

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* 発現量に関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。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、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 ($p < 0.001$)。

D. 考察

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。我々は、今回初めて *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 の早期死亡を予知する *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。

E. 結論

TAM にみられる *GATA1* 変異は、*GATA1s* 蛋白の発現量に影響し、低発現変異は白血病の発症と有意に関連することが明らかになった。*GATA1* 変異の解析は、TAM の診断ばかりではなく、予後の判定にも有用である。

F. 健康危険情報

該当せず。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Kanezaki R, Toki T, Terui K, Xu G, Wang RN, 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. 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.
3. 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.

2. 学会発表

1. 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.

2. 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).

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

「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」

研究分担者 滝 智彦 京都府立医科大学 講師

研究要旨:TAMの経過後に発症した急性巨核芽球性白血病(AMKL)および骨髄異形成症候群(MDS)でみられた染色体異常の切断点について、SNP アレイを用いて解析した。AMKL でみられた不均衡転座に相当する領域でのゲノムコピー数変化が検出され、その領域には複数の遺伝子が存在することを確認した。これらの遺伝子の中には TAM および AMKL の病態に関与する可能性のある遺伝子が含まれている可能性が考えられる。

A. 研究目的

ダウン症候群にみられる一過性骨髄異常増殖症(TAM)では、そのほぼ全例に*GATA1*遺伝子変異がみられ、これはTAMの発症の初期段階に関与する異常であると考えられている。一方で、*GATA1*遺伝子変異以外のTAMに関与する染色体・遺伝子異常についてはあまり知られていない。我々は、染色体異常を手掛かりに、その切断点に存在すると予想されるTAMの悪性化やAMKLへの進展に関与する遺伝子の同定を試みた。

B. 研究方法

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 Cancer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。

(倫理面への配慮)

患児検体の解析にあたっては、患児の両親の同意を得て行なった。遺伝子解析については京都府立医科大学倫理委員会の承認を得ている。

C. 研究結果

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の近傍にはどちらも複数の遺伝子が存在していた。一方、*t(7;11)(p13;p14)*を有するMDS症例では、染色体分析での切断点に相当する箇所にはコピー数の変化は観察されなかった。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。コピー数変化の領域の一部は両症例で共通していたが、それらの箇所を含む全てのコピー数変化の部位は、いずれもコピー数多型として報告されている

領域だった。

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 (FAB分類M7)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。

D. 考察

同一症例でのTAMおよびAMKLに共通して観察された転座切断点近傍に存在する遺伝子の中に、TAMおよびAMKLの発症に関与する遺伝子が存在する可能性を考え解析を行っている。データベース上にはこの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に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、染色体情報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。

E. 結論

TAMおよびAMKLでみられる染色体切断点の中には、複数の症例で共通にみられる切断点が複数存在していた。これらの切断点近傍に存在する遺伝子の中に、TAMの発症、重症化、AMKLへの進展に関与する遺伝子が存在すると思われる。そのような遺伝子を同定することが、TAMおよびAMKLの診断および治療戦略にとつ

て有用なものとなると思われる。

F. 健康危険情報
該当せず

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Watanabe M, Nakahata S, Hamasaki M, Saito Y, Kawano Y, Hidaka T, Yamashita K, Umeki K, Taki T, Taniwaki M, Okayama A, Morishita K. Down-regulation of CDKN1A in adult T cell leukemia/lymphoma despite overexpression of CDKN1A in HTLV-1-infected cell lines. *J Virol* 84: 6966-6977, 2010
2. Mizushima Y, Taki T, Shimada A, Yui M, 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
3. Taketani T, Taki T, Nakamura T, Ohyashiki K, Kobayashi Y, Fukuda S, Yamaguchi S, Hayashi Y. High frequencies of simultaneous FLT3-ITD and WT1 mutations in myeloid leukemia with NUP98-HOX fusion genes. *Leukemia* 24: 1975-1977, 2010
4. Kawamura M, Kaku H, Ito C, Funada N, Taki T, Shimada A, Hayashi Y. FLT3-internal tandem duplication in a pediatric patient with t(8;21) acute myeloid leukemia. *Cancer Genet Cytogenet* 203: 292-296, 2010

2. 学会発表

1. Taki T, Sakamoto N, Yamada J, Tsutsumi Y, Kobayashi S, Nagoshi H, Matsubara K, Nishida K, Taniwaki M. Novel PAX5-FOXP2 fusion gene in childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. 第 72 回日本血液学会学術集会, 横浜, 2010.9.24~26
2. Kinoshita A, Miyachi H, Taki T, Kiyokawa N, Terui K, Ohta H, Deguchi T, Takahashi H, Taga T, Hayashi Y, Tawa A. A comprehensive and rapid approach for the central review of acute myeloid leukemia diagnosis in a nationwide clinical trial. 7th Bi-Annual Childhood Leukemia Symposium, Antalya, October 4-6, 2010
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). 52nd Annual Meeting of the American Society of Hematology, Orlando, December 4-7, 2010

4. Goto M, Hanamura I, Wakabayashi M, Nagoshi H, Taki T, Imai N, Goto M, Mizuno S, Takahashi M, Suganuma K, Hiramatsu A, Yamamoto H, Watarai M, Shikami M, Imamura A, Mihara H, Taniwaki M, Miwa H, Nitta M. Establishment and characterization of a novel human myeloid leukemia cell line, AMU-AML1, carrying t(12;22)(p13;q11) with no fusion of MN1-TEL. 52nd Annual Meeting of the American Society of Hematology, Orlando, December 4-7, 2010
5. Koh K, Tomizawa D, Moriya Saito A, Watanabe T, Ogawa A, Sato T, Hirayama M, Takahashi Y, Saikawa Y, Miyamura T, Kato K, Sugita K, Sato T, Taki T, Mizutani S, Tsurusawa M, Horibe K, Ishii E. Early phase administration of hematopoietic stem cell transplantation to prevent early relapse for infants with acute lymphoblastic leukemia and MLL gene rearrangement; a report from the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group (JPLSG) Trial MLL03. 52nd Annual Meeting of the American Society of Hematology, Orlando, December 4-7, 2010
6. Shiba N, Taki T, Park M, Nagasawa M, Takita J, Kato M, Kanazawa T, Sotomatsu M, Arakawa H, Hayashi Y. CBL mutations in therapy-related leukemia and infant leukemia. 52nd Annual Meeting of the American Society of Hematology, Orlando, December 4-7, 2010
7. Nagoshi H, Taki T, Kuroda J, Nishida K, Gotoh M, Okuda K, Kobayashi S, Yamamoto M, Tsutsumi Y, Kobayashi T, Matsumoto Y, Horiike S, Otsuki T, Taniwaki M. Identification and functional significance of novel type of structurally aberrant transcripts of DCC in B-cell malignancies. 52nd Annual Meeting of the American Society of Hematology, Orlando, December 4-7, 2010
8. 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

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

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

研究分担者 大喜多 肇 国立成育医療研究センター研究所 室長

研究要旨:一過性骨髄増殖症の予後を把握し、検査値や臨床データから重症例の抽出と標準的治療法確立を目指す前方視的な登録システムの中で、フローサイトメトリーによる末梢血のマーカー解析検査後の余剰検体を将来の研究に役立てるために有効に保存するシステムの確立を行った。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、予後予測や診断法・治療法開発のための研究推進が期待される。

A. 研究目的

一過性骨髄異常増殖症(transient abnormal myelopoiesis, TAM)は、ダウン症候群患児の新生児期に発症する一過性に白血病様芽球が末梢血中に増加する疾患である。その頻度はダウン症候群患児の約10%(100人/年)といわれているが、正確な数の把握はなされていない。TAMの症例の多くではGATA1遺伝子の変異が同定されており、この変異はTAM発症に関係していると考えられている。これまで、無治療経過観察のみで芽球は自然に消失し、比較的予後良好であると考えられていたが、近年臓器障害のために早期死亡する症例が約30%みられることが報告されている。一方、こういった重症例に対して少量シタラビンによる化学療法の有効性も示されつつあり、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は新生児期に発症するため、これまで新生児施設で診断、治療する事が多く、また予後良好と考えられていたため登録もされず、本邦における全数把握もされていない。また自然治癒する例と、難治例の鑑別が困難であり、難治例に対する標準的治療も確立していない。現在、小児血液学会の登録システムを用いて、新生児科の医師も小児血液学会員を通して登録ができるようにし、全数把握を試み、重症例の抽出を行うことが計画されている。

欧米ではTAMについては従来から解決すべき大きな問題とされていたが、米国のCOGグループとヨーロッパのI-BFMグループが検討を報告した。また我が国においても未熟児、新生児学会において血液と新生児の医師が合同でシンポジウムを開催し協議の場が設けられた。本邦の後方的視的解析では妊娠在胎週数、血清ビリルビン値等が予後不良因子であるとされた。本研究では、現在検討されている、全数把握、検査値や臨床データから重症例の抽出と標準的治療を目指す前方視的な登録システムの中で、骨髄、末梢血のマーカー解析を行って、重症例抽出のための基礎データを蓄積するとともに、検査後の余剰検体を将来の研究に役立てるために保存

するシステムを立ち上げることを目的とした。

B. 研究方法

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う計画である。その中で少量ではあるが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良い検体保存システムを目指して作成した。

(倫理面への配慮)

患児検体の解析・検体保存にあたっては、患児の保護者・親権者に説明の上、検査施設に検体を送付して検査・検体保存を行なうことの同意を取得した上で行なうこととした。血液疾患罹患患児のマーカー検査の実施については倫理委員会の承認を得ている。

C. 研究結果

現在計画中の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。

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、セルパンカーに 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

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を送付され、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。検体保存の流れ(案)を参考資料として添付した。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

TAM診断にあたっては臨床所見・臓器機能評価とともに末梢血の血算、ギムザ染色等による形態学的診断、細胞表面マーカー、染色体検査、GATA1遺伝子検査等が行われることが想定される。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。過去にはTAMは予後良好な疾患と考えられていたが、実際には臓器浸潤等のため予後不良な症例も混在しており、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、TAM発生に関わる分子遺伝学的知見としては、21トリソミーとGATA1遺伝子変異があるが、これ以外の分子遺伝学的な解析も必要である。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。

E. 結論

TAMの全数把握、検査値や臨床データから重症例の抽出と標準的治療を目指す前方視的な登録システムの中で、中央で細胞表面マーカー解析を行った後の余剰検体を、将来の研究に活用するために有効に保存するシステムの確立を行った。TAM患児からの検査後の余剰検体は非常に限られており、少しでも多くの検体を残して有効に保存し、将来的な研究に活用するための工夫が必要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Onda K, Iijima K, Katagiri YU, Okita H, Saito M, Shimizu T, Kiyokawa N. Differential effects of BAFF on B cell precursor acute lymphoblastic leukemia and Burkitt lymphoma. Int J Hematol. 91 : 808-19, 2010

2. 学会発表

該当なし

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

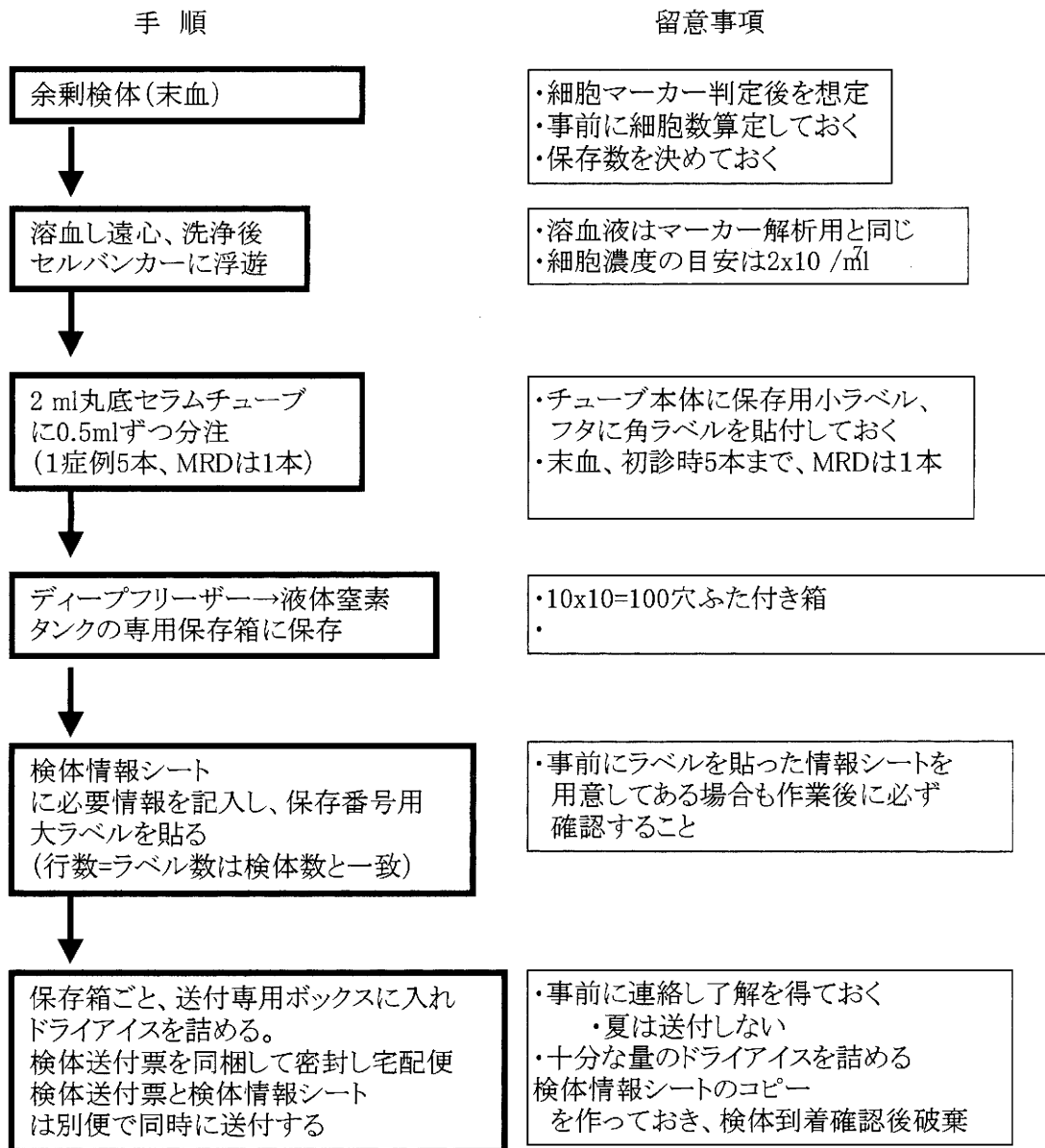
2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

一過性骨髄増殖症 検査施設における末梢血の保存手順の流れ(案)



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

分担研究者 小川 誠司 東京大学医学部附属病院 Cancer Board 特任准教授

研究要旨

Down 症候群に合併する一過性骨髄増殖症(TAM)については、GATA1 変異がその発症に必須であると考えられるが、TAM の発症において他の遺伝子変異も関与するのかどうか、また TAM から AMKL への移行に際して生ずると考えられる付加的な遺伝子変異については十分な理解が得られていない。そこで本研究では、近年の高速シーケンス技術を用いて、一例の TAM/AMKL 検体について網羅的な変異解析を行った。その結果、TAM においては GATA1 遺伝子変異が 21 trisomy 以外の主な遺伝子異常であり、一方 AMKL においては GATA1 遺伝子変異以外にも複数の遺伝子の変異が起こっていることが示唆された。

A. 研究目的

一過性骨髄増殖症(TAM)は、ダウン症候群児の一部にみられる新生児期に白血病様芽球が末梢血中に増加する病態であり、多くは自然寛解し予後良好な疾患と考えられているが、10～20%は致死的な経過をたどる。また、TAM を発症した症例の約 20%が 4 歳までに骨髄異形成症候群(MDS)や急性巨核芽球性白血病(AMKL)に移行する。TAM では実質的に全例において赤血球・巨核球の分化に必須の転写因子である GATA1 遺伝子変異が生じていることが知られているが、他の付加的遺伝子変異の要否・詳細については十分には進んでいない。また、GATA1 変異に加えていくつかの遺伝子の変異が蓄積することで、TAM から MDS、AMKL に移行すると考えられているが、どのような遺伝子変異が起こっているかの全貌は十分にはわかっていない。われわれは、昨年度までの SNP アレイを用いた TAM および TAM から移行した AMKL の網羅的なゲノム解析によって、TAM 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ず、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 であることを確認した。また、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。一方、近年一度に膨大なシーケンスデータが得られる高スループットな高速シーケンサーが利用できるようになり、多くの癌において共通の遺伝子変異を見つけるために大規

模なリシーケンススタディが行われている。そこで我々はダウン症候群における TAM および TAM から移行した AMKL の分子病態を明らかにするために、この技術を用いて TAM および AMKL 検体の網羅的な変異解析を行った。

B. 研究方法

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。(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. 結果

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。

D. 考察

今回の解析では、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。

E. 結論

高速シーケンサーを用いて、ダウン症候群に合併したTAM、AMKL検体の網羅的な変異解析を行い、TAMにおいてはGATA1遺伝子変異が21 trisomy以外の主な遺伝子異常であり、一方AMKLにおいてはGATA1遺伝子変異以外にも複数の遺伝子の変異が起こっていることが示唆された。今後多数症例の解析による詳細な検討が重要と考えられた

F. 健康危険情報

なし。

1. 論文発表

1. Warren EH, Fujii N, Akatsuka Y, Chaney CN, Mito JK, Loeb KR, Gooley TA, Brown ML, Koo KK, Rosinski KV, Ogawa S, Matsubara A, Appelbaum FR, Riddell SR. Therapy of relapsed leukemia after allogeneic hematopoietic cell transplantation with T cells specific for minor histocompatibility antigens. Blood.115 : 3869-3878, 2010
2. Villalobos IB, Takahashi Y, Akatsuka Y, Muramatsu H, Nishio N, Hama A, Yagasaki H, Saji H, Kato M, Ogawa S, Kojima S. Relapse of leukemia with loss of mismatched HLA resulting from uniparental disomy after haploidentical hematopoietic stem cell transplantation. Blood. 115 : 3158-3161, 2010
3. Thoenissen NH, Krug UO, Lee DH, Kawamata N, Iwanski GB, Lasho T, Weiss T, Nowak D, Koren-Michowitz M, Kato M, Sanada M, Shih LY, Nagler A, Raynaud SD, Muller-Tidow C, Mesa R, Haeflrich T, Gilliland DG, Tefferi A, Ogawa S, Koeffler HP. Prevalence and prognostic impact of allelic imbalances associated with leukemic transformation of Philadelphia chromosome-negative myeloproliferative neoplasms. Blood.115 : 2882-2890, 2010
4. Tada M, Kanai F, Tanaka Y, Sanada M, Nannya Y, Tateishi K, Ohta M, Asaoka Y, Seto M, Imazeki F, Yoshida H, Ogawa S, Yokosuka O, Omata M. Prognostic significance of genetic alterations detected by high-density single nucleotide

- polymorphism array in gastric cancer. *Cancer Sci.* 101 : 1261-1269, 2010
5. 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
 6. Sherborne AL, Hosking FJ, Prasad RB, Kumar R, Koehler R, Vijayakrishnan 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
 7. Okamoto R, Ogawa S, Nowak D, Kawamata N, Akagi T, Kato M, Sanada M, Weiss T, Haferlach C, Dugas M, Ruckert C, Haferlach T, Koeffler HP. Genomic profiling of adult acute lymphoblastic leukemia by single nucleotide polymorphism oligonucleotide microarray and comparison to pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica.* 95 : 1481-1488, 2010
 8. 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
 9. 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.
 10. Nowak D, Ogawa S, Muschen M, Kato M, Kawamata N, Meixel A, Nowak V, Kim HS, Kang S, Paquette R, Chang MS, Thoenissen NH, Mossner M, Hofmann WK, Kohlmann A, Weiss T, Haferlach T, Haferlach C, Koeffler HP. SNP array analysis of tyrosine kinase inhibitor-resistant chronic myeloid leukemia identifies heterogeneous secondary genomic alterations. *Blood.* 115 : 1049-1053, 2010
 11. Nakahara F, Sakata-Yanagimoto M, Komeno Y, Kato N, Uchida T, Haraguchi K, Kumano K, Harada Y, Harada H, Kitaura J, Ogawa S, Kurokawa M, Kitamura T, Chiba S. Hes1 immortalizes committed progenitors and plays a role in blast crisis transition in chronic myelogenous leukemia. *Blood.* 115 : 2872-2881, 2010
 12. Morishima S, Ogawa S, Matsubara A, Kawase T, Nannya Y, Kashiwase K, Satake M, Saji H, Inoko H, Kato S, Kodaera Y, Sasazuki T, Morishima Y. Impact of highly conserved HLA haplotype on acute graft-versus-host disease. *Blood.* 115 : 4664-4670, 2010
 13. Lilljebjorn H, Soneson C, Andersson A, Heldrup J, Behrendtz M, Kawamata N, Ogawa S, Koeffler HP, Mitelman F, Johansson B, Fontes M, Fioretos T. The correlation pattern of acquired copy number changes in 164 ETV6/RUNX1-positive childhood acute lymphoblastic leukemias. *Hum Mol Genet.* 19 : 3150-3158, 2010
 14. Asaoka Y, Tada M, Ikenoue T, Seto M, Imai M, Miyabayashi K, Yamamoto K, Yamamoto S, Kudo Y, Mohri D, Isomura Y, Ijichi H, Tateishi K, Kanai F, Ogawa S, Omata M, Koike K. Gastric cancer cell line Hs746T harbors a splice site mutation of c-Met causing juxtamembrane domain deletion. *Biochem Biophys Res Commun.* 394 : 1042-1046, 2010
 15. Takahashi K, Oka A, Mizuguchi M, Saitoh M, Takita J, Sato A, Mimaki M, Kato M, Ogawa S, Igarashi T: Interstitial deletion of 13q14.13-q32.3 presenting with Arima syndrome and bilateral retinoblastoma. *Brain Dev.* 2010 Aug 19. [Epub ahead of print]
- ## 2. 学会発表
1. 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
2. Nishimura R, Takita J, Ohki K, Kato M, Chen Y, 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 microarray. The 6th Congress of Asian Society for Pediatric Research & 51st Annual Meeting of Taiwan Pediatric Association, Taipei, Taiwan, April 15~18, 2010
 3. Motomura A, Takita J, Nishimura R, Ohki K, Ohkubo J, Ida K, Kikuchi A, Okita H, Ogawa S, Igarashi T: Refractory Ewing Sarcoma family of tumors in a child with EWS-FEV fusion gene. The 6th Congress of Asian Society for Pediatric Research & 51st Annual Meeting of Taiwan Pediatric Association, Taipei, Taiwan, April 15~18, 2010
 4. Ohira M, Nakamura Y, Kojima T, Takita J, Kato M, Ogawa S, Oba S, Ishii S, Kamijo T, Nakagawara A: Risk stratification of neuroblastoma by genomic signature including ALK abnormality. Advances in Neuroblastoma Research, Stockholm, Sweden, June 21-24, 2010
 5. Takita J, Okubo J, Nishimura R, Oki K, Uchisaka N, Chen Y, Sanada M, Kikuchi A, Igarashi T, Hayashi Y, Ogawa S: Effects of selective ALK inhibitors to neuroblastoma. Advances in Neuroblastoma Research, Stockholm, Sweden, June 21-24, 2010
 6. Okubo J, Takita J, Nishimura R, Ohki K, Kato M, Chen Y, Sanada M, Kikuchi A, Igarashi T, Hayashi Y, Ogawa S: Aberrant activation of ALK kinase by a short form ALK protein in neuroblastoma. Advances in Neuroblastoma Research, Stockholm, Sweden, June 21-24, 2010
 7. 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, 2010.4.23~25
 8. 大久保淳, 滝田順子, 西村力, 大木健太郎, 加藤元博, 真田昌, 菊地陽, 林泰秀, 五十嵐隆, 小川誠司: 小児固形腫瘍における ALK 阻害剤の効果に関する検討. 第 113 回日本小児科学会学術集会, 岩手, 2010.4.23~25
 9. 西村力, 滝田順子, 大木健太郎, 加藤元博, 陳玉彦, 真田昌, 菊地陽, 林泰秀, 五十嵐隆, 小川誠司: 横紋筋肉腫における ALK 遺伝子の増幅・変異の検討. 第 113 回日本小児科学会学術集会, 岩手, 2010.4.23~25
 10. 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, 2010.4.23~25
 11. 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, 2010.4.23~25
 12. 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, 2010.5.12
 13. Oki K, Takita J, Hiwatari M, Nishimura R, Okubo J, Uchisaka N, Adachi M, Sanada M, Igarashi T, Ogawa S: Mutations of IDH1 and IDH2 genes in pediatric solid tumors. 69th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, Osaka, September 22~24, 2010
 14. 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, 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, 2010.9.22~24
 15. 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, 2010.9.22~24
 16. 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, 2010.9.22~24
 17. 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, 2010.9.22~24

18. 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, 2010.9.24~26
19. Matsubara A, Kato M, Sanada M, Takita J, Chiba S, Hayashi Y, Kobayashi Y, Watanabe T, Yoshino T, Koeffler H, Bartram C, 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, 2010.9.24~26
20. Park M, 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, 2010.9.24~26
21. Oki K, Takita J, Hiwatari M, Nishimura R, Sanada M, Okubo 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
22. Oki K, Takita J, Hiwatari M, Nishimura R, Sanada M, Okubo 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, 2010.9.24~26
23. 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 26 回日本小児がん学会学術集会, 大阪, 2010.12.17~19
24. 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: 高感度 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 26 回日本小児がん学会学術集会, 大阪, 2010.12.17~19
25. 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 26 回日本小児がん学会学術集会, 大阪, 2010.12.17~19

E. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得
無し
2. 実用新案登録
無し
3. その他
無し

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 帝京大学医学部小児科 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 委員会において、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の検討を継続した。GATA1 変異、表面マーカー、血球形態の中央診断を行い、末梢血中の微小残存腫瘍、サイトカインプロファイルの中央検査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。

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

昨年設置された日本小児白血病リンパ腫研究グループ(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。

また、重症TAM症例に対する治療に関しては、今回の研究計画では介入試験は時期尚早であるとして盛り込まれなかったが、新生児領域を中心に重症TAM症例に対する治療指針作成の要望が強いため、従来行われてきて報告のあるものについてその内容をまとめて、推奨治療という形で日本小児血液学会雑誌に総説として呈示する方向で計画が進行中である。

(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。

D. 考察

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、推奨治療の呈示により 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に設置されたTAM委員会において、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の検討を継続し、研究計画書を完成した。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、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。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表

川村真智子,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

2. 学会発表

村松 秀城,菊地 陽 他

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 2010年12月

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

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

研究分担者 村松秀城 名古屋大学医学部附属病院小児科 助教

研究要旨：一過性骨髄異常増殖症(TAM)は、従来予後良好であるとされてきたが、肝不全等の臓器障害による早期死亡例が一定の割合で存在することが近年明らかとなった。今回、我々は2003年から2008年に診断・治療された TAM 症例を対象に、全国アンケート調査を行い、153 例の臨床情報を統計学的に解析した。これまでの報告と同様に、在胎週数・白血球数は早期死亡と有意な関連を示した。また、少量シタラビン療法の副作用は軽微であることが確認された。また、白血球数高値群(10 万/uL 以上)のサブグループ解析の結果、診断後早期の少量シタラビン療法が有意に予後を改善していることが明らかとなった(1年全生存率 $66.1 \pm 13.9\%$; $n = 13$ vs. $33.3 \pm 8.6\%$; $n = 30$; $p = 0.035$)。今後、前方視的臨床研究による少量シタラビン療法の治療効果の確認および、更なる治療法の改善・開発が必要である。

A. 研究目的

一過性骨髄異常増殖症(Transient Abnormal Myelopoiesis: TAM)はダウン症候群の新生児期に、一過性に白血病様芽球が末梢血中に増加する疾患である。従来、予後良好であるとされてきたが、肝不全等の臓器障害による早期死亡例が一定の割合で存在することが近年明らかとなった。

2003年から2008年の診断例に対して全国アンケート調査を行ない、計153例について解析、検討した。

B. 研究方法

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。

(倫理面への配慮)

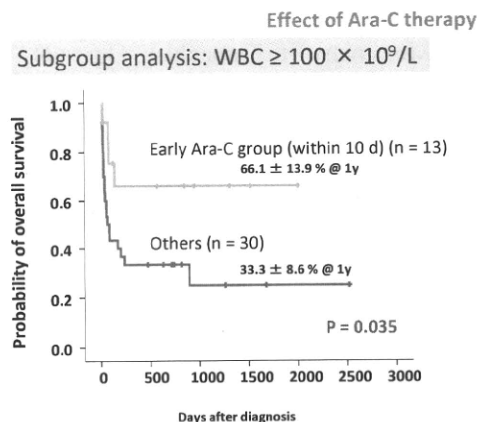
本研究は、名古屋大学医学部倫理委員会の審査・承認を得た。

C. 研究結果

初診時白血球数の中央値(範囲)は37,800/uL (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%)で後に急性巨核芽球性白血病(AMKL)を発症した。AMKLを発症した症例のうち、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(≥ 37 wks / < 37 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、0.95 mg/kg/day (0.4–3.1 mg/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、1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/uL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1)。

図1. 少量シタラビン療法の臨床効果



D. 考察

少量シタラビン療法施行の副作用は少なく、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しう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。

E. 結論

少量シタラビン療法施行症例数が少ないこと、少量シタラビンの投与量・投与方法・治療介入時期・治療期間が統一されていないことから、本解析結果から断定的な結論を導くことは難しいと考えられるが、少量シタラビン療法は重症TAM患者に対する有望な治療法である可能性が示された。今後、前方視的臨床研究による治療効果の確認および新規治療法の開発が必要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1 Muramatsu H, Takahashi Y, Sakaguchi H, Shimada A, Nishio N, Hama A, Doisaki S, Yagasaki H, Matsumoto K, Kato K, Kojima S. Excellent outcomes of children with CML treated with imatinib mesylate compared to that in pre-imatinib era. *International Journal of Hematology* 93 : 186-91, 2011
- 2 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
- 3 Muramatsu H, Kojima S, Yoshimi A, Atsuta Y, Kato K, Nagatoshi Y, Inoue M, Koike K, Kawase T, Ito M, Kurosawa H, Tanizawa A, Tono C, Hamamoto K, Hotta N, Watanabe A, Morishima Y, Kawa K, Shimada H. Outcome of 125 children with CML who received transplants from unrelated donors: the Japan Marrow Donor Program (JMDP). *Biol Blood Marrow Transplant* 16 : 231-238, 2010
- 4 Asai E, Wada T, Sakakibara Y, Toga A, Toma T, Shimizu T, Nampoothiri S, Imai K, Nonoyama S, Morio T, Muramatsu H, Kamachi Y, Ohara O, Yachie A. Analysis of mutations and recombination activity in RAG-deficient patients. *Clin Immunol* 138 : 172-177, 2011
- 5 Nishio N, Takahashi Y, Ohashi H, Doisaki S, Muramatsu H, Hama A, Shimada A, Yagasaki H, Kojima S. Reduced-intensity conditioning for alternative donor hematopoietic stem cell transplantation in patients with dyskeratosis congenita. *Pediatr Transplant* 2010.
- 6 Sakaguchi H, Watanabe N, Muramatsu H, Doisaki S, Yoshida N, Matsumoto K, Kato K. Danaparoid as the prophylaxis for hepatic veno-occlusive disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in childhood hematological malignancy. *Pediatric blood & cancer* 55 : 1118-1125, 2010
- 7 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
- 8 Takagi M, Shinoda K, Piao J, Mitsuiki N, Matsuda K, Muramatsu H, Doisaki 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 : 2887-290, 2010

- 9 Yagasaki H, Takahashi Y, Hama A, Kudo K, Nishio N, Muramatsu H, Tanaka M, Yoshida N, Matsumoto K, Watanabe N, Kato K, Horibe K, Kojima S. Comparison of matched-sibling donor BMT and unrelated donor BMT in children and adolescent with acquired severe aplastic anemia. *Bone Marrow Transplant* 45 : 1508-1513, 2010

2. 学会発表

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、大阪、2010.12.17

H. 知的財産権の出願・登録状況

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、二次調査を準備中である。

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

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。

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。ただ、発症頻度から考えると報告数が少なく、それについて今後検討が必要と考えられる。

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、報告数が少ないのが課題と考えられた。

F. 健康危険情報

省略。

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

1. 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

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。

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，引き続いて「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：

1 新生児単純ヘルペス感染症

サーベイランス担当者：伊藤 進（香川大学医学部小児科）

予定調査期間：2007 年 7 月 1 日～2010 年 6 月 30 日（3 年間）

対象の選定基準，除外基準：特になし

2 Paternal Uniparental Disomy 14（父性片親ダイソミー 14 番：pUPD 14）

サーベイランス担当者：柴崎 淳（神奈川県立こども医療センター新生児科）

予定調査期間：2007 年 7 月 1 日～2010 年 6 月 30 日（3 年間）

対象の選定基準，除外基準：

1. 選定基準

- 1) 羊水過多
- 2) 特徴的な胸部レントゲン写真（ベル型胸郭・波打った肋骨 /coat hanger appearance）
- 3) 臍帯ヘルニアまたは腹直筋離開

以上の 3 項の全てを満たす症例。遺伝子診断が確定診断だが、臨床診断症例も該当症例とする。遺伝子診断は国立成育医療センターで施行可能。遺伝子診断の同意書も同センター作成のものがある。

2. 除外基準

その他の染色体異常，先天性筋強直性ジストロフィー

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）

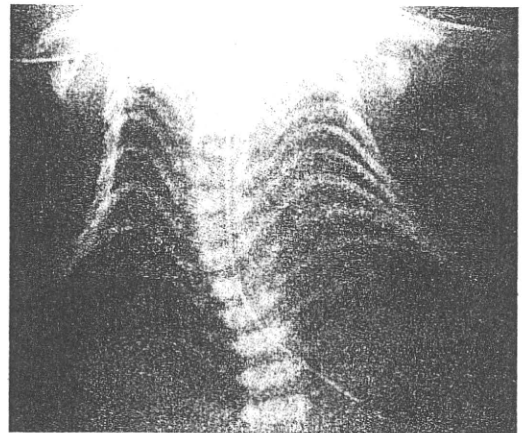
対象の選定基準，除外基準：

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 GATAI 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

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

研究分担者 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

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・周産期施設に対してアンケート調査を行うことを計画し、昨年度に引き続き、サーベイランス事業非参加施設に対して、2009 年の症例について後方視的に調査した。次いで、サーベイランス事業参加施設に対して、サーベイランス開始以前の 2006～2009 年の症例につき後方視的に調査した。

サーベイランス非参加施設と参加施設に対し、フォーマットを統一した1次・2 次調査票から成るアンケートを 2010 年 5 月と 11 月に行った。4 年間の新生児施設のダウン症症例中の TAM の割合は、8.6%で、サーベイランス非参加施設と参加施設それぞれから 19 例と 70 例の TAM 症例が集積された。このうち 12 例と 35 例に、昨年度収集したサーベイランス非参加施設の 2006～2008 年度分の TAM32 例を加えて、2 次調査票を詳細に検討した。この検討で、出血症状、全身浮腫が特に強く、生後 6 ヶ月以内の早期死亡に関連していた。また、芽球数、白血球数、AST、ALT、LDH 値は関連が疑われた。各施設群間の比較では、TAM の重症度や病態に変化はなかったが、化学療法はサーベイランス参加施設の方が多かった。化学療法施行例 14 例を検討した。化学療法開始日令は中央値 9、AraC 投与量は平均 1.03mg/kg/日で、投与日数は平均 6.2 日であった。14 例中早期死亡例は 5 例であった。化学療法によって、血液所見で中等度の副作用を認めた他は、重篤な副作用はなかった。

A. 研究目的

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医療の現場であり、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。このような新生児医療現場において 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。

昨年度より、新生児医療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、実施を開始した。

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

1)は、2010 年度より開始され、症例が登録されつつある。さらに、本年はサーベイランス参加施設に対して2006年から2009年までの後方視的調査を行うこととして、アンケート調査を行った。また、2)サーベイランス非参加施設に対しては、2009年分のアンケート調査を行った。これにより、昨年度に行ったサーベイランス非参加施設への調査と併せて、新生児施設全体の2006-2009年分のTAM症例について、把握することが可能となる。これらの新生児科サイドでの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

＜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＞

対象は、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、2006-2009年度の4年間に経験したTAMの症例数、それぞれについて「小児血液学会への症例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。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(資料1)。項目は、在胎週数、出生体重、出生前診断の有無、症状(合併奇形、先天性心疾患の有無、出血症状と部位、呼吸障害の有無と酸素投与・人工呼吸期間、胸水、腹水、心嚢水、全身浮腫、肝腫大、脾腫、その他の浸潤所見、骨髓検査の有無と所見、血液検査所見、染色体検査所見、遺伝子検索の有無と所見、交換輸血・ステロイド投与・輸血療法などの支持療法の有無と内容、化学療法の有無と内容・副作用、生存/死亡・MDS/白血病の発症・最終観察期間などである。

＜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年度分で集積されたTAM症例36例の2次調査票について詳細を検討した。

＜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、基本情報を確認し、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、検査データなどを、2次調査票に記入してもらうこととした。

＜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