

5. 中山秀樹、多賀 崇、富澤大輔、足立壮一、
多和昭雄：小児急性骨髄性白血病に対する
FLAG/FLAG+ α 療法に関する調査の報告。第
50回日本小児血液学会 2008年11月 千葉

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
該当なし
2. 実用新案
該当なし
3. その他
該当なし

小児慢性骨髄性白血病の標準治療確立のための研究

研究分担者 嶋田博之 慶應義塾大学医学部 小児科 専任講師

研究要旨 本研究の目的は、18歳未満の小児慢性骨髄性白血病(CML)のイマチニブを用いた標準治療の確立である。本年度は2007年に実施した「小児慢性骨髄性白血病の臨床像に関する疫学調査」のデータを解析して、最近11年間の小児CMLの臨床像、治療内容、および治療経過について重要な知見を得た。さらに、「小児慢性骨髄性白血病(CML)に対する多施設共同観察研究CML-08」を立案し、2009年に開始できる予定である。この前方視的観察研究によって、イマチニブを用いた治療の効果と安全性、治療反応による予後予測の検証を行う。本報告書では、2007年に実施した疫学調査の成果報告を行う。

研究協力者

伊藤正樹(福島県立医科大学小児科)
黒澤秀光(獨協医科大学小児科)
谷澤昭彦(福井大学医学部小児科)
遠野千佳子(青森労災病院小児科)
徳山美香(東邦大学医療センター佐倉病院小児科)
浜本和子(広島赤十字・原爆病院小児科)
堀田紀子(社会保険徳山中央病院小児科)
村松秀城(名古屋大学小児科)
渡辺輝浩(新潟県立がんセンター新潟病院小児科)

A.研究目的

最近11年間(1996-2006年)に診断された小児CML患者に関する臨床像の実態を把握する。

B.研究方法

一次調査で、症例の有無、および二次調査への協力を施設担当医に確認後、研究協力施設に対し二次調査を行う。調査時点で既に診療記録に記載されている医療情報のみを調査票(紙)により回収する。

C.研究結果

一次調査で173例の登録があり、166例の二次調査票が回収できた。診断時年齢は11か月-17歳3か月(中央値9歳)、男91例、女75例であった。診断時病期は、慢性期(CP)/移行期(AP)/急性転化期(BC)が各々146/9/11例であった。全体での5年および10年全生存率は84.0%、81.7%、5年および10年無増悪生存率は78.1%、75.7%であった。診断時年代別では2001年以前(n=80)および2002年以降(n=86)の5年全生存率はそれぞれ76.1%、95.7%($p<0.001$)、5年無増悪生存率は68.6%、90.5%($p<0.001$)と最近5年間の成績向上を認めた。同種造血幹細胞移植(SCT)群(n=109)の5年生存率は79.4%、非SCT群(n=57)は96.8%であった。

【同種造血幹細胞移植の成績】

SCT群109例を解析した。男59例、女50例。診断時年齢は11か月-17歳3か月(中央値9歳6か月)、診断から移植までの期間は1-63か月(中央値8か月)。1例を除く全例で前治療あり、うち45例がイマチニブ使用。移植時病期はCP1 75例、AP 2例、BC 7例、CP2またはCP3(higher CP) 25例。ドナーはHLA一致同胞36例、HLA一致非血縁45例、HLA不一致28例(血縁16

例、非血縁 12 例)。移植ソースは骨髄 93 例、末梢血幹細胞 10 例、臍帯血 6 例。15 例が骨髄非破壊的移植(RIST)であった。100 例で生着あり、再発 14 例(再発時 BC 5 例、AP 1 例、CP 8 例)、原病死 2 例、治療関連死 21 例、二次がん 1 例であった。

5 年全生存率は、ドナー別では HLA 一致同胞 88.9%、HLA 一致非血縁 75.7%、HLA 不一致血縁 58.3%、HLA 不一致非血縁 72.9%。移植時病期別では CP1 83.1%、AP または BC 25.9%、higher CP 79.3%。診断時年代別では 2001 年以前(n=68) 71.2%、2002 年以降(n=41) 88.0%。

移植時非 CP1 症例 34 例(AP 2 例、BC 7 例、higher CP 25 例)のサブグループ解析では、年代別では 2001 年以前(n=21) 51.9%、2002 年以降(n=13) 90.9%($p=0.04$)と 2002 年以降の著しい成績向上が確認できた。イマチニブ使用群(n=15) 92.3%、未使用群(n=19) 46.8% ($p=0.01$)。移植時細胞遺伝学的完全寛解(CCyR)あり(n=9) 100%、なし(n=25) 52.7% ($p=0.02$)と有意差を認めた。

【初期治療薬としてイマチニブを投与された慢性期 CML の治療成績】

全 166 症例中、初期治療薬としてイマチニブを投与された診断時慢性期 66 症例について解析を行った。診断時年齢は 11 か月-15 歳 11 か月(中央値 9 歳 2 か月)、男 36 例、女 30 例であった。イマチニブの開始投与量は $74-403\text{mg}/\text{m}^2$ (中央値 $292\text{mg}/\text{m}^2$)であり、成人の 400mg に相当する $260\text{mg}/\text{m}^2$ 以上の症例は 44 例(67%)であった。診断時 warnings(Sokal または Hasford リスク分類で high risk 群、Ph+細胞の付加的染色体異常)に該当する症例は 14 例(22%)あった。26 例(39%)が SCT を実施していた。観察期間は 176 日-1999 日(中央値 873 日)であった。

全体の 5 年全生存率は 94.2%、5 年無増悪生存率は 90.6%であった。SCT 群では 26 例中 3 例が死亡、非 SCT 群では死亡例はなかった。SCT 群のうち 6 例(26%)が移植合併症の治療を継続中であった。データが得られた 63 例中 59 例(93.7%)はイマチニブ開始後 3 か月までに optimal response である血液学的完全寛解

(CHR)を達成した。12 か月時までに G-band 分染法または FISH 法にて Ph+細胞の消失が得られた(optimal response)症例は 54 例中 45 例(83.3%)であった。

有害事象の解析では、Gr3 以上の血液毒性は、顆粒球減少が 10 例、血小板減少が 6 例。Gr2 以上の非血液毒性は、CK 値上昇が 9 例、嘔吐が 6 例、筋肉痛が 6 例に認められた。また、全経過中に、66 例中 35 例(53%)にイマチニブの減量・休薬を認めた。主な理由は血液毒性であった。有害事象による減量・休薬は、治療開始 4 週以内 16 例、4 週から 3 か月 14 例、3 か月から 1 年 9 例、1 年以降 1 例と治療開始早期に多く認められた。投与量が多い場合には有意差はないものの減量や休薬が増える傾向を認めた。

イマチニブによる成長への影響を検討するため、イマチニブが初期から単独で 10 か月以上投与された 44 例の解析を行った。年齢標準身長との差が、診断時から 2007 年調査時にかけて 1SD 以上低下した症例が 14 例(31.8%)あった。イマチニブによって成長障害が生じるのは明らかであったが、成長率が低下するのは、女児 9 歳以下、男児 10 歳以下の思春期開始前の症例群であり、思春期開始以降の症例群では男女とも有意な成長率の低下を認めなかった。さらに、思春期開始前後の成長を観察してきた少数の症例では、思春期の成長スパートともに身長がキャッチアップされる傾向があった。イマチニブ内服量と成長率の低下には相関は認めなかった。

D. 考察

最近 11 年間(1996-2006 年)に診断された小児 CML の治療成績は、以前の 11 年間(1985-1995 年)に診断された小児 CML 125 例の報告(10 年全生存率 37.0%;SCT 群 60.7%、非 SCT 群 6.2%)と比較し、優れた結果が得られた。イマチニブの導入により、とくに非 SCT 群の成績向上が著しいが、SCT 群の成績も飛躍的に向上した。SCT 群の成績向上は、移植時非 CP1 症例の成績向上によるものであった。

日本小児血液学会のガイドラインでは、治療反応良好(optimal response)の場合には、イマチニブの内服継続が推奨されている。ガイドライ

ンの治療戦略は、イマチニブの内服期間や長期毒性が不明などの問題点はあるが、今回の解析でイマチニブを初期から単独投与された慢性期の症例で死亡したのは移植群のみであったこと、さらに、死亡した3例中2例は、ガイドラインの optimal response の経過中に移植合併症により死亡した(うち1例は RIST)ことから、イマチニブへの反応が良好な場合にイマチニブを継続するという診療方針は妥当と考えられる。イマチニブへの反応が不良な場合には、イマチニブ増量継続および移植選択の優劣の比較は難しいが、移植を選択する場合には、イマチニブ増量あるいはニロチニブ、ダサチニブへの変更により、可能な限り深い寛解状態を得ること、RIST を考慮し移植合併症死を回避することが重要と考えられる。

有害事象の多くは成人の報告と同様、治療開始早期に認められる急性毒性であった。治療早期のイマチニブの減量・休薬は予後と関連が指摘されているため、とくに血液毒性や運動器・消化器関連の副作用対策が重要と考えられる。今回の解析では、イマチニブに成長障害の有害事象があることが明らかになったが、調査時に最終身長に達している症例が少なかったため、許容できる成長障害であるかどうかの判断は将来の解析を待たなければならない。思春期開始以降の症例に関しては、成長障害は問題にならないと考えられるが、思春期開始前の症例に関しては、内服期間によっては-2SD の成長率の低下を認める可能性があるため、定期的な身体測定が必要である。思春期の成長スパートともに成長への影響が軽減または消失する可能性があるため、最終身長を予測しながら、イマチニブを継続するか、他の治療に変更するかを検討するのが妥当である。イマチニブによる長期毒性は、成長障害以外にも性腺機能障害や免疫機能障害などが生じる可能性があり、前方視的観察研究 CML-08 で検証する予定である。

E. 結論

2002 年以降、イマチニブの導入により小児 CML の治療成績は向上し、成人の IRIS 研究とほぼ同様の結果が得られた。しかし、FISH 法に

よる細胞遺伝学的評価が多用されていることや、分子遺伝学的評価が世界標準の方法ではないなどの問題点も明らかになった。今後開始予定の慢性期症例に対する前方視的観察研究 CML-08 では、イマチニブに対する効果判定方法をそろえることにより、小児におけるより信頼性の高い結果が得られるものと期待できる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 村松秀城、小島勢二、嶋田博之. イマチニブ時代における小児 Ph 陽性慢性骨髄性白血病の治療戦略. 日本小児科学会雑誌. 印刷中、2009年
2. 嶋田博之: 慢性骨髄性白血病、『小児内科』増刊号編集委員会編: 小児疾患診療のための病態生理2、第4版、東京医学社、東京、印刷中、2009年
3. 嶋田博之: CML の診断・治療、菊地陽編: 『アクチュアル小児科診療』⑨最新の小児白血病診療、中山書店、東京、印刷中、2009年

2. 学会発表

1. Chikako Tono, Akihiko Tanizawa, Kazuko Hamamoto, Hidemitsu Kurosawa, Akihiro Watanabe, Noriko Hotta, Masaki Ito, Hideki Muramatsu, Taemi Nara, Teruaki Hongo, Tetsuya Takimoto, Keizo Horibe, Hiroyuki Shimada. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in children with chronic myelogenous leukemia: a retrospective analysis of the Japanese pediatric leukemia lymphoma study group (JPLSG). EBMT Annual Congress. 30 March - 2 April, 2008. Florence, Italy
2. 谷澤昭彦、遠野千佳子、渡辺輝浩、浜本和

- 子、黒澤秀光、堀田紀子、伊藤正樹、村松秀城、加藤剛二、永利義久、菊地陽、鶴澤正仁、堀部敬三、嶋田博之。日本小児白血病リンパ腫研究グループ(JPLSG)参加施設における小児慢性骨髄性白血病の後方視的解析。第70回日本血液学会総会。2008年10月23日-25日。京都
3. 遠野千佳子、谷澤昭彦、村松秀城、渡辺輝浩、伊藤正樹、浜本和子、黒澤秀光、堀田紀子、永利義久、加藤剛二、菊地陽、鶴澤正仁、堀部敬三、嶋田博之。小児CMLに対する同種造血幹細胞移植 - JPLSG参加施設症例の後方視的解析。第70回日本血液学会総会。2008年10月23日-25日。京都
 4. 伊藤正樹、遠野千佳子、村松秀城、谷澤昭彦、黒澤秀光、浜本和子、堀田紀子、渡辺輝浩、永利義久、安井昌博、嶋田博之。RISTを施行した小児CML 14例の後方視的解析 - 日本小児白血病リンパ腫研究グループ(JPLSG)。第70回日本血液学会総会。2008年10月23日-25日。京都
 5. 村松秀城、小島勢二、吉見礼美、熱田由子、遠野千佳子、加藤剛二、永利義久、井上雅美、小池和俊、川瀬孝和、森島泰雄、河敬世、嶋田博之。小児慢性骨髄性白血病に対するJMDPを介した非血縁者間骨髄移植の治療成績。第70回日本血液学会総会。2008年10月23日-25日。京都
 6. 谷澤昭彦、遠野千佳子、浜本和子、渡辺輝浩、黒澤秀光、堀田紀子、伊藤正樹、村松秀城、加藤剛二、井上雅美、鶴澤正仁、堀部敬三、嶋田博之。イマチニブによる初期治療を開始した小児慢性期CMLの後方視的解析: JPLSG参加施設へのアンケート調査報告。第50回日本小児血液学会。2008年11月14日-16日。幕張メッセ
 7. 徳山美香、谷澤昭彦、遠野千佳子、渡辺輝浩、浜本和子、黒澤秀光、堀田紀子、伊藤正樹、村松秀城、前田美穂、鶴澤正仁、堀部敬三、嶋田博之。CML患者におけるイマチニブ継続内服が身長増加に与える影響の検討 - 日本小児白血病リンパ腫研究グループ(JPLSG)。第50回日本小児血液学会。2008年11月14日-16日。幕張メッセ
 8. Hideki Muramatsu, Seiji Kojima, Ayami Yoshimi, Yoshiko Atsuta, Chikako Tono, Koji Kato, Yoshihisa Nagatoshi, Masami Inoue, Kazutoshi Koike, Takakazu Kawase, Keisei Kawa, Hiroyuki Shimada. Unrelated Bone Marrow Transplantation for Children with Chronic Myeloid Leukemia (CML): A Report from the Japan Marrow Donor Program (JMDP). 50th ASH Annual Meeting. December 6-9, 2008. San Francisco, USA
 9. 村松秀城、長村登紀子、小島勢二、吉見礼美、甲斐俊朗、東寛、加藤剛二、嶋田博之。小児慢性骨髄性白血病に対する非血縁者間臍帯血移植の治療成績の解析: 日本臍帯血バンクネットワーク。第31回日本造血細胞移植学会総会。2009年2月5-6日。札幌
- H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得
該当なし
 2. 実用新案登録
該当なし
 3. その他
該当なし

若年性骨髄単球性白血病の標準治療確立のための研究

研究分担者 真部淳 聖路加国際病院 小児科 医長

研究要旨

本研究では小児特有の稀な骨髄増殖性疾患である若年性骨髄単球性白血病(JMML)に対する標準治療を開発することを目標とする。国内の代表的な小児がん治療施設をカバーする日本小児白血病・リンパ腫研究グループ(JPLSG)において委員会を組織し、統一的な治療を用いた臨床試験を計画する。JMML は1990年代後半に確立された疾患概念であるが、診断のためには臨床情報のみならず遺伝子検索および特徴的なコロニーアッセイ所見を得ることが必要である。そのため統一された検査を組み込んだ診断プロセスを小児血液学会MDS委員会の中央診断システムに委託する。治療は同種造血幹細胞移植を統一されたレジメンを用いて行う。具体的には国内の小児MDS治療研究会で2001年から行われている Busulfan, Melphalan, Fludarabine から成る非照射レジメンを踏襲する予定である。現在 JMML 委員会において研究計画が立案され、JPLSG 内の審査委員会で討議されている。最終的に小児血液学会の臨床研究審査委員会において審議された後、症例登録を開始する予定である。

A. 研究目的

小児の難治性骨髄増殖性疾患の一つである若年性骨髄単球性白血病(JMML)に対する標準治療を開発する。

B. 研究方法

国内の代表的な小児がん治療施設をカバーする日本小児白血病・リンパ腫研究グループ(JPLSG)において委員会を組織し、統一的な治療を用いた臨床試験を計画する。JMML は1990年代後半に確立された疾患概念であるが、診断のためには臨床情報のみならず遺伝子検索および特徴的なコロニーアッセイ所見を得ることが必要である。そのため統一された検査を組み込んだ診断プロセスを小児血液学会 MDS 委員会の中央診断システムに委託する。

C. 研究結果

治療方法を決定するため国内および海外の先行臨床研究のレビューを行った。その結果、同

種造血幹細胞移植を統一されたレジメンを用いて行うことになった。具体的には国内の小児MDS治療研究会で2001年から行われている Busulfan, Melphalan, Fludarabine から成る非照射レジメンを採用する。現在 JMML 委員会において研究計画が立案され、JPLSG 内の審査委員会で討議されている。

D. 考察

JMMLを含む小児骨髄異形成症候群および骨髄増殖性疾患は稀な上に診断が難しい。国内で小児血液学会のMDS委員会が1999年から患者発生時の中央診断を行っており、診断精度は高まってきた。JMMLの治療法としては欧州でも米国でも同種造血幹細胞移植が行われている。今回はこれまでの国内の研究をもとに同種造血幹細胞移植レジメンを決定した。次の研究への継続性が持てるよう、分子生物学的検索等により病勢をモニターし、治療反応の評価を科学的に行う必要がある。

E. 結論

稀少疾患であるJMMLに対して全国統一治療を開発することは意義深いと考えられる。

F. 健康危険情報

患者の健康被害を最小限にするよう、JPLSGデータセンターを有効に活用する予定である。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Masunaga A, Mitsuya T, Kadofuku T, Iwamoto S, Manabe A, Zaïke Y, Tsuchida M, Nakahata T: Mutation analysis of AML 1 gene in pediatric primary myelodysplastic syndrome and juvenile myelomonocytic leukemia. *Leuk Res.*2008; 32:995-997,

2) Yabe M, Sako M, Yabe H, Osugi Y, Kurosawa H, Nara T, Tokuyama M, Adachi S, Kobayashi C, Yanagimachi M, Ohtsuka Y, Nakazawa Y, Ogawa C, Manabe A, Kojima S, Nakahata T: A conditioning regimen of busulfan, fludarabine, and melphalan for allogeneic stem cell transplantation in children with juvenile myelomonocytic leukemia. *Pediatr Transplant.*2008;12:862-867

3) Honda Y, Manabe A, Tsuchida M, Zaïke Y, Masunaga A, Inoue M, Kobayashi R, Ohtsuka Y, Kikuchi A, Nakahata T: Clinicopathological characteristics of erythroblast-rich RAEB and AML M6a in children. *Int J Hematol.*2008; 88:524-529

4) Manabe A, Ohara A, Hasegawa D, Koh K, Saito T, Kiyokawa N, Kikuchi A, Takahashi H, Ikuta K, Hayashi Y, Hanada R, Tsuchida M: Significance of the complete clearance of peripheral blasts after 7 days of prednisolone treatment in children with acute lymphoblastic leukemia: The Tokyo Children's Cancer Study Group (TCCSG) Study L99-15. *Haematologica*

2008;93:1155-1160

5) Mufi GJ, Bennett JM, Goasguen J, Bain BJ, Baumann I, Brunning R, Cazzola M, Fenaux P, Germing U, Hellström-Lindberg E, Jinnai I, Manabe A, Matsuda A, Niemeyer CM, Sanz G, Tomonaga M, Vallespi T, Yoshimi A: International Working Group on Morphology of Myelodysplastic Syndrome. Diagnosis and classification of myelodysplastic syndrome: International Working Group on Morphology of myelodysplastic syndrome (IWGM-MDS) consensus proposals for the definition and enumeration of myeloblasts and ring sideroblasts. *Haematologica* 2008;93:1713-1718

2. 学会発表

1) Hirabayashi S, Manabe A, Watanabe S, Zaïke Y, Tsuchida M, Masunaga A, Yoshimi A, Ito M, Kikuchi A, Tsuji K, Ohara A, Kojima S, Nakahata T: Myelodysplastic Syndrome (MDS) and Myeloproliferative Disease (MPD) in Children: A Prospective Registration of 222 Cases. 50th Annual Meeting of the American Society of Hematology. December 6-9, 2008, San Francisco, California

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

小児組織球性疾患の標準治療確立のための研究

研究分担者 石井榮一 愛媛大学大学院医学系研究科小児医学 教授

研究要旨

小児期発症の組織球系疾患のうち血球貪食性リンパ組織球症 (HLH) およびランゲルハンス細胞組織球症 (LCH) の標準的治療法を確立する。研究方法は HLH に関しては国際治療研究 HLH-2004 治療研究を進め HLH の標準的治療の確立に努める。治療研究の内容はシクロスポリン A、デキサメタゾン、エトポシドによる初期治療を行い、家族性・遺伝性 HLH ではできるだけ早期の造血幹細胞移植を併用する。LCH については JLSG-02 の結果を参考に新たな治療戦略を計画する。また一部は国際治療研究 LCH-IV に参加し、標準的治療法の確立を進める。

研究協力者

森本 哲 自治医科大学小児医療センター
講師 (ランゲルハンス細胞組織球
症の標準的治療法の確立)

な治療戦略を計画する。また一部は国際治療研究 LCH-IV に参加し、標準的治療法の確立を進める。

A.研究目的

小児期発症の組織球系疾患のうち血球貪食性リンパ組織球症 (HLH) およびランゲルハンス細胞組織球症 (LCH) の標準的治療法を確立する。

C.研究結果

日本における HLH 症例は 2006 年 12 月よりデータセンターに登録され HLH-2004 治療が開始されている。2009 年 1 月末までに 36 例が登録された。登録は月平均 2 例であり累積登録数は予定登録数を上回っている。一方国際研究による集積では 2008 年 6 月末までに 136 例が登録された。そのうち生存は 96 例 (70%) で 3 年の全生存率は 65%であった。また 61 例が移植を受け、その 2 年生存率は 70%であった。移植前の死亡は 26 例 (19%)であった。

B.研究方法

HLH に関しては国際治療研究 HLH-2004 に参加し HLH の標準的治療の確立に努める。治療研究の内容はシクロスポリン A、デキサメタゾン、エトポシドによる初期治療を行い、家族性・遺伝性 HLH ではできるだけ早期の造血幹細胞移植を併用することにより、前治療研究 HLH-94 に比較して 3 年全生存率が向上するか評価する。LCH については JLSG-02 の結果を参考に新た

D.考察

HLH-2004 治療研究は順調に症例を重ねているが、重篤な有害事象は原疾患によるものか治療によるものかを区別する方法が難しい。原発性と二次性との鑑別は NK 活性および CTL

活性、蛋白発現解析により可能であり、移植適応症例の抽出も順調に行われている。なお国際解析では、移植前の死亡症例が HLH-94 に比較して減少しており、シクロスポリリン A の治療早期の導入は一定の効果をもたらしている。なお本年 3 月に国際 HLH 委員会が開催され、次期治療研究の検討が開始される予定である。一方、LCH に関しては現在 LCH-IV への参加を含めた検討が進められている。

E. 結論

HLH-2004 治療研究は移植前の死亡率を減少させたが、全生存率の有意な向上は得られていない。次期治療研究では、新たな治療薬の導入、移植前処置の軽減、などが考慮される予定である。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. Trizzino A, Zur Stadt U, Ueda I, Risma K, Janka G, **Ishii E**, Beutel K, Sumegi J, Cannella S, Pende D, Mian A, Henter J-I, Griffiths GM, Santoro A, Filipovich A, Arico M (2008) Genotype-phenotype study of familial hemophagocytic lymphohistiocytosis due to perforin mutations. **J Med Genet** 45:15-21
2. Suzuki N, Morimoto A, Ohga S, Kudo K, Ishida Y, **Ishii E**. Characteristics of hemophagocytic lymphohistiocytosis in neonates: A Nationwide Survey in Japan. **J Pediatr** (in press)
3. **石井榮一** (2009) 私のこの一枚、血球貪食症候群を発症した3家系：家族性血球貪食症候群との出会い。血液フロンティア 19: 5-8
4. **石井榮一** (2008) 細胞質分泌顆粒の分子機構とその異常。臨床免疫・アレルギー科 49: 578-587
5. **石井榮一** (2008) EBV 関連血球貪食症候群。血液・腫瘍科 56: 288-293
6. 安川正貴、**石井榮一** (2008) 分泌顆粒の異常と血液疾患。血液・腫瘍科 56: 724-732
7. **石井榮一**、安川正貴、堀内久徳 (2008) 分泌顆粒の異常と血液疾患。臨床血液 49: 225-233
8. 河上早苗、田内久道、**石井榮一** (2008) Langerhans 細胞組織球症。小児内科
9. **石井榮一** (2008) Langerhans 細胞組織球症、今日の診断指針 6 版、医学書院 (印刷中)
10. Morimoto A, **Ishii E**, Ohga S, Kudou K, Ishida Y, Suzuki N (2008) Nationwide survey of single system single site (SS-S) Langerhans cell histiocytosis in Japan. 24th Annual Meeting of the Histiocyte Society, October, Berlin, Germany
11. Ohga S, Kudo K, Osugi Y, Sawada A, Tabuchi K, Suzuki N, Morimoto A, Ishida Y, Kato S, **Ishii E** (2008) Hematopoietic stem cell transplantation for familial hemophagocytic lymphohistiocytosis or Epstein-Barr virus-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis in Japan. 24th Annual Meeting of the Histiocyte Society, October, Berlin, Germany

H. 知的財産権の出願・登録状況

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（がん臨床研究事業）
分担研究報告書

造血細胞移植治療の標準化に関する研究

研究分担者 矢部普正 東海大学医学部基盤診療学系再生医療科学 准教授

研究要旨 同種造血細胞移植においては、疾患や病期に応じた移植適応の決定、ドナーの選択、前処置やGVHD 予防を始めとする様々な支持療法など、移植成績を左右する多数の因子が存在するが、これらの選択は個々の施設の経験に依存することが多い。本邦における小児の同種造血細胞移植のデータを前向き臨床研究に適した解析を行うことで、これらの治療要因の選択におけるコンセンサスを形成し、移植治療の標準化を図ることを目的とする。本年度は関連する学会委員会とのデータ利用に関する取り決めを行い、GVHD 予防法に関する検討を開始した。また、強度を低減した前処置の開発を目的に実施中の「小児白血病に対してフルダラビン+メルファランを前処置として用いた同種骨髄移植に関する第Ⅱ相臨床試験(FM-05)」は、現在までに5例の登録があり、事後不適格の1例を除いた4例が治療を完了した。

研究協力者 (FM-05 臨床試験担当)
加藤剛二 名古屋第一赤十字病院小児科
部長

A. 研究目的

本邦における小児がんに対する造血幹細胞移植治療の標準化を目的とし、移植成績における施設間較差の縮小・解消を目標とする。

B. 方法

造血幹細胞移植の成績を左右する要因として、ドナーの選択、前処置やGVHD 予防を始め、感染管理や種々の合併症対策など多数の因子が存在するが、個々の施設におけるこれらの移植方法の選択は、文献からの情報や個別の施設経験に基づいて行われてきた。しかし、GVHD などの移植後合併症の重症度や頻度については民族差が存在することが知られており、本邦の造血幹細胞移植データを解析した上で造血幹細胞

移植の標準化の提案を行う必要がある。具体的な解析項目として、移植細胞ソースの選択、移植前処置、GVHD 予防、移植後早期の合併症対策を挙げ、解析のためのワーキングチームを立ち上げた。

本邦における小児造血細胞移植の臨床データは1983年より日本小児血液学会骨髄移植委員会で開始されたが、後に移植が可能となった骨髄バンク(JMDP)や臍帯血バンクネットワークからの移植データは個別に登録されていた。2006年4月より造血幹細胞移植一元管理プログラムへの移行に際し、上記のデータの統合が行われたため、日本小児血液学会の造血細胞移植委員会、日本造血細胞移植学会の造血細胞移植登録一元管理委員会と、データ利用に関する取り決めを行い、利用申請を行う必要がある。これらの関連委員会との調整が済み、2008年7月にはGVHD 予防法検討のための、2009年3月には移植細胞ソースの選択、移植前処置、移植後早期の合併症の解

析データを提供されるに至った。

移植前処置と GVHD 予防法は、同種造血細胞移植の根幹をなす治療要因であり、小児を対象とした場合には特に移植後の QOL の維持が重視されるため、従来の骨髄破壊の前処置に加えて、骨髄非破壊的前処置の有用性についても検討していく必要がある。骨髄非破壊の前処置としては既に Fludarabine と Melphalan の併用による FM-05 研究が開始されており、これを基盤に発展させていくことが求められている。GVHD 予防法については、HLA 一致同胞間移植においては GVL 効果の誘導、非血縁骨髄などの代替ドナー移植においては、重症 GVHD の予防による移植後合併症の予防に焦点を当てて検討していく。

C. 研究結果

GVHD 予防法の解析については、まず HLA 一致同胞間移植の GVHD 予防法として、従来行われてきた MTX 単剤による方法と、CyA を基本とした方法との比較から開始し、なるべく均質な疾患、病期で前処置も同一の HLA 一致同胞間 BMT の症例に限定して解析した。

1991 年 11 月から 2004 年 3 月までに施行された 89 例 (男 50 例、女 39 例、移植時平均年齢 7.63 歳) の AML、CR1 を対象に、全生存率 (OS)、無イベント生存率 (EFS)、再発率、非再発死亡率 (NRM)、急性慢性 GVHD 発症率 (%) について MTX 単独予防群 (59 例)、CyA 群 (30 例) で比較検討した。

MTX 群に有意に低年齢の症例が多く、また 1990 年代の移植例が多かった。生着率は MTX 群で 98.3%、CyA 群で 96.7%、

OS はそれぞれ 79.7%、86.5%、EFS は 78.0%、76.2%、再発率は 9.5%、20.5%、NRM は 13.6%、0% ($p < 0.05$)、急性 GVHD (II-IV) 発症率は 15.3%、13.3%、慢性 GVHD は 23.6%、23.3% であった。多変量解析においても MTX 群は NRM の危険因子として同定された。GVHD 予防における MTX 単独投与法は生存率には影響を与えないが、合併症死亡の危険因子と考えられるため、GVHD 予防は CyA の方が望ましいと思われた。

FM-05 研究においては 2006 年 8 月から 2008 年末までに 5 例が登録されたが、1 例は事後不適格であった。適格の 4 例は、AML が 3 例、CML が 1 例でいずれも治療を完了した。CML の 1 例では生着が得られなかったが、移植後の非血液毒性は 1 例で grade 4 の口内炎および下痢を認めたものの対症療法で回復し、4 例が寛解生存している。

D. 考察

造血細胞移植の成績は同一の前処置や GVHD 予防を用いても、ドナーの種類でその成績が大きく変わるため、今回の解析はごく限られた条件での GVHD 予防法の安全性について示したのみである。例えば前処置に BU を用いた場合の GVHD 予防に MTX を用いると、肝中心静脈閉塞症の合併が増えることはよく知られており、前処置と GVHD 予防のコンビネーションが重要であることは異論がない。今後の解析で、疾患毎に適した前処置を抽出し、ドナー毎に適した GVHD 予防法を明らかにして、これらを前処置と GVHD 予防のコンビネーションで結びつけることによって、より

合併症の少ない安定した移植成績が得られるものと期待される。しかしながら、個々の施設が従来より慣れ親しんだ治療法から急に変更することには抵抗感が生じうるものと予想されるため、大多数の移植施設が納得し、能動的にコンセンサスを形成できるような解析データを示すことが重要と思われる。特に QOL 重視の骨髄非破壊的前処置の場合は、CML のような骨髄増殖性疾患における拒絶のリスク、Ph+ALL のような難治性白血病における再発のリスクを懸念して、FM-05 研究においては登録例の伸び悩みにつながった可能性がある。本邦の小児における同種造血細胞移植登録データより、骨髄非破壊的前処置の成績を抽出し、対象疾患と病期、ドナーの種類など有用性の高い群を明らかにして、臨床研究への参加施設を増やしていくべきであろう。

E. 結論

多様な治療手技を集積した造血細胞移植治療においても、個々の要因を検討することによって、移植治療の標準化が実現できる可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Yabe M, Sako M, Yabe H, Osugi Y, Kurosawa H, Nara T, Tokuyama M, Adachi S, Kobayashi C, Yanagimachi M, Ohtsuka Y, Nakazawa Y, Ogawa C, Manabe A, Kojima S, Nakahata T,

Japanese Childhood MDS Study Group. A conditioning regimen of busulfan, fludarabine, and melphalan for allogeneic stem cell transplantation in children with juvenile myelomonocytic leukemia. *Pediatr Transplant*. 2008 ; 12: 862-7.

2) Yasuda Y, Yabe H, Inoue H, Shimizu T, Yabe M, Yogo Y, Kato S. Progressive multifocal leukoencephalopathy after allogeneic bone marrow transplantation for Wiskott-Aldrich syndrome. *Pediatr Int*. 2008; 50: 238-40.

2. 学会発表

1) H. Yabe. HLA-identical sibling donor transplantation for Fanconi anemia patients in Japan. Twentieth Annual Fanconi Anemia Research Fund Scientific Symposium. Oregon, USA, October 3-4.

2) H. Yabe, S. Kato, T. Koike, H. Inoue, M. Mastumoto, S. Hamanoue, S. Kojima, M. Tuchida, T. Mori, S. Adachi, K. Tuji, T. Taga, A. Morimoto, M. Sako, and M. Yabe. (2008) Alternative donor stem cell transplantation using fludarabine-based regimen for Japanese Fanconi anemia patients. Twentieth Annual Fanconi Anemia Research Fund Scientific Symposium. Oregon, USA, October 4-7.

3) 矢部普正、菊地 陽、小池和俊、松本正栄、柳町昌克、角田治美、海老原康博、森鉄也、牧本敦、秋山政晴、小川千登世、梶原道子、滝田順子、小原 明、嶋田博之、

東京小児がん研究グループ(TCCSG) SCT
委員会(2008) 造血細胞移植の具体的方法
についての施設間差違の検討 第50回
日本小児血液学会総会 千葉 11月

4) 渡辺修大、矢部普正、太田秀明、堀越泰
雄、鈴木信寛、磯山恵一、古賀友紀、望月
一弘、足立壮一、石田宏之、岡村隆行、長
澤正之、堀部敬三、鶴澤正仁、JPLSG-SCT
委員会(2009) 小児AML/CR1に対する
HLA一致同胞間BMTのGVHD予防にお
けるMTXあるいはCyAの比較:日本小児
血液学会造血細胞移植委員会登録例の解析
第31回日本造血細胞移植学会総会 札幌
2月

H. 知的財産権の出願・登録状況

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(がん臨床研究事業)
分担研究報告書

小児がん患者の長期フォローアップシステム確立のための研究

研究分担者 石田也寸志 聖路加国際病院小児科 医長

研究要旨 現在長期フォローアップ(FU)委員会では、①長期FUガイドライン作成WG、②ホームページ作成WG、③教育WG、④治療サマリーWG、⑤長期FU手帳WGという5つのワーキンググループ(WG)に分かれて活動している。欧米のネットワークを通じた情報交換と連携、治療サマリー作成のフォーマットのホームページ公開、その普及と活用のための支援、長期FU健康手帳の開発に取り組んだ。今年度から最も力を入れているのが、構造化抄録によるevidenceの蓄積と標準化されたケアを行うためのevidenceに基づいた長期FUガイドライン作成である。小児内分泌学会、小児血液学会造血細胞移植委員会、教育関係者との連携を進展させ、今後は教育や広報に関して、小児がん経験者の晩期合併症や長期FU上での問題点に関する情報を提供する計画である。

共同研究者

浅見恵子(新潟県立がんセンター小児科)
有瀧健太郎(箕面市立病院小児科)
大園秀一(久留米大学小児科)
沖本由理(千葉県立こども病院)
栗山貴久子(名古屋大学精神科)
徳山美香(東邦大学佐倉病院小児科)
堀浩樹(三重大学医学部小児科)
前田尚子(名古屋医療センター小児科)
前田美穂(日本医科大学小児科)
山口悦子(大阪市立大学小児科)
力石健(東北大学小児腫瘍科)

A. 研究目的

日本小児白血病リンパ腫研究グループ(JPLSG)の長期フォローアップ(FU)委員会を中心に、JPLSG治療研究に登録された患児の晩期合併症について長期FUを可能にするシステム作りを検討する。今後は血液がんのみならず、小児がん全体において長期FU体制整備に必要な問題を整理して、問題解決の方法を探る。

B. 研究方法

1. 欧米の長期FU体制や晩期合併症に関する情報を収集し、共有する。
2. 診断・治療・今後のFU計画などのサマリー作成のフォーマットを活用できるように入力支援する。また小児がん経験者・家族が長期FUの際に使用可能な健康手帳の開発を行う。
3. 標準化されたケアを行うためのevidenceに基づいた長期FUガイドラインを作成する。
4. 小児内分泌学会、小児血液学会造血細胞移植委員会、産婦人科・泌尿器科医・教育関係者などとの連携の基盤作りを行う。
5. 教育・広報に対する対策を行う。

C. 研究結果

2008年度は下記5回の長期FU委員会を開催した(委員会議事の詳細は別添資料参照)。

- 1) 第14回6月1日(名古屋医療センター)
- 2) 第15回6月13日(名古屋医療センター)
- 3) 第16回6月29日(丸ビルホール&コンフォレンススクエア会議室)、小児内分泌学会

CCS 委員会との合同委員会

4) 第 17 回 10 月 18 日 (東京国際フォーラム)

小児血液学会造血細胞移植委員会と協議

5) 第 18 回 2009 年 1 月 18 日 (聖路加国際病院)

現在 5 つのワーキンググループ (WG) に分かれて活動している。①長期フォローアップガイドライン作成 WG: 前田美穂、堀浩樹、徳山美香、前田尚子、②ホームページ作成 WG: 前田尚子、力石健、③教育 WG: 山口悦子、沖本由理、栗山貴久子、④治療サマリーWG: 大園秀一、石田也寸志、⑤長期フォローアップ手帳 WG: 有瀬健太郎、浅見恵子 (下線リーダー)

1. 欧米の情報収集・提供

I-BFM (International Berlin-Frankfurt-Munich) の Early and Late Toxicity Education Committee (ELTEC) と連携し、長期 FU 情報を委員の間で共有し、班会議でも情報提供を行った。

2. サマリーと長期 FU 健康手帳の開発

サマリーは、治療のシェーマを PDF でホームページ上からダウンロード可能にしていく。藤本班からの支援をいただき、自動入力支援システムも外注で作成の方向へ進める。

長期 FU 手帳は、A5 版、手帳形式で決定。成育医療センター、守る会の意見から項目修正した。現在内容について、他の小児がん経験者や家族のグループに打診中である。

3. 長期 FU ガイドライン作成

分担して構造化抄録を作成し、晩期合併症に関する evidence を収集する。また WG を中心に、治療内容や強度などにより大まかに grading して、リスクの低い患者に過剰な心配を与えないようにする。疾患別に晩期合併症に関連する薬剤を軸とした推奨項目を記載する。樹系図、一覧表などを使用し簡便化、リンクをはって重複の記載を減らす。疾患ごとの分類を軸に治療強度に合わせ grading を組み込んで表記する。以上のコンセプトの元にガイドラインを作成し、平成 21 年度内に完

成を目指す。

4. 他分野との連携

小児内分泌学会 CCS 委員会、小児血液学会造血細胞移植委員会との合同協議を開催し、連携してガイドライン作成を行った。独立行政法人国立特別支援教育総合研究所西牧謙吾先生に特別講演「病弱児教育について」をお願いし、教育機関との連携を継続する。

5. 教育・広報

教育 WG は心理面とボランティア、学校関係ので分担し、各地域のキャンプを利用し、組織化する方向で検討する。

ホームページ作成 WG では、まず委員・会員向けの HP を作成し、内容の確認を行ってから一般向けへ公開する。

D. 考察

ELTEC では全ヨーロッパの小児がん長期 FU ネットワーク構想があり、今後そのネットワークとの情報交換と連携を考えていく予定である。昨年度サマリー作成のフォーマットを JPLSG ホームページで公開したが、各病院での担当医の負担が大きく、広く普及するには至っていない。今後普及と活用のための入力支援として、治療シェーマの pdf 化とプロトコル名での自動入力システムの開発を考えている。また小児がん経験者・家族のための長期 FU 健康手帳の開発は、関係者の中で種々の意見が交錯し合意に至るのが難しい状況で調整中である。

今年度から最も力を入れ始めたのが、標準化されたケアを行うための evidence に基づいた長期 FU ガイドライン作成であり、構造化抄録による evidence の蓄積とともに、本邦の保険システムも考慮した実用的なもので成人診療科との連携にも役立つものを考えている。小児内分泌学会、小児血液学会造血細胞移植委員会、教育関係者との連携の基盤は既にできており、来年以降はさらに発展させていきたい。教育と広報についても、各 WG を中心に活動し、小児がん

の晩期合併症や長期 FU 上での問題点に関する情報を提供していきたい。

E. 結論

5つのWGを中心に5回の委員会を開催し、サマリー、長期FU手帳、ガイドライン、他分野連携、教育・広報に関する活動を行った。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 石田也寸志: 小児がん経験者の長期フォローアップ. 日本小児血液学会雑誌 2008; 22:144-155.
- 2) 石田也寸志: 小児がん治療後のよりよい生活—Erice 宣言の重要性—. 小児外科 2008; 40:708-712.
- 3) 石田也寸志: 小児がんに対する造血幹細胞移植後の晩期合併症. 日本小児科学会雑誌 2008; 112:1505-1518
- 4) 石田也寸志: 小児期貧血の後期合併症とQOL:成人期移行における問題点. 小児科診療 2009; 39:243-249
- 5) Ishida Y et al: Partial hypoxanthine-guanine phosphor ribosyltransferase deficiency due to a newly recognized mutation presenting with renal failure in a one-year-old boy. Eur J Pediatr 2007; 167:957-959.
- 6) Shinonaga C, Fukuda M, Suzuki Y, Higaki T, Ishida Y et al: Evaluation of swallowing function in Duchenne muscular dystrophy. Dev Med Child Neurol 2008; 50: 478-80
- 7) 吉岡ゆき, 新家敏之, 坂東史郎, 村瀬光春, 徳田桐子, 田内久道, 石田也寸志: EDTA dependent PLT貪食好中球を認めた一症例. 愛媛県臨床検査技師会誌 2008; 27: 55-58
- 8) 安川正貴, 石田也寸志, 坂東史郎: Picture

in Clinical Hematology (No. 26) Chediak-Higashi症候群 臨床血液 2008; 49:213.

2. 学会発表

- 1) 石田也寸志「今後の長期フォローアップ体制の構築—JPLSG 委員会の取り組み—」2008年4月25日(金) 日本小児科学会学術集会シンポジウム, 東京国際フォーラム
- 2) 石田也寸志「小児がん治療後の心理社会的問題(長期フォローアップでの重要性)」パネルディスカッション:小児がんにおけるサイコオンコロジー:患者のこころを見つめて 2008年10月10日 学術総合センター
- 3) 徳山美香他:「CML患者におけるイマチニブ継続内服が身長増加に与える影響の検討—日本小児白血病リンパ腫研究グループ(JPLSG)」日本小児がん・血液学会一般演題 2008年11月14日 幕張メッセ国際会議場
- 4) 石田也寸志「小児がん経験者の晩期合併症とQOLの実態調査—厚労省研究班からの報告—」日本小児がん・血液学会 Plenary Session 2008年11月15日 幕張メッセ国際会議場
- 5) 石田也寸志「ALL患児・家族のQOLアンケート調査研究」日本小児がん・血液学会一般演題 2008年11月16日 幕張メッセ国際会議場
- 6) 石田也寸志「小児脳腫瘍の晩期合併症とQOL—脳外科医と小児科医の協力の必要性—」第26回日本脳腫瘍学会特別講演 2008年12月2日 大和屋本館(松山道後)

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

小児造血器腫瘍微小残存病変の分子診断システム確立ための研究

研究分担者 鶴澤正仁 愛知医科大学医学部小児科 教授

研究要旨 本研究の目的は、わが国の小児造血器腫瘍、特にリンパ系腫瘍における免疫受容体遺伝子再構成を用いた微小残存病変(MRD)定量法を標準化することにより、各疾患の治療研究における診断・治療に必要な質の高い情報を供給出来得る分子生物学的診断システムを確立することにある。本年度われわれは、免疫受容体遺伝子再構成を用いたMRD定量において、その検出率向上のためTCR β 鎖遺伝子再構成を新たにスクリーニングし、定量法の世界標準化を目指してRQ-PCRを導入した。今後はBIOMED-2を経て標準化された欧州BFMグループと連携し、わが国の実情に則した形でのMRD測定方法の整備を目指す。

研究協力者氏名

堀 壽成 愛知医科大学医学部小児科 講師

A.研究目的

本研究の目的は、わが国の小児造血器腫瘍、特にリンパ系腫瘍における免疫受容体遺伝子再構成を用いた微小残存病変(MRD)定量法を標準化することにより、各疾患の治療研究における診断・治療に必要な質の高い情報を供給出来得る分子生物学的診断システムを確立することにある。

B.研究方法

従来わが国における免疫受容体遺伝子再構成を用いた微小残存病変定量は、小児癌白血病研究グループ(CCLSG)により実施されてきた。これらの測定方法は欧州の国際共同研究BIOMED-1での再構成ターゲットをベースに、nested PCRを用いた希釈法による半定量で行われてきたが、現在BIOMED-2を経て標準化された欧州BFMグループと比較して、その再構成検出率、定量の精度には隔たりがあり、今後全国規模の治療研究を行うにあたって、これを世界標準まで引き上げることが必要と考えられる。そのために我々は、

BFMグループにおける分子診断施設であるエラスムスMC免疫学教室の協力の下、再構成スクリーニングにおけるターゲットの拡大とRQ-PCR法の導入を行った。

具体的な研究活動方法を以下に示す。

- (1) 従来スクリーニングに用いてきたIg κ 鎖、IgH鎖、TCR γ 鎖、TCR δ 鎖の各遺伝子再構成23種類に加え、TCR β 鎖遺伝子再構成の検出を行う。具体的には、CCLSG ALL2004研究の登録例のうちT-ALL症例11例を対象として、TCR β 遺伝子上に設定された複数のプライマー(V β family primers 23種類、D β primer 2種類、J β primer: J β_1 6種類、J β_2 7種類)を用いて、V β -J β 、D β -J β の再構成のスクリーニングPCRを施行、得られたPCR産物についてその塩基配列を解析した。
- (2) TaqManプローブ法によるRQ-PCRをMRD定量に導入し、既に半定量済の検体を用いて定量を実施、結果の整合性を確認するとともに、新規検体についても並行して定量を行い、その精度の管理を行う。

C.研究結果

(1) T-ALL症例11例のうち6例でTCR β 鎖遺伝子再構成スクリーニングPCRにおける陽性バンドを検出し(V β -J β 1 3例、V β -J β 2 1例、D β -J β 2例)、D β -J β については切断点近傍の塩基配列を同定し、症例特異的プライマーの設計が可能であった。

(2) CCLSG ALL2004の登録例および新規症例25症例について、nestedPCRとRQ-PCRの結果を比較したところ、23例について同一の判定結果(cut off 10^{-3})を得た。2例で判定に相違が生じたが、これらを含めRQ-PCRではnestedPCRよりも定量値が低い傾向が見られた。またRQ-PCRの精度に関しては、全例で感度は 10^{-4} 以下で、うち17例は 10^{-5} であった。一方、定量域は 10^{-3} 2例、 10^{-4} 10例、 10^{-5} 3例であった。

D. 考察

TCR β 鎖遺伝子再構成は precursor B-ALLの約30%、T-ALLでは約90%にみられるとされているが、その構造の複雑さから従来スクリーニングには用いられてこなかった。しかしながら、CCLSGにおける現行の手法では、再構成検出率は約80%に留まっており、今回 TCR β 鎖再構成検出による症例特異的プライマー設計が可能となったことで、今後その改善が期待される。

RQ-PCRは MRD 定量分野に関しての世界標準となっているため、早急な技術の刷新が必要と考えられる。今回の nestedPCRとの比較については、欧州でRQ-PCR導入時に dot blot hybridization との比較がなされた時の結果と類似しており、肉眼による定量値の判定の困難さが明らかとなったと考えられた。また nestedPCRと比べて高い感度での定量が確認された。しかし、今回のRQ-PCRでの定量値および感度と定量域については、BFM グループの評価を受ける必要があり、特に定量域については改善の余地が残されている。今後、BFM グループの専門委員会である ESG-MRD-ALL 委員会への正式参加を目

標においた、定量精度の向上と安定化が必要と考えられる。

E. 結論

本年度われわれは、免疫受容体遺伝子再構成を用いた微小残存病変定量において、その検出率向上のため TCR β 鎖遺伝子再構成を新たにスクリーニングし、定量法の世界標準化を目指して RQ-PCR を導入した。今後 BFM グループと連携し、わが国の実情に則した形での各手法の整備が望まれる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 原著論文

- 1) 堀壽成、鶴澤正仁、横田昇平他 小児急性リンパ性白血病における Ig/TCR 遺伝子再構成を利用した PCR による MRD 定量。日小血会誌 22:286-292, 2008
- 2) 堀壽成、鶴澤正仁、横田昇平他 小児再発 ALL における分子生物学的微小残存病変 (MRD) 定量の臨床的意義の検討。日小血会誌 23:20-26, 2009

2. 学会報告

- 1) Hori T, Tsurusawa M et al : Augmented Therapy for MRD-Positive Patients with Acute Lymphoblastic Leukemia Can Reduce the MRD Levels and the Risk of Relapse : A Report from the Japanese Childhood Cancer and Leukemia Study Group ALL 2000 MRD Pilot Study. 50th Annual Meeting of the American Society of Hematology. 2008. 12. 6-8. San Francisco, USA
- 2) 山路和孝、堀壽成、鶴澤正仁、他 CCLSG ALL2000 MRD 研究:骨髄微小残存病変 (MRD) 量による化学療法層別化とその予後に関する検討。第 50 回日本小児血液学会、2008. 11. 14-16. 幕張、千葉

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

小児造血器腫瘍微小残存病変の免疫学的診断システム確立ための研究

研究分担者 出口隆生 三重大学医学部附属病院小児科 助教

研究要旨 小児急性リンパ性白血病(ALL)における免疫学的微小残存病変(FCM-MRD)検出システムを確立するため、近く臨床試験を開始予定の小児 ALL 再発症例 7 例と、B 前駆細胞性小児 ALL 初発症例 7 例、合計 14 例を用いて FCM-MRD の予備的検討を行った。すべての症例で FCM-MRD は検出可能で、再発例では 0.32-53.68%、初発例では 0.06-18.83%であった。治療開始後 4-5 週では、再発例では 1 例のみが検出限界である 0.01%以下となったが、他は 0.02-71.36%と陽性が持続し、初発例では 3 例が陰性化し、他は 0.01-0.71%であった。フォロー項目数は通常 3 種類について検討を行ったが、減数が必要な症例が合計のべ 9 例存在した。また十分な解析イベント数を確保できない検体が 3 例存在したが、いずれも MRD は陽性で検出は可能であった。

また、本研究の協力者である St. Jude 小児病院の Dr. Campana と Dr. Coustan-Smith とともに FCM-MRD パイロット研究の検討を行った。細胞数が少ない場合や赤血球混入が多い場合の対処法の検討の他、JACLS ALL-02 プロトコールにおける day 15, day 33 臨床検体における結果とその問題点などを検討した。また三重大学に導入された FACS Canto II を用いた最大 6 カラー(現在の FACS Calibur は 4 カラー)を用いた新規抗原を用いた解析、細胞質内抗原染色用試薬の供給体制などについても検討を行った。

平成 20 年 11 月 16 日には日本小児血液学会・小児がん学会合同学術総会において、治療早期反応性と FCM-MRD について、その時点までのデータをまとめて発表した。

A. 研究目的

小児急性リンパ性白血病(ALL)治療における微小残存病変(MRD)検出の果たす役割は、ドイツのBFMグループやSt. Jude小児病院をはじめ、すでに多くの研究グループからその有用性が示されている。しかしながら我が国においては、小児がん白血病研究グループ(CCLSG)において分子生物学的手法を用いて臨床応用されているに過ぎず、全国的レベルでの実用化にはほど遠いのが現状である。

小児白血病治療研究は、近年ようやく日本小児白血病リンパ腫研究グループ(JPLSG)を母体として全国的規模で実施されるようになり、診断・治療の標準化が非ホジキンリンパ腫や急性骨髄性白血病などで検討されてきている。今後、小

児再発ALL、乳児ALL、小児・若年T-ALLなどの臨床試験も実施予定であり、また最も症例数の多い小児B前駆細胞性ALLの全国共同研究も検討中であるが、これらの臨床試験において小児ALLのMRDを実用化することは不可避のテーマであり、今回の分担研究が計画・実施されることとなった。

MRD測定には大きく分けて2つの方法があり、本分担研究においては、フローサイトメトリー(FCM)によって検出される免疫学的手法の確立することを目的に研究を行う。分担研究者らはすでに平成14年度からFCM-MRD研究の第一人者であるSt. Jude小児病院のDr. Campanaらの援助のもと、予備的検討を行ってきた。本分担研究では、臨床試験開始が目前に迫って