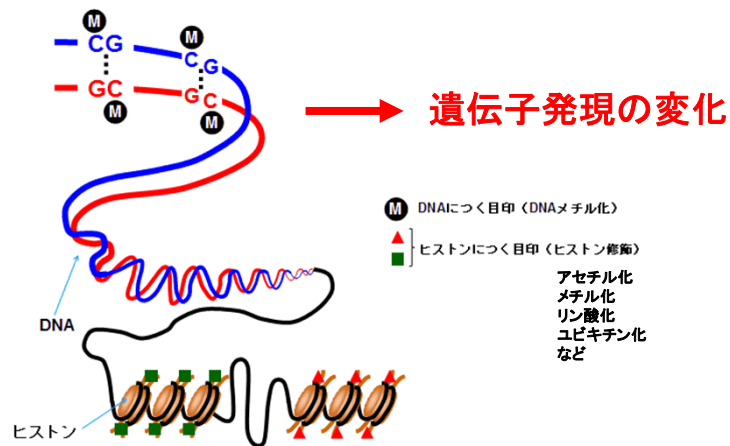
1. 小児白血病のリスク評価における実験研究の意味
2. 実験研究における今後の課題
3. 新たな研究アプローチの提案
(ヒト化マウスを用いた小児白血病評価モデル)

EHC後 —実験研究での問題点—



- ・ 発がんメカニズム：
 - 遺伝毒性、非遺伝毒性（プロモーション）だけでよいのか？
 - エピジェネティックな影響を検討していない。
 - エピジェネティックな作用とは、メチル化などのDNAの修飾などにより、遺伝子の発現を変化させること。
- ・ 動物実験による発がん性評価：
 - 小児白血病に多いB細胞性の前駆型リンパ芽球性白血病(B-ALL)のモデルがなかった。
 - ヒトでおきていることを模擬できていない可能性があった。

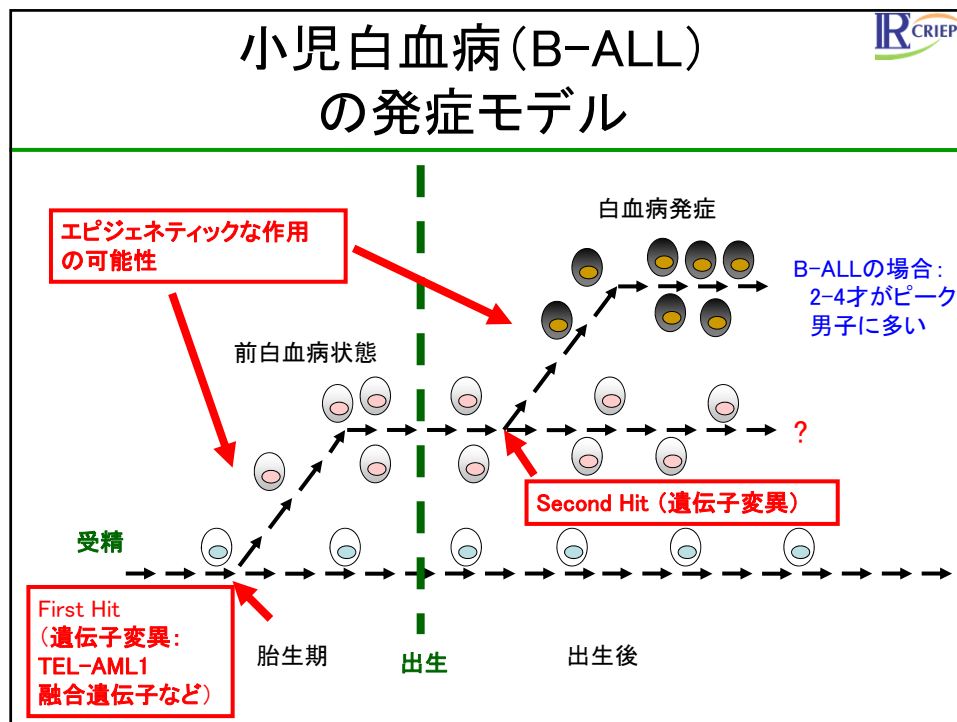
エピジェネティックスとは？



参照: <http://www.ncc.go.jp/jp/nccri/divisions/14carc/14carc01.html>

EHC後 —実験研究での問題点—

- ・ 発がんメカニズム:
 - 遺伝毒性、非遺伝毒性(プロモーション)だけでよいのか？
 - エピジェネティックな影響を検討していない。
 - エピジェネティックな作用とは、メチル化などのDNAの修飾などにより、遺伝子の発現を変化させること。
- ・ 動物実験による発がん性評価:
 - 小児白血病に多いB細胞性の前駆型リンパ芽球性白血病(B-ALL)のモデルがなかった。
 - ヒトでおきていることを模擬できていない可能性があった。



EHC後 —何を明らかにしなければならないか—

IR CRIEPI

- ・ 年齢差 → **幼若な造血幹細胞**
 - － 小児の白血病でのみ磁界の影響を受ける？
 - ・ (遺伝子発現、エピジェネティクスの差？)
- ・ 発がん過程 → **作用メカニズム**
 - － 遺伝子変異は考慮すべきか？
 - ・ 感受性の個体差。(遺伝的背景)
 - － **エピジェネティックな影響。**
- ・ 種間差 → **ヒト細胞**
 - － **B-ALL**はヒトでは発症し、マウスでは発症しない。
 - ・ (遺伝的背景の差？)

EHC後



―何を明らかにしなければならないか―

新たな実験手法の開発が必要！

- ・ヒトの幼若な造血幹細胞への影響を評価できる。
- ・ヒト細胞内でのエピジェネティックな変化を模擬できる。
- ・ヒト細胞でのB-ALL発症を模擬できる。

目次

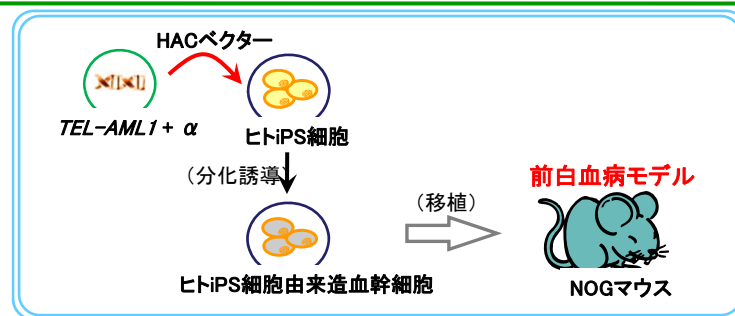


1. 小児白血病のリスク評価における実験研究の意味
2. 実験研究における今後の課題
3. 新たな研究アプローチの提案
(ヒト化マウスを用いた小児白血病評価モデル)

EHC後一科学の進歩

- ・ **ヒトiPS 細胞(人工多能性幹細胞)**
 - － ヒトの様々な正常細胞の作製が可能。
 - － 遺伝子改変により前白血病幹細胞の作製も可能。
- ・ **First Hitの遺伝子変異の解明**
 - － TEL-AML1融合遺伝子。
 - － 前白血病細胞の生成。B細胞の分化に異常。
- ・ **エピジェネティクスと発がん**
 - － 発がんへの関与が明らかになってきた。
- ・ **重度免疫不全動物(特にNOGマウス)の開発**
 - － ヒト細胞を造血幹細胞を移植することができる。
 - － ヒト細胞の発がん過程を個体内で検討できる。

ヒト化マウスによる前白血病モデル



遺伝子導入	TEL-AML1 + α ?	→	Second Hit エピジェネティック作用
遺伝子導入法	人工染色体(HAC)ベクター ?	→	ゲノム非挿入型 コピー数の制御
ドナー細胞	ヒトiPS細胞由来造血幹細胞	→	サンプルの均質性 胎児型
ホストマウス	NOG(NOD/Shi- <i>scid</i> -IL2R ^g ^{null})	→	ヒト試料の優れた定着性

前白血病(B-ALL)モデル ヒト化マウスによる磁界影響の評価



- ・ Step0-1:ヒト化マウス内ヒト造血系の詳細解析
- ・ Step0-2:ヒト化マウスの毒物応答性評価
- ・ Step1-1:ヒトiPS細胞への遺伝子変異の導入
- ・ Step1-2:ヒトiPS細胞の造血幹細胞へ分化
- ・ Step2:NOGマウスへの移植(ヒト化マウス)
- ・ Step3:前白血病状態への変化確認
- ・ Step4:陽性対照の曝露による白血病(B-ALL)発症の確認
- ・ Step5:磁界曝露実験への適用

目的



ヒト化マウスの詳細解析により、
小児白血病高頻度発症モデルとしてのヒト化
マウスの適用の可能性を評価する。

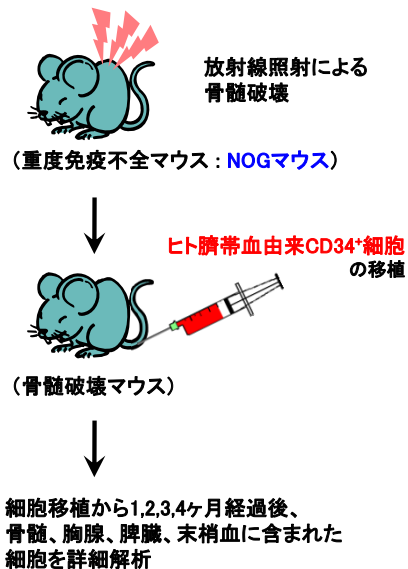
ヒト化マウス内の

1. ヒト造血系の**詳細解析**
2. ヒト造血系の**毒物応答性評価**

ヒト造血系の詳細解析



～ ヒト化マウスの作製 ～



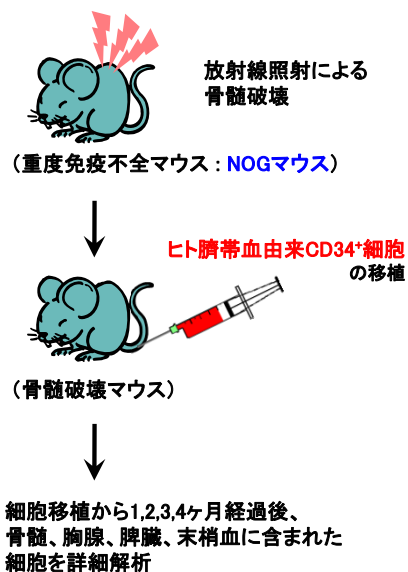
重度免疫不全マウス:
NOGマウス(NOD/Shi-*scid*-IL2R^{null})

- | | |
|--|-------|
| <ul style="list-style-type: none"> ・T細胞 ・B細胞 ・NK細胞 ・補体 | の欠失 |
| <ul style="list-style-type: none"> ・マクロファージ ・樹状細胞 | の機能不全 |

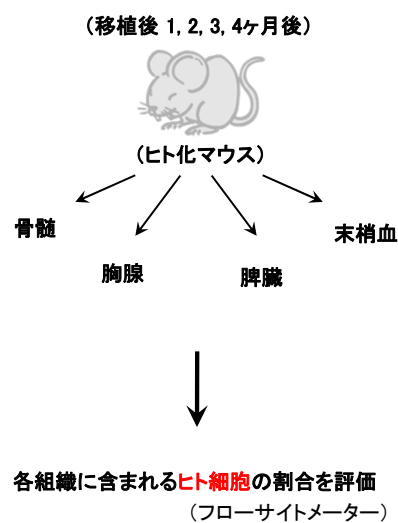
ヒト造血系の詳細解析



～ ヒト化マウスの作製 ～



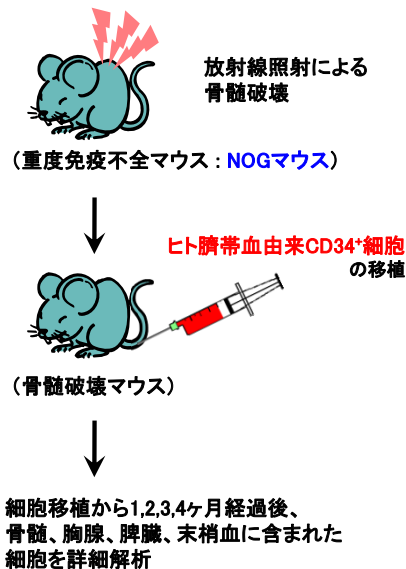
～ ヒト化マウスの評価 ～



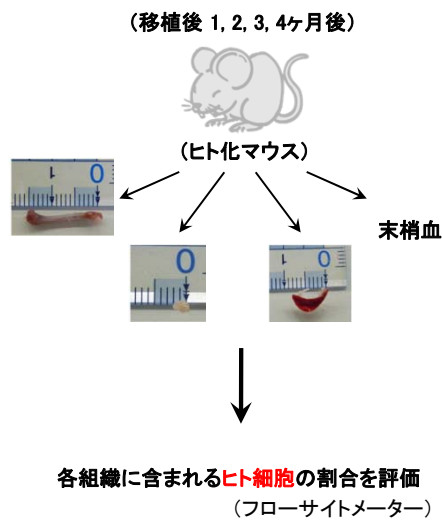
ヒト造血系の詳細解析



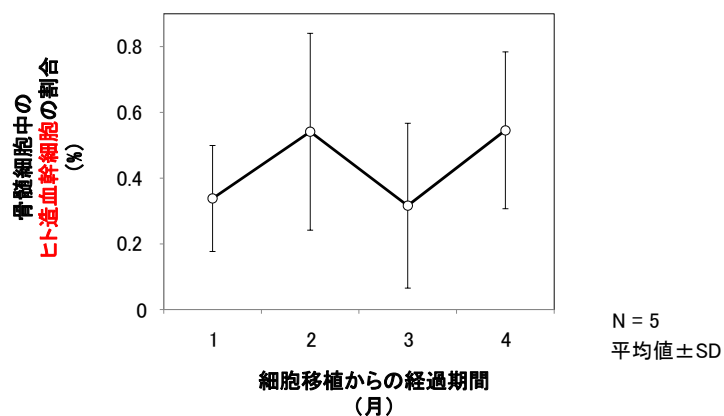
～ ヒト化マウスの作製 ～



～ ヒト化マウスの評価 ～

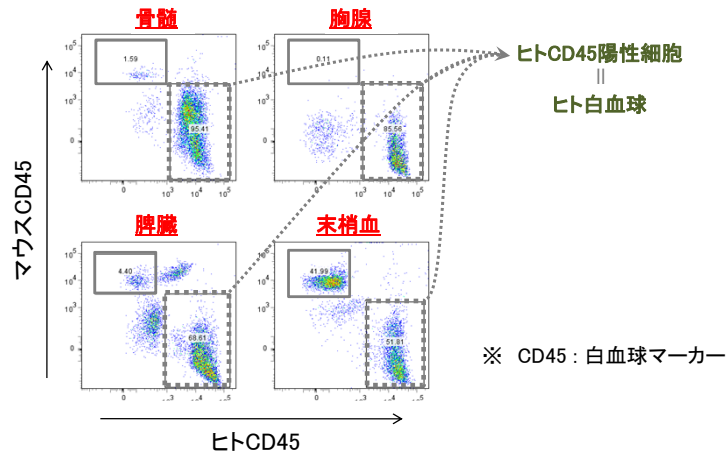


移植細胞の骨髄への移入と定着



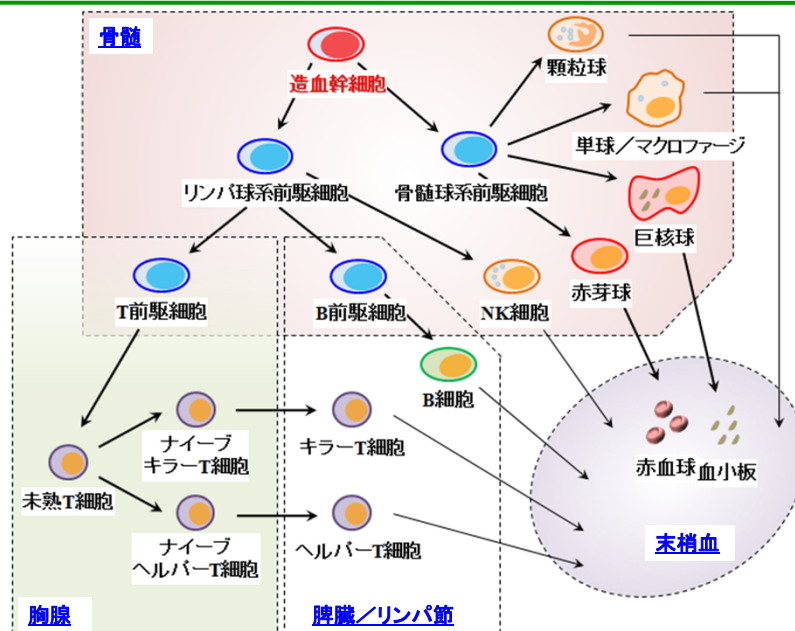
- 細胞移植後1～4ヶ月の全ての骨髄において、ヒト造血幹細胞の存在が確認された。また、その含有率は細胞移植からの経過期間により有意な変動はなかった。
- ⇒ 移植したヒト造血幹細胞はマウス骨髄へ**移入し定着した**と考えられた。

移植細胞の分化



- 全てのヒト化マウス組織中にヒト白血球の存在が確認された。
- ⇒ 骨髄に定着したヒト造血幹細胞は、種々のヒト血球細胞に分化し、それら細胞は、**骨髄から他の造血組織へ移出**したと考えられた。

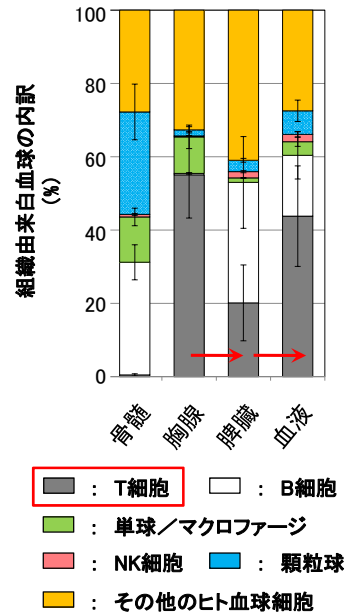
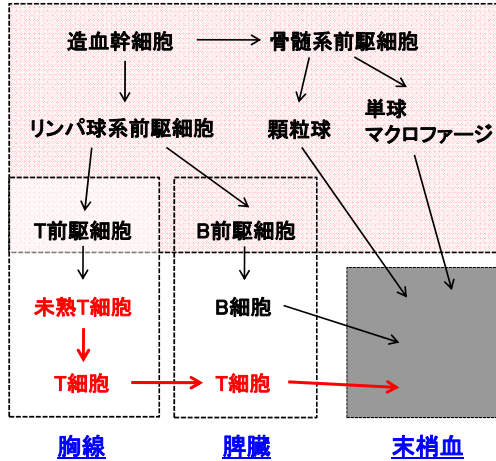
血球細胞の分化・成熟



造血幹細胞の分化(T細胞)

T細胞マーカー：CD45⁺CD33⁻CD19⁻CD3⁺

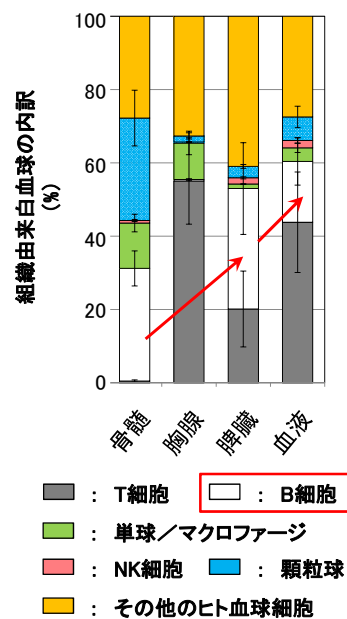
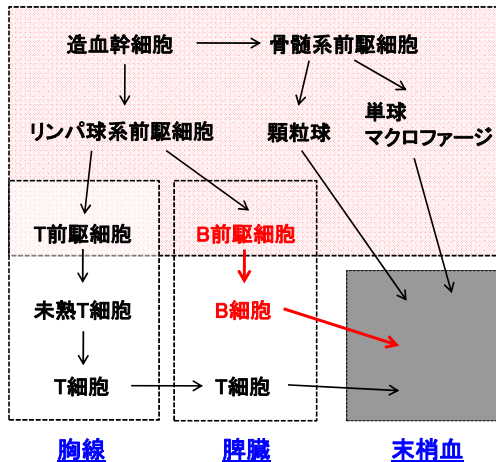
骨髄



造血幹細胞の分化(B細胞)

B細胞マーカー：CD45⁺CD33⁻CD19⁺

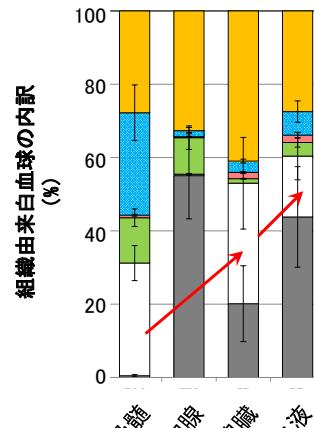
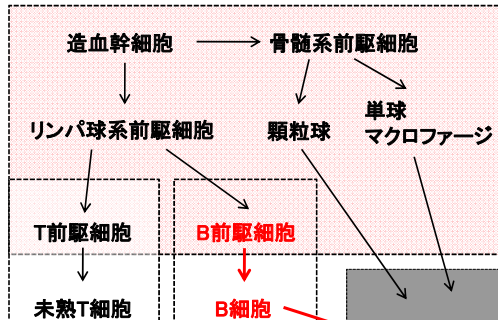
骨髄



造血幹細胞の分化(B細胞)

B細胞マーカー : $CD45^+CD33^-CD19^+$

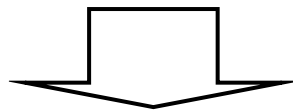
骨髄



- ⇒ ヒト造血幹細胞から派生した細胞は、様々な組織を経て多種の細胞に分化、成熟したと考えられた。
- ⇒ ヒト造血幹細胞からの分化、成熟過程は、ヒト体内と同様であり、ヒト化マウス内で構築された造血系はヒトと類似していると考えられた。

まとめ —ヒト造血系の詳細解析—

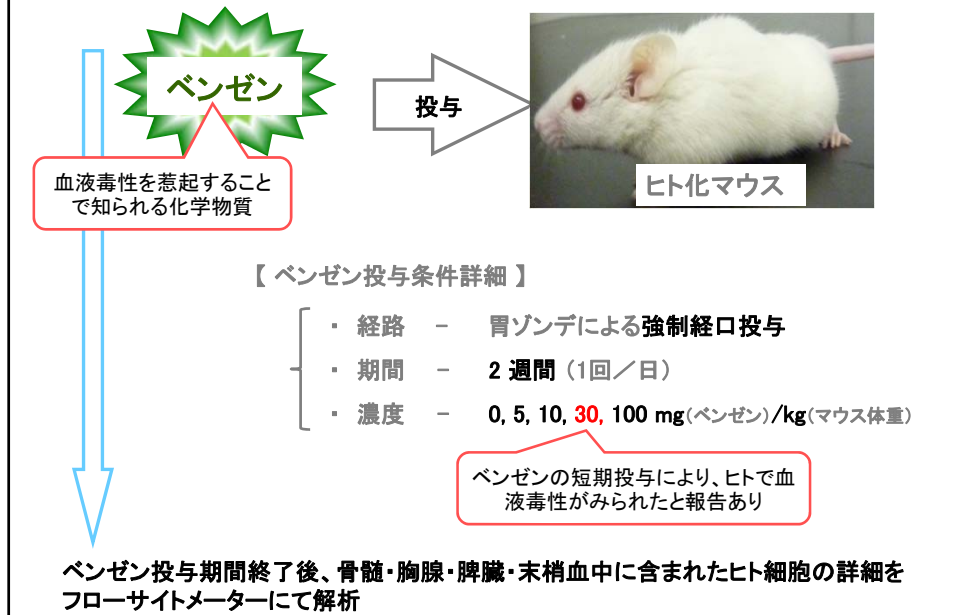
⇒ ヒト造血幹細胞の移植により作製したヒト化マウス内には、ヒトと類似した造血系が構築されている。



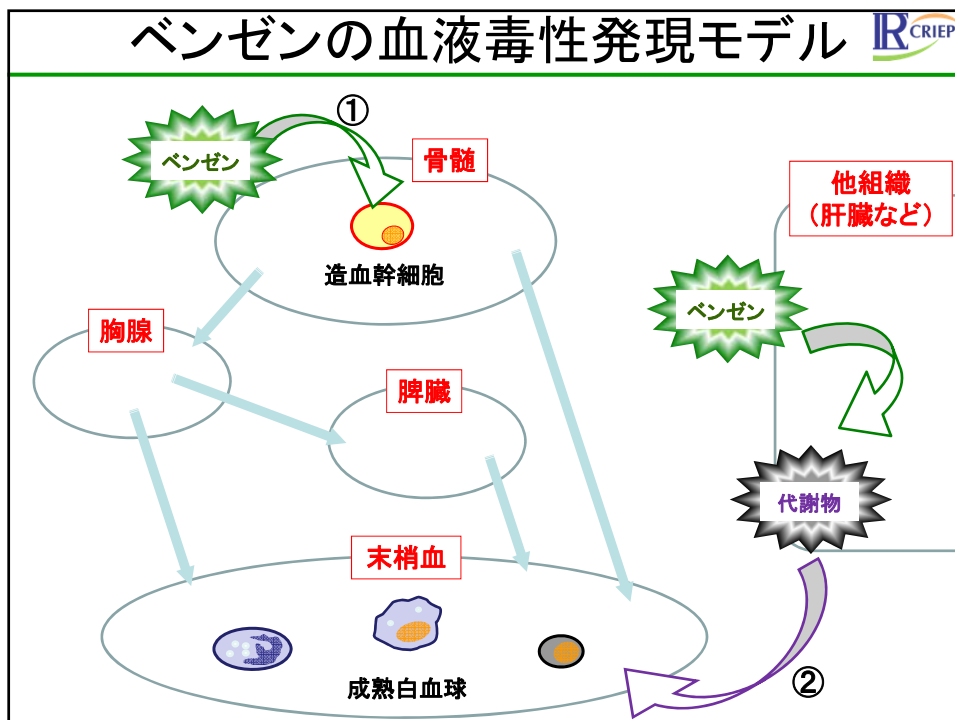
ヒト化マウスをヒトのモデルとして利用するためには…

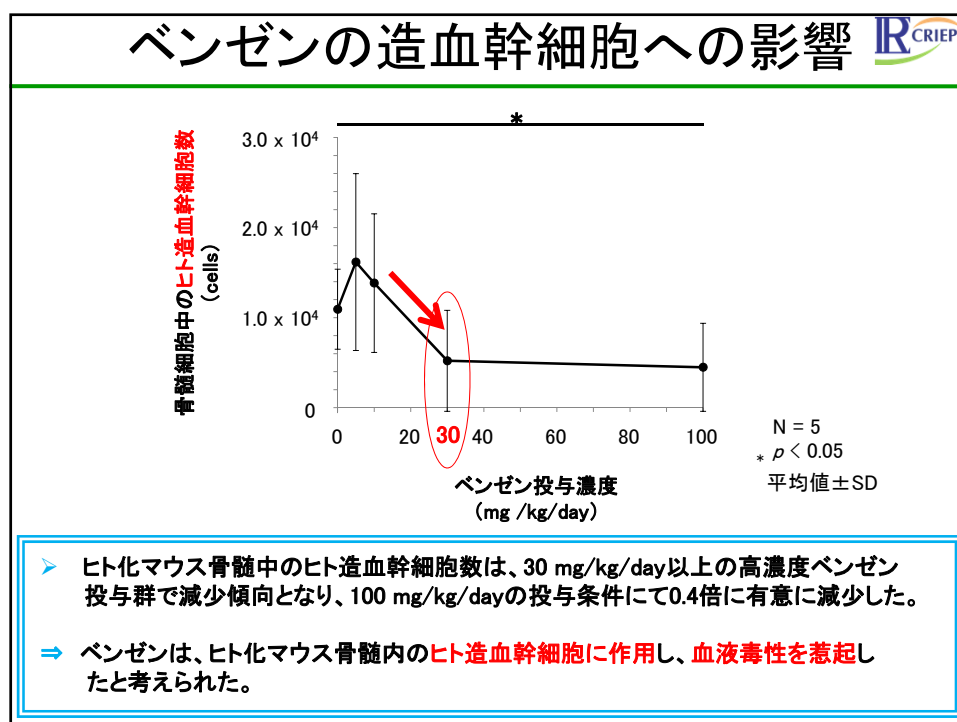
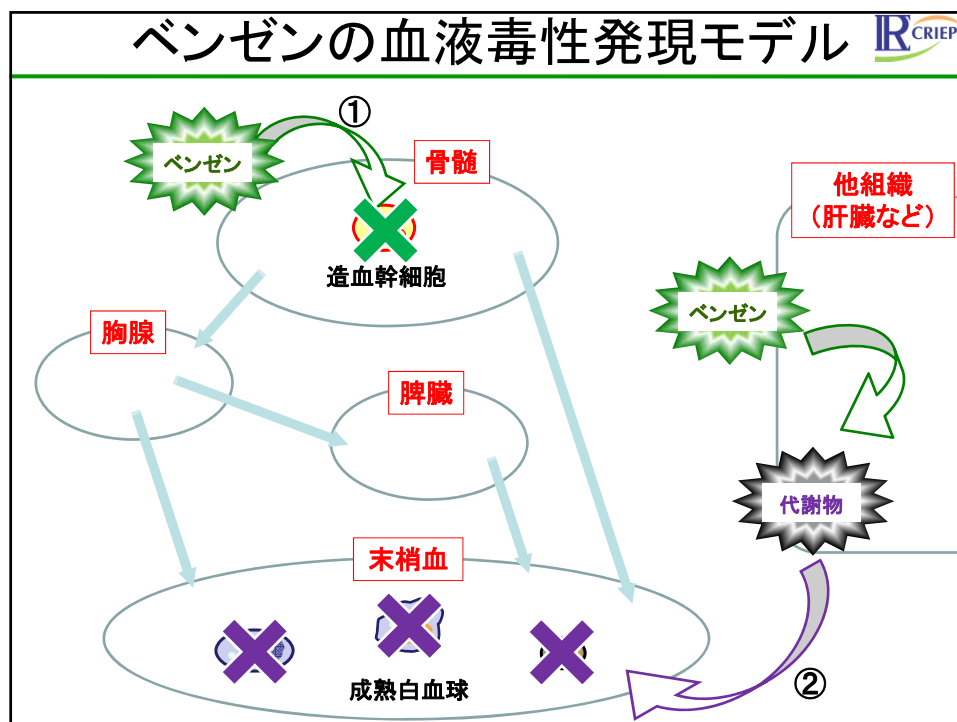
ヒトと類似した造血系が、内的／外的因子に対してヒトと同様な応答性を示す必要がある。

ヒト造血系の毒物応答性評価

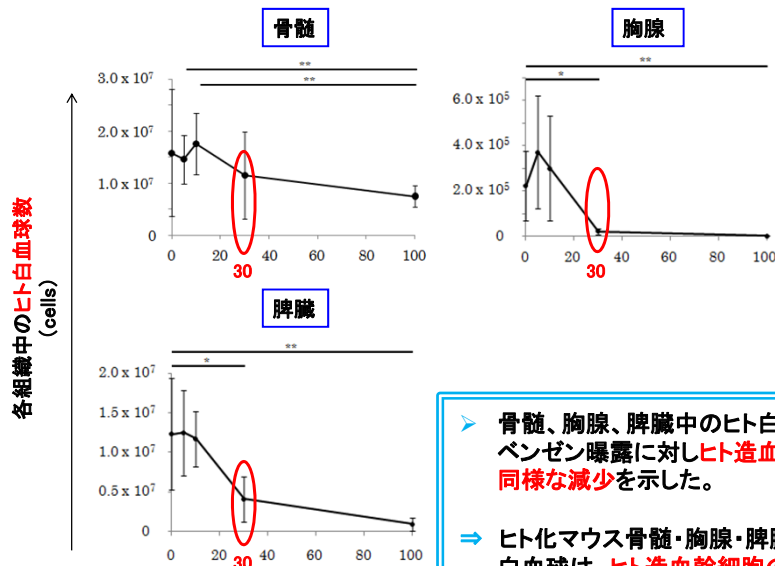


ベンゼンの血液毒性発現モデル



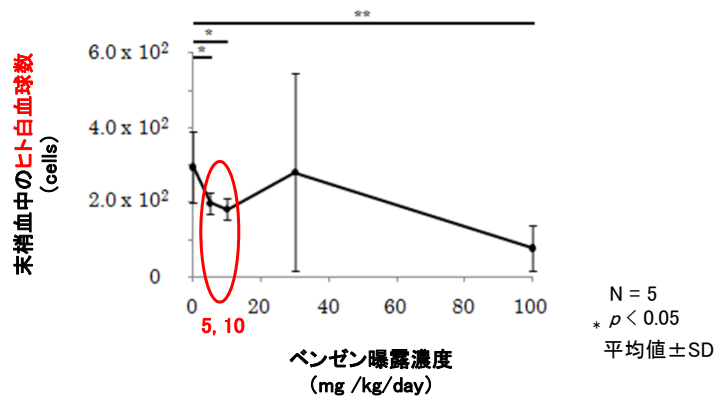


ベンゼンの臓器中白血球への影響



- 骨髄、胸腺、脾臓中のヒト白血球は、ベンゼン曝露に対しヒト造血幹細胞と同様な減少を示した。
- ⇒ ヒト化マウス骨髄・胸腺・脾臓内のヒト白血球は、ヒト造血幹細胞の枯渇に起因して減少したと考えられた。

ベンゼンの末梢血中白血球への影響



- ⇒ ヒト化マウス末梢血中のヒト白血球は、造血幹細胞の枯渇以外(肝臓など組織由来の代謝産生?)の影響も受けて減数したと考えられた。
- ⇒ ヒト化マウス内のヒト造血系は、血液毒性を惹起する物質に対する応答性を有すると考えられた。

ヒト化マウス内ヒト造血系の詳細解析

➡ ヒト造血幹細胞の移植により作製したヒト化マウス内には、ヒトと類似した造血系が構築されている。

ヒト化マウス内ヒト造血系の毒物応答性評価

➡ ヒト化マウス内のヒト造血系は、外部因子に対し(正常個体と同様な)応答性を有することが示唆された。

ヒト化マウスを、ヒト型小児白血病の発症モデルとして利用できる可能性は十分にある !!!

前白血病(B-ALL)モデル ヒト化マウスによる磁界影響の評価

- ・ Step0-1:ヒト化マウス内ヒト造血系の詳細解析
- ・ Step0-2:ヒト化マウスの毒物応答性評価
- ・ Step1-1:ヒトiPS細胞への遺伝子変異の導入
- ・ Step1-2:ヒトiPS細胞の造血幹細胞へ分化
- ・ Step2:NOGマウスへの移植(ヒト化マウス)
- ・ Step3:前白血病状態への変化確認
- ・ Step4:陽性対照の曝露による白血病(B-ALL)発症の確認
- ・ Step5:磁界曝露実験への適用

前白血病(B-ALL)モデル ヒト化マウスによる磁界影響の評価



- ・ Step0-1:ヒト化マウス内ヒト造血系の詳細解析
- ・ Step0-2:ヒト化マウスの毒物応答性評価
- ・ **小児白血病のうち、B-ALL
に対する磁界影響が明らかになる。**
- ・ Step3:前白血病状態への変化確認
- ・ Step4:陽性対照の曝露による白血病
(B-ALL)発症の確認
- ・ Step5:磁界曝露実験への適用

共同研究者



- | | |
|-------------|-------------|
| ・東京農工大学 工学府 | ・(財)電力中央研究所 |
| 辻村範之 | 原子力技術研究所 |
| 浅見麻里絵 | 大塚健介 |
| 林 拓磨 | 吉田和生 |
| 細川正人 | |
| モリテツシ | ・(財)電力中央研究所 |
| 吉野知子 | 環境科学研究所 |
| 松永 是 | 高橋正行 |
| | 根岸正 |

ご清聴ありがとうございました。