

ダウン症候群に併発する造血異常における網羅的ゲノム解析

研究分担者 小川誠司 東京大学医学部附属病院がんセンターボード 特任准教授

研究要旨：ダウン症候群に生じる一過性の造血異常である TAM の病態を形成するゲノム・分子異常の基盤を構築するために、ダウン症候群に合併した TAM および関連する造血異常を対象として、高密度オリゴヌクレオチドアレイを用いてゲノムコピー数異常・アレル不均衡を詳細に検討した。解析の結果より、TAM には GATA1 遺伝子の異常と 21 番染色体の過剰とが中心となっていることが確認された。また、21 番染色体上に存在する imprinting gene の過剰がその病態に関与している可能性が示唆された。また、TAM の経過後に発症する急性巨核芽球性白血病では、TAM にはみられないゲノム異常が付加されていることが示された。

A. 研究目的

ダウン症候群の約10～20%において新生児期に造血異常（一過性骨髄異常増殖症＝TAM）をきたすが、その多くは治療を必要とせず自然に寛解する。その一方で、造血異常をきたした患児の約10%が肝機能障害や重篤な出血傾向をきたし、化学療法を必要とするばかりかその生命予後も不良な場合がある。TAMの血球のほぼすべてにGATA1遺伝子の異常がみられることから、TAMの発症にGATA1遺伝子の異常が基盤にあることは明らかである。しかし、ダウン症候群の原因である21番染色体の過剰とGATA1遺伝子がどのように協調しTAMに至るかは解明されておらず、臨床像の違いや予後の違いにどのような分子異常が関与しているかも明らかになっていない。また、TAMを経験したダウン症候群患児の約10%は数年後に急性白血病を発症するが、TAMから急性白血病に至るが、この一連の病態においてもその機序は不明である。

一方、近年のゲノム解析技術の進歩により、細胞に生じているゲノム異常を詳細に、かつゲノム網羅的に検出することが可能となった。ダウン症候群に合併した造血異常の予後を改善させるためには、正確な診断および治療方針の確立が急務である。そこで本研究では、高密度オリゴヌクレオチドアレイを中心とした手法で、TAMに代表されるダウン症候群に合併する造血異常と関連したゲノム異常を詳細に探索し、病態の解明や次世代の分子標的療法の開発につながる分子基盤を構築する。

B. 研究方法

検体としては、ダウン症候群に生じた TAM の臨床検体およびその寛解期検体、急性白血病をのちに発症している場合にはその白血病細胞検体を対象とした。これまでに計 39 検体の解析を行った。解析には一塩基多型（SNP）プローブを高密度に配置した Affymetrix 社の SNP アレイである GeneChip 250K アレイを用い、解析アルゴリズムとして CNAG/AsCNAR を用いた。このアルゴリズムは、SNP アレイでの解析結果を、PCR の kinetics に基づいて補正することにより、より解像度の高い解析を可能とし、新たながん関連遺伝子の探索に有用であることが示されている。具体的には、検体試料から抽出したゲノム DNA を適切な制限酵素で消化し、断端に共通のアダプターを付加した後、PCR により増幅する。PCR 産物の精製後に DNaseI 処理により断片化し、biotin ラベルをした後、GenChip 250K アレイ上でハイブリダイゼーションを行う。CNAG/AsCNAR アルゴリズムを用いてデータを分析し、平均解像度約 6kb でゲノム全域にわたる網羅的なゲノムコピー数やアレル不均衡の解析を行い、ゲノム異常の詳細について検討を行った。

（倫理面への配慮）

本研究で行った臨床検体を用いた実験は、東京大学の倫理審査委員会で審査され、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針（2003年3月）」を遵守することを条件に承認された。検体提供者への人権擁護、個人情報保護に細心の注意を払って本研究を実施した。

C. 研究結果

1) TAM細胞に生じているゲノム異常

今回検討を行ったTAM検体のゲノム解析では、21番染色体の過剰以外にゲノムコピー数異常やアレル不均衡は検出されなかった。SNPアレイの特性を生かしてヘテロSNP箇所ではアレル特異的なコピー数解析を行うことにより、この過剰であった21番染色体は、uniparental heterodisomyに由来することが多いと推定された。

ダウン症候群においてTAMが発症するためには、造血器の発生に関与する遺伝子の異常があることが推定されることから、造血器の発生を制御する代表的な経路としてNOTCH経路を制御する遺伝子群 (*NOTCH*, *HES*, *DLL*) についての発現量を定量PCR法を用いて検討したところ、高発現であることが確認された。

2) ダウン症候群に合併した白血病に生じているゲノム異常

TAMの経過後に発症する白血病として典型的である急性巨核芽球性白血病 (AMKL) のゲノム解析では、21番染色体のtrisomy以外に、複数のゲノム異常が観察された。最も多い付加的なゲノム異常は1番染色体長腕の増加であり、全体の22%にこの領域の異常がみられた。また、7番染色体の欠失が次いで多くみられ、16.7%にみられた。その他、19番染色体長腕の増加や、7番染色体短腕の欠失も複数の症例で共通してみられた。

また、ダウン症候群に合併した急性リンパ性白血病 (ALL) のゲノム解析では、非ダウン症候群で高頻度に見られる高二倍体はみられず、9番染色体短腕の欠失や12番染色体短腕の欠失が複数の症例でみられた。

D. 考察

TAM検体のゲノム解析の結果から、TAMの発症の中心となるゲノム異常は*GATA1*遺伝子の異常と21番染色体のtrisomyであることが確認された。TAMが新生児期にのみ集中して起こることと、同様の造血異常は非ダウン症候群の新生児では皆無であることを考慮すると、TAMの発症には21番染色体上に存在する造血を制御する遺伝子の量的な増加が必須であると考えられる。代表的な造血細胞制御経路であるNOTCH経路を制御する遺伝子の発現量がダウン症候群では上昇しているように、21番染色体上の遺伝子が増加することにより造血の亢進をきたし、*GATA1*遺伝子異常と協調してTAMに至ることが推定された。さらに、過剰な21番染色体の由来がuniparental heterodisomyに偏ることが示唆されたことは、TAMの病態に関与する遺伝子がgenome imprintingによってアレルごとの発現制御を受けていると考えられ、そのような遺伝子を対象として探索を続けることにより、病態の形成に

おいて重要な遺伝子の同定に至ることができると期待された。

ダウン症候群においてTAM後に発症したAMKLのゲノム異常を解析すると、TAMではみられなかった様々なゲノム異常が生じていることが確認された。このゲノム異常はダウン症候群に合併したALLにはみられないことから、TAMからAMKLに至る一連の病態過程において関与しているものと推定された。TAMを発症したダウン症候群の長期予後を改善させるためには、TAM後の過程についてもその分子病態を解明し、TAMに対してより適切な対応をしていくことが必須である。そのためにも、このような知見を積み重ねることにより、AMKLの分子病態を明らかにすることができると考えられる。

ダウン症候群には固形腫瘍の発生はむしろ少なく、21番染色体の過剰は造血器腫瘍に特異的に作用している。ダウン症候群に合併した造血異常の分子病態の基盤を知ることは、広く造血の発生や異常においても重要と考えられる。

E. 結論

高密度オリゴヌクレオチドアレイを中心とした手法を用い、ダウン症候群に合併した造血異常に生じているゲノム異常について詳細に検討した結果、TAMの発症には*GATA1*遺伝子の異常と21番染色体の過剰が中心となって病態に関与していることが確認された。21番染色体の由来をアレル特異的なコピー数解析で推定することにより、21番染色体上のimprinting geneがTAMの発症に関与している可能性が示唆された。

また、ダウン症候群に合併した急性白血病のゲノム異常を解析した結果により、TAMから白血病の発生に至る一連の過程における分子基盤を構築する上で重要な知見を得ることができた。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Akagi T, Ogawa S, Dugas M, Kawamata N, Yamamoto G, Nannya Y, Sanada M, Miller C, W, Yung A, Schnittger S, Haferlach T, Haferlach C, & Koefler H, P.: Frequent genomic abnormalities in acute myeloid leukemia/myelodysplastic syndrome with normal karyotype, *Haematologica* 94:213-23 2009

2) Akagi T, Shih L, Y, Kato M, Kawamata N, Yamamoto G, Sanada M, Okamoto R, Miller C, W, Liang D, C, Ogawa S, & Koefler H, P.: Hidden abnormalities and novel classification of t(15;17) acute promyelocytic leukemia (APL)

based on genomic alterations, *Blood* 113:1741-8 2009

3) Akagi T, Shih L, Y, Ogawa S, Gerstl J, Moore S, R, Schreck R, Kawamata N, Liang D, C, Sanada M, Nannya Y, Deneberg S, Zachariadis V, Nordgren A, Song J, H, Dugas M, Lehmann S, & Koeffler H, P, : Single nucleotide polymorphism genomic arrays analysis of t(8;21) acute myeloid leukemia cells, *Haematologica* 94:1301-6 2009

4) Haraguchi K, Suzuki T, Koyama N, Kumano K, Nakahara F, Matsumoto A, Yokoyama Y, Sakata-Yanagimoto M, Masuda S, Takahashi T, Kamiyo A, Takahashi K, Takanashi M, Okuyama Y, Yasutomo K, Sakano S, Yagita H, Kurokawa M, Ogawa S, & Chiba S, : Notch activation induces the generation of functional NK cells from human cord blood CD34-positive cells devoid of IL-15, *J Immunol* 182:6168-78 2009

5) Kato M, Sanada M, Kato I, Sato Y, Takita J, Takeuchi K, Niwa A, Chen Y, Nakazaki K, Nomoto J, Asakura Y, Muto S, Tamura A, Iio M, Akatsuka Y, Hayashi Y, Mori H, Igarashi T, Kurokawa M, Chiba S, Mori S, Ishikawa Y, Okamoto K, Tobinai K, Nakagama H, Nakahata T, Yoshino T, Kobayashi Y, & Ogawa S, : Frequent inactivation of A20 in B-cell lymphomas, *Nature* 459:712-6 2009

6) Kawamata N, Ogawa S, Gueller S, Ross S, H, Huynh T, Chen J, Chang A, Nabavi-Nouis S, Megrabian N, Siebert R, Martinez-Climent J, A, & Koeffler H, P, : Identified hidden genomic changes in mantle cell lymphoma using high-resolution single nucleotide polymorphism genomic array, *Exp Hematol* 37:937-46 2009

7) Kawamata N, Ogawa S, Seeger K, Kirschner-Schwabe R, Huynh T, Chen J, Megrabian N, Harbott J, Zimmermann M, Henze G, Schrappe M, Bartram C, R, & Koeffler H, P, : Molecular allelokaryotyping of relapsed pediatric acute lymphoblastic leukemia, *Int J Oncol* 34:1603-12 2009

8) Kawamata N, Zhang L, Ogawa S, Nannya Y, Dashti A, Lu D, Lim S, Schreck R, & Koeffler H, P, : Double minute chromosomes containing MYB gene and NUP214-ABL1 fusion gene in T-cell leukemia detected by single nucleotide polymorphism DNA microarray and fluorescence in situ hybridization, *Leuk Res* 33:569-71 2009

9) Lee S, Y, Kumano K, Nakazaki K, Sanada M, Matsumoto A, Yamamoto G, Nannya Y, Suzuki R, Ota S, Ota Y, Izutsu K, Sakata-Yanagimoto M, Hangaishi A, Yagita H, Fukayama M, Seto M, Kurokawa M, Ogawa S, & Chiba S, : Gain-of-function mutations and copy number increases of Notch2 in diffuse large B-cell lymphoma, *Cancer Sci* 100:920-6 2009

10) Nowak D, Le Toriellec E, Stern M, H, Kawamata N, Akagi T, Dyer M, J, Hofmann W, K, Ogawa S, & Koeffler H, P, : Molecular allelokaryotyping of T-cell prolymphocytic leukemia cells with high density single nucleotide polymorphism arrays identifies novel common genomic lesions and acquired uniparental disomy, *Haematologica* 94:518-27 2009

11) Sanada M, Suzuki T, Shih L, Y, Otsu M, Kato M, Yamazaki S, Tamura A, Honda H, Sakata-Yanagimoto M, Kumano K, Oda H, Yamagata T, Takita J, Gotoh N, Nakazaki K, Kawamata N, Onodera M, Nobuyoshi M, Hayashi Y, Harada H, Kurokawa M, Chiba S, Mori H, Ozawa K, Omine M, Hirai H, Nakauchi H, Koeffler H, P, & Ogawa S, : Gain-of-function of mutated C-CBL tumour suppressor in myeloid neoplasms, *Nature* 460:904-908 2009

12) Yokoyama Y, Suzuki T, Sakata-Yanagimoto M, Kumano K, Higashi K, Takato T, Kurokawa M, Ogawa S, & Chiba S, : Derivation of functional mature neutrophils from human embryonic stem cells, *Blood* 113:6584-92 2009

2. 学会発表

1) 加藤元博, 滝田順子, 陳玉彦, 真田昌, 大木健太郎, 滝智彦, 菊地陽, 林泰秀, 小川誠司 & 五十嵐隆: 小児がんにおける網羅的な Loss of heterozygosity (LOH) 解析. 第112回日本小児科学会学術集会 2009年4月, 奈良

2) 加藤元博, 滝田順子, 朴明子, 真田昌, 川俣紀彦, Claus Bartram, H Phillip Koeffler, 菊地陽, 五十嵐隆, 小川誠司, 林泰秀: 21trisomy と小児急性リンパ性白血病. 第51回日本小児血液学会, 2009年11月, 浦安

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

TAM症例の登録システムと治療指針の確立のための臨床試験に関する研究

研究分担者 菊地 陽 東京大学医学部附属病院 小児科 准教授

研究要旨:日本における Down 症候群の出生時にみられる一過性骨髄異常増殖症(TAM)の実態の把握のためのシステム作りとして日本小児白血病リンパ腫研究グループ(JPLSG)にTAM委員会を設置し、出生時白血球数10万/mm³以上かつ在胎週数37週未満の症例の生存率が著しく予後不良であり、臨床的に発見されるTAMの発症数は年間20-30例であると推定されることが明かとなった。現在、中央診断による確実な症例の把握とそれらの症例の確実な追跡を目的とした前方視的登録による観察研究を計画中である。

A. 研究目的

Down症候群の出生時にみられる一過性骨髄異常増殖症(TAM)は従来自然軽快する予後良好な病態とされてきたが、近年になりその20-30%に早期死亡がみられるとの報告がなされている。日本におけるTAMの実態の把握とその重症度分類の作成のため、臨床情報収集のためのシステム作りを行うことを目的として本研究班での活動を行った。

B. 研究方法ならびにC. 研究結果

日本におけるTAMの実態の把握のためのシステム作りとして日本の小児血液疾患診療施設の9割以上が加盟する日本小児白血病リンパ腫研究グループ(JPLSG)にTAM委員会の設置を2009年4月に依頼して6月に設置が認められ、その後計4回の会議を行った。会議においては欧米ならびに日本において過去にみられたTAMの多数例報告を解析した。その結果、出生時白血球数10万/mm³以上かつ在胎週数37週未満の症例において生存率が20-40%程度と他の群と比較して著しく予後不良であり、この2つの指標を用いて重症度分類を行うことが最も妥当であると考えられた。また、日本小児血液学会疾患登録や日本小児血液学会MDS委員会による後方視的調査から日本において臨床的に発見されるTAMの発症数は年間20-30例であると推定された。しかし、これらの情報はいずれも後方視的調査によるものであり、診断の正確性・症例の把握率に関しては不十分なものであるといわざるを得ない側面があることが確認された。そのため、正確な実数把握・正確な診断のためには中央診断を行った上での前方視的登録による実態把握が不可欠であると考えられ、前方視的な臨床研究が必要であることという委員会の見解が統一された。臨床研究の方法としては新規治療法の開発を目指した介入研究は症例が希少であることや過去における有効な

治療に関するエビデンスも少ないことなどから時期尚早であると判断され、中央診断による確実な症例の把握とそれらの症例の確実な追跡を目的とした前方視的登録による観察研究を計画することとなった。そして過去に有用性が報告されているシタラビン少量療法やステロイド療法、交換輸血などを推奨治療として呈示した上で、各施設判断で治療を行い、その上でそれぞれの治療の有効性を吟味し、可能であれば次期試験以降において介入研究をめざすこととなった。尚、当科に入院したTAM症例においてGATA1遺伝子の変異を検索し、1例に新規の変異を同定した。

(倫理面への配慮)

本研究においては文書による説明同意を行い、同意の得られた症例のみが観察研究の対象となる。また、連結可能匿名化により、症例の登録・追跡調査を行うことにより、対象症例の個人情報外部に流出する危険を限りなくゼロにする配慮をしている。また、研究の安全性に関する担保として、本研究はJPLSGから依頼する外部委員よりなる効果安全性評価委員会の監視の下に行われる予定である。

D. 考察

本研究班には新生児領域の研究者の参加が得られたため、いままで血液領域と新生児領域で別々に行われていたTAMに対する対応が統一して行われ、症例の把握・重症例の治療などが標準化されて行われるようになり、結果として重症TAMの予後の改善につながるものと思われる。

E. 結論

日本におけるTAMの実態の把握のためのシステム作りとしてJPLSGにTAM委員会が設置され、その活動により日本において臨床的に発見されるTAM

の発症頻度および重症度分類が規定された。今後、次年度以降に予定されているTAMに対する観察研究の開始により、TAMについてのより正確な情報が得られ、重症TAMの予後の改善につながるものと思われる。

F. 健康危険情報

該当せず

G. 研究発表

1. 論文発表

菊地 陽: Down症候群のTransient Abnormal Myelopoiesis (TAM) について.日小血会誌 23: 58-61, 2009

2. 学会発表

なし

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

新生児期に発見されたTAM症例に対する新生児科医の対応とフォローアップの
マニュアルの作成 そのための基礎調査としてのサーベイランス

研究分担者 田村 正徳 埼玉医科大学総合医療センター総合周産期母子医療センターセンター長

研究要旨:新生児期に発見されたダウン症の一過性骨髄異常増殖症症例に対する新生児科医の対応とフォローアップのマニュアルの作成を目的として、基礎調査を日本未熟児新生児学会のサーベイランス事業として始めた。

A. 研究目的

新生児期に発見されたダウン症の一過性骨髄異常増殖症(transient abnormal myelopoiesis, 以下TAM)症例に対する新生児科医の対応とフォローアップのマニュアルの作成とそのための基礎調査。

B. 研究方法

Aに記載した目的のため、現状を把握するための基礎調査として症例のサーベイランスを行う。方法としては日本未熟児新生児学会の学会事業としてのサーベイランスとする。TAMは血液疾患ではあるが、新生児期に発症する疾患であり、新生児集中治療室(NICU)施設で診療する事が多い。そして、NICU施設に必ずしも小児血液専門医がいるとは限らない。以上のような状況より小児血液学会の疾患登録のみでは把握できない症例が多数あると考えられるため、日本未熟児新生児学会のサーベイランスで症例を把握する事にした。

(倫理面への配慮)

研究分担者で日本未熟児新生児学会のサーベイランス事業担当者となる田村が、所属施設で今回のサーベイランスを行う事について倫理委員会に申請を出した。また調査は匿名で行い、患者が同定されるような情報は集めない。

C. 研究結果

まだ初年度であり、具体的な結果は出ていないが、日本未熟児新生児学会のサーベイランス事業として認められた。今後3年間の予定で全国120の主要な新生児集中治療室(NICU)のあるモニター施設から症例登録があることになる。3月に既に症例の発生が報告されている。

D. 考察

ダウン症候群に発症するTAMは一過性の良性疾患と考えられていたが、最近の文献によると30%程度は発症時より著しい白血球増加と血小板減少に肝機能傷害を合併し、新生児期に死亡する予後不良な症例である。このような症例についても、外国からの報告で

は積極的な治療介入が予後を改善するという報告がある。また、新生児期の芽球増加が治まっても、1-2才頃に特徴的な急性巨核芽球性白血病を発症する症例がやはり30%程度あり、必ずしも予後良好な疾患とは言えない。その一方、TAMを診療すると考えられる日本のNICUの状況を鑑みると、このような症例に遭遇した場合でも身近に小児血液専門医がいるとは限らず、治療に難渋する症例や不必要な抗癌剤の投与が行われる症例があると考えられる。また、TAM症例ではGATA1遺伝子の変異が必発であるが、新生児科領域ではそういった芽球の遺伝子異常をルーチンでは調べていない。今回、この研究を進める事で、NICUでのTAM症例を把握し、臨床データを蓄積して、それを元に適切な対応やフォローアップができるようになると思われる。

E. 結論

まだサーベイランス事業は始まったばかりであるが、今後症例が蓄積されていくと考えられる。

F. 健康危険情報

該当せず。

G. 研究発表

1. 論文発表

まだ論文発表にはなっていないが、日本未熟児新生児学会雑誌にサーベイランス事業の対象疾患として掲載された。

2. 学会発表

なし。

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。

**新生児希有疾患（病態）前方視的サーベイランス事業
趣旨，実施概略ならびに登録状況**

新生児希有疾患サーベイランス委員会

委員長 山内 芳忠（理事）

委員 近藤 裕一（理事）

長谷川久弥（評議員）

平野 慎也（評議員）

藤村 正哲（理事）

■趣 旨：

前もって定められた新生児領域における希有な疾患（病態）を対象とし，公募の上決定された本学会会員がモニター役となり（サーベイランスモニター員），共通のプロトコールで前方視的にデータを集積し，資料（血液検体）などを当該担当委員へ送付し，それらの疾患（病態）の予防対策の確立など医療改善の全国的な体制を企図する。

■実施概略：

- 1 「サーベイランス委員会」は，公募の上，採択された各疾患（病態）に対して，「当該疾患サーベイランス担当者」を指名して具体的な調査企画の立案を促し，「サーベイランス委員会」での検討を経て，実施する。
- 2 公募の上，採択された「サーベイランスモニター員」は，対象疾患（病態）を経験した時点で，あらかじめ送付された調査用紙を用いて，「サーベイランス委員会」へ直ちにFAXまたはE-mailにて報告する。
- 3 対象疾患（病態）を経験しない「サーベイランスモニター員」は，おおよそ年3回送付されてくる新しい調査用紙に，経験なしと報告する。
- 4 「サーベイランス委員会」より情報を得た「当該疾患サーベイランス担当者」は，「サーベイランスモニター員」へ直接連絡の上，具体的なデータの収集，資料（血液検体）の送付の依頼などを行う。
- 5 「当該疾患サーベイランス担当者」は，所定の期間が終了した時点で，調査報告書を「サーベイランス委員会」へ提出する。
- 6 「サーベイランス委員会」は，「当該疾患サーベイランス担当者」からの報告とともに，計画全体の報告を理事会へ提出する。
- 7 理事会は，全会員へ報告を行う。

■登録状況：

平成22年1月15日現在，156施設にご登録いただいております。「サーベイランス委員会」では，引き続き「サーベイランスモニター員」の新規登録の申請を受け付けております。本誌に挟み込みの申請用紙をご利用ください。

■進行状況：

平成22年1月15日現在，該当症例有り9件（新生児単純ヘルペス感染症7件，Paternal Uniparental Disomy 14が2件）ありました。

新生児希有疾患（病態）前方視的サーベイランス事業
対象疾患の追加ならびにモニター員の継続公募について

サーベイランス委員会では、当事業にご賛同いただけるモニター員を引き続き募集しております。本誌に挟み込んであります公募用紙に必要事項を記入の上、お申し込みください。なお、一施設から複数ご参加の意思をいただきました折には、委員会にて調整させていただきますこととお断り申し上げます。

すでに登録されているサーベイランスモニター員におかれましては、下記調査対象期間中、下記当該疾患を経験された毎に、本誌に挟み込んであります報告書をコピーの上、速やかに委員会宛 FAX にてご連絡ください（E-mail も可）。なお、該当疾患を経験されなかった場合にも、「該当疾患なし」とご報告ください。

現行対象疾患、予定調査期間ならびに登録対象症例：

3 ダウン症候群に合併した一過性骨髄増殖症（TAM）*新規

サーベイランス担当者：田村正徳（埼玉医科大学総合医療センター小児科）

予定調査期間：2010年3月1日～2013年3月1日（3年間）

対象の選定基準、除外基準：

1. 選定基準

- ・ダウン症候群ないしはモザイクダウン症候群において、日齢90以内に末梢血中に芽球が出現した症例。ただし、体細胞は正常核型でも、芽球にトリソミー21またはGATA1遺伝子の変異を認める症例も対象とする。
- ・診断日は、生後初めて末梢血中に芽球の存在を確認した検体の採取日とする。

2. 除外基準

乳児白血病と診断された症例

厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)
分担研究報告書

一過性骨髄異常増殖症の重症度分類のための診断基準と治療指針の
新生児臨床における活用に関する研究

研究分担者 塚本 桂子 国立成育医療センター 周産期診療部 新生児科

研究要旨

稀少疾患である TAM 症例をより正確に把握、検討するために、小児血液専門医のみならず、新生児科医・小児科医からの症例を収集するためのシステムを構築することを目的に、新生児・周産期施設特にサーベイランス非参加施設に対してのアンケート調査を計画し、今年度はまず、2006-2008 年について後方視的に調査した。

回収率約 1/3 の時点での中間での結果では、3 年間のこの施設群での TAM 症例数は 42 例で、ダウン症症例に対する割合は 8.0%と、やや低かった。今後、さらにアンケートを集計し、症例を蓄積し、解析していくこととした。また、この施設群においては約半分の施設では、TAM 症例についてコンサルトする小児血液専門医がいないことが明らかとなった。このような臨床現場の実情を考慮しても、新生児科、一般小児科施設での症例を含めた症例の把握と解析による診断・管理・治療プロトコルの確立とその評価とともに、TAM についての手引きの作成と公表が急務と考えられた。

A. 研究方法

日本小児血液学会では、ダウン症候群にみられる一過性骨髄異常増殖症(TAM)の病態を詳細に明らかにするために、TAM の症例登録がなされていて、さらには TAM 委員会が主導となって、前方視的調査が整備されつつある。しかし、実際に TAM 症例に最初に遭遇する機会が最も多いのは新生児科医・小児科医であり、この日本小児血液学会の疾患登録のみでは TAM 症例全数を把握することは困難な可能性がある。このような新生児・小児医療の現場において TAM 症例を有効に登録するシステムを構築することを目的とした。

そこでまず、新生児・小児医療の現場での発

生実態および登録実態を 3 年間にわたり前方視的に把握することとし、その方法として、以下の二つを計画した。

- 1) 日本未熟児新生児学会サーベイランス委員会における稀有疾患サーベイランス事業
- 2) サーベイランス非参加施設に対する年度ごとのアンケート調査

これらは、平成 22 年度より開始予定であるが、これに先立って、本年は 2006 年からこれまでの後方視的調査を行うこととして、特に、2) サーベイランス非参加施設に対して実態調査を行った。本年の過去3年間の実態調査を踏まえて、今後 3 年間、新生児医療施設への1)および2)の調査結果と日本小児血液学会の疾患登録を

併せて検討することにより、可能な限り多くの施設から症例を把握することで全数登録から漏れる症例を減らし、かつ重複しないよう工夫し、より実体に近い全数調査にするシステムを構築することが可能となる。

B. 研究方法

対象は、日本周産期新生児学会新生児専門医研修登録施設 458 施設のうち、日本未熟児新生児学会稀有疾患サーベイランス参加施設 118 施設を除いた 346 施設とした。

方法は、該当施設に対し封書によるアンケート調査を行った。質問は、施設規模などに関する基本情報とダウン症症例数、TAM 症例数を問う1次調査票と、日本小児血液学会疾患登録を行っていない症例についての詳細を後方視的に調査する2次調査票の2部構成とした。1次調査票では、施設の基本情報に加えて、「TAM 症例に遭遇したときに相談できる小児血液専門医がいますか」と、3年間に経験した TAM 症例それぞれについて「小児血液学会への疾患登録が済んでいるか」を併せて質問した。その上で、日本小児血液学会疾患登録を行っていない症例のみの臨床経過、検査データなどを、2次調査票に記入してもらうこととした。

このアンケートを 2006～2008 年の症例についてと、2009 年から 2012 年までの3年間、毎年それぞれの年の症例について調査を企画、準備した。まず、今年度は 2006～2008 年の症例についての後方視的調査を行った。

各症例についての臨床経過、検査データなどは、各施設の倫理基準に乗っ取り、診療情報2次利用に関して承諾を得た上で、個人を特定できる情報を除外して分担研究者が収集処理し、倫理面での配慮を行うこととした。

C. 研究結果

アンケート調査を 2010 年 2 月に実施した。同月末日現在の回収率は 34.3%で、117 施設から解答を得て、中間での結果を集計した。

施設の背景は、総合周産期施設 14、地域周産期施設 51、残りがその他であった(図 1)。対象とした施設群は、日本周産期新生児学会周産期専門医研修施設に 2004 年に登録、指定された施設を基にしたが、この間に、産科・NICU が閉鎖した施設が 9 施設見られた。

2006-2008 年の 3 年間の、TAM 症例は 42 例で、各施設でのダウン症の総数に対する割合は 8.0%と、一般的にいわれている値よりもやや低かった。

「貴施設で、TAM 症例に遭遇したら相談できる小児血液専門医はいますか」との問いに対する回答では、「いる」が 40 施設と、「いない」施設が半分以上を占めた(図 2)。

日本小児血液学会にすでに登録されていた 6 例を除く TAM 36 症例の詳細について、2次調査票でデータを収集し、今後回収される調査票と併せて、解析していくこととした。

D. 考察

＜新生児科に対する調査の必要性＞

TAM は、ダウン症に合併し、新生児期に一過性に発症するため、臨床の場で実際に出生直後ダウン症や TAM の診療にあたるのは、新生児科医や小児科医であり、TAM が疑われた時点で新生児科医や小児科医から、小児血液専門医に相談されることとなる。

日本小児血液学会での症例登録は、2006 年から開始され、年間約 25 例の登録がなされ、有効に機能し、進行中である。しかし、上述の理由から、日本小児血液学会の登録事業のみでは、ある程度の割合で症例登録から漏れる症例が発生することが懸念される。稀少な疾患であり、できるだけ実体に近い調査で症例を把握するため、新生児担当施設に対してのサーベイ

ランスが必須であると考えられた。

<学会発表数の調査>

医学中央雑誌から、本邦での最近10年間の新生児のTAMに関する発表・論文を検索し、血液関係の雑誌を除く医学誌などに限って検討してみた。結果、平均で年間8件が報告されているが、最近5年間では、年間10件以上の報告があり、新生児の主だった学会でも毎回2~3件の報告がなされていた。このことから、新生児領域において、TAMが、多くはないがこの施設においても難渋した症例の経験を持っており、無視できない疾患であり、新生児科医は現場でTAMの管理に当たる臨床医として、その管理に少なからず関心を持っていることが伺える。

特筆すべきは、胎児症例の報告が胎児超音波と関連して産科領域から数多くなされている点であろう。これらの報告から、TAMが、胎児期から起こっている病態であり、そのために早産が起こり得ること、胸水、腹水、心嚢水といった腔水症を合併した重症の胎児水腫から肝脾腫のみの症例まで種々の症状が胎児期に見られることなど、多くの知見が得られると考えられた。

<治療・管理の手引きの必要性>

2010年2月末日現在の回収率は、30%と中間集計の段階であり、最終的な結論は時期早尚といえる。しかし、今回対象とした施設群においては、相談できる小児血液科専門医がいない病院が半分以上であることが明らかとなってきた。

新生児科医の立場で考えると、現場でTAM症例に遭遇した場合、すぐに現状を相談できる血液科医は院内にいない状態で、どのように診断し、どのように管理していくのが適切か、中・長期的予後はどうなのか、どのように説明すべ

きか、状態が悪化していく前に治療は必要なのか、いつからどのように治療すべきか、治療中の注意点など、多くの解決されていない疑問点が残されている。これらに解答を提示できるような、エビデンスを確立し、効果や安全性を評価するためには、症例の把握・蓄積とその解析が重要である。が、同時に、今、眼前の患者の管理に苦慮している臨床医のために、現時点で推奨される診断・管理の手引きの作成も急がなければならないことも明らかと言える。TAMを最初に診断するのが、総合周産期施設とは限らない。誰もが簡便に閲覧できる方法、たとえばインターネットを用いて、会員などの資格なしに誰でもアクセスできるような形で公表することが重要と考えられる。

E. 結論

TAM症例の全体像を明らかにし、治療を含む管理法を正しく評価する目的で、日本小児血液学会の疾患登録や前方視的観察研究、および日本未熟児新生児学会稀有疾患サーベイランス委員会の稀有疾患サーベイランスと平行して、サーベイランス非参加施設に対して、TAMに関するアンケート調査を行った。この結果を解析し、全数登録調査をより実体に即したものとするための、システムを確立していくことが肝要と考えられた。

同時に、新生児科、一般小児科施設での症例を含めた症例の把握と解析による診断・管理・治療プロトコルの確立とその評価とともに、TAMについての手引きの作成と公表が急がれると考えられた。

F. 健康危険情報

該当せず

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

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

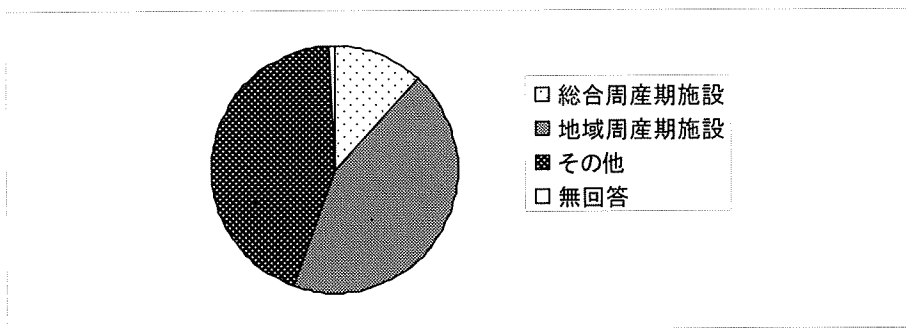
I. 研究協力者

なし

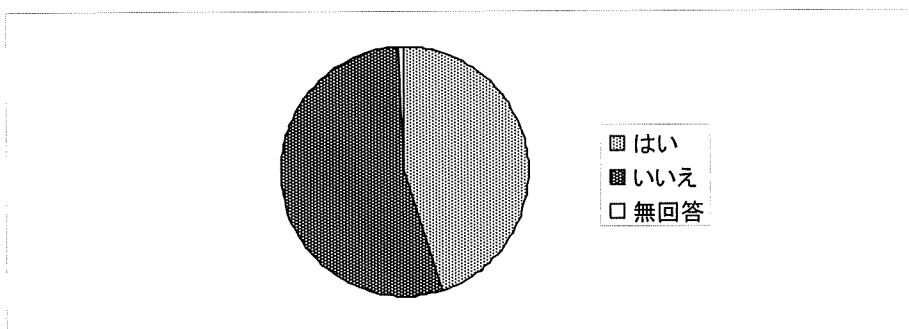
参考文献:

- 1) 菊地 陽, Down 症候群の Transient Abnormal Myelopoiesis(TAM)について. 日本小児血液学会雑誌, 2009. 23(1):p58-61

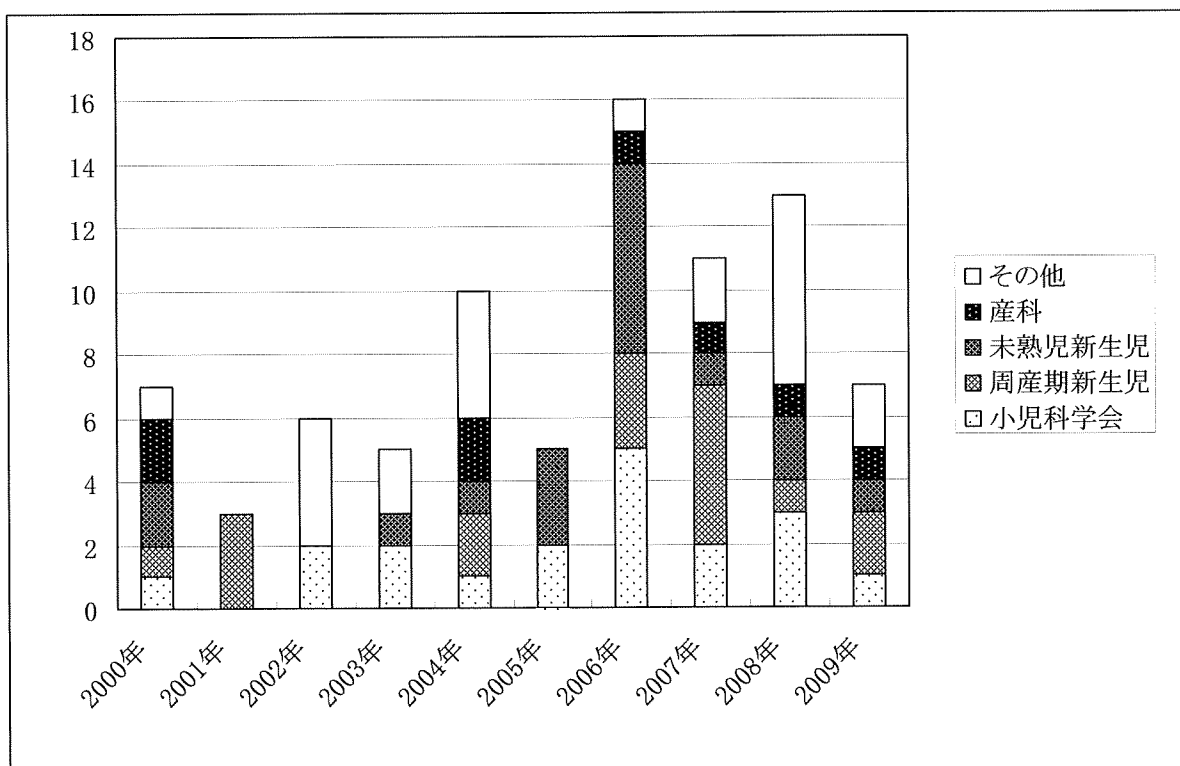
(図 1)施設背景



(図 2)小児血液専門医はいますか？



(図 3)年度別新生児 TAM 関連学会・論文発表数の推移



Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kitoh T, Taki T, Hayashi Y, Nakamura K, Irino T, Osaka M.	Transient abnormal myelopoiesis in a Down syndrome newborn followed by acute myeloid leukemia: identification of the same chromosomal abnormality in both stages.	Cancer Genet Cytogenet.	188	99-102	2009
Ono R, Kumagai H, Nakajima H, Hishiyama A, Taki T, Horikawa K, Takatsu K, Satoh T, Hayashi Y, Kitamura T, Nosaka T.	Mixed-lineage-leukemia (MLL) fusion protein collaborates with Ras to induce acute leukemia through aberrant Hox expression and Raf activation.	Leukemia	23	2197-2209	2009
Kurosawa H, Okuya M, Matsushita T, Kubota T, Endoh K, Kuwashima S, Hagiwara S, Sato Y, Fukushima K, Sugita K, Okada Y, Park MJ, Hayashi Y, Arisaka O.	JAK2V617F mutation-positive childhood essential thrombocythemia associated with cerebral venous sinus thrombosis.	J Pediatr Hematol Oncol.	31	678-680,	2009
Takita J, Motomura A, Koh K, Ida K, Taki T, Hayashi Y, Igarashi T.	Acute megakaryoblastic leukemia in a child with the MLL-AF4 fusion gene.	Eur J Haematol.	83	149-153	2009
Taketani T, Taki T, Nakamura H, Taniwaki M, Masuda J, Hayashi Y.	NUP98-NSD3 fusion gene in radiation-associated myelodysplastic syndrome with t(8;11)(p11;p15) and expression pattern of NSD family genes.	Cancer Genet Cytogenet. 1	90	108-112	2009

Sanada M, Suzuki T, Shih LY, Otsu M, Kato M, Yamazaki S, Tamura A, Honda H, Sakata-Yanagimoto M, Kumano K, Oda H, Yamagata T, Takita J, Gotoh N, Nakazaki K, Kawamata N, Onodera M, Nobuyoshi M, Hayashi Y, Harada H, Kurokawa M, Chiba S, Mori H, Ozawa K, Omine M, Hirai H, Nakauchi H, Koefler HP, Ogawa S.	Gain-of-function of mutated C-CBL tumour suppressor in myeloid neoplasms.	Nature.	460	904-908	2009
Watanabe-Okochi N, Oki T, Komeno Y, Kato N, Yuji K, Ono R, Harada Y, Harada H, Hayashi Y, Nakajima H, Nosaka T, Kitaura J, Kitamura T.	Possible involvement of RasGRP4 in leukemogenesis.	Int J Hematol.	89	470-481	2009
Mizoguchi Y, Fujita N, Taki T, Hayashi Y, Hamamoto K.	Juvenile myelomonocytic leukemia with t(7;11)(p15;p15) and NUP98-HOXA11 fusion.	Am J Hematol.	84	295-297	2009
Park MJ, Taki T, Oda M, Watanabe T, Yumura-Yagi K, Kobayashi R, Suzuki N, Hara J, Horibe K, Hayashi Y.	FBXW7 and NOTCH1 mutations in childhood T cell acute lymphoblastic leukaemia and T cell non-Hodgkin lymphoma.	Brit Haematol	J145	198-206	2009
Jo A, Tsukimoto I, Ishii E, Asou N, Mitani S, Shimada A, Igarashi T, Hayashi Y, Ichikawa H.	Age-associated difference in gene expression of pediatric acute myelomonocytic lineage leukemia (FAB M4 and M5 subtypes) and its correlation with prognosis.	Brit Haematology	J144	917-929	2009

Isoda T, Ford A, M, Tomizawa D, van Delft FW, Gonzalez De Castro D, Mitsui N, Score J, Taki T, Morio T, Takagi M, Saji H, Greaves M, Mizutani S.	Immunologically silent cancer clone transmitted from mother to offspring.	Proc Natl Acad Sci USA	106	17882-17885	2009
Miyagawa Y, Kiyokawa N, Ochiai N, Imadome K-I, Horiuchi Y, Onda K, Yajima M, Nakamura H, Katagiri YU, Okita H, Morio T, Shimizu N, Fujimoto J, Fujiwara S.	Ex vivo expanded cord blood CD4 T lymphocytes exhibit distinct expression profile of cytokine-related genes from those of peripheral blood origin.	Immunology	128(3)	405-19	2009
Akagi T, Ogawa S, Dugas M, Kawamata N, Yamamoto G, Nannya Y, Sanada M, Miller C, W, Yung A, Schnittger S, Haferlach T, Haferlach C, & Koefler H, P,	Frequent genomic abnormalities in acute myeloid leukemia/myelodysplastic syndrome with normal karyotype	Haematologica	94	213-23	2009
Akagi T, Shih L, Y, Kato M, Kawamata N, Yamamoto G, Sanada M, Okamoto R, Miller C, W, Liang D, C, Ogawa S, & Koefler H, P,	Hidden abnormalities and novel classification of t(15;17) acute promyelocytic leukemia (APL) based on genomic alterations	Blood	113	1741-8	2009
Akagi T, Shih L, Y, Ogawa S, Germs J, Moore S, R, Schreck R, Kawamata N, Liang D, C, Sanada M, Nannya Y, Deneberg S, Zachariadis V, Nordgren A, Song J, H, Dugas M, Lehmann S, & Koefler H, P,	Single nucleotide polymorphism genomic arrays analysis of t(8;21) acute myeloid leukemia cells	Haematologica	94	301-6	2009

Haraguchi K, Suzuki T, Koyama N, Kumano K, Nakahara F, Matsumoto A, Yokoyama Y, Sakata-Yanagimoto M, Masuda S, Takahashi T, Kamijo A, Takahashi K, Takanashi M, Okuyama Y, Yasutomo K, Sakano S, Yagita H, Kurokawa M, Ogawa S, & Chiba S,	Notch activation induces the generation of functional NK cells from human cord blood CD34 ⁺ cells devoid of IL-15	J Immunol	182	6168-78	2009
Kato M, Sanada M, Kato I, Sato Y, Takita J, Takeuchi K, Niwa A, Chen Y, Nakazaki K, Nomoto J, Asakura Y, Muto S, Tamura A, Iio M, Akatsuka Y, Hayashi Y, Mori H, Igarashi T, Kurokawa M, Chiba S, Mori S, Ishikawa Y, Okamoto K, Tobinai K, Nakagama H, Nakahata T, Yoshino T, Kobayashi Y, & Ogawa S,	Frequent inactivation of A20 in B-cell lymphomas	Nature	459	712-6	2009
Kawamata N, Ogawa S, Gueller S, Ross S, H, Huynh T, Chen J, Chang A, Nabavi-Noguis S, Megrabian N, Siebert R, Martinez-Climent J, A, & Koefler H, P,	Identified hidden genomic changes in mantle cell lymphoma using high-resolution single nucleotide polymorphism genomic array	Exp Hematol	37	937-46	2009
Kawamata N, Ogawa S, Seeger K, Kirschner-Schwabe R, Huynh T, Chen J, Megrabian N, Harbott J, Zimmermann M, Henze G, Schrappe M, Bartram C, R, & Koefler H, P,	Molecular allelotyping of relapsed pediatric acute lymphoblastic leukemia	Int J Oncol	34	1603-12	2009

Kawamata N, Zhang L, Ogawa S, Nannya Y, Dashti A, Lu D, Lim S, Schreck R, & Koeffler H, P,	Double minute chromosomes containing MYB gene and NUP214-ABL1 fusion gene in T-cell leukemia detected by single nucleotide polymorphism DNA microarray and fluorescence in situ hybridization	Leuk Res	33	569-71	2009
Lee S, Y, Kumano K, Nakazaki K, Sanada M, Matsumoto A, Yamamoto G, Nannya Y, Suzuki R, Ota S, Ota Y, Izutsu K, Sakata-Yanagimoto M, Hangaihi A, Yagita H, Fukayama M, Seto M, Kurokawa M, Ogawa S, & Chiba S	Gain-of-function mutations and copy number increases of Notch2 in diffuse large B-cell lymphoma	Cancer Sci	100	920-6	2009
Nowak D, Le Tellec E, Stern M, H, Kawamata N, Akagi T, Dyer M, J, Hofmann W, K, Ogawa S, & Koeffler H, P,	Molecular allelotyping of T-cell prolymphocytic leukemia cells with high density single nucleotide polymorphism arrays identifies novel common genomic lesions and acquired uniparental disomy	Haematologica	94	518-27	2009
Sanada M, Suzuki T, Shih L, Y, Ohtsu M, Kato M, Yamazaki S, Tamura A, Honda H, Sakata-Yanagimoto M, Kumano K, Oda H, Yamagata T, Takita J, Gotoh N, Nakazaki K, Kawamata N, Onodera M, Nobuyoshi M, Hayashi Y, Harada H, Kurokawa M, Chiba S, Mori H, Ozawa K, Omine M, Hirai H, Nakauchi H, Koeffler H, P, & Ogawa S	Gain-of-function of mutated C-CBL tumour suppressor in myeloid neoplasms	Nature	460	904-908	2009
Yokoyama Y, Suzuki T, Sakata-Yanagimoto M, Kumano K, Higashi K, Takato T, Kurokawa M, Ogawa S, & Chiba S	Derivation of functional mature neutrophils from human embryonic stem cells	Blood	113	6584-92	2009

菊地 陽	Down症候群のTransient Abnormal Myelopoiesis (TAM) について.	日小血会誌	23	58-61	2009
山内芳忠, 近藤裕一, 長谷川久弥 平野慎也, 藤村正哲	新生児希有疾患 (病態) 前方視的サーベイランス事業 趣旨、実施概略ならび登録状況	日本未熟児新生児学会雑誌	22巻1号		2010