

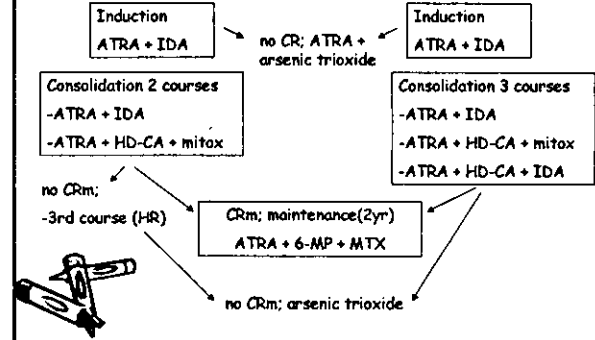
## International consortium for childhood APL

- AIEOP & I-BFM-SG/AML委員会のイニシアチブで
- Rome; "matricianella" meeting  
—FRALLE/LAME, NOPHO, BFM, SHOP, COG, MRC/DCRI, AIEOP, St. Jude
- Rare subgroup ⇒ intergroup studyが必要
- Anthracyclineの減量
- MRDを用いたリスク層別化治療

## AML M3 <18years of age PML/RARA positivity

SR: WBC < 10 (x10<sup>9</sup>)

HR: WBC > 10 (x10<sup>9</sup>)



## International collaborationの必要性 (M.G. Valsecchi)

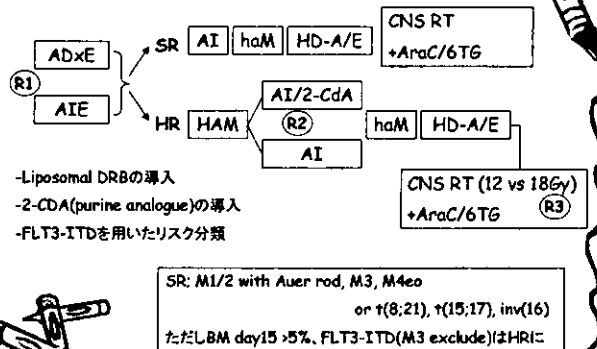
- Only modest improvement } → "Large" samples
- Rare subgroups
- 各グループのdata centerが参加施設とのコンタクトやdata qualityに責任を持つ。
- 中央data centerが定期的にデータ収集や解析を行う。
- グループdata centerと中央とを結ぶWEBシステムの開発 (Ph1-ALLのstudyから運用予定)

## 新規治療の開発

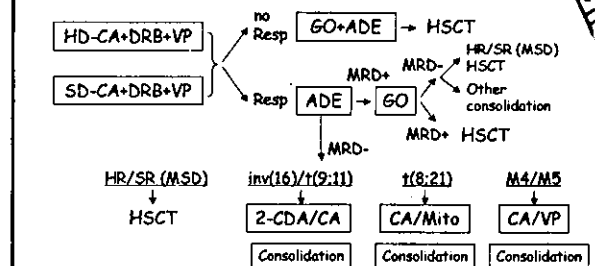
~Novel approachをstandard practiceに~  
(P. Kearns)

- “小児”の問題点
  - ①疾患の希少性(製薬会社のcost-benefit)
  - ②小児をexperimentalなtrialに参加させることの倫理的問題
- 新規治療開発のためのインフラ整備
  - ①ITCC(Innovative therapy for children with cancer); Pre-clinicalな研究を行う
  - ②EURONAG; phase I/II studyを計画し、実行する  
など10のtask forceが存在する。

## BFM-2004



## AML02-SJCRH



## Criteria of Response & Other Definitions in AML

(U. Creuzig)

- Cheson BD, et al. J Clin Oncol 1990; 8: 813-819
- Cheson BD, et al. J Clin Oncol 2003; 21: 4642-4649

⇒ 原則としてこれに従うが、小児AMLに適用するにあたって問題点も多い。

例: Response Criteria in AML

Response Criterion	Time of Assessment	Neutrophils ( $\mu\text{L}$ )	Platelets ( $\mu\text{L}$ )	BM blasts (%)	Other
Early treatment assessment	7-10 days after therapy	NA	NA	< 5	
Morphologic leukemia-free state	Varies by protocol	NA	NA	< 5	Flow cytometry EMD
Morphologic CR	Varies by protocol	> 1,000	> 100,000	< 5	Transfusion EMD
Cytogenetic CR	Varies by protocol	> 1,000	> 100,000	< 5	Cytogenetics-normal, EMD
Molecular CR	Varies by protocol	> 1,000	> 100,000	< 5	Molecular-negative, EMD
Partial Remission	Varies by protocol	> 1,000	> 100,000	> 50 or decrease to 5-25	Blasts: < 5% if Auer rod pos.

BFM:  $> 80 \times 10^9$   
SJCRI:  $> 50 \times 10^9$

15<sup>th</sup> Annual Meeting of International  
BFM Study Group

May 2-5, 2004  
Congress Union, Celle

Resistant disease

Chair: G. Henze

広島大学医学部小児科 西村真一郎

Definition of S1-S4 in ALL-REZ Trials

	non-T ALL			T ALL		
	Extra-med.	BM comb.	BM isol.	Extra-med.	BM comb.	BM isol.
Very early (≤ 18 m)	S2	S4	S4	S2	S4	S4
Early (18 >, < 30 m)	S2	S2	S3	S2	S4	S4
Late (≥ 30 m)	S1	S2	S2	S1	S4	S4

Risk stratification in CNS relapse of ALL according to the EUREAL CNS- database

: Stackelberg

- Metaanalysis: Austria, Belgium, Czechia, France, Germany, Israel, Netherlands, Skandinavia
- Isolated CNS relapse : 291  
Combined CNS relapse: 277
- Prognostic factors: Age at initial diagnosis  
Time point of relapse  
T-cell phenotype

EFS rate of isolated CNS relapse (%)

	Age < 6 years	Age ≥ 6 years
Very early (≤ 18 m)	36	24
Early (18 >, < 30 m)	57	27
Late (≥ 30 m)	64	76

 HR: EFS rate ≤ 40%

EUREAL CNS- metaanalysisのまとめ

- Isolated CNS relapseにおいてallo./auto. SCT vs chemo/radiotherapy aloneで有意差なし
- Isolated CNS relapseにおいてcranio vs craniospinal irradiationで有意差なし
- Chemotherapy後にBMのMRDが<10<sup>-4</sup>となった isolated CNS relapseのHR症例は、auto. SCTが有効か(AIEOP)

Relapse of T-ALL; Experience of the ALL-REZ BFM Study Group  
: Henze

- ALL全体の約20%がT-ALL
- 83-96'の間にT-ALLの割合は増加傾向あり
- T-ALLの再発例で有意に多いもの  
① male, ② age>10 y, ③ very early, ④extramedullary
- 予後はPre T-ALL> mature T-ALLか?
- 最近、cortical T-ALLが増加傾向

Treatment outcome: B precursor ALL vs T-ALL

	OS (%)	EFS (%)
B precursor ALL	42	34
T-ALL	20	17

P < 0.01

Treatment outcome of relapsed T-ALL according to protocol

protocol	EFS (%)
BFM	10-14
COALL	24
other	38

- 成績にはfirst lineの治療法が影響
- BFMでは9→16→18→36%(2002)と向上している。
- BFMの成績向上はSCTの効果か

EFS rate of relapsed T-ALL

Time point of relapse	EFS (%)	Site of relapse	EFS (%)
Very early (≤ 18 m)	13	Isolated bone marrow	15
Early (18 >, < 30 m)	23	Combined bone marrow	13
Late (≥ 30 m)	42	Isolated extramedullary	34

EFS rate of relapsed T-ALL according to time point and site of relapse

- 寛解率は70%弱

	Isolated bone marrow	Combined bone marrow	Isolated extramedullary
Very early (≤ 18 m)	8	11	11
Early (18 >, < 30 m)	12	12	40
Late (≥ 30 m)	31	25	58

Treatment outcome of relapsed T-ALL according to therapy

Therapy	EFS rate (%)
Chemotherapy/ Radiotherapy	10
SCT	43
Matched family donor	23
Matched unrelated donor	53
Mismatched family unrelated donor	50
Autologous BMT	56

EFS rate of relapsed T-ALL according to time point, site of relapse and therapy

	Total	VE/E	Late
IEM relapse	45	37	58
CT/RT	41	40	3/7
SCT	48	32	4/5
BM relapse	31	29	37
CT/RT	6	0	11
SCT	41	35	65

# I-BFM-SG報告'04

## ALL/Interfant 99

平成16年6月12日

国立病院機構名古屋医療センター 堀部敬三

### AIEOP LLA 2000 - ALL-BFM 2000

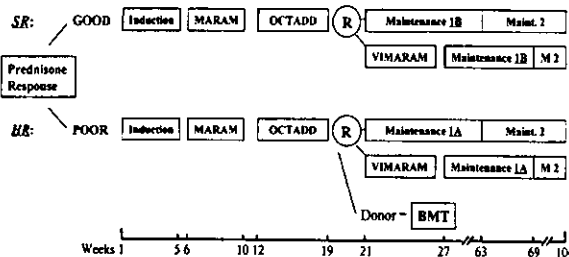
Risk group	Total (%)	SR (%)	MR (%)	HR (%)
Patients eligible	2564	750 (29.3)	1413 (55.1)	401 (15.6)
CR	2517 (98.2)	750 (100)	1381 (97.7)	386 (96.3)
Death in induction	41 (1.6)	0	32 (2.3)	9 (2.2)
Non-responders	5 (0.2)	0	0	5 (1.2)
	2517	750	1381	386
CCR	2325 (92.4)	731 (97.5)	1291 (93.5)	303 (78.5)
Relapse				
BM	90 (3.6)	3 (0.4)	49 (3.5)	38 (9.8)
CNS	19 (0.8)	3 (0.4)	10 (0.7)	6 (1.6)
Testis	3 (0.1)	0	3 (0.2)	0
BM+CNS	5 (0.2)	1 (0.1)	3 (0.2)	1 (0.3)
BM+Testis	4 (0.2)	1 (0.1)	2 (0.1)	1 (0.3)
Other	7 (0.3)	0	3 (0.2)	4 (1.0)
Death in CCR	54 (2.1)	5 (0.7)	18 (1.3)	31 (8.0)
Lost to follow up	2 (0.1)		1 (0.1)	1 (0.3)
2 <sup>nd</sup> malignancy	8 (0.3)	6 (0.8)	1 (0.1)	1 (0.3)

MRD study was carried out in 1890 patients (74.0%)

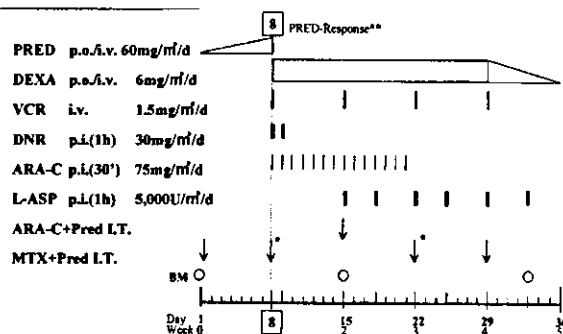
		ALL-BFM95 risk criteria			
		SR(%)	MR(%)	HR(%)	Total(%) <%>
MRD risk criteria	SR	325 (42)	425(55)	28(4)	775(100)<41.0>
	MR	276 (29)	554(59)	115(12)	945(100)<50.0>
	HR	18 (11)	56(34)	98(56)	167(100) <8.8>
	total	619 (33)	1035(55)	236(13)	1890(100)<100>

### INTERFANT 99

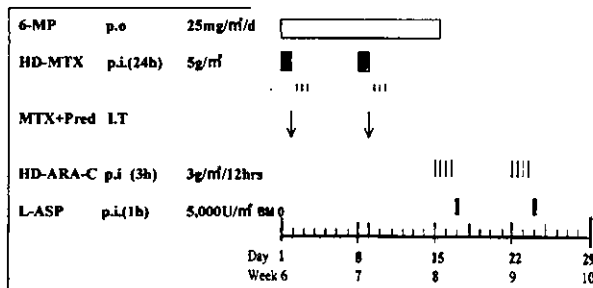
AIEOP, BFM, COALL, CWPGH, DCLSG, DFCI, EORTC-CLCG, FRALLE, I-BFM-SG, NOPHO, SJCRH, UKCCSG



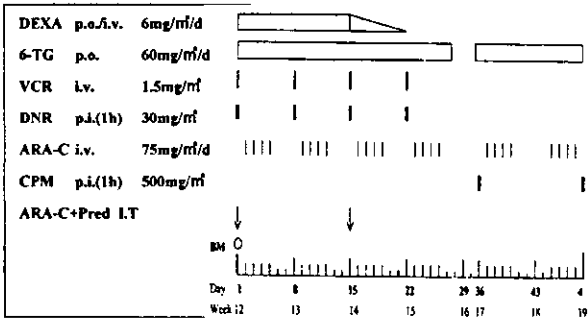
### INTERFANT 99: -Induction-



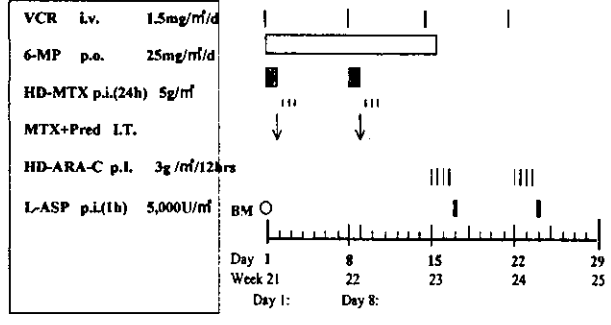
### INTERFANT 99: -MARAM-



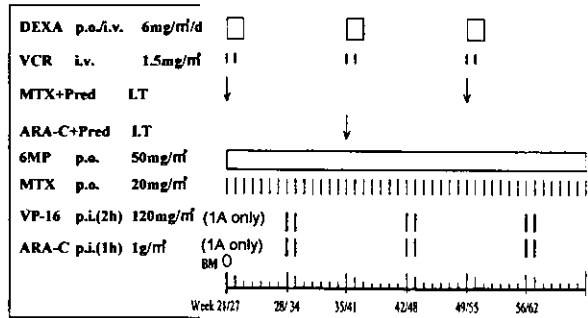
### INTERFANT 99: -OCTADD-



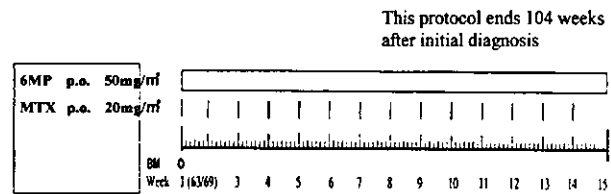
### INTERFANT 99: -VIMARAM-



### INTERFANT 99: -Maintenance 1A/1B-



### INTERFANT 99: -Maintenance 2 -



### INTERFANT99

Registered patients: N = 345 (on study: N= 331)

	SR (=PGR)	HR (=PPR)
Entered patients	220 (66.5%)	106 (32.0%)
M / F	105 / 115	51 / 55
Age < 6m	96 (43.7%)	54 (51.0%)
WBC	<10x10 <sup>4</sup>	121 (55.0%) 27 (25.4%)
	>30x10 <sup>4</sup>	34 (15.4%) 52 (49.1%)
Marker	B-lineage, CD10(+)	76 (34.6%) 24 (22.6%)
	B-lineage, CD10(-)	133 (60.4%) 64 (60.4%)
	T	2 (0.9%) 4 (3.8%)
CNS(+)	13 (5.9%)	11 (10.4%)

- MLL rearrangement analyzed in 258/331(77.9%)
- Rearrangement was found in 207/258(80.2%)

	SR	HR
MLL rearranged	139	67
t(4;11)	78	31

- CR SR: 214/218 (98.2%)  
HR: 91/103 (88.3%)
- Relapse SR: 50/208 (24%) including 36 BM relapse  
HR: Chemo 28/52(53%)  
BMT 13/39(33%)  
Median months from 1<sup>st</sup> CR to relapse  
BM 7m(0-34)  
BM+other 14m(6-25)  
Median months from relapse to death  
BM 3  
BM+other 4
- 2y EFS SR 60%,  
HR 40%

**Prognostic factor (1)**

		n	2y EFS	P-value
Sex	M	154	51.2%	0.536
	F	167	54.4%	
Age	≤2m	72	37.3%	0.003 and 0.050
	3-5m	76	31.6%	
	6-8m	84	63.6%	
	≥9m	89	74.0%	
WBC	<10x10 <sup>4</sup>	147	67.4%	0.036
	10x10 <sup>4</sup> - 30x10 <sup>4</sup>	90	55.5%	
	>30x10 <sup>4</sup>	84	26.4%	

**Prognostic factor (2)**

		n	2y- EFS	P-value
CD10	pos.	99	71.6%	
	neg.	194	41.5%	
11q23	t(4;11)	107	42.5%	0.017
	other MLL	95	38.8%	
	neg.	50	87.4%	
prednisone response	PGR	214	59.3%	0.145
	PPR	97	40.2%	
BM day15	M1	131	56.9%	
	M2	58	61.5%	
	M3	30	48.4%	

**Outcome after relapse in Infant 99**

94 relapses: 53 PGR and 41 PPR  
 Median time from 1CR to relapse: 8 mo  
 Death from relapse: so far 7 pts  
 Median time from relapse to death: 4 (0-28) mo

**Phase I/II PKC412 in relapse/ refractory MLL leukemia**

FLT3 is overexpressed in MLL rearranged ALL  
 FLT-ITD 0/35 in infant ALL  
 Point mutation 1/35 in infant ALL

COG: Program for New Agents and Innovative Therapy  
 Institutional level: Phase I/II development of an agents  
 ↓  
 COG Developmental Therapies  
 Phase I Consortium: 21 Centers  
                                   NCI Pediatric branch  
                                   2 Centers in Canada  
 Phase II Research: group-aid (243 centers)

Childhood Cancer Drug Development Process  
 letter of intent (institution, industry)  
 scientific control  
 CTEP  
 full protocol  
 ↓  
 specific disease committee liaison

平成16年度第1回中畑班・堀部班合同班会議  
**EICNHL(ALCL99ほか)報告**

**EICNHL**

European Intergroup Co-operation on Childhood Non-Hodgkin lymphoma

慶應義塾大学医学部小児科  
 森 鉄也

2004.06.12



**EICNHL meeting - Agenda**

Thursday April 1<sup>st</sup>, 2004

9h30-16h : Biological studies

Chairman : A Rosolen

16h-18h : Lymphoblastic Lymphoma

Chairman : A. Reiter

Friday April 2<sup>nd</sup>, 2004

9h – 11h : B-NHL

Chairman : C. Patte

11h30-13h30 : ALCL

Chairman : L. Brugières

14h30-15h30 : Problems of data exchange and data management

15h30 – 17h : EICNHL organisation

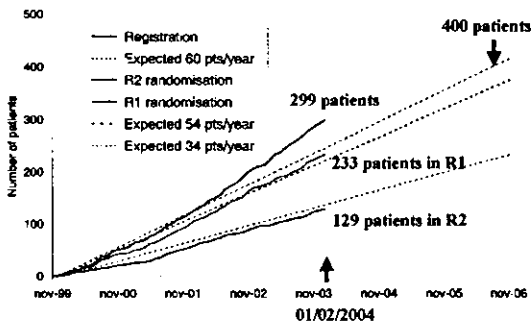
Chairman : A. Reiter

Fédération Nationale des Centres de Lutte contre le Cancer,  
 101 rue de Tolbiac - 75013 PARIS.

ALCL99

**Registration and Randomizations**

ALCL99 - Accrual rate



ALCL99

**Pathology Data**

Local pathology report: 259/299 (87%)  
 Pathology review: 209/299 (70%)  
 International review: 200/299 (67%)

National review according to the country

Country/Group	Reviewed/Total
BFM	79/93 (85%)
SFOP	51/68 (75%)
AIEOP	34/38 (89%)
UK	3/33 (9%)
Japan	15/15 (100%)

ALCL99

**International Review**

- ✓ Overall slides reviewed for 200 patients (67%)
- ✓ Confirmation of the diagnosis of ALCL for 182 pts  
 55% common-type  
Change of subtype for 67 pts !
- ✓ Rejection of the diagnosis of ALCL for 17 pts  
 6 Hodgkin lymphoma  
 4 ALK- other NHL: 1 B-NHL, 3 T-NHL  
 ..

ALCL99

**Patient Safety**

- Four toxic deaths on protocol treatment
  - ✓ Septic shock after course 1
  - ✓ Pulmonary and gastro-intestinal bleeding on day-4 of prephase
  - ✓ Aspergillus infection after course 1
  - ✓ Macrophage activation syndrome occurring 1 month after the end of protocol treatment
- One toxic death not related to protocol treatment
  - ✓ Gastro-intestinal bleeding after chemotherapy for a 3rd relapse
- 24 non-lethal SAE have been reported



ALCL99

### Outcome

Follow-up updated for 243/283 alive patients  
 Median follow-up = 16.7 months (range 0 to 3.9 years)

↓

53 events  
 ✓ 49 progression/relapse → 11 deaths  
 ✓ 5 toxic deaths

The second interim analysis is planned for June 2004

EICNHL meeting

### ALCL99以外の話題 Clinical Studies

**Lymphoblastic lymphoma**  
 EURO 02 study  
 BFM90, BFM95と同じ基本骨格(予防照射なし)  
 (1) prednisolon vs dexamethasonのrandomization  
 (2) 治療期間(維持療法)の短縮

**B-NHL**  
 Rituximab: phase II study?, phase III study?  
 Mediastinal LBCL

ALCL relapse protocol

EICNHL meeting

### ALCL relapse study

SFOP, BFM登録例の再発後の転帰

	N	Survival	Death of NHL	TRM
SFOP	55	34	14	7
BFM	80	43	39	6

SFOPの生存34例: 17例は2ndCR, 17例は2ndCR以降

再発後も長期生存が期待される例が存在  
 ↓  
 Prognostic factorの検出・再発後の治療整備

EICNHL meeting

### ALCL99以外の話題 Biological Studies

Thursday April 1<sup>st</sup>, 2004  
 9h30-16h : Biological studies      Chairman: A Rosolen

Welcome/Introduction  
 Cytogenetics of pediatric NHL  
 Cytogenetics studies in B-cell NHL  
 Cytogenetics results in pediatric NHL and future developments  
 Cytogenetics, FISH and array CGH to study B- and T-cell NHL  
 Biology of B-cell NHL  
 Biological studies in Burkitt's lymphomas and ALCL  
 Biological aspects of Lymphoblastic Lymphoma  
 Analysis of TCR status in T-ALL compared to LBL and ALCL

*Lunch interval*

Minimal Residual Disease in B-cell NHL and ALCL  
 Molecular characterization and MRD studies in Burkitt's lymphoma  
 T and B-cell response to ALK in patients with ALK-positive ALCL  
 Prospective analysis of Minimal BM infiltration in ALCL  
 General Discussion  
 Conclusions

A. Rosolen (Padova)  
 I. Wlodarska (Leuven)  
 H. Poiriel (Belgium)  
 J. Harbott (Giessen)  
 C. Harrison (Southampton)  
 M. Raphael (Paris)  
 W. Woessanna (Giessen)  
 B. Burkhardt (Giessen)  
 E. Macintyre (Paris)

K. Busch (Giessen)  
 L. Mussolin (Padova)  
 K. Palford (Oxford)  
 A. Rosolen (Padova)

EICNHL meeting

### Biological Studies

当日のmemoを起こした内容であることをご了承ください

**Cytogenetics of pediatric B-NHL** I. Wlodarska  
 LMB96登録1148例のうち核型解析成功例は256例(22%)  
 BLにおける核型異常はsimple  
 DLBCLにおいてはcomplex & hyperdiploidが特徴  
 t(8q24)が35%に認められた (adjuvでは<10%)

**Minimal BM Infiltration in ALCL** A. Rosolen  
 対象: RT-PCRによりALK-NPM陽性が確認されたALCL例  
 Minimal disseminated disease (MDD) in BM: 17/30 (57%)  
 MDD陽性17例のEFS 41.8%, 陰性13例のEFS 100%

Biological studiesのsessionは次年度以降も継続  
 多くのテーマの提案が要望された

EICNHL meeting

### 日本と欧州の違い...

**施設のセンター化**  
 「日本にはいくつのセンターがあるのか？」  
 「ALCL99には約200施設が登録されている」  
 「それでPediatric Oncologistのtrainingは可能なのか？」

**臨床研究**  
 倫理審査承認後にstudyに参加するという姿勢は明確  
 統計担当者・データセンターが機能  
 資金(研究費)を得ることができる研究

**検体**  
 例えばLMB96登録で病理組織・染色体解析対象は1148例

**研究者**  
 "Biological Studies"での発表者の多くは臨床医ではない

## 第1回 JPLSG 研究会プログラム

平成16年6月12日(土) 13:40~17:05

13:40~13:50

### 1. JPLSG 活動報告

JPLSG 運営委員長

堀部敬三

13:50~14:26

座長 林 泰秀

一般演題1. (発表6分、質疑3分)

### 2. AML99 プロトコール登録症例における FLT3 遺伝子異常の解析—中間報告—

嶋田 明<sup>1)</sup>、林 泰秀<sup>1)</sup>、月本一郎<sup>2)</sup>

群馬県立小児医療センター血液腫瘍科<sup>1)</sup>、東邦大学第一小児科<sup>2)</sup>

### 3. 小児急性骨髄性白血病における C/EBPA 遺伝子の変異とその意義について

小林道弘<sup>1)</sup>、水嶋康浩<sup>1)</sup>、足立壮一<sup>1)</sup>、中畑龍俊<sup>1)</sup>、滝 智彦<sup>2)</sup>、林 泰秀<sup>3)</sup>

京都大学医学研究科発達小児科学<sup>1)</sup>、京都府立医科大学分子病態検査医学<sup>2)</sup>、群馬県立小児医療センター<sup>3)</sup>

### 4. MLL-SEPT6 融合蛋白による白血病発症の分子機構の解析

小笠良一<sup>1)</sup>、野阪哲哉<sup>1)</sup>、滝 智彦<sup>2)</sup>、林 泰秀<sup>3)</sup>

東京大学医科学研究所造血因子探索寄附研究部門<sup>1)</sup>、京都府立医科大学大学院医学研究科分子病態検査医学<sup>2)</sup>、群馬県立小児医療センター<sup>3)</sup>

### 5. 小児骨髄異形成症候群 (MDS) 及び若年性骨髄単球性白血病 (JMML) における異常メチル化

長谷川大輔<sup>1,2)</sup>、真部淳<sup>1,3)</sup>、久保田健夫<sup>4)</sup>、河崎裕英<sup>1)</sup>、大塚欣敏<sup>1)</sup>、磯村万理子<sup>5)</sup>、小島勢二<sup>5)</sup>、辻浩一郎<sup>1)</sup>、中畑龍俊<sup>6)</sup>

<sup>1)</sup>東京大学医科学研究所小児細胞移植科、<sup>2)</sup>東京医科大学小児科、<sup>3)</sup>聖路加国際病院小児科、<sup>4)</sup>山梨大学大学院医学工学総合研究部保健学 I 講座、<sup>5)</sup>名古屋大学医学部小児科、<sup>6)</sup>京都大学医学部小児科

14:26~15:15

座長 藤本純一郎

一般演題2. (発表6分、質疑3分)

### 6. 悪性リンパ腫における SAP 遺伝子解析研究

金兼弘和、宮脇利男

富山医科薬科大学医学部小児科

### 7. NK 細胞白血病・リンパ腫における Asparagine Synthetase 発現に基づいた治療法選択

鬼頭敏幸

滋賀県立小児保健医療センター検査科、小児科

講演1. (発表20分、質疑10分)

### 8. 悪性リンパ腫のゲノム異常の解析

瀬戸加大

愛知県がんセンター遺伝子医療研究部

15:15~15:30

休憩

15:30~16:06

座長 石井榮一

一般演題 3. (発表 6 分、質疑 3 分)

9. Anthracycline (DXR、IDR、THP) 血中濃度測定と topoisomerase II 発現量の測定

若園吉裕<sup>1)</sup>、長澤一樹<sup>2)</sup>

京都桂病院小児科<sup>1)</sup>、京都薬科大学<sup>2)</sup>

10. real-time PCR 法を用いた WT1 mRNA および MLL 遺伝子関連キメラ mRNA 定量による微小残存病変 (MRD) 解析: MLL03 付随研究

康勝好<sup>1)</sup>、石井榮一<sup>2)</sup>、JPLSG 乳児白血病委員会

東大小児科<sup>1)</sup>、佐賀大小児科<sup>2)</sup>

11. フローサイトメトリー法による MRD の定量は症例特異的 PCR 法の代わりに利用できるのか?

-小児急性リンパ性白血病の MRD 測定法による定量結果の比較-

中辻幸恵、菅原和華、遠藤幹也、千田勝一

岩手医科大学小児科

12. TCCSG・L99-15 における高 2 倍体 ALL の臨床的検討

高橋浩之、真部淳、小原明、熊谷昌明、花田良二、林泰秀、土田昌宏

東京小児がん研究グループ (TCCSG)

16:06~16:35

座長 水谷修紀

一般演題 4. (発表 6 分、質疑 3 分)

13. TPMT 遺伝子多型スクリーニング検査法の確立

森 鉄也 島崎紀子 嶋田博之 小崎健次郎

慶應義塾大学医学部小児科学教室

指定演題 (発表 15 分、質疑 5 分)

14. マイクロアレイ技術の小児白血病における応用

堤 修一<sup>1)</sup>、油谷 浩幸<sup>1)</sup>、滝 智彦<sup>2)</sup>、林 泰秀<sup>3)</sup>

東京大学先端科学技術研究センター<sup>1)</sup>、京都府立医科大学分子病態検査医学<sup>2)</sup>、群馬県立小児医療センター<sup>3)</sup>

16:35~17:05

座長 堀部敬三

講演 2. (発表 20 分、質疑 10 分)

15. BASH 欠損マウスに発症するプレ B 細胞急性リンパ性白血病の原因解明

北村大介

東京理科大学生命科学研究所

平成16年度 厚生労働省がん研究助成金

「小児の難治性白血病、骨髄異形成症候群のゲノム異常の解析と治療法に関する研究」

主任研究者 中畑龍俊

平成16年度 厚生労働科学研究費補助金(がん臨床研究事業)

「小児造血器腫瘍の標準的治療法の確立に関する研究」

主任研究者 堀部敬三

## 平成16年度 第2回 厚生労働省 中畑班, 堀部班 合同班会議 プログラム

日時： 平成16年10月31日(日)

9:00～ 17:30

場所： 東京医科歯科大学歯学部 特別講堂

東京都文京区湯島 1-5-45

なお、12:40～13:00(昼食時間内)において、懇話会を開催いたします。  
ご興味のある方は是非ご参加ください。

### 【 小児WT1免疫療法懇話会 】

「難治性小児がんに対するWT1ペプチドワクチンの有用性の検討」  
大阪府立母子保健総合医療センター血液・腫瘍科 澤田明久先生  
会場: 歯学部4階演習室(特別講堂の前)

### 【合同班会議担当事務局】

国立病院機構名古屋医療センター 臨床研究センター  
〒460-0001 愛知県名古屋市中区三の丸4-1-1  
TEL : 052-951-1111(EX.2775) FAX : 052-963-5503  
e-mail : jplsg@nrh.hosp.go.jp

# プログラム

日時:10月31日(日)9:00~17:30

場所:東京医科歯科大学歯学部 特別講堂

(敬称略)

## 【午前の部】

厚生省がん研究助成金

『小児の難治性白血病、骨髄異形成症候群のゲノム異常の解析と治療法に関する研究』(中畑班)

9:00~ 9:05 あいさつ

京都大学小児科

中畑龍俊

9:05~10:20 (発表12分、討論3分)

座長:林 泰秀

1. DNA2重鎖切断修復におけるATMシグナル経路の解明  
東京医科歯科大学小児科  
Ling Chen, 森尾友宏, 水谷修紀
2. 急性骨髄性白血病におけるp15遺伝子のエピジェネティクス転写調節機構の異常  
信州大学小児科  
小池健一, 小川美奈, 坂下一夫
3. 小児白血病における遺伝的素因に関する研究  
国立がんセンター分子腫瘍学部  
清水 喜美子
4. AML99プロトコール登録症例におけるFLT3遺伝子異常の解析  
群馬県立小児医療センター血液腫瘍科  
嶋田 明, 林 泰秀, 小児AML共同治療研究会
5. AML t(8;21)再発症例のc-Kit mutationの経時的解析、及びPh+ALLにおけるVLA4抗体療法の可能性  
京都大学小児科  
足立壮一, 新井真人, 水嶋康浩, 梅田雄嗣,  
松原央, 渡部基信, 平松英文, 小林道弘, 中畑龍俊  
京都桂病院小児科  
若園吉裕  
京都府立医科大学分子病態検査医学  
滝 智彦  
群馬県立小児医療センター血液腫瘍科  
嶋田 明, 林 泰秀

10:20~11:20 (発表12分、討論3分)

座長:小池健一

6. 小児リンパ性白血病細胞株におけるFLT3発現量とFLT3 inhibitorに対する感受性  
山梨大学医学部小児科  
杉田完爾, 合井久美子, 中澤眞平
7. 若年性骨髄単球性白血病(JMML)におけるPTPN11遺伝子の変異、およびNOD/SCIDc $\gamma$ <sup>tm1</sup>(NOG)マウスを用いたJMML生着細胞におけるリンパ球のclonality解析  
名古屋大学小児科  
山本知子, 中村陽一, 磯村万理子, 徐銀燕,  
谷々崎博, 工藤寿子, 小島勢二
8. 若年性骨髄単球性白血病(JMML)におけるビスフォスフォネート製剤の検討  
東大医科学研究所小児細胞移植科  
大塚欣敏, 長谷川大輔, 河崎裕英, 辻浩一郎  
聖路加国際病院小児科  
真部 淳
9. TCCSG ALL L95-14SR・HRにおけるDexamathasone v.s. Prednisolone無作為割付比較試験の結果  
TCCSG  
五十嵐俊次, 小原明, 真部淳, 花田良二,  
熊谷昌明, 生田孝一郎, 土田昌宏 他

11:20~12:00 (発表30分、討論10分)

座長:水谷修紀

10. 小児AML共通プロトコール-AML99-の開始4年後の評価  
小児AML共同治療研究会  
月本一郎, 多和昭雄, 花田良二, 田淵 健,  
気賀沢寿人, 小林良二, 土屋 滋, 今泉益栄,  
土田昌宏, 矢部普正, 堀部敬三, 中山秀樹,  
浜本和子, 森本 哲, 工藤寿子

12:00~13:00 昼食

## 【午後の部】

(敬称略)

厚生労働科学研究費補助金(がん臨床研究事業)  
『小児造血器腫瘍の標準的治療法の確立に関する研究』(堀部班)

13:00～13:05 あいさつ	名古屋医療センター臨床研究センター	堀部敬三
13:05～14:05		<u>座長:多和昭雄</u>
AML-04(30分)	東京医科歯科大学小児科	富澤大輔
AML-P04(15分)	横浜市立大学小児科	高橋浩之
AML-D04(15分)	北海道がんセンター小児科	飯塚 進
14:05～14:40		<u>座長:駒田美弘</u>
JPLSG 登録データ管理システム(15分)	名古屋医療センター臨床研究センター	瀧本哲也
検体保存と研究利用について(20分)	東北大学加齢医学研究所発達病態	土屋 滋
14:40～15:00 休憩		
15:00～16:10		<u>座長:鶴澤正仁</u>
JPLSG リンパ腫臨床試験キックオフミーティング(70分)		
病理診断と検体保存(10分)	国立成育医療センター研究所	藤本純一郎
B-NHL03	愛知医科大学小児科	鶴澤正仁
B-NHL03 G-CSF	埼玉県立小児医療センター血液腫瘍科	菊地 陽
LLB/ALB NHL03	成田赤十字病院小児血液腫瘍科	角南勝介
臨床試験手順について	JPLSG データセンター	
16:10～17:00		<u>座長:土田昌宏</u>
JPLSG Ph+ALL 臨床試験キックオフミーティング(50分)		
免疫診断(10分)	三重大学医学部小児科	駒田美弘
分子診断(10分)	群馬県立小児医療センター	林 泰秀
Ph+ALL04	聖路加国際病院小児科	真部 淳
臨床試験手順について	JPLSG データセンター	
17:00～17:20		<u>座長:土屋 滋</u>
ALCL99 進捗状況(5分)	名古屋医療センター臨床研究センター	堀部敬三
MLL03 進捗状況(15分)	佐賀大学医学部小児科	石井榮一
17:20～17:30		
今後の展望	名古屋医療センター臨床研究センター	堀部敬三

厚生労働科学研究費補助金（効果的医療技術の確立推進臨床研究事業）

「小児造血器腫瘍の標準的治療法の確立に関する研究」班

第4回小児造血器腫瘍の免疫学的診断の標準化ワーキンググループ会議議事録（案）

平成16年5月20日（木）、東京国際フォーラム G608会議室

出席 中原一彦、原 純一、真部 淳、藤本純一郎、高瀬浩造、服部浩佳、駒田美弘、  
小川恵津子、橋本 亙、宮崎年恭  
オブザーバー：清河信敬、出口隆生、  
（株）BML：谷口 脩、矢野清隆、平郡雄二  
（株）エスアールエル：梶田紀明、山本茂樹、岩城孝次  
（株）三菱化学ビーシーエル：赤塚弘恭、菅原由人、桃林 淳、恩田亮一（敬称略）

- 1 第3回小児造血器腫瘍の免疫学的診断の標準化ワーキンググループ会議議事録の確認がなされ、変更等があれば駒田まで連絡をお願いしたい。
- 2 ワーキンググループ委員に関してメンバーの変更・追加があり、新しいリストをもとに確認がなされ、了承された。また今回から検査会社（SRL、MBL、三菱化学BCL）のマーカー検査担当者が出席し、ワーキンググループメンバーへの紹介がなされた。
- 3 検査会社各社からマーカー検査の現状について報告がなされた。

SRL：

- (1) 白血病・リンパ腫ともに主として CD45 ゲーティング法を用いて解析しているが、FSC/SSC 法も可能である。Single color、2 color 解析においては各種抗体の組み合わせが可能で、またカスタム項目・パネルへの対応もできる。
- (2) 抗体クローンは各種保持しており、クローン指定の検査も可能ではあるが、社内データによるランクが高いと判断されたものから使用している。抗体はロット毎に社内においてタイトレーションを実施し、その結果に基づいて希釈して使用している。
- (3) 単核球 10000 カウント以上のデータを取り込んでいる。ただし、細胞は固定せずにフローサイトメーターにて解析している。
- (4) ドットプロットと陽性率の表・棒グラフによる発現パターンのみで報告しているが、陰性・陽性の判定やコメントは付けていない。問い合わせがあればあくまで参考としてコメントを回答することもある。
- (5) 報告は、至急の場合、検査提出の翌日午後3時以降にファックスされる。通常報告の場合は翌々日発送となる。
- (6) 細胞の Viability に関してはガイドラインに基づき PI 法で確認している。

## BML :

- (1) 白血病は主として CD45 ゲーティング法を用いて解析。リンパ腫は 7AAD を用いて生細胞を選んで解析している (CD45 gating 法は使用していない)。FSC/SSC 法による解析や Single color、2 color 解析も実施は可能である。造血器腫瘍解析セットでは細胞内染色の検査も実施している。その他リンパ腫セット、多発性骨髄腫セットなども実施している。各種抗体の組み合わせは検査一覧の中から選ぶ形で可能であり、カスタム項目・パネルのオーダーもできる。
- (2) 抗体クローンは主として BD、Immunotech のものを使用しているが、カスタムオーダーにも対応する。抗体はロット毎に社内においてタイトレーションを実施し、その結果に基づいて希釈して使用している。
- (3) 細胞は最終的に CellFix (BD 社) で固定し、データは 10000 個を取り込み解析している。
- (4) ドットプロットと陽性率の表・棒グラフによる発現パターンのみで報告しているが、陰性・陽性の判定やコメントは付けない。細胞数が少ない場合は主治医にコンタクトをとって優先順位を決めている。

## 三菱 BCL :

- (1) 白血病は主として CD45 ゲーティング法を用いて解析している。FSC/SSC 法による解析や Single color、2 color 解析もあり、検査一覧の中の抗体から選ぶ形でも可能である。カスタム項目・パネルのオーダーもできるが、白血病・リンパ腫解析のセットでは細胞内染色の検査は含まれていない (オーダーにより実施は可能)。
- (2) 抗体クローンは主として BD、Immunotech、DAKO のものを使用しているが、カスタムオーダーにも対応できる。抗体はロット毎に社内においてタイトレーションを実施し、その結果に基づいて希釈して使用している。
- (3) 溶血試薬は自家調整の塩化アンモニウムを使用し、細胞は固定せず解析している。データは 50000 個を取り込み、染色から測定まで 2 時間以内に施行する。
- (4) ドットプロットと陽性率の表・棒グラフによる発現パターンのみで報告しているが、陰性・陽性の判定やコメントは付けていない。

検査の手技については各社それぞれ異なる部分がある。データは各社ともリストモードで保存している。クオリティーコントロールに関しては、各社とも社内的には始業時点検やメーカーに委託して実施している他、外部精度管理も実施している。主として秀峰会フローサイトメトリー技術部会サーベイ (末梢血のみ) を実施しているが、米国臨床病理医協会 (CAP) によるサーベイも実施している。CAP は米国からサンプルが送られてくるため、サンプルの状態などで現実的には困難な場合が多い。実際には、白血病マーカー解析においては確立された外部精度管理は存在しないのが現状のようである。



- 4 マーカー解析パネル（案）について、各社において実施が可能かについて協議された。各社とも技術的には実施可能であることについては同意があったが、実際に運用するとなると種々の問題があることが示された。主として、保険診療において実施される場合、検査コストは各病院との取り決めによって決定されているが、保険診療における検査の点数が1200点であることから、病院は通常この価格より安く設定することを要求する。しかし、項目数が多い場合、ゲートの方法（CD45 gating 法など）、抗体の種類（例えば通常よく使われる体外診断薬の適応のあるような抗体は価格が安い、研究用試薬の場合は価格が高い）、検査方法（細胞内染色の有無）によっては保険点数内の価格では採算性が問題となってくるため、現実的には問題が生じるとの回答が各社より示された。

検査に見合った適正な保険診療点数を要求することも必要なのではないか、検査価格の決定に関わる医療機関側への説明が必要なのではないか、また推奨パネルを公にした際にこの検査が実際にされなかった患者からクレームがでた場合に問題が生じるのではないかと、などの意見が出された。しかしワーキンググループとしては小児のマーカー診断に重要な項目を充分検討の上で示したものであり、推奨する内容には変更を加えず、具体的なパネルを示し、各社において実施可能かについて検討していただくこととした。

- 5 具体的な診断パネルについて検討し、以下の案を作成した。

細胞表面抗原

FL1	-	FL2	-	FL3	-	FL4
CD10	-	CD13	-	CD45	-	CD3
CD7	-	CD33	-	CD45	-	CD19
$\kappa$	-	$\lambda$	-	CD45	-	(CD19)
HLA-DR	-	CD56	-	CD45	-	CD34
GlyA	-	CD41	-	CD45	-	CD2

細胞質内抗原

CD3	-	CD79a
TdT	-	MPO

この案を各社に示し、コストの面も含めて実施可能か次回までに検討してもらうこととした。

- 6 今回検討できなかった項目については次回検討することとする。次回の日程については8月を予定したいが、具体的な日時等については改めて各委員に連絡をする。

（文責：出口隆生）

厚生労働科学研究費補助金（効果的医療技術の確立推進臨床研究事業）

「小児造血器腫瘍の標準的治療法の確立に関する研究」班

第5回小児造血器腫瘍の免疫学的診断の標準化ワーキンググループ会議議事録（案）

平成16年8月26日（木）、東京国際フォーラム G607会議室

出席 中原一彦、藤本純一郎、高瀬浩造、服部浩佳、駒田美弘、堀部敬三、鶴沢正仁、  
原 純一、小川恵津子、橋本 亙、宮崎年恭

オブザーバー：清河信敬、出口隆生

（株）BML：平郡雄二

（株）エスアールエル：岩城孝次

（株）三菱化学ビーシーエル：赤塚弘恭、菅原由人、桃林 淳、脇田 淳

（敬称略）

1 第4回小児造血器腫瘍の免疫学的診断の標準化ワーキンググループ会議議事録の確認  
がなされ、変更等があれば駒田まで連絡をお願いしたい。

2 各臨床検査会社社にけるマーカー解析パネルについて

SRL社：

- (1) 4カラーの推奨もあったが、もっとも一般的であるCD45 Gating法を採用していただきたい。自社の保有抗体を使用することをベースに検討を行なっていく予定である。
- (2) マーカー解析パネルは、1つの検査セット項目が9細目と定義しているため、SRL社独自の9つの抗体組み合わせ（9細目）を示した。これはWGから推奨のあったFL1-FL2の項目とは、自社で保有する抗体をベースにしたため異なる組み合わせが用いられており、またCD2とCD3が解析パネルに多く含まれている。
- (3) CD22抗原は細胞質内、細胞表面とも染色が可能である。
- (4) 細胞質内抗原は、細胞表面抗原であるCD45と同時に染色することが可能であるかを、技術的な面も含めて確認しておくことが必要である。
- (5) ネガティブコントロールは、2種類、すなわち細胞表面抗原と細胞質内抗原の染色に対してそれぞれ必要である。
- (6) 抗体クローンの指定がある場合には、新しく必要なクローンを購入してマーカー解析を実施するかについては、さらに社内での検討が必要である。

BML社：

- (1) 社内での検討がまだ充分でなく、本日は自社のマーカー解析パネルを提示

はできない。後日提示させていただきたい。

- (2) 3 カラー染色、4 カラー染色ともに、解析パネルの組み合わせは可能であるが、保険点数内の検査であれば解析パネルは5項目までで通常行なっている。基本的にはその範囲に収めたい（コントロールも入れて6本）。
- (3) 実際の検査の実施についてはまだ十分な検討が出来ていない。また標識抗体の組み合わせの入れ替えについても考えていきたい。

三菱化学BCL社：

- (1) 提示されたマーカー解析パネルが実施できるかどうか検討の結果、4 カラー染色での運用は難しいため、3 カラー染色を使用することを前提で検討している。細胞質内抗原の解析も実施可能である。
  - (2) CD79a は PE 標識抗体しか検査試薬として使用できないので、PE 標識抗体を使うことにしたい。
  - (3) 今後も、WGの示す案を基本線として検討する。
- BML 社には実際のマーカー解析パネルを作成し提示をしていただき、コストの面についてはその際に検討することにする。
  - 抗体クローンや標識色素の指定がある場合には、各社とも、その標識抗体を新しく購入して、実際のマーカー検査に対応することになる。そこで、次回WG会議までに、各社の現在使用可能抗体パネルに教えていただくこととした。ただし、各検査会社の意見としては4 カラー染色による検査の実施は難しいとの意見もあり、2 カラー染色、あるいは3 カラー染色（CD45 Gating 法）を基本的な解析方法として、解析パネルを提示することとした。
  - 解析パネルに関しては、各社で統一していただく方向で検討をすすめていく。また、使用する抗体のクローンの統一のみでなく、検査手技についても標準化を目指していきたい。しかし、まずは検体の洗浄回数等、実態の染色・解析方法の把握が重要であると考えられる。
  - 4 カラーと2 (3) カラー用の解析パネルが若干異なることについて、CD3 と CD20 を入れてもよいのではないかとの意見があり、プライマリーパネルの中に CD3 - CD20 を加えてWG案として再度提示することとした。

(解析パネル)

2カラー (3カラー) 解析パネル (primary panel)

細胞表面抗原

FL1            FL2            (FL3)

CD10	CD33	(CD45)
CD19	CD13	(CD45)
$\kappa$	$\lambda$	(CD45)
CD34	HLA-DR	(CD45)
CD41	GlyA	(CD45)
CD7	CD56	(CD45)
CD3	CD20	(CD45)

細胞質内抗原 (FL1/FL2 はどちらでも結構です。)

MPO	TdT
CD79a	cCD3

#### 4 精度管理 (検査、解析方法) の実施について

精度管理は各臨床検査会社、中央診断施設で統一したものを実施したい。可能であれば標準検体として、同じ検体を送付して検査・解析をしていただき、その結果を比較検討したい。また、抗体クローン、標識色素の違いで結果がどう違うかは一度検討することも必要であり、臨床検査会社、中央診断施設間での差違をまず認識することが大切ではないかとの意見が大勢であった。

精度管理の具体的な方法についての議論では、どのようなサンプルを用いるか (臨床検体をできるだけ用いたい)、またどういう手順で実施するか (検体の送付方法、抗体の準備・提供など) 等についての検討が必要である。臨床検体を用いる場合には、末梢血サンプルが適当と考えられるが、どのように適切なサンプルを選定し、各施設へ送付するかなど、種々の問題がある。いくつかの白血病治療専門施設にあらかじめ依頼しておき、サンプルとして適切な症例の発生があった時に、精度管理のための標準検体として送付していただくなどしなければならない。精度管理については実施する方向で検討し、具体的な方法に関して三重大学と成育医療センターで検討し、素案を次回のWG会議までに作成する。また、精度管理に使用する抗体クローンの選択については小川恵津子委員、橋本 互委員から助言をいただきながら検討する。

また、各臨床検査会社や臨床研究グループの中央診断施設で用いられている検査機器 (フローサイトメーター)、各臨床検査会社の所有する抗体クローンについて教えていただき、解析パネルの標準化のために資料とする。

#### 5 リンパ腫のマーカー解析について

検体が浮遊細胞である場合は良いが、リンパ節である場合には Viability など種々の問題がある。検体の調整、解析方法についての標準化が必要である。