

201024132A

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

**「ダウン症候群でみられる一過性骨髄異常
増殖症の重症度分類のための診断基準と
治療指針の作成に関する研究」**

平成22年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 林 泰秀

平成23（2011）年3月

目 次

I. 総括研究報告

ダウン症候群でみられる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
治療指針の作成に関する研究

林 泰 秀 3

II. 分担研究報告

1. ダウン症候群でみられる一過性骨髄異常増殖症の遺伝子変異による
病型分類に関する研究

伊 藤 悦 朗 21

2. TAMの病態への関与が疑われる染色体異常とその関連遺伝子に関する研究

滝 智 彦 25

3. 一過性骨髄異常増殖症の重症度分類のための細胞表面マーカー解析と
細胞保存に関する研究

大 喜 多 肇 27

4. 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

小 川 誠 司 31

5. 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

菊 地 陽 37

6. ダウン症候群に合併した一過性骨髄異常増殖症153例の後方視的解析

村 松 秀 城 39

7. 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

田 村 正 徳 41

8. 新生児の症例登録システムの確立とその解析指針の確立

塚 本 桂 子 45

III. 研究成果の刊行に関する一覧表..... 59

IV. 研究成果の代表的論文..... 67

I. 総括研究報告書

厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)
総括研究報告書

ダウン症候群でみられる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作成に関する研究

研究代表者 林 泰秀 群馬県立小児医療センター院長

研究要旨:研究要旨:ダウン症候群では新生児期に一過性に白血病様芽球が末梢血中に増加することがあり、一過性骨髄異常増殖症(transient abnormal myelopoiesis, TAM)と呼ばれている。その頻度は約 10% (100 人/年)とされているが、新生児期に発症するため新生児施設で診断、治療されることも多く、また自然治癒する予後良好な疾患と考えられていたため登録もされず、正確な数の把握はされていなかった。最近の多数例の検討で、TAMの死亡例が20~30%みられることが報告されたが、重症例を診断するための診断基準も、重症例に対する標準的治療もまだ確立していない。これまで新生児専門医と小児血液専門医で別々に行なわれていたTAMの診断と治療が、平成 21 年度と 22 年度の研究班の活動により新生児科医師が日本小児血液学会の疾患登録システムを用いることにより一本化され、TAMの全体像の把握が可能となった。また、このシステムに登録されていない新生児側の症例については、日本未熟児新生児学会の希有疾患サーベイランス委員会の対象疾患として承認され、非参加症例のアンケート調査もできたので、これまで把握ができなかった新生児施設のみに入院したTAM症例の全体像も把握できるようになった。さらに、今年度は日本小児血液学会のシステム等を用いて TAM の登録と重症例に対する観察研究を開始した。また、重症例の抽出と病態解明のために、マーカー、染色体、GATA1 等の発症・進展に関与すると思われる既知の遺伝子解析に加え、網羅的ゲノムアレイによる解析と次世代シーケンサーによる解析を行うことができた。また GATA1 の高発現と低発現変異群に分類すると低発現変異群が高率に白血病化するのを明らかにし、TAM の発症機序の解明に貢献できた。今後、登録される多数の症例の細胞保存システムを用いて解析すれば、TAM でみられる高サイトカイン血症や肝線維症の機序や TAM の分子機構およびモザイク型ダウン症候群や正常児に発生したTAMの機序の解明に役立つ。また、TAMから白血病に進展する機序も明らかになり、ひいては成人のがんの発生と進展機構の解明にも貢献すると思われる。

研究分担者氏名

伊藤悦朗 弘前大学医学部小児科 教授
滝智彦 京都府立医科大学大学院医学研究科
分子診断・治療医学講師
大喜多肇 国立成育医療研究センター研究所
小児血液・腫瘍研究部 分子病理研究室
室長
小川誠司 東京大学医学部附属病院 Cancer Board
特任准教授
菊地陽 帝京大学医学部小児科 教授
村松秀城 名古屋大学医学部小児科 助教
田村正徳 埼玉医科大学総合医療センター 教授
塚本桂子 国立成育医療研究センター
周産期診療部 新生児科 医員

いる。その頻度は約10% (100人/年)とされているが、新生児期に発症するため新生児施設で診断、治療されることも多く、また自然治癒する予後良好な疾患と考えられていたため登録もされず、正確な数の把握はされていなかった。多数例の検討で、死亡例が20~30%みられることが報告されたが、重症例を診断するための診断基準も、重症例に対する標準的治療もまだ確立していない。近年、重症例に対して少量シタラビンによる治療の有効性が示されている。今後前方視的試験により国内のTAM症例の重症度の診断と予後を正確に把握する必要性が高まっている。TAMの登録システムを立ち上げて全数把握を試み、重症例の診断基準を確立し、観察研究により標準的治療の確立を目指し、予後の改善と生存の質を向上させることが研究の目的である。

A. 研究目的

ダウン症候群では新生児期に一過性に白血病様芽球が末梢血中に増加することがあり、一過性骨髄異常増殖症(transient abnormal myelopoiesis, TAM)と呼ばれて

B. 研究方法

1) 疾患登録システムの確立(図 1)

① 日本小児血液学会の登録システム

日本小児血液学会の疾患登録システムの中で TAM

の登録システムを立ち上げ、これを用いて新生児科の医師も小児血液学会員を通してオンラインによる登録ができるようにするが、FAX による登録も受け付ける。この研究は日本小児白血病リンパ腫研究グループ(JPLSG)に今年度から設置されたTAM委員会が実施主体となつて行われる。

②日本未熟児新生児学会の登録システム

A) 日本未熟児新生児学会の学会事業としての稀有疾患サーベイランスの利用

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)施設で診療することが多い。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。このため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稀有疾患サーベイランスで症例を把握することにし理事会に申請し承認されたので、運用を開始する。

B) サーベイランス非参加施設の調査

<調査Ⅰ:サーベイランス参加施設への 2006-2009 年度分後方視的アンケート調査>

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 施設でアンケート調査を行った。施設規模などに関する基本情報、ダウン症とTAM症例数の1次調査と、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次調査を行った。1次調査票では、施設の基本情報に加えて、小児血液専門医の有無、2006-2009 年度の4年間に経験したTAMの症例数と小児血液学会への症例登録の有無を質問し、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、検査データなどの2次調査を行った。2次調査票は、サーベイランス非参加施設への調査、小児血液学会の疾患登録症例に対する調査と同様のフォーマットを用いた。

<調査Ⅱ:サーベイランス非参加施設への 2006~2008 年度分後方視的調査>

昨年度実施したサーベイランス非参加施設に対する2006~2008 年度分のTAM症例36例の2次調査票の詳細を検討した。

<調査Ⅲ:サーベイランス非参加施設への 2009 年度分後方視的調査>

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施設である。アンケート調査は施設規模などに関する基本情報とダウン症とTAM症例数の1次調査を行い、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、検査データなどの2次調査を行った。

<調査Ⅳ:新生児施設への2006-2009 年度分後方視的調査2次調査票のまとめ>

それぞれの調査の2次調査票を統合し、各施設群間、

予後別、化学療法につき比較検討した。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則り、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処理し、t検定とFisherの直接確率計算法を用い、 $p<0.05$ を有意とした。

C) 日本小児血液学会のアンケート調査

2003年から2005年診断例に対する全国アンケート調査および2006年から2008年に小児血液学会疾患登録がなされた症例に対する二次調査の結果、解析可能であった計153例の調査結果について検討した。

D) TAMの臨床試験

昨年設置されたJPLSGのTAM委員会において計7回の検討を行い、TAMの実態解明を目的とした観察研究計画を立案した。その結果、GATA1変異を弘前大学小児科、表面マーカーを三重大学小児科、血球形態を名古屋大学小児科でそれぞれ中央診断として行い、末梢血中の微小残存腫瘍を三重大学小児科、サイトカインプロファイルを群馬県立小児医療センターでそれぞれ中央検査として行うことを盛り込んだ観察研究計画を完成した。研究計画に関しては日本小児血液学会臨床研究審査委員会の承認を得て、各施設に研究計画書の配布を完了した。今後各施設での倫理委員会承認後、症例登録が開始される予定である。

2) 重症例の抽出と病態解析

重症例の抽出のための方法として臨床所見以外に、遺伝子解析や網羅的ゲノム解析を行い、精度の高い診断と病態解明を目指した。特に、重症のTAMでみられる高サイトカイン血症や肝線維症の有無と遺伝子異常や網羅的ゲノム解析の結果との関係を明らかにすることが、重症例抽出のための診断基準を作成するにあたって重要と思われる。

① 染色体・遺伝子解析

TAMの経過後に発症した染色体異常を有する骨髄異形成症候群(MDS)症例と急性巨核芽球性白血病(AMKL)症例の各1例のDNAを用いて、Affymetrix社のGeneChip Human Mapping 250Kアレイによりゲノムコピー数の増減を検討した。また、Mitelman Database of Chromosome Aberrations and Gene Fusions in Cancer¹⁾に登録されているダウン症候群関連白血病の染色体異常について検討した。

② GATA1 遺伝子等の解析

これまでに全国から弘前大学小児科に集められた100例以上のTAMの臨床検体の遺伝子解析を行った。末梢血からDNAおよびRNAを抽出しGATA1遺伝子を解析した。

③ 網羅的ゲノム解析

高速シーケンサー(illumina 社 Genome Analyzer IIx)を用いて、TAM および TAM から移行した AMKL

の発症時の骨髄から採取した DNA を解析した。具体的には、全ゲノム領域の約 1%のみを占めるエクソン領域(約 18 万エクソン、50Mb)をターゲットとするビオチン化された cRNA (Agilent 社 SureSelect ®)を用いて濃縮したのち、超高速シーケンサーで全エクソン解析を行った。TAM 寛解期に採取した末梢血由来の DNA を自己正常検体として、TAM あるいは AMKL における腫瘍細胞特異的な異常を検出した。また、全エクソンシーケンスにおける SNP コールの情報を用いて、TAM および AMKL 時のコピー数異常についても解析を行った。

④マーカー解析

新たな、検査値や臨床データから重症例の抽出と標準的治療確立を目指す前方視的な登録システムの中では、診断時にフローサイトメトリーによる末梢血のマーカー解析、診断後のフローサイトメトリーによる微小残存病変解析検査を中央解析担当施設において一括して行った。

⑤サイトカインの測定

血清の各種サイトカイン値の測定を TAM 症例でマイクロビーズアレイシステム(Bio-Plex, Bil Rad)を用いて行った。

3) 細胞保存

マーカー解析後の余剰検体が生じることが想定され、細胞検体を保存するシステムを構築した。既に小児血液腫瘍の研究グループにおける余剰検体保存を国立成育医療研究センターで担当しており、同センター内に TAM 患児の末梢血由来の余剰検体の保管システムを構築することとした。血液腫瘍グループの検体保存システムと可能なかぎり統一した手順を採用することにより効率的な検体保存システムを目指して作成した。

(倫理面への配慮)

本研究事業で行われる臨床試験は、日本小児血液学会臨床研究審査委員会の承認の後、各施設の倫理委員会の承認を得て実施する。本研究で行うゲノム解析は、政府の定める各種倫理指針に準拠し、参加研究施設の倫理委員会の審査・承認を得て行われた。

またJPLSGのもとで行なわれる観察研究は、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、研究の安全性を担保するため、本研究は介入試験における効果安全性評価委員会の役割をもつものとして JPLSGの倫理委員会の監視の下に行われる予定である。

C. 研究結果

1) 疾患登録システムの確立(図 1)

①日本小児血液学会の登録システム

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 委員会が平成 21 年度 6 月に設置され、その後計 7 回の TAM 委員会を開催し、欧米と日本のこれまでに報告された TAM の多数例を解析した。その結果、出生時白血球数 $10 \text{ 万}/\mu\text{l}$ 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結論した。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、診断の正確性や症例の把握率に関しては不十分なため、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の必要性が確認された。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と判断し、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し、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提示した上で、まずは各施設判断で治療を行い、次期試験以降において介入研究をめざすこととなった。

②日本未熟児新生児学会の登録システム

A) 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

2010年3月より日本未熟児新生児学会のサーベイランス事業が開始された。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。症例の報告が集積しつつあり、2次調査を予定している。

B) サーベイランス非参加施設

<調査 I>

アンケート調査を 2010 年 11 月に実施した。2011 年 2 月末日の回収率は 29.2%で、118 施設中 53 施設から解答を得た。

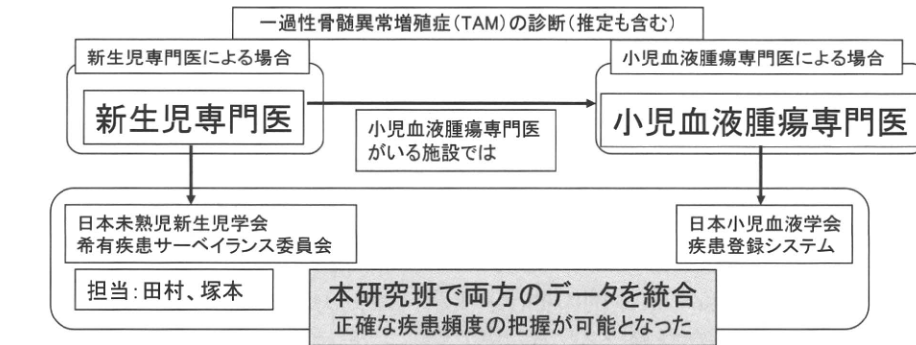
施設の背景は、総合周産期施設 19、地域周産期施設 17、残りがその他であった。2006-2009 年の 4 年間の、TAM 症例は 70 例で、各施設でのダウン症の総数に対する割合は 10.2%であった。

小児血液専門医の有無について「いる」が 33 施設と半分以上を占めた。しかし、日本小児血液学会に疾患登録されていたのは上記の 70 例中 23 例(31.2%)と多くはなかった。未登録のうち、2 次調査票が得られた TAM 35 症例について詳細に解析した。

<調査 II>

2010 年 2 月に実施したアンケート調査で、2010 年 8 月までに 144 施設から返答があり、回収率は 42.2%であ

図1 TAMの正確な患者数を把握するためのシステム



TAMの診断基準、治療指針の作成のためのシステム

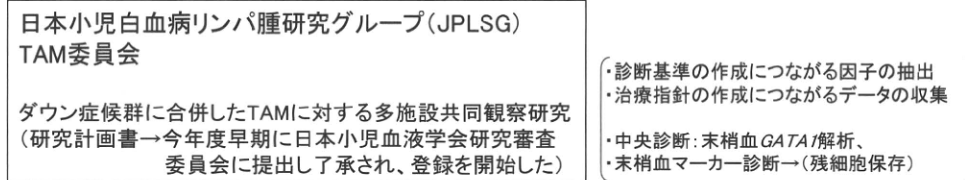
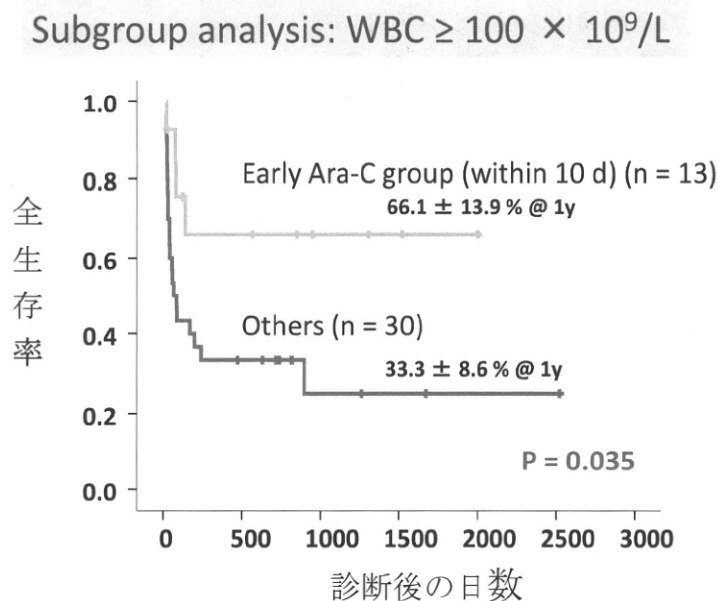


図2 少量シタラビン療法の臨床効果



った。

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%であった。このうち、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次調査票を解析した。

<調査Ⅲ>

アンケート調査を2010年5月に実施した。2010年8月末日の回収率は44.3%で、346施設中151施設から回答を得た。施設の背景は、総合周産期施設20、地域周産期施設71、残りがその他であった。サーベイランス参加施設2009年の1年間のTAM症例は19例で、各施設でのダウン症の総数に対する割合は6.6%であった。

日本小児血液学会に疾患登録されていたのは上記の19例中6例であった。未登録のうち、2次調査票が得られたTAM 12症例について詳細に解析した。

<調査Ⅳ>

2006～2009年の新生児施設でのダウン症症例の中でTAM症例の割合は、サーベイランス参加施設で10.6%、非参加施設で7.1%、全体で8.6%であった。

i) 生存例と死亡例の比較

調査Ⅰ～Ⅲをまとめると、4年間でTAM症例は計136例あり、そのうち小児血液学会の疾患登録されていない、2次調査票の得られた症例は77例であった。77例中生後6ヵ月以内の早期死亡例は、19例で、死亡率は24.7%であった。6ヵ月以降に死亡した症例は2例で、死因はRSウイルス感染症と慢性肺疾患であったため、TAMと直接の関連がないと判断し、生存例に含めて検討した。生後6ヵ月の時の生存例(以下生存例)58例と同時期の死亡例(以下早期死亡例)19例を比較した。

単変量解析では、出血症状の有無、人工呼吸管理の有無、人工呼吸管理期間、全身浮腫、肝脾腫、初診時芽球数、初診時白血球数、AST値、ALT値、LDH値、APTT値、プロコラーゲンⅢペプチド(PⅢP)値が有意差を認めた。多変量解析では、出血症状と全身浮腫が、早期の死亡と強い関連があった。芽球数、白血球数、AST値、ALT値、LDH値は関連が疑われた。

ii) サーベイランス参加施設症例と非参加施設の比較

2006-2009年のTAM症例は、サーベイランス参加施設53施設から70症例、非参加施設206施設から66症例あり、そのうちそれぞれ35、44症例の2次調査票が検討された。参加施設、非参加施設間では、どの項目についても差が無かったが、化学療法施行例は、サーベイランス参加施設10例と非参加施設4例で、参加施設の方が多かった。

iii) 化学療法施行症例について

化学療法施行例13例について検討した。化学療法開始日令は中央値9(範囲1-50)、AraC投与量は平均 $1.03 \pm SD0.53$ mg/kg/日で、投与日数は平均 6.2 ± 1.9 日であった。早期死亡例は5例であった。

C) 日本小児血液学会アンケート調査結果

初診時白血球数の中央値(範囲)は $37,800/\mu\text{L}$ (4,400～356,900)、在胎週数の中央値(範囲)は37週(27-40)であった。31例(20%)が診断後9ヶ月以内に死亡した。死因は肝不全12例、多臓器不全4例、腎不全3例、心不全3例、肺出血2例、脳出血1例、DIC1例、敗血症1例、不明4例であった。9ヶ月以上生存した121例のうち21例(17%)でAMKLを発症しうち3例が死亡した。153例全体の3年全生存率は $74.9\% \pm 3.8\%$ であり、これまでの報告と同様に、在胎週数($\geq 37\text{wks} / < 37\text{wks}$; $p < 0.001$)、白血球数($\geq 100,000 / < 100,000$; $p < 0.001$)は早期死亡と有意な関連を示した。少量シタラビン療法を施行した症例は28例(18%)であった。投与量および投与期間の中央値(範囲)はそれぞれ、 0.95mg/kg/day (0.4-3.1mg/kg/day)、7日間(2-15日間)であった。好中球減少期間の中央値(範囲)は0日間(0-14日間)であったが、11日間連続投与を受けた1症例で好中球減少に伴う感染症死亡が認められた。白血球数 $100,000/\mu\text{L}$ 以上の症例に限定したサブグループ解析の結果、診断後10日以内に治療開始された症例の予後は有意に予後良好であった(1年全生存率 $66.1 \pm 13.9\%$ ($n = 13$) vs. $33.3 \pm 8.6\%$ ($n = 30$); $p = 0.035$ 、図2)。

2) 重症例の抽出と病態解析

① 染色体・遺伝子解析

TAMおよびAMKLの両方の時期にder(7)t(1;7)(q25;p15)を有した症例のAMKL細胞のSNPアレイ解析では、1q25および7p15領域でのゲノムコピー数の変化が確認された。コピー数が変化していた箇所付近にはどちらも複数の遺伝子が存在していた。その他、両症例とも染色体異常が観察されていない領域でのコピー数の増減が複数の領域に観察された。

Mitelman Database of Chromosome Aberrations and Gene Fusions in Cancerの検索では、437例のダウン症候群に関連する造血器腫瘍が登録されていた。そのうちTAMとの関連が強いAMKLは117例であった。ロバートソン転座を除く構造異常は84例(71.8%)にみられ、そのうち最も多かったのは7番染色体の異常だった(28例、33.3%)。その他では1番、5番、6番などの構造異常が多くみられた。非ダウン症候群のAMKLでみられるt(1;22)も2例が登録されていた。

② GATA1遺伝子等の解析

2003年から2008年までに78例のTAMの臨床検体を収集し、GATA1遺伝子の解析を行った。GATA1遺伝子変異は72例に検出された。6例は複数のGATA1変異を有していたため、今回の解析からは除外した。残りの66例(男児32例、女児34例)の内、生後6ヶ月以内の早期死亡は16例(24.2%)であった。早期死亡例の予後因子は、これまでの研究で既に報告されていたものと同じであった。11例(16.7%)は、その後白血病を発症した。中央値は生後396日(221～747日)であった。白血病発症に関わる因子は、総ビリルビンの低値のみであった($p = 0.023$)。

TAM では、ほとんどすべての症例に *GATA1* 変異が生じ、その結果、N 末端を欠いた *GATA1* タンパク (*GATA1s*) のみが発現している。マウスを用いた実験では、*GATA1* の発現量を低下させることにより白血病が発症することが知られているが、TAM 芽球の *GATA1s* 発現量に關与する研究は見当たらない。我々は、転写産物の種類により *GATA1* 変異を分類し、その遺伝子発現の様式を解析した。その結果、*GATA1* 変異は *GATA1s* タンパクの発現量に影響し、遺伝子変異から *GATA1s* タンパクの発現量を予想できることが明らかになった。次に *GATA1s* 発現量と TAM の臨床像との関連を明らかにするために、*GATA1* 変異を高発現変異 (*GATA1s high*) と低発現変異 (*GATA1s low*) の二つのグループに分類した。*GATA1* 変異を認めた 66 例の臨床データの比較では、白血球数は *GATA1s high* の群で有意に高値であった ($p = 0.004$)。早期死亡と *GATA1* 変異のタイプの間には有意の関連はみられなかったが、*GATA1s low* 変異をもつ TAM は、白血病を発症するリスクが有意に高いことが示された ($p < 0.001$)。

③ 網羅的ゲノム解析

A) TAM細胞に生じているゲノム異常

TAM、AMKL、TAM 寛解期それぞれの DNA の全エクソン解析を行い、それぞれの解析から得られたシーケンスデータをヒトゲノムにアライメントした。その結果、ターゲット領域 (50Mb) の約 80% について 20 倍以上の解析深度で変異解析を行うことが可能であった。TAM、AMKL 検体のデータからそれぞれ 37470 個、36462 個の single nucleotide variant (SNV) の候補が同定された。これらの SNV のうち、大多数は dbSNP131 に登録されている一塩基多型および寛解試料にみられる SNP であったが、これらの該当しない somatic な遺伝子変異として、TAM において 119 個、また AMKL については 218 個の候補が同定された。さらにアミノ酸置換を伴わない SNV、splice site 以外の non-coding 領域にみられた SNV などを除いた後、TAM および AMKL について、それぞれ 3 個および 10 個の somatic mutation の候補が同定された。これらの中には、これまでに既に本患者において既に同定されていた *GATA1* 遺伝子変異を含んでいたが、*GATA1* 以外にも多数の遺伝子変異の候補が同定された。AMKL 時にはより多くの somatic mutation の候補が同定されたが、その多くはこれまで AMKL で報告のなかった変異だった。コピー数異常に関しては、TAM 検体では 21 trisomy 以外に異常は検出されなかったが、AMKL 検体では 21 trisomy 以外にも複数のコピー数異常が検出され、SNP array と同様の結果が得られた。

④ マーカー解析

現在計画中的 TAM の登録システムでは、末梢血を用いたフローサイトメトリーによる表面マーカー解析が計画されている。検査後の余剰検体の保管体制を整えるとともに、解析施設における保存手順と解析施設から検体保存施設への移送手順を整備し、手順書(案)を作成し

た。

⑤ サイトカインの測定

IL-1 β 、TNF- α 、INF- γ の高値例があり、少数例の検討ではあるが、臨床像との関係を検討中である。

3) 細胞保存

検体保存は、患者ひとりにつき末梢血由来の TAM 芽球検体を最大 5 本 (1 本あたりの細胞数は 1×10^7 個を想定、微小残存病変解析は 1 本) 保存すること、検査後の検体は赤血球除去し、セルバンカーに 1×10^7 程度に浮遊させ、 -80°C で凍結、液体窒素タンクで保管すること、検体 1 個につき個別の保存用匿名化番号 (乱数) を発行し、登録研究の登録番号、検査施設整理番号とは異なる独自の番号で管理すること、保存用匿名化番号は、検体保存施設である国立成育医療研究センター研究所で発行し、検査担当施設に事前に送付され、検査担当施設で検体チューブに添付すること、検体の保存用匿名化番号、種類、量、保管場所等は専用の検体情報シートにて管理すること、検査担当施設は、一定数の検体が集まった時点で、検体と情報を記入した検体情報シートを検体保存施設に送付することである。実際の検体保存は小児血液・腫瘍研究部内の液体窒素タンクを予定している。

D. 考察

2 年間の研究班の活動により新生児科医師が日本小児血液学会の疾患登録システムを用いることにより一本化された。これにより TAM の全体像の把握が可能となり、これまで診療する医師により分断されていた TAM の診断と治療が統一される画期的なことになった。また、このシステムに登録されていない新生児側の症例については、日本未熟児新生児学会の希有疾患サーベイランス委員会の対象疾患として承認されたので、これまで把握ができなかった新生児施設のみに入院した TAM 症例も把握できるようになった。実際はサーベイランス事業は始まったばかりで報告数が少ないのが課題であり、今後学会等で啓蒙する必要がある。

<サーベイランス参加施設と非参加施設への調査>

今年度より、日本未熟児新生児学会の新生児希有疾患前方視的サーベイランス事業で、ダウン症に合併した TAM 症例の登録が 3 年間の予定で開始しており、症例報告が、サーベイランス参加施設のモニター員よりなされている。これと並行して、同学会新生児希有疾患サーベイランス委員会の許可のもと、サーベイランス参加施設に対して、2006 から 2009 年までの TAM 症例に関する後方視的調査を計画、実施した。サーベイランス参加施設は、全国で 118 施設あった。

この調査に先だって、本年度は、日本周産期新生児学会周産期 (新生児) 専門医研修施設に登録された 460 施設のうち、サーベイランス参加施設を除いた非参加施設に対して、昨年度の 2006~2008 年の症例についての調査に引き続き、2009 年の症例について同様の調

査を行った。昨年度の調査結果と統合して検討を加えた。施設背景を、サーベイランス参加施設と比較した。全国の総合周産期施設、地域周産期施設はそれぞれ 84 施設、342 施設(2010 年 4 月 1 日現在)あり、今回の調査では、これらの施設の総数の中の、総合周産期施設の 56%、地域周産期施設の 32%にあたる施設からの回答を得た。また、サーベイランス非参加施設の半数近くは、総合・地域周産期施設に含まれない施設であり、一部の国立病院の他、地域の基幹病院のうち、基準は満たさないが第一線で新生児医療を担う多くの中規模病院が含まれていると考えられ、実際のダウン症や TAM が様々の規模の病院で発見、治療されていることが伺われた。

サーベイランス参加施設では 62%の施設で小児血液専門医がいるのに対し、サーベイランス非参加施設では 47%と、半分以上の施設では TAM やその他の血液疾患について治療できる小児血液専門医がいなかった。

両施設群の 2 次調査を比較すると、臨床症状や検査所見、予後に差はなく、重症度や病態は各々の施設で経験される TAM の間に差はなかった。治療の面で、輸血、交換輸血、ステロイドといった補助療法は差がなかったが、化学療法施行例は、サーベイランス参加施設で多かった。2009 年までの症例では、施設群間で治療に差がみられたが、今後、非参加施設でも化学療法施行例がさらに増加し、差は縮小すると考えられた。

<2 次調査票の検討から>

今回の新生児施設の 2006~2009 年の 4 年間の後方視的検討で得られたデータからは、出血症状と全身浮腫が、早期死亡と強い関連があり、その他、芽球数や白血球数の増多といった白血病としての因子と、肝逸脱酵素や LDH などの肝障害を表す因子の関与が示唆された。今回のデータから導き出された関連因子は、これまでの報告と共通するものが多かった。また以上の因子から、ダウン症に見られる TAM は、一過性白血病としての性質と、肝線維症、凝固異常や閉塞性黄疸といった肝機能障害で特徴づけられる面の片方または両方を有する可能性が推察された。

<日本小児血液学会 TAM 委員会の観察研究>

今回の観察研究の開始により、日本の TAM 症例の均質な情報が集積され、推奨治療の提示により TAM に対する対応が統一して行われ、症例の把握と重症例の治療などが標準化されて行われるようになり、予後不良であった TAM の予後を改善することができ、死亡例を減少させるのみならず、重症例の生存の質(QOL)を改善し、長期入院する患者が少なくなり、経済的効果も得られると思われる。

少量シタラビン療法施行例の検討では、副作用は少なく、早期に治療介入を行うことで白血球数高値の症例において予後を改善する可能性が示された。今後、ハイリスク TAM に対する前向き治療研究による確認が必要である。

ゲノム解析では、データベース上には解析した症例と同一の染色体異常は存在しなかったが、いずれか一方

の切断点を有する症例は複数存在した。このような症例の切断点には共通の遺伝子が関与している可能性が示唆される。データベース上には、その他にも複数の症例で共通の転座切断点と思われる箇所がいくつか存在している。それらの切断点がゲノムレベルで真に同一であれば、TAMおよびAMKLの発症に関与する遺伝子は複数存在すると考えられる。TAMおよびAMKLの発症に関与する遺伝子を同定するうえで、染色体異常は非常に有力な手掛かりとなる。染色体情報に高密度SNPアレイ解析によるゲノム切断点の詳細な解析を加えることにより、TAMおよびAMKLに関与する遺伝子の同定が可能であると思われる。

また、TAM 検体では somatic mutation の候補が AMKL 検体に比べて少なく、これまで考えられていた trisomy 21 (first event)に加えて、GATA1 遺伝子変異が起こる(second hit)ことにより TAM を発症し、TAM における GATA1 遺伝子異常に加えていくつかの遺伝子変異が蓄積して AMKL を発症するというダウン症候群における TAM、AMKL 発症のモデルを裏付けるものであると考えられた。今後さらに複数例で同様の解析を行って、同様の傾向がみられるか検討する必要がある。また、GATA1 遺伝子以外に同定された変異遺伝子については TAM、AMKL の発症にどのように関与しているか、あるいは複数症例で共通する遺伝子変異があるかなど、さらに詳細な検討の必要があると考えられた。

TAM では、GATA1 変異により N 末端が欠失する GATA1s 蛋白のみが発現することが知られていた。今回の検討で、初めて GATA1 変異が GATA1s の発現レベルに影響を与えることを見いだした。GATA1 変異は、推定される GATA1s の発現量により 2 つのグループに分類された。臨床像の比較から、GATA1s low 変異は有意に白血病発症を起こしやすく、診断時の末梢血白血球数が低値であることが明らかになった。これらの結果は、GATA1 変異によって生じる GATA1s 蛋白の発現量の違いが TAM の表現型に重大の影響を及ぼすことを示唆している。

今回の解析では、TAM の早期死亡を予測する GATA1 変異を同定することはできなかった。我々は、臨床検体をさらに収集し、GATA1 変異の種類から早期死亡を推定することが可能かどうか解析を進めている。

細胞表面マーカーと検体保存では、TAM の登録システムでは、末梢血の細胞表面マーカーを中央検査する計画で、検査後に少量ながら余剰分が生じると想定される。これらを用いて初診時に予後を予測し、治療方針決定に有用なマーカーの確立が望まれる。また、前方視的登録システムと連携した検体保存を行うことにより、これらの研究が推進されることが期待される。TAM 症例は、単独施設で解析するには発生数が少ないことから多施設での共同した研究推進が期待される。

また、重症例の抽出と病態解明のために、ゲノムアレイによる網羅的ゲノム解析を行った。それによって TAM でみられた染色体切断点近傍の遺伝子解析、GATA1 変異と臨床像の関係の解析を行うことができ、TAM の機

序の解明に貢献できた。今後、登録される多数の症例の細胞保存システムを利用して解析すれば、TAM でみられる高サイトカイン血症や肝線維症の機序や TAM の分子機構およびモザイク型ダウン症候群や正常児に発生した TAM の機序の解明に役立ち、TAM から白血病に進展する機序も明らかになり、ひいては成人のがんの発生と進展機構の解明にも貢献すると思われる。

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のTAM委員会により、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開始できた。今後、この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情報が得られるものと期待される。またこれで見のがされてきた新生児側の症例も把握できるシステムが確立したので、本邦のTAMの実態が明らかにされ、機序の解明や患者のQOLも改善されるものと思われる。

F. 健康危険情報

今年度は登録システムを確立し、シタラビン少量療法等の観察研究が開始されたので、有害事象と健康危険情報に対して注意を払う必要がある。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Kanezaki R, Toki T, Terui K, Xu G, Wang R, Shimada A, Hama A, Kanegane H, Kawakami K, Endo M, Hasegawa D, Kogawa K, Adachi S, Ikeda Y, Iwamoto S, Taga T, Kosaka Y, Kojima S, Hayashi Y, Ito E. Down syndrome and GATA1 mutations in transient abnormal myeloproliferative disorder: mutation classes correlate with progression to myeloid leukemia. *Blood*. 116 : 4631-4638, 2010
2. 林 泰秀. ダウン症候群に発症した transient abnormal myelopoiesis (TAM) への対応. 周産期医学, 40 : 937-941, 2010
3. 川村眞智子, 菊地 陽. 特集: 新 WHO 分類 - MDS 委員会/白血病委員会ダウン症候群に関連した骨髄増殖症 -2008 WHO 分類より-日本小児血液学会雑誌 24 : 168-174, 2010
4. Shiba N, Taki T, Park MJ, Nagasawa M, Kanazawa T, Takita J, Ohnishi H, Sotomatsu M, Arakawa H, Hayashi Y. *CBL* mutation in childhood therapy - related leukemia. *Leukemia* (in press)
5. Oki K, Takita J, Hiwatari M, Nishimura R, Sanada M, Okubo J, Adachi M, Sotomatsu M, Kikuchi A, Igarashi T, Hayashi Y, Ogawa S. IDH1 and IDH2 mutations are rare in pediatric myeloid malignancies. *Leukemia*. 25 : 382-384, 2011
6. Kawamura M, Kaku H, Ito T, Funata N, Taki T, Shimada A, Hayashi Y. FLT3-internal tandem duplication, CD56 expression, and obstructive jaundice due to granulocytic sarcoma at relapse in a pediatric patient with t(8;21) acute myeloid leukemia. *Cancer Genet Cytogenet* 203 : 292-296,

2010

7. Taketani T, Taki T, Nakamura T, Kobayashi Y, Ito E, Fukuda S, Yamaguchi S, Hayashi Y. High frequencies of simultaneous FLT3-ITD, WT1 and KIT mutations in hematological malignancies with NUP98-fusion genes. *Leukemia*. 24 : 1975-1977, 2010
8. Ogawa S, Takita J, Sanada M, Hayashi Y. Oncogenic mutations of ALK in neuroblastoma. *Cancer Science*. 102 : 302-308, 2011
9. Shiba N, Kanazawa T, Park MJ, Okuno H, Tamura K, Tsukada S, Hayashi Y, Arakawa H. NOTCH1 mutation in a female with myeloid/NK cell precursor acute leukemia. *Pediatr Blood Cancer*. 55 : 1406-1409, 2010
10. Minobe K, Ono R, Matsumine A, Shibata-Minoshima F, Izawa K, Oki T, Kitaura J, Iino T, Takita J, Iwamoto S, Hori H, Komada Y, Uchida A, Hayashi Y, Kitamura T, Nosaka T. Expression of ADAMTS4 in Ewing's sarcoma. *Int J Oncol*. 37 : 569-581, 2010
11. Kato M, Yamada Y, Maruyama K, Hayashi Y. Serum eosinophil cationic protein and 27 cytokines /chemokines in acute exacerbation of childhood asthma. *Int Arch Allergy Immunol*. 152 Suppl 1:62-66, 2010
12. Mizushima Y, Taki T, Shimada A, Yui Y, Hiraumi Y, Matsubara H, Watanabe M, Watanabe K, Kamitsuji Y, Hayashi Y, Tsukimoto I, Kobayashi R, Horibe K, Tawa A, Nakahata T, Adachi S. Prognostic significance of the BAALC isoform pattern and CEBPA mutations in pediatric acute myeloid leukemia with normal karyotype: a study by the Japanese Childhood AML Cooperative Study Group. *Int J Hematol*. 91 : 831-837, 2010
13. Komeno Y, Kitaura J, Watanabe-Okochi N, Kato N, Oki T, Nakahara F, Harada Y, Harada H, Shinkura R, Nagaoka H, Hayashi Y, Honjo T, Kitamura T. AID -induced T-lymphoma or B-leukemia/lymphoma in a mouse BMT model. *Leukemia*. 24 : 1018-1024, 2010
14. Tsuchida M, Ohara A, Manabe A, Kumagai M, Shimada H, Kikuchi A, Mori T, Saito M, Akiyama M, Fukushima T, Koike K, Shiobara M, Ogawa C, Kanazawa T, Noguchi Y, Oota S, Okimoto Y, Yabe H, Kajiwarra M, Tomizawa D, Ko K, Sugita K, Kaneko T, Maeda M, Inukai T, Goto H, Takahashi H, Isoyama K, Hayashi Y, Hosoya R, Hanada R; Tokyo Children's Cancer Study Group. Long-term results of Tokyo Children's Cancer Study Group trials for childhood acute lymphoblastic leukemia, 1984-1999. *Leukemia*. 24 : 383-396, 2010
15. Shiba N, Kato M, Park MJ, Sanada M, Ito E, Fukushima K, Sako M, Arakawa H, Ogawa S, Hayashi Y. *CBL* mutations in juvenile myelomonocytic leukemia and pediatric myelodysplastic syndrome. *Leukemia*. 24 : 1090-1092, 2010
16. Muramatsu H, Makishima H, Jankowska AM, Cazzolli H, O'Keefe C, Yoshida N, Xu Y, Nishio N, Hama A, Yagasaki H, Takahashi Y, Kato K, Manabe A, Kojima S, Maciejewski JP. Mutations of E3

- ubiquitin ligase Cbl family members but not TET2 mutations are pathogenic in Juvenile Myelomonocytic Leukemia. *Blood* 115 : 1969-1975, 2010
17. Sugimoto Y, Muramatsu H, Makishima H, Prince C, Jankowska AM, Yoshida N, Xu Y, Nishio N, Hama A, Yagasaki H, Takahashi Y, Kato K, Manabe A, Kojima S, Maciejewski JP. Spectrum of molecular defects in juvenile myelomonocytic leukaemia includes ASXL1 mutations. *British journal of haematology* 150 : 83-87, 2010
 18. Takagi M, Shinoda K, Piao J, Mitsui N, Matsuda K, Muramatsu H, Doi S, Nagasawa M, Morio T, Kasahara Y, Koike K, Kojima S, Takao A, Mizutani S. Autoimmune lymphoproliferative syndrome-like disease with somatic KRAS mutation. *Blood* 117 : 2887-2890, 2011
 19. Yamashita Y, Yuan J, Suetake I, Suzuki H, Ishikawa Y, Choi YL, Ueno T, Soda M, Hamada T, Haruta H, Takada S, Miyazaki Y, Kiyoi H, Ito E, Naoe T, Tomonaga M, Toyota M, Tajima S, Iwama A, Mano H. Array-based genomic resequencing of human leukemia. *Oncogene*. 29 : 3723-31, 2010.
 20. Aikawa Y, Katsumoto T, Zhang P, Shima H, Shino M, Terui K, Ito E, Ohno H, Stanley ER, Singh H, Tenen DG and Kitabayashi I. PU.1-mediated upregulation of *M-CSFR* is critical for MOZ-leukemia stem cell potential. *Nature Medicine*. 16 : 580-585, 2010.
 21. Sherborne AL, Hosking FJ, Prasad RB, Kumar R, Koehler R, Vijaykrishnan J, Papaemmanuil E, Bartram CR, Stanulla M, Schrappe M, Gast A, Dobbins SE, Ma Y, Sheridan E, Taylor M, Kinsey SE, Lightfoot T, Roman E, Irving JA, Allan JM, Moorman AV, Harrison CJ, Tomlinson IP, Richards S, Zimmermann M, Szalai C, Semsei AF, Erdelyi DJ, Krajcinovic M, Sinnett D, Healy J, Neira AG, Kawamata N, Ogawa S, Koeffler HP, Hemminki K, Greaves M, Houlston RS. Variation in CDKN2A at 9p21.3 influences childhood acute lymphoblastic leukemia risk. *Nat Genet*. 42 : 492-494, 2010
 22. Ogawa S, Shih LY, Suzuki T, Otsu M, Nakauchi H, Koeffler HP, Sanada M. Deregulated Intracellular Signaling by Mutated c-CBL in Myeloid Neoplasms. *Clin Cancer Res*. 16 : 3825-3831, 2010
 23. Ogawa S, Sanada M, Shih LY, Suzuki T, Otsu M, Nakauchi H, Koeffler HP. Gain-of-function c-CBL mutations associated with uniparental disomy of 11q in myeloid neoplasms. *Cell Cycle*. 2010;9.
2. 学会発表
 1. 朴 明子, 外松 学, 林 泰秀. 肝機能障害を伴う TAM の臨床像について. 第 114 回小児血液腫瘍懇話会, 東京 2010.10.29
 2. 村松秀城, 菊地 陽, 林 泰秀, 川村眞智子, 小島勢二, 矢部みはる, 磯山恵一, 滝 智彦, 辻浩一郎, 土田昌宏, 真部 淳. ダウン症候群に合併した一過性骨髄異常増殖症 148 例の後方視的解析. 第 52 回日本小児血液学会総会・第 26 回日本小児がん学会学術集会, 大阪, 2010.12.17
 3. Muramatsu H, Hayashi Y, Kawamura M, Kojima S, Yabe M, Isoyama K, Taki T, Tsuji K, Tsuchida M, Manabe A, Ito E, Iwamoto S, Kato H, Sumie A, Taga T, Nomura K, Hasegawa D, Watanabe K, Kikuchi A. Low-dose cytosine arabinoside therapy for neonates with down syndrome (DS) and transient leukemia (TL). The 53rd ASH Annual Meeting and Exposition, Orlando, U.S.A. 2010.12.6
 4. Ito E, Kanezaki R, Toki T, Terui K, Wang RN, Toki T. Down syndrome and *GATA1* mutations in transient abnormal myeloproliferative disorder: mutation classes affect the phenotype of the disorder. 5th International Symposium on GATA factors. November 17-19, 2010, Sendai (invited speaker).
 5. 伊藤悦朗, 照井君典, 土岐力. TAM の分子診断 (シンポジウム: 小児血液疾患の分子診断の進歩とその臨床応用). 第 113 回日本小児科学会学術集会, 平成 22 年 4 月 23~25 日, 盛岡市.
 6. 伊藤加奈子, 本島由紀子, 山名啓司, 栗嶋クララ, 國方徹也, 森脇浩一, 側島久典, 田村正徳. 十二指腸閉鎖症を伴った一過性異常骨髄増殖症 (TAM) の 1 例. 第 86 回埼玉県小児血液同好会, さいたま, 2010.12.2
 7. Toki T, Kanezaki R, Wang RN, Terui K, Hayashi Y, Miura M, Maeda M, Ito E. Internal deletions of transcription factor GATA1 observed in transient abnormal myelopoiesis. 第 72 回日本血液学会学術集会, 横浜, 2010.9.25
 8. 鮫島希代子, 丸山健一, 林 泰秀. ダウン症候群グループ診療のとりくみ. 第 185 回日本小児科学会群馬地方会講話会, 前橋, 2010.11.28
 9. 朴 明子, 加藤元博, 清河信敬, 滝田順子, 真田 昌, 小川誠司, 林 泰秀. 小児 T 細胞性急性リンパ性白血病における網羅的ゲノム解析. 第 113 回日本小児科学会学術集会, 岩手, 2010.4.24
 10. 柴 徳生, 加藤元博, 朴 明子, 真田 昌, 金澤 崇, 黒澤秀光, 伊藤悦朗, 荒川浩一, 小川誠司, 林 泰秀. 若年性骨髄単球性白血病における CBL 遺伝子の解析. 第 113 回日本小児科学会学術集会, 岩手, 2010.4.24
 11. 滝田順子, 西村 力, 大木健太郎, 金兼弘和, 大喜多肇, 藤本純一郎, 菊地 陽, 林 泰秀, 五十嵐隆, 小川誠司. Ewing/PNET family における ALK 遺伝子の解析. 第 113 回日本小児科学会学術集会, 岩手, 2010.4.24
 12. 外松 学, 佐野弘純, 朴 明子, 山田佳之, 加藤政彦, 林 泰秀. 当科にて経験した血球貧食症候群 12 例の臨床的検討. 第 113 回日本小児科学会学術集会, 岩手, 2010.4.24
 13. 大木健太郎, 滝田順子, 西村 力, 加藤元博, 陳 玉彦, 真田 昌, 菊地 陽, 林 泰秀, 五十嵐隆, 小川誠司. 神経芽腫における部分欠損型

- ALK の活性化. 第 113 回日本小児科学会学術集会, 岩手, 2010.4.24
14. 林 泰秀. 小児白血病の発症, 進展の分子遺伝学. 113 回日本小児科学会学術集会, 岩手, 2010.4.25
 15. 柴徳生, 加藤元博, 朴明子, 真田昌, 金澤崇, 福島啓太郎, 伊藤悦朗, 工藤寿子, 荒川浩一, 小川誠司, 林泰秀. 小児白血病と MDS における CBL と MPL 遺伝子の解析. 第 7 回北関東小児がんセミナー, 高崎, 2010.5.15
 16. 西村力, 滝田順子, 真田昌, 大久保淳, 大木健太郎, 加藤元博, 五十嵐隆, 林泰秀, 小川誠司. 難治性小児固形腫瘍における ALK 変異と臨床応用. 第 7 回北関東小児がんセミナー, 高崎, 2010.5.15
 17. Takita J, Nishimura R, Sanada M, Ohki K, Motohiro K, Chen YY, Kanegane H, Okita H, Fujimoto J, Kikuchi A, Igarashi T, Hayashi Y, Ogawa S. ALK gene aberrations in pediatric solid tumors. 第 6 回小児研究アジア学会, 台北, 2010.4.15
 18. Nishimura R, Takita J, Ohki K, Kato M, Chen YY, Sanada M, Kikuchi A, Igarashi T, Hayashi Y, Ogawa S. High resolution copy number analysis of Ewing sarcoma family of tumors using high-density SNP-genotyping microarrays. 第 6 回小児研究アジア学会, 台北, 2010.4.15
 19. 樋渡光輝, 滝田順子, 大久保淳, 西村 力, 大木健太郎, 内坂直樹, 安達正時, 真田 昌, 加藤啓輔, 五十嵐 隆, 林 泰秀, 小川誠司. 小児固形腫瘍における ALK 阻害剤を用いた抗腫瘍効果の検討. 第 69 回日本癌学会学術総会, 大阪, 2010.9.22
 20. 大久保淳, 滝田順子, 大木健太郎, 西村 力, 内坂直樹, 安達正時, 真田 昌, 加藤啓輔, 林泰秀, 五十嵐隆, 小川誠司. 胸膜肺芽腫における網羅的ゲノム解析. 第 69 回日本癌学会学術総会, 大阪, 2010.9.23
 21. 滝田順子, 西村 力, 大木健太郎, 樋渡光輝, 大久保淳, 内坂直樹, 真田 昌, 大喜多肇, 藤本純一郎, 金兼弘和, 五十嵐隆, 林 泰秀, 小川誠司. 小児固形腫瘍における ALK 遺伝子の関与. 第 69 回日本癌学会学術総会, 大阪, 2010.9.23
 22. 柴 徳生, 加藤元博, 朴 明子, 真田 昌, 花田良二, 伊藤悦朗, 荒川浩一, 小川誠司, 林泰秀. 小児悪性造血腫瘍における CBL 遺伝子と MPL 遺伝子の変異解析. 第 69 回日本癌学会学術総会, 大阪, 2010.9.24
 23. 朴 明子, 加藤元博, 清河信敬, 滝田順子, 小川誠司, 林 泰秀. 小児 T 細胞性造血器腫瘍における LEF1 遺伝子の異常. 第 69 回日本癌学会学術総会, 大阪, 2010.9.23
 24. 清河信敬, 恩田恵子, 橋本互, 長谷川大輔, 飯島一智, 福島 敬, 齋藤正博, 藤本純一郎, 康 勝好, 真部 淳, 菊地 陽, 熊谷昌明, 小原 明, 林 泰秀, 土田昌宏. 小児白血病のマーカ中央診断に対する 10 カラーフローサイトメトリー解析の有用性. 第 72 回日本血液学会学術集会, 横浜, 2010.9.24
 25. Oki K, Takita J, Hiwatari M, Nishimura R, Sanada M, Ohkubo J, Uchisaka N, Igarashi T, Hayashi Y, Ogawa S. Genome-wide scanning of pediatric acute myeloid leukemia using SNP-genotyping microarrays. 第 72 回日本血液学会学術集会, 横浜, 2010.9.24
 26. Oki K, Takita J, Hiwatari M, Nishimura R, Sanada M, Ohkubo J, Uchisaka N, Igarashi T, Hayashi Y, Ogawa S. Mutations of IDH1 and IDH2 in pediatric acute myeloid leukemia. 第 72 回日本血液学会学術集会, 横浜, 2010.9.24
 27. Shiba N, Kato M, Park MJ, Sanada M, Fukushima K, Kudo K, Hanada R, Ito E, Arakawa H, Ogawa S, Hayashi Y. Mutation analyses of CBL and MPL genes in childhood leukemia and myelodysplastic syndrome. 第 72 回日本血液学会学術集会, 横浜, 2010.9.26
 28. Matsubara A, Kato M, Sanada M, Takita J, Chiba S, Hayashi Y, Kobayashi Y, Watanabe T, Yoshino T, Koeffler JP, Bartram CR, Ogawa S. Genome-wide analysis using high-density SNP microarrays in various types of hematologic malignancies. 第 72 回日本血液学会学術集会, 横浜, 2010.9.25
 29. Park MJ, Kato M, Kiyokawa N, Takita J, Ogawa S, Hayashi Y. Mutations of LEF1 gene in pediatric T cell acute lymphoblastic leukemia. 第 72 回日本血液学会学術集会, 横浜, 2010.9.25
 30. Uchisaka N, Kato M, Takita J, Sanada M, Nishimura R, Oki K, Okubo J, Igarashi T, Hayashi Y, Ogawa S. Mutation analysis of lymphocyte tyrosine kinase (LTK) in acute lymphoblastic leukemia. 第 72 回日本血液学会学術集会, 横浜, 2010.9.25
 31. 柴 徳生, 朴 明子, 林 泰秀. 小児急性白血病と骨髄異形成症候群における CBL 遺伝子の解析. 第 114 回小児血液腫瘍懇話会, 東京 2010.10.29
 32. Park MJ, Kiyokawa N, Kato M, Suzuki N, Oda M, Hara J, Kobayashi R, Horibe K, Ogawa S, Hayashi Y. LEF1 gene mutations in childhood T-cell acute lymphoblastic leukemia and T cell non-hodgkin's lymphoma. The 53rd ASH Annual Meeting and Exposition, Orlando, U.S.A. 2010.12.6
 33. Shiba N, Taki T, Park MJ, Nagasawa M, Takita J, Kato M, Kanazaw T, Sotomatsu M, Arakawa H, Hayashi Y. CBL mutations in therapy-related leukemia and infant leukemia. The 53rd ASH Annual Meeting and Exposition, Orlando, U.S.A. 2010.12.7
 34. 西村 力, 滝田順子, 大木健太郎, 金兼弘和, 大喜多肇, 藤本純一郎, 陳 玉彦, 真田 昌, 五十嵐隆, 林 泰秀, 小川誠司. 小児固形腫瘍における ALK 遺伝子の解析. 第 52 回日本小児

血液学会総会・第 26 回日本小児がん学会学術集会, 大阪, 2010.12.17

35. 大久保淳, 滝田順子, 大木健太郎, 西村 力, 内坂直樹, 安達正時, 真田 昌, 加藤啓輔, 林泰秀, 小川誠司, 五十嵐隆. 高密度 SNP アレイを用いた胸膜肺芽腫における網羅的ゲノム解析. 第 52 回日本小児血液学会総会・第 26 回日本小児がん学会学術集会, 大阪, 2010.12.17
36. 佐野弘純, 嶋田 明, 村田知里, 朴 明子, 外松 学, 滝 智彦, 田渕 健, 多和昭雄, 堀部敬三, 土田昌宏, 花田良二, 月本一郎, 林 泰秀. 急性骨髄性白血病における RAS 遺伝子変異と臨床像. 第 52 回日本小児血液学会総会・第 26 回日本小児がん学会学術集会, 大阪, 2010.12.18
37. 柴 徳生, 滝 智彦, 朴 明子, 長澤正之, 金澤 崇, 外松 学, 荒川浩一, 林 泰秀. 治療関連白血病における CBL と RAS 遺伝子の解析. 第 52 回日本小児血液学会総会・第 26 回日本小児がん学会学術集会, 大阪, 2010.12.18
38. 吉田健一, 滝田順子, 西村 力, 安達正時, 大木健太郎, 大久保淳, 永田安伸, 真田 昌, 林泰秀, 五十嵐隆, 小川誠司. 次世代シーケンサーを用いたエクソンシーケンスによる神経芽腫の標的分子の解析. 第 52 回日本小児血液学会総会・第 26 回日本小児がん学会学術集会, 大阪, 2010.12.18
39. 清河信敬, 犬飼岳史, 高橋浩之, 康 勝好, 杉田完爾, 真部 淳, 菊地 陽, 熊谷昌明, 小原明, 林 泰秀, 土田昌宏. 東京小児がん研究グループ急性リンパ性白血病中央診断における Early T-cell precursor ALL のマーカーの特徴. 第 52 回日本小児血液学会総会・第 26 回日本小児がん学会学術集会, 大阪, 2010.12.18
40. 大木健太郎, 滝田順子, 樋渡光輝, 西村 力, 大久保淳, 安達正時, 真田 昌, 外松 学, 林泰秀, 小川誠司, 五十嵐隆. 小児悪性腫瘍における Isocitrate dehydrogenase 1/2 の変異解析. 第 52 回日本小児血液学会総会・第 26 回日本小児がん学会学術集会, 大阪, 2010.12.18
41. 朴 明子, 清河信敬, 加藤元博, 鈴木信寛, 小田 慈, 原 純一, 小林良二, 小川誠司, 堀部

敬三, 林 泰秀. T 細胞性急性リンパ性白血病における LEF1 遺伝子異常の解析. 第 52 回日本小児血液学会総会・第 26 回日本小児がん学会学術集会, 大阪, 2010.12.19

42. Kinoshita A, Miyachi H, Matsushita H, Taki T, Yabe M, Kiyokawa N, Terui K, Ohta H, Deguchi T, Takahashi H, Taga T, Hayashi Y, Tawa A, Adachi S, Tsurusawa M, Horibe K. A rapid approach for the integrated central review of acute myeloid leukemia diagnosis in a nationwide clinical trial for children. 52nd Annual Meeting of the American Society of Hematology, Orlando, December 4-7, 2010
43. Takita J, Nishimura R, Sanada M, Ohki K, Kato M, Chen Y, Kanegane H, Okita H, Fujimoto J, Kikuchi A, Igarashi T, Hayashi Y, Ogawa S: ALK gene aberrations in pediatric solid tumors. The 6th Congress of Asian Society for Pediatric Research & 51st Annual Meeting of Taiwan Pediatric Association, Taipei, Taiwan, April 15 ~18, 2010

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

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

平成 22 年度班会議

第 1 回 平成 22 年 6 月 19 日

名古屋

第 2 回 平成 22 年 10 月 1 日

東京

第 3 回 平成 22 年 10 月 27 日

名古屋

平成 22 年度 JPLSG TAM 委員会

第 1 回 平成 22 年 6 月 18 日

名古屋

第 2 回 平成 22 年 10 月 1 日

東京

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業

平成 22 年度第 1 回 TAM 班会議

平成 22 年 6 月 19 日(12 時～)

国立病院機構名古屋医療センター

班長あいさつ

プログラム

座長 伊藤悦朗(弘前大学小児科)

1)免疫不全マウスを用いた TAM/ML-DS の病態解析

渡邊健一郎¹⁾、才田聡¹⁾、加藤格²⁾、藤野寿典¹⁾、森嶋達也¹⁾、丹羽明²⁾、

足立壮一¹⁾³⁾、中畑龍俊²⁾、平家俊男¹⁾、照井君典⁴⁾、伊藤悦朗⁴⁾

1)京都大学大学院発達小児科学、2)京都大学物質-細胞統合システム拠点 iPS 細胞
研究センター、3)京都大学医学研究科人間健康科学系専攻、4)弘前大学小児科

2)ダウン症候群と GATA1 遺伝子変異:変異の種類は白血病の発症と関連する

弘前大学小児科 伊藤悦朗

3)ゲノムアレイの視点からの TAM と 21 トリソミー

埼玉県立小児医療センター血液・腫瘍科 加藤元博、東京大学 Cancer Board 小川誠司

座長 菊地陽(帝京大学医学部附属病院小児科)

4)新生児側から見た TAM の現況ーサーベイランス非参加施設へ後方視的調査の報告ー

国立成育医療研究センター 周産期診療部新生児科 塚本桂子

5)TAM に対する観察研究 TAM-10 について

名古屋大学小児科 村松秀城

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業

平成 22 年度第 2 回 TAM 班会議

平成 22 年 10 月 23 日 (13 時～)

東京八重洲ホール

班長あいさつ

プログラム

1) TAM にみられた GATA1 の内部欠損変異

弘前大学小児科 伊藤悦朗

2) MDS 委員会による後方視的 TAM 全国調査の解析-少量シタラビン療法の

有効性に関する検討

名古屋医科大学小児科 村松秀城

3) FCM-MRD による TAM 芽球のフォローアップパネル案

三重大学医学部小児科 岩本彰太郎、出口隆生

4) 肝機能障害を伴う TAM の臨床像について

群馬県立小児医療センター血液腫瘍科 朴明子、林泰秀

5) 新生児稀有疾患 (病態) 前方視的サーベイランス事業の進捗状況

埼玉医科大学総合医療センター小児科 森脇浩一、田村正徳

6) ダウン症候群にみられる一過性骨髄異常増殖症についての新生児施設への調査

<日本未熟児新生児学会稀有疾患サーベイランス施設および非参加施設へのアンケート調査>

国立成育医療研究センター 周産期診療部 新生児科 塚本桂子

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業

第3回 TAM 班会議

平成 22 年 11 月 12 日 (16 時 15 分～)

国立病院機構名古屋医療センター

班長あいさつ

プログラム

座長 伊藤悦朗

1) 少量シタラビン療法による早期介入は白血球高値 TAM の予後を改善させる—小児血液学会

MDS 委員会による TAM153 例の全国アンケート調査結果—

名古屋大学小児科 村松秀城

2) Down 症の TAM, AMKL でみられた血清サイトカイン異常

名古屋大学小児科 嶋田明

群馬県立小児医療センター 林泰秀

3) ヒト化マウスを用いた TAM の病態解析

京都大学小児科 渡邊健一郎

座長 滝智彦

4) TAM にみられた GATA1 の内部欠損変異

弘前大学小児科 伊藤悦朗

5) 21trisomy に関連した造血器異常の分子基盤

埼玉小児医療センター血液腫瘍科 加藤元博

東京大学 Cancer Board 真田昌、小川誠司

群馬県立小児医療センター 林泰秀

Ⅱ. 分担研究報告書

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

ダウン症候群でみられる一過性骨髄異常増殖症の遺伝子
変異による病型分類に関する研究

研究分担者 伊藤悦朗 弘前大学大学院医学研究科小児科学 教授

研究要旨: 平成22年度は、TAMにみられる*GATA1* 遺伝子の種類と変異*GATA1*タンパク(*GATA1s*)発現量との関連について解析を進めた。その結果、*GATA1* 変異は*GATA1s*タンパクの発現量に影響し、遺伝子変異から*GATA1s*タンパクの発現量を予想できることが明らかになった。そこで、次に*GATA1s*発現量とTAMの臨床像との関連を明らかにするために、*GATA1* 変異を高発現変異(*GATA1s high*)と低発現変異(*GATA1s low*)の二つのグループに分類した。弘前大学で遺伝子解析を行い、*GATA1* 変異を認めた66例のTAM症例を*GATA1* 変異により、*GATA1s high*と*low*の2群に分け臨床データを比較した。その結果、早期死亡と*GATA1* 変異のタイプの間には有意の関連は見られなかったが、*GATA1s low mutation*をもつTAMは、白血球数が*GATA1s high*の群で有意に低値であり、白血病を発症するリスクが有意に高いことが示された。以上より、*GATA1* 遺伝子の解析はTAMの確定診断に重要であるばかりではなく、予後を予想する貴重な情報を与えてくれることが示唆された。

A. 研究目的

本研究の目的は、ダウン症候群に伴うTAMの遺伝子解析を行い、治療介入が必要な重症TAMを抽出するための精度の高い診断基準と治療指針を作成することである。

B. 研究方法

これまでに全国から弘前大学小児科に集められた100例以上のTAMの臨床検体の遺伝子解析を行った。末梢血からDNAおよびRNAを抽出し、TAMのほとんどの症例で遺伝子変異が検出されている*GATA1* 変異を解析した。

(倫理面への配慮)

遺伝子解析は、弘前大学医学部倫理委員会の承認

を得て、本人あるいは両親の同意の上実施した。

C. 研究結果

2003年から2008年までに78例のTAMの臨床検体を収集し、*GATA1* 遺伝子の解析を行った。*GATA1* 変異はその内の72例に検出された。6例は複数の*GATA1*変異を有していたため、今回の解析からは除外した。残りの66例(男児32例、女児34例)の内、生後6ヶ月以内の早期死亡は16例(24.2%)であった。早期死亡は、早産、低出生体重児、診断時の白血球増多、末梢血中のTAM芽球比率の高値、体液貯留と出血傾向と関連がみられた。これらの予後因子は、これまでの研究で既に報告されていたものと同じであった。11例(16.7%)は、その後白血病を発症した。中央値