

201119065A

厚生労働科学研究費補助金
がん臨床研究事業

小児急性骨髄性白血病（AML）に対する
標準的治療法の確立に関する研究

平成23年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 足立 壮一

平成24（2012）年4月

厚生労働科学研究費補助金
がん臨床研究事業

小児急性骨髄性白血病（AML）に対する
標準的治療法の確立に関する研究

平成23年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 足立 壮一

平成24（2012）年4月

平成23年度厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）

「小児急性骨髄性白血病（AML）に対する標準的治療法の確立」班名簿

（順不同、敬称略）

	氏名	所属・職名
研究代表者	足立 壮一	京都大学医学研究科人間健康科学系専攻 教授
研究分担者	堀部 敬三	国立病院機構名古屋医療センター臨床研究センター センター長
	宮地 勇人	東海大学医学部基盤診療学系臨床検査学 教授
	齋藤 明子	国立病院機構名古屋医療センター臨床研究センター臨床疫学研究室 室長
	林 泰秀	群馬県立小児医療センター 院長
	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
	多賀 崇	滋賀医科大学小児科 講師
	工藤 寿子	静岡こども病院血液腫瘍科 科長
	多和 昭雄	国立病院機構大阪医療センター小児科 医長
	富澤 大輔	東京医科歯科大学小児科 助教
	岩本彰太郎	三重大学医学部附属病院小児科 助教

目 次

I. 総括研究報告

小児急性骨髄性白血病(AML)の標準的治療法の確立に関する研究	-----1
足立 壮一	

II. 分担研究報告

1. 小児急性骨髄性白血病における遺伝子診断と分子モニタリングに関する研究	---9
堀部 敬三	
2. 形態中央診断システムの構築と運用に関する研究	-----14
宮地 勇人	
3. 小児造血器腫瘍臨床研究の質の向上に関する研究	-----18
齋藤 明子	
4. 小児急性骨髄性白血病における遺伝子異常と臨床像の解析	-----23
林 泰秀	
5. 中央診断による正確かつ効率的な分子細胞遺伝学的診断法の確立	-----29
滝 智彦	
6. ダウン症候群に発症したAML(AML-DS)に対する標準的治療法の確立	-----32
多賀 崇	
7. AML-05参加施設の支持療法の実態調査に関する研究	-----35
工藤 寿子	
8. 小児 <i>de novo</i> AMLに対する標準的治療法の確立に関する研究	-----38
多和 昭雄	
10. 小児 <i>de novo</i> AMLおよびAPLに対する標準的治療法の確立	-----42
富澤 大輔	
11. フローサイトメトリー法による微小残存病変(MRD)検出システムの確立に関する研究	-----47
岩本 彰太郎	

III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----49
---------------------	---------

IV. 研究成果の刊行物・別刷	-----55
-----------------	---------

I . 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金(がん臨床研究事業)
小児急性骨髄性白血病(AML)の標準的治療法の確立に関する研究
総括研究報告書
研究代表者 足立壮一 京都大学医学研究科人間健康科学系専攻

研究要旨 小児急性骨髄性白血病(AML)の標準的治療法を確立すべく、急性前骨髄球性白血病(APL)については「AML-P05 研究」、Down 症候群に発症した AML については「AML-D05 研究」を行い、その他の AML に対しては遺伝子染色体異常と初期治療反応性に基づいたリスク因子で層別化治療を行う臨床試験「AML-05 研究」を行い、いずれも予定登録症例数に到達して臨床試験を終了した。また微小残存病変(MRD)をフローサイトメトリー法により検出する方法を確立し、現在、再発および寛解導入不能 AML に対する治療研究多施設共同 AML 再発例および寛解導入不能例に対する Fludarabine を含む寛解導入療法の有効性と安全性を検討する多施設共同第 II 相臨床試験 (AML-R11)と「ダウン症候群に発症した小児 AML の MRD 実施可能性とその有用性を探索するパイロット試験(AML-D11)」を開始した。また、AML-05 および AML-P05 の症例登録終了にともない次期臨床研究 AML-12(小児 AML を対象とした初回寛解導入療法によるシタラビン投与方法についてランダム化比較検討、および寛解導入後早期の微小残存病変の意義を検討する多施設共同シームレス第 II-III 相臨床試験)、AML-P12(APL に対する多施設共同第 II 相臨床試験)計画書を完成し、平成 24 年度中に臨床試験を開始予定である。また、一連の多施設共同臨床試験において形態中央診断を初めて導入することに成功し、結果を報告した。特に小児 AML-MLD の頻度を正確に報告したのは世界初であり、形態中央診断は、質の高い臨床研究に貢献することが期待される。今後、次期臨床試験の層別化への導入を目的として、AML-05 臨床検体を用いて、遺伝子解析(*c-Kit* 変異、*CEBP α* 変異、*NPM* 変異、*FLT3*-ITD 等)結果と予後との相関を現在解析中である。

上に貢献する。

A. 研究目的

小児 AML の治療成績をさらに向上させ、治療毒性の軽減をはかるために小児白血病リンパ腫研究グループ(JPLSG)間の共同研究として全国規模の臨床試験を計画し標準的治療法の開発を目指す。質の高い診断のために形態中央診断、染色体検査、キメラ遺伝子検査、細胞表面マーカー検査、などの検査所見、臨床所見を総合して診断するシステムを確立する。遺伝子変異や発現量、微小残存病変(MRD)を解析して治療層別化に用いる臨床試験を目指す。本研究は難治性小児がんである AML に対して、高い長期生存率と晩期障害軽減を目指した標準治療を確立するための質の高い臨床研究を実施してエビデンス創出を図り、根拠に基づく医療を普及して国民の医療・福祉の向

B. 研究方法

日本小児白血病リンパ腫研究グループ(JPLSG)AML 委員会を中心に本邦のほぼすべての小児白血病治療施設が参加する以下の7つの臨床試験を計画し、うち3つの試験(AML-P05, AML-D05, AML-05)は予定登録症例数に達して登録完了、2つの臨床試験(AML-D11, AML-R11)が遂行中、2つの臨床試験(AML-12, AML-P12)を近々に開始予定である。

1. 急性前骨髄球性白血病を対象とした「小児急性前骨髄球性白血病(APL)に対する多施設共同後期第 II 相臨床試験 AML-P05」

平成 18 年 4 月 1 日から各施設の IRB/倫理委員会の承認を得た上で症例の登録が開始された。平

成 23 年 3 月 31 日に症例登録終了した。本試験は症例登録数が予定より少なかったため登録期間の 2 年間延長を効果安全性評価委員会に申請し受理され、累積登録症例数は 46 例と登録期間延長後は予測どおり症例が登録された。

2. APL および Down 症候群に発症した AML を除く残りの de novo AML を対象とした「小児急性骨髄性白血病(AML)に対する多施設共同後期第 II 相臨床試験 AML-05」

平成 18 年 11 月 1 日から各施設の IRB/倫理委員会の承認を得た上で症例の登録が開始され、予定症例数に達したことから平成 22 年 12 月 31 日症例登録が終了した。平成 20 年 9 月 30 日の時点で、研究計画における必要症例数の決定基準とした低リスク群の症例数が登録期間内に必要症例数に達しないことが明らかとなったため、登録期間の延長を効果安全性評価委員会に申請し受理され、平成 22 年 12 月 31 日登録を終了した。

3. Down 症候群に発症した AML を対象とした「ダウン症候群に発症した小児急性骨髄性白血病に対するリスク別多剤併用化学療法の後期第 II 相臨床試験 AML-D05」「ダウン症候群に発症した小児 AML の MRD 実施可能性とその有用性を探索するパイロット試験 AML-D11」

AML-D05 は平成 19 年 11 月 29 日、日本小児血液学会臨床研究審査検討委員会の承認を得た。平成 20 年 1 月 1 日から各施設の IRB/倫理委員会の承認を得た上で症例登録が開始され、予定症例数に達したことから平成 22 年 12 月 31 日症例登録が終了した。AML-D05 登録終了に伴い、次期治療研究「ダウン症候群に発症した小児急性骨髄性白血病の微小残存病変探索の実施可能性とその有用性を探索するパイロット試験実施計画書 AML-D11」を作成し、日本小児血液学会審査での承認を経て、各施設の IRB/倫理委員会の承認を得た上で平成 24 年 3 月 1 日から全国一斉に試験登録開始となった。

4. 「小児急性骨髄性白血病(AML)再発例および寛解導入不能例に対する Fludarabine を含む寛解導入療法の有効性と安全性を検討する多施設共同第 II 相臨床試験 AML-R11」

初回骨髄再発例ならびに寛解導入不能例を対象に、fludarabine, idarubicin による再寛解導入療法の有効性と安全性を検討する臨床試験は日本小児血液学会審査での承認を経て、各施設の IRB/倫理委員会の承認を得た上で平成 24 年 3 月 1 日から全国一斉に試験登録開始となった。

5. 診断小委員会について

本研究では形態中央診断を行っており、それに遺伝子染色体検査の結果、表面マーカーの結果もあわせ WHO 分類に基づいて最終診断をおこなう診断小委員会を 2007 年 11 月 6 日に発足させた。形態中央診断は、東海大学医学部基盤診療学系臨床検査学(責任者:宮地勇人)に於いて行った。形態中央診断の対象は、初発未治療 BMA-1、寛解導入療法 1 後の BMA-2、寛解導入療法 2 後の BMA-3 および再発時の骨髄および末梢血塗抹標本にて実施した。病型診断は FAB 分類に加え、形態検査所見で該当する WHO 分類(第 3 版、WHO-3)を併記した。完全寛解、骨髄再発の定義は、各プロトコールにしたがった。

6. 小児造血器腫瘍臨床研究の質の向上に関する研究

独立行政法人国立病院機構名古屋医療センター臨床研究センター内に、特定非営利活動法人臨床研究支援機構(NPO OSCR)データセンターを設置し、名古屋医療センター臨床研究センター 臨床研究企画室 臨床疫学研究室と共同で、臨床研究の質確保を担当する。NPO OSCR でデータマネージャーを雇用し実務を担当させると共に、臨床疫学研究室の客員研究員として、臨床研究の質向上の為の方法論の研究を行わせることで育成を図る。これら一連の活動を通して、データセンターとしての標準化・効率化を図る。

7. 遺伝子診断と分子モニタリングに関する研究
AML-05, AML-P05 登録症例の診断時の骨髄液あるいは末梢血の有核細胞から RNA を抽出し、定量的 RT-PCR 法によって AML に代表的な 8 種類のキメラ遺伝子、*AML1-ETO*, *CBF β -MYH11*, *MLL-AF6*, *MLL-AF9*, *MLL-ELL*, *TLS/FUS-ERG*, *PML-RAR α* , *NUP98-HOXA9* の測定を行った。また、染色体検査結果から既知のキメラ遺伝子の形成が予想された 23 例、および特異的染色体転座が観察されたのにもかかわらず、キメラ遺伝子スクリーニングでの該当するキメラ遺伝子が陰性だった 3 例について追加検査を行った。

新規予後因子の探索研究としては AML-99 検体を用いて *DNMT3A* 遺伝子変異と *NUP98-NSD* 変異解析を行った。AML-05 検体では G-CSF 受容体 type IV, *CXCR4*, *EVI-1* 発現量, *NPM*, *CEBP α* , *c-Kit* 変異を解析中である。

(倫理面への配慮)

すべての臨床試験は日本小児血液学会臨床研究審査委員会、および参加施設の倫理審査委員会の承認を得て行った。患者検体を用いるすべての研究は研究代表者の施設の臨床研究審査委員会および JPLSG の研究審査委員会の承認を得て実施した。すべての検体は、文書によるインフォームドコンセントを得た後に収集された。また、検体提出、収集においてすべて匿名化を行い、検体提供者の個人情報適切に保護して実施した。

C. 研究結果

1. AML-P05

2009 年 12 月時点での中間解析における EFS, OS は、それぞれ観察期間の中央値時点で 86.5%, 93.2%であった。安全性についても、寛解導入療法中の Grade 4 以上の APL-DS 発生割合は 3.4% (1/29) と、AML99-M3 の 7%(4/58) よりも低い傾向にあり、Grade 4 以上の DIC 発生割合も 10.0%(3/30) と AML99-M3 の 17%(10/58) よりも低かった。

2. AML-05

全登録症例数は 484 例での内リスクが確定した 338 例の内訳は低リスク群 129 例、中間リスク 188 例、高リスク 55 例であった。AML-05 は極めて強力な化学療法であるが、感染症以外の有害事象は寛解導入 1 コースを除きその頻度は低く、また有害事象による死亡例は 484 例中 15 例(3.1%)で、諸外国と比較しても低いレベルであり、感染症対策を十分行えば安全に施行できると考えられた。

3. AML-D05, AML-D11

平成 20 年 1 月 1 日から登録を開始し平成 22 年 12 月 31 日登録を終了した。74 例が登録され、リスク確定例では標準リスク群 67 例、高リスク群 2 例である。標準リスクより再発例がみられ、再発例は、本邦の過去の調査(論文投稿中)でも予後不良で造血幹細胞移植でも救済されないことから、治療プロトコールは AML-D05 と同一で、寛解導入療法終了後の MRD(フローサイトメトリー、GATA1 変異、WT1 発現量)探索を検証する AML-D11 を遂行中である。

4. AML-R11

現在、各参加施設 IRB 審査中であり、近々に症例登録が開始予定である。

5. 診断小委員会について

診断小委員会では中央診断に提出されたすべての症例の最終診断をおこなっているが、AML-05、AML-P05、AML-D05 の 3 つの臨床試験における初発時の病型診断症例は、AML-05、AML-P05、AML-D05 の 3 つの臨床試験における初発時の病型診断症例(除外例は除く)は、症例登録の開始以来 23 年度までにそれぞれ総数 484、46、74 例であった。さらに診断困難(初発)例について 23 年度 13 件の形態中央診断を行った。

最終診断は、AML 診断小委員会にて、形態中央診断を踏まえて、染色体検査、キメラ遺伝子検査、細胞表面マーカー検査などの他の検査所見を総合して検討、議論の上で確定した。23 年度

診断困難例 13 件の内訳は、AML with minimal differentiation 5 例、AML with myelodysplasia related changes 2 例、AML with maturation 2 例、Myeloid leukemia associated with Down syndrome 1 例、AML with inv(16)(p13q22); (CBF β /MYH11) 1 例、Acute myelomonocytic leukemia /Acute megakaryoblastic leukemia 1 例、RAEB-2 1 例であった。上記の結果を中央診断報告書としてまとめたものを全国の参加施設に配布した。AML-05 の 484 症例中 AML with myelodysplastic changes (WHO 第 3 版) は 37 例で、これは小児では世界初のデータである。

6. 小児造血器腫瘍臨床研究の質の向上に関する研究

開始後の 5 つの臨床試験について、症例登録、進捗管理、定期的なデータクリーニング、安全性情報管理業務などを実施した。このうち、AML の新規の 2 臨床試験について、研究開始に先立ち、実施計画書/同意説明文書作成支援、データ管理計画作成、オンライン登録システム確立、臨床研究開始説明会実施、及びデータベース構築によるデータ管理システム構築作業を行った。新規再発 AML 臨床試験は研究利用の適応外医薬品（リン酸フルダラビン、G-CSF）が含まれており、中央診断施設と参加施設側での手順書等の整備も行った。新規開始予定の AML2 試験について、研究開始支援として、実施計画書/同意説明文書作成支援、データ管理計画作成、オンライン登録システム確立、臨床研究開始説明会実施、及びデータベース構築によるデータ管理システム構築作業を行った。

7. 遺伝子診断と分子モニタリングに関する研究

(A) キメラ遺伝子

2006 年 11 月から 2010 年 12 月までに AML-05 登録予定症例 540 例、AML-P05 登録予定症例 44 例についてキメラ遺伝子スクリーニングを行った。AML-05 は、8 種類のキメラ遺伝子スクリーニン

グが行われ、222 例にいずれかのキメラ遺伝子が検出された。その内訳は、*AML1-ETO* 128 例、*CBF β -MYH11* 33 例、*MLL-AF6* 2 例、*MLL-AF9* 38 例、*MLL-ELL* 9 例、*TLS/FUS-ERG* 7 例、*PML-RAR α* 7 例、*NUP98-HOXA9* 0 例であった。AML-P05 は、*PML-RAR α* のスクリーニングが行われ、40 例が陽性、4 例が陰性であった。治療後のキメラ遺伝子発現定量による経時的な MRD モニタリングでは、*AML1-ETO* と *CBF β -MYH11* においては、強化療法後も陽性を示す例が多く、定量値と再発の有無との関連は明確でなく臨床的有用性は乏しい。一方、*PML-RAR α* や *MLL* 関連キメラ遺伝子では、MRD 量が治療経過を反映していると考えられ、MRD マーカーとして有用である可能性が示唆された。キメラ遺伝子の追加検査最も多かったのは 10p と 11q に異常を認めた 8 例で、追加検査の結果は *MLL-AF10* が 6 例、*MLL-ABI1* が 1 例、*CALM-AF10* が 1 例であった。その他の染色体異常では、t(8;16)(p11;p13) の 3 例で *MOZ-CBP* が、t(6;9)(p23;q34) の 2 例で *DEK-CAN(NUP214)* が、*MXI(HLXB9)-ETV6*、*MLL-LCX*、*MLL-LASPI* が 1 例ずつ検出された。AML-P05 登録症例では、複雑な染色体異常を有し *PML-RARA* が陰性だった 1 例から、*NUMA1-RARA* が検出された。

(B) 新規予後因子探索研究

DNMT3A 遺伝子変異の検討では、AML149 例全例で変異は見られなかった。本邦の小児 AML では、欧米の報告と同様 *NPM1*、*IDH* 遺伝子変異と同じように *DNMT3A* 遺伝子変異はまれであり、年齢に依存することが示唆された。*NUP98-NSD1* 融合遺伝子の検討では、AML 157 例のうち 6 例 (3.8%) に融合遺伝子を認めた。*NUP98-NSD2*、*NUP98-NSD3* の融合遺伝子はみられなかった。6 例中 4 例は正常核型で、全例、染色体 G-banding では t(5;11) は同定できなかった。今後、AML の risk 層別化の際には、*NUP98-NSD1* 融合遺伝子を考慮する必要があると思われ、AML-05 検体でも解析予定である。AML-05 余剰検体からは、G-CSF 受容体 type IV、*CXCR4*、*EVI-1* 発現量、*NPM*、*CEBP α* 、*c-Kit* 変異をほぼ解析終了し、予後との相

関を検討中である。

8. 現在進行中の臨床試験の症例登録終了にともなう次期臨床計画の進捗状況について

APL に対しては新規薬剤として arsenic trioxide(ATO)を初期治療に導入し、minimal residual disease(MRD)を治療介入に用いる臨床研究「AML-P12」のプロトコールコンセプトをプロトコールレビューWG の協力を得て完成し、現在フルプロトコール作成中である。

また次期 de novo AML に対する臨床試験 AML-12 は寛解導入療法で現在の ECM 療法(Ara-C 持続)に対して治療成績の向上がAra-C 大量療法を併用する治療法(HD-ECM)で得られるかどうか MRD をプライマリーエンドポイントとする臨床試験のプロトコールコンセプトを作成中である。

D. 考察

日本小児白血病リンパ腫研究グループ(JPLSG)AML 委員会により、全国の小児 AML 診療施設ほとんどすべてが参加する「AML-P05」、「AML-05」、「AML-D05」の3つの臨床試験を計画し、「AML-05」、「AML-D05」は平成 22 年 12 月 31 日に、「AML-P05」も平成 23 年 3 月 31 日にいずれも予定登録数に達し症例登録が終了した。

小児 AML の形態を含む系統だった中央診断のシステムは本邦初であり、質の高い診断、寛解判定を行い、特に AML with myelodysplastic changes については世界で初めて正確な頻度を報告することができた。キメラ遺伝子解析も、AML-05, AML-P05 検体で、ほとんどの登録症例で解析が可能であり、MRD としての意義も検討できた。また、フローサイトメトリーによる MRD 検出システムの確立に成功し、今後は再発 AML 及び de novo AML において検証する。

「AML-P05」、「AML-05」、「AML-D05」の次期臨床試験として、AML-D11 はすでに臨床試験を開始しており、AML-P12, AML-12 の計画も順調に進捗している、

これらの臨床試験計画は JPLSG プロトコールレビ

ューワーキンググループ、JPLSG データセンター等の全面的な協力を得て作成されたもので、「AML-P05」、「AML-05」、「AML-D05」、「AML-D11」、「AML-R11」の試験実施にあたっては有害事象、症例集積のモニタリングなど JPLSG データセンターが中心的役割を担っている。

また、NUP98-NSD1 を始めとする新規予後因子探索研究も充実しており、今後の AML 臨床試験の予後因子として治療成績の向上及び治療軽減による晩期障害の軽減が期待できる。

E. 結論

「小児急性前骨髄球性白血病(APL)に対する多施設共同後期第 II 相臨床試験 AML-P05」、「小児急性骨髄性白血病(AML)に対する多施設共同後期第 II 相臨床試験 AML-05」、「ダウン症候群に発症した小児急性骨髄性白血病に対するリスク別多剤併用化学療法の後期第 II 相臨床試験実施計画書 AML-D05」の研究はいずれも順調に予定症例が登録され、登録終了した。「小児急性骨髄性白血病(AML)再発例および寛解導入不能例に対する Fludarabine を含む寛解導入療法の有効性と安全性を検討する多施設共同第 II 相臨床試験 AML-R11」、「ダウン症候群に発症した小児 AML の MRD 実施可能性とその有用性を探索するパイロット試験(AML-D11)」を開始した。AML-12(小児 AML を対象とした初回寛解導入療法によるシタラビン投与方法についてランダム化比較検討、および寛解導入後早期の微小残存病変の意義を検討する多施設共同シームレス第 II-III 相臨床試験)、AML-P12 (APL に対する多施設共同第 II 相臨床試験)計画書を完成し、平成 24 年度中に臨床試験を開始予定である。質の高い臨床試験を継続するために、今後もデータセンター(臨床データ管理)、診断小委員会(形態及び免疫中央診断)、新規予後因子探索(フローサイトメトリー、遺伝子解析)を継続する。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Shiba N, Taki T, Park M, Shimada A, Sotonobu M, Adachi S, Tawa A, Horibe K, Tsuchida M, Hanada R, Tsukimoto I, Arakawa H, Hayashi Y: DMNT3A mutations are rare in childhood acute myeloid leukaemia, myelodysplastic syndromes and juvenile myelomonocytic leukaemia. *Brit J Haematol* 156(3) 413-4, 2012

2) 足立壮一 造血器腫瘍学—基礎と臨床の最新研究動向— VI. 小児造血器腫瘍の臨床 小児白血病の診断と治療 小児白血病の分類と特徴 *日本臨床* 70 巻増刊号 2 665-668, 2012

3) 足立壮一 造血器腫瘍学—基礎と臨床の最新研究動向— VI. 小児造血器腫瘍の臨床 小児白血病の診断と治療 急性骨髄性白血病/慢性骨髄性白血病 *日本臨床* 70 巻増刊号 2 676-680, 2012

4) 足立壮一 急性骨髄性白血病 小児がん診療ハンドブック～実地診療に役立つ診断・治療の理念と実践～ 堀部敬三編 医薬ジャーナル社 2011年8月25日初版 340頁—355頁

2. 学会発表

1) Adachi S. JPLSG Studies for AML. The 61st annual meeting of Korean Pediatric Society. (2011) Oct 21-22, Seoul, Korea (招待講演)

2) Toki T, Kobayashi E, Kanezaki R, Wang R, Terui K, Kanegane H, Maeda M, Endo M, Mizuochi T, Adachi S, Hayashi Y, Shimizu R, Yamamoto T, Ito E. GATA1 Mutants Lacking Rb-Binding Motif Observed in Transient Abnormal Myelopoiesis in Down Syndrome. *American Society of Hematology 53rd Annual Meeting* (2011) Dec10-13, San Diego, USA

3) Shimada A, Tomizawa D, Kinoshita A, Hamamoto K, Tsukimoto I, Ogawa A, Taga T, Imamura T, Tawa A, Horibe K, Taki T, Hayashi Y, Adachi S. Heterogeneity in Infants with Acute Myeloid Leukemia: Retrospective Analysis of a

Japanese Nationwide Survey. *American Society of Hematology 53rd Annual Meeting* (2011) Dec10-13, San Diego, USA

4) Shiba N, Taki T, Park M, M, Murata C, Oki K, Ichikawa H, Shimada A, Kanazawa T, Sotomatsu M, Tabuchi T, Adachi S, Tawa A, Horibe K, Tsuchida M, Hanada R, Tsukimoto I, Arakawa H, Hayashi Y. NUP98-NSD1 fusion gene is strongly associated with a poor prognosis in pediatric acute myeloid leukemia: A study of the Japanese Childhood AML99 Cooperative Study Group. *American Society of Hematology 53rd Annual Meeting* (2011) Dec10-13, San Diego, USA

5) 納富誠司郎、平松英文、河田沙耶架、田中篤志、才田 聡、森嶋達也、藤野寿典、松原 央、渡邊健一郎、足立壮一、平家俊男；当科におけるシクロスポリン持続投与方法と3時間静注1日2回法の比較検討 *Comparison of the continuous infusion of cyclosporine A and twice-daily infusion in pediatric hematopoietic stem cell transplantation* 第33回日本造血細胞移植学会総会 2011年2月 愛媛

6) Tsutomu Toki, Eri Kobayashi, Rika Kanezaki, Runan Wang, Kiminori Terui, Hirokazu Kanegane, Miho Maeda, Takayoshi Koike, Mikiya Endo, Souichi Adachi, Yasuhide Hayashi, Ritsuko Shimizu, Masayuki Yamamoto, Etsuro Ito ; Novel GATA1 mutants with internal deletions in transient abnormal myelopoiesis in Down syndrome 第73回日本血液学会学術集会 2011年10月 名古屋

7) 高橋浩之、富澤大輔、盛武 浩、照井君典、井上彰子、日野もえ子、金井理恵、豊田秀実、松野良介、塩原正明、多賀 崇、多和昭雄、足立壮一；小児急性前骨髄球性白血病に対する三酸化ヒ素による治療の実態調査 第53回日本小児血液・がん学会学術集会 2011年11月 群馬

8) 嶋田 明、富澤大輔、木下明俊、浜本和子、月本一郎、小川 淳、多賀 崇、今村俊彦、多和昭雄、堀部敬三、滝 智彦、林 泰秀、足立

壯一；乳児AMLの後方指摘解析 第53回日本小児血液・がん学会学術集会 2011年11月 群馬

9) 多和昭雄、齋藤明子、木下明俊、工藤寿子、高橋浩之、多賀 崇、富澤大輔、中山秀樹、盛武 浩、岩本彰太郎、嶋田 明、照井君典、康勝好、気賀沢寿人、小坂嘉之、堀部敬三、足立壯一；JPLSG AML-05臨床研究において発生した有害事象の検討 第53回日本小児血液・がん学会学術集会 2011年11月 群馬

10) 多賀 崇、齋藤明子、工藤寿子、富澤大輔、照井君典、盛武 浩、木下明俊、岩本彰太郎、中山秀樹、高橋浩之、多和昭雄、嶋田 明、気賀沢寿人、康 勝好、滝 智彦、足立壯一；ダウン症候群に発症した急性骨髄性白血病（AML-D S）の寛解導入不能・再発例の他施設共同後方視的研究 第53回日本小児血液・がん学会学術集会 2011年11月 群馬

11) 芝 徳生、朴 明子、村田知里、嶋田 明、滝 智彦、外松 学、田渕 健、足立壯一、多和昭雄、堀部敬三、槌田昌宏、花田良二、月本一郎、荒川浩一、林 泰秀；小児急性白血病におけるDNMT3A遺伝子変異の解析 第53回日本小児血液・がん学会学術集会 2011年11月 群馬

12) 木下明俊、宮地勇人、滝 智彦、松下弘道、矢部みはる、清河信敬、照井君典、太田秀明、出口隆生、高橋浩之、多賀 崇、林 泰秀、多和昭雄、足立壯一；JPLSG AML-05臨床試験におけるWHO分類に基づいた小児急性骨髄性白血病の中央診断 第53回日本小児血液・がん学会学術集会 2011年11月 群馬

13) 芝 徳生、朴 明子、村田知里、嶋田 明、滝 智彦、外松 学、田渕 健、足立壯一、多和昭雄、堀部敬三、土田昌宏、花田良二、月本一郎、荒川浩一、林 泰秀；小児急性骨髄性白血病におけるNUP98-NSD転座の解析 第53回日本小児血液・がん学会学術集会 2011年11月 群馬

14) 堀部敬三、山田美穂、山下友加、横澤敏也、

嶋田 明、多和昭雄、高橋浩之、多賀 崇、木下明俊、足立壯一；小児急性骨髄性白血病におけるキメラ遺伝子スクリーニング診断に関する検討 第53回日本小児血液・がん学会学術集会 2011年11月 群馬

15) 今村俊彦、岩本彰太郎、金井理恵、嶋田 明、照井君典、大杉夕子、小林良二、多和昭雄、小坂嘉之、加藤剛二、堀 浩樹、堀部敬三、小田 慈、足立壯一；AML99登録終了後のJACLS登録AML症例の治療成績の検討 第53回日本小児血液・がん学会学術集会 2011年11月 群馬

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
該当なし
2. 実用新案
該当なし
3. その他
該当なし

II. 分担研究報告

厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）
小児急性骨髄性白血病(AML)の標準的治療法の確立に関する研究
分担研究報告書

小児急性骨髄性白血病における遺伝子診断と分子モニタリングに関する研究
研究分担者 堀部敬三 国立病院機構名古屋医療センター臨床研究センター
センター長

研究要旨 小児急性骨髄性白血病(AML)にみられる染色体異常で生じる8種類のキメラ遺伝子について診断時スクリーニング検査を実施し、検出結果と染色体核型を比較検討した。AML-05 および AML-P05 臨床試験参加予定症例を合わせて 584 例中 259 例(44.3%)でいずれかの遺伝子が同定された。染色体検査より高感度に目的とする異常を迅速に診断できるが、偽陰性もあるため他の検査と併用が必要である。頻度に基づいてスクリーニングすべき遺伝子異常を見直す必要がある。治療後のキメラ遺伝子発現定量による MRD モニタリングは、CBF 白血病では、臨床的有用性は乏しいが、他のキメラ遺伝子では、MRD 量が治療経過を反映しており、有用である可能性が示唆された。

A. 研究目的

小児急性骨髄性白血病(AML)におけるキメラ遺伝子スクリーニング診断の臨床的有用性と陽性例において治療反応性の評価として経時的にキメラ遺伝子の発現量を定量することで微小残存病変(MRD)を評価する意義を検討する。

B. 研究方法

対象は、日本小児白血病リンパ腫研究グループ(JPLSG)で実施された AML に対する臨床試験 AML-05、急性前骨髄球性白血病に対する臨床試験 AML-P05 に登録予定とされた AML 患者である。

方法は、診断時の骨髄液あるいは末梢血の有核細胞から RNA を抽出し、定量的 RT-PCR 法によって AML に代表的な 8 種類のキメラ遺伝子、*AML1-ETO*, *CBFβ-MYH11*, *MLL-AF6*, *MLL-AF9*, *MLL-ELL*, *TLS/FUS-ERG*, *PML-RARα*, *NUP98-HOXA9* の測定を行った。キメラ遺伝子スクリーニングの結果について各症例の染色体核型と比較検討した。また、キメラ遺伝子

陽性例では、各強化療法開始前の骨髄液から RNA を抽出し、キメラ遺伝子の発現量を定量した。

(倫理面への配慮)

本研究は、名古屋医療センターの臨床研究審査委員会および JPLSG の研究審査委員会の承認を得て実施した。また、本研究は、臨床試験 AML-05、AML-D05、AML-P05 の一部であり、これらの臨床試験は日本小児血液学会臨床研究審査委員会、および参加施設の倫理審査委員会の承認を得て行った。すべての検体は、文書によるインフォームドコンセントを得た後に収集された。また、検体提出、収集においてすべて匿名化を行い、検体提供者の個人情報適切に保護して実施した。

C. 研究結果

1. キメラ遺伝子スクリーニング

2006 年 11 月から 2011 年 12 月までの間に AML-05 登録予定症例 540 例について 8 種類のキメラ遺伝子スクリーニングを行い、221 例

(40.9%)でいずれかのキメラ遺伝子が検出された。内訳は、*AML1-ETO* 127例、*CBFβ-MYH11* 33例、*MLL-AF9* 38例、*MLL-ELL* 9例、*MLL-AF6* 2例、*TLS/FUS-ERG* 7例、*PML-RARα* 7例、*NUP98-HOXA9* 0例であった。スクリーニングした540例のうちAML-05登録例は480例であった。

一方、AML-P05登録予定症例44例について、2006年4月から2011年3月までの間に*PML-RARα*のスクリーニングを行い、39例が陽性、5例が陰性であり、陽性の1例はAML-P05未登録であった。

2. キメラ遺伝子スクリーニング結果と染色体核型との比較

AML-05登録例でスクリーニングされた480例のうち、不適格例と核型が中央診断されなかった例を除いた448例について染色体核型とスクリーニング結果を比較した。448例中のキメラ遺伝子スクリーニング陽性例数は、*AML1-ETO* 124例、*CBFβ-MYH11* 30例、*MLL-AF9* 36例、*MLL-ELL* 8例、*MLL-AF6* 2例、*TLS/FUS-ERG* 5例、*PML-RARα* 2例であった。これらに該当する染色体核型異常を認めた例は、193例であった。*AML1-ETO*については、*t(8;21)(q22;q22)*が111例、*t(8;21)3way*転座が10例で3例が染色体検査で*t(8;21)*が確認されなかったが、うち2例はFISH法で確認された。*CBFβ-MYH11* 30例のうち、27例で*inv(16)*、1例で*t(16;16)*が認められた。2例は染色体検査では当該の異常が確認できなかったが、いずれもFISH法で確認された。*MLL-AF9*では、36例中26例で*t(9;11)(p22;q23)*が認められた。染色体検査では当該の異常が確認できなかった10例のうち5例でFISH解析が行われ、いずれも陽性所見が得られた。*MLL-ELL* 8例中6例で*t(11;19)(q23;p13.1)*が確認されたが、2例は染色体検査で確認できず、いずれもFISH

法で確認された。*MLL-AF6*の2例はいずれも*t(6;11)(q27;q23)*を認めた。*TLS/FUS-ERG*の5例は、3例のみ*t(16;21)(p11.2;q22)*を認めた。一方、いずれのキメラ遺伝子も認めなかった例のうち、2例で*t(8;21)(q22;q22)*が、2例で*inv(16)(p13.1;q22)*が、2例で*t(9;11)(p22;q23)*が、1例で*t(6;11)(q27;q23)*がそれぞれ陽性であり、合計7例(7/193例=3.6%)がスクリーニング偽陰性であった。一方、スクリーニング陽性205例のうち、染色体検査で確認できたのは186例(90.7%)であった。

AML-P05登録例については、不適格例と核型が中央診断されなかった例を除いた39例について染色体核型とスクリーニング結果を比較した。39例中37例が*PML-RARα*スクリーニング陽性で、うち33例で*t(15;17)(q22;q12)*を認めた。正常核型であった3例と解析不能1例もFISH検査で*PML-RARα*陽性を確認した。*PML-RARα*陰性の2例は、1例は*t(11;17)(q13;q12)*に相当する*NuMA-RARα*、もう1例は*t(4;17)(q11;q12)*であった。

3. キメラ遺伝子発現の定量によるMRDモニタリング

キメラ遺伝子スクリーニング陽性例のうち、*AML1-ETO* 53例、*CBFβ-MYH11* 10例、*MLL-AF6* 1例、*MLL-AF9* 12例、*MLL-ELL* 4例、*TLS/FUS-ERG* 3例、*PML-RARα* 20例について治療後のキメラ遺伝子発現定量による経時的なMRDモニタリングを行った。図1、図2に示すように、*AML1-ETO*と*CBFβ-MYH11*においては、最終強化療法後のpoint 5においても陽性を示す例が多く、定量値と再発の有無との関連は明確でない。一方、*PML-RARα*、*MLL-AF9*、*MLL-ELL*、*MLL-AF6*、*TLS/FUS-ERG*は、point 3までに陰性例になる例が多く、point 3陽性例の多くが再発をきたしていた。

D. 考察

小児 AML にみられる染色体異常で生じる 8 種類のキメラ遺伝子を AML-05 および AML-P05 臨床試験参加予定症例において診断時にスクリーニングし、その結果と各症例の染色体核型と比較検討した。AML-05 登録例のうち解析可能な 448 例について検討したところ、合計 7 例 (7/193 例=3.6%) がスクリーニング偽陰性であった。スクリーニング検査だけでは不十分であることが再認識された。一方、スクリーニング陽性 205 例のうち 19 例 (9.3%) が染色体検査で確認不能であった。そのうち FISH 法が行われた 11 例すべてでキメラ遺伝子異常が確認されたが、8 例では FISH が施行されておらず、確診に至っていない。染色体検査で確認できない際に FISH で対応できる体制を徹底する必要がある。また、AML-05 で複数例に見られたキメラ遺伝子を形成する染色体異常として、t(10;11)(p12;q23) 9 例、t(6;9)(p23;q24) 4 例、t(8;16)(p11.2;p13.3)、t(11;19)(q23;p13.3)、t(1;22)(p13;q13)、t(7;12)(q36;p13) 各 3 例などがあり、今後のスクリーニングすべきキメラ遺伝子を見直しが必要かもしれない。また、MLL 遺伝子については、キメラ形成においてパートナーとなる遺伝子が 50 以上知られており、FISH 法によるスクリーニングが望ましいと考えられる。

治療後のキメラ遺伝子発現定量による経時的な MRD モニタリングでは、*AML1-ETO* と *CBFβ-MYH11* においては、強化療法後も陽性を示す例が多く、定量値と再発の有無との関連は明確でなく臨床的有用性は乏しい。一方、*PML-RARα* や MLL 関連キメラ遺伝子では、MRD 量が治療経過を反映していると考えられ、MRD マーカーとして有用である可能性が示唆された。

E. 結論

小児 AML 診断時のキメラ遺伝子スクリーニングは、染色体検査より高感度に目的とする異常を迅速に診断できるが、偽陰性もあるため他の検査と併用が必要である。頻度に基づいてスクリーニングすべき遺伝子異常を見直す必要がある。治療後のキメラ遺伝子発現定量による MRD モニタリングは、CBF 白血病では、臨床的有用性は乏しいが、他のキメラ遺伝子では、MRD 量が治療経過を反映しており、有用である可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

本研究による直接的な健康被害はない。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Shiba N, Taki T, Park MJ, Shimada A, Sotomatsu M, Adachi S, Tawa A, Horibe K, Tsuchida M, Hanada R, Tsukimoto I, Arakawa H, Hayashi Y. DNMT3A mutations are rare in childhood acute myeloid leukaemia, myelodysplastic syndromes and juvenile myelomonocytic leukaemia. *Br J Haematol.* 2012 Feb;156(3):413-4.
2. Watanabe N, Takahashi Y, Matsumoto K, Horikoshi Y, Hama A, Muramatsu H, Yoshida N, Yagasaki H, Kudo K, Horibe K, Kato K, Kojima S. Total body irradiation and melphalan as a conditioning regimen for children with hematological malignancies undergoing transplantation with stem cells from HLA-identical related donors. *Pediatr Transplant.* 2011 Sep;15(6):642-9.
3. Sano H, Shimada A, Taki T, Murata C, Park MJ, Sotomatsu M, Tabuchi K, Tawa A, Kobayashi R, Horibe K, Tsuchida M, Hanada R, Tsukimoto I, Hayashi Y. RAS mutations

are frequent in FAB type M4 and M5 of acute myeloid leukemia, and related to late relapse: a study of the Japanese Childhood AML Cooperative Study Group. Int J Hematol. 2012 Mar 10. [Epub ahead of print]

2. 学会発表

1. 堀部敬三 山田美穂 山下友加 横澤敏也 嶋田 明 多和昭雄 高橋浩之 多賀 崇 木下明俊 足立壮一 小児急性骨髄性白血病におけるキメラ遺伝子スクリーニング診断に関する検討 第 53 回日本小児血液・がん学会学術集会 2011. 11. 25 群馬
2. 嶋田 明 富澤大輔 木下明俊 浜本和子 月本一郎 小川 淳 多賀 崇 今村俊彦 多和昭雄 堀部敬三 滝 智彦 林 泰秀 足立壮一 乳児 AML の後方視的解析 第 53 回日本小児血液・がん学会学術集会 2011. 11. 25 群馬
3. 多和昭雄 齋藤明子 木下明俊 工藤寿子 高橋浩之 多賀 崇 富澤大輔 中山秀樹 盛武 浩 岩本彰太郎 嶋田明 照井君典 康 勝好 気賀沢寿人 小阪嘉之 堀部敬三 足立壮一 JPLSG AML-05 臨床研究において発生した有害事象の検討 第 53 回日本小児血液・がん学会学術集会 2011. 11. 25 群馬
4. 柴 徳生 朴 明子 村田知里 嶋田明 滝 智彦 外松 学 田渕 健 足立壮一 多和昭雄 堀部敬三 土田昌宏 花田良二 月本一郎 荒川浩一 林 泰秀 小児急性白血病における DNMT3A 遺伝子変異の解析 第 53 回日本小児血液・がん学会学術集会 2011. 11. 25 群馬
5. 柴 徳生 朴 明子 村田知里 嶋田明 滝 智彦 外松 学 田渕 健 足立壮一 多和昭雄 堀部敬三 土田昌宏 花田良二 月本一郎 荒川浩一 林 泰秀 小児急性骨髄性白血病における NUP98-NSD 転座の解析 第 53 回日本小児血液・がん学会学術集会 2011. 11. 25 群馬
6. 今村俊彦 岩本彰太郎 金井理恵 嶋田明 照井君典 大杉夕子 小林良二 多和昭雄 小阪嘉之 加藤剛二 堀部敬三 小田 慈 足立壮一 AML99

登録終了後の JACLS 登録 AML 症例の治療成績の検討 第 53 回日本小児血液・がん学会学術集会 2011. 11. 25 群馬

7. Shiba N, Taki T, Park MJ, Murata C, Oki K, Ichikawa H, Shimada A, Kanazawa T, Sotomatsu M, Tabuchi K, Adachi S, Tawa A, Horibe K, Tsuchida M, Hanada R, Tsukimoto I, Arakawa H, Hayashi Y. NUP98-NSD1 Fusion Gene Is Strongly Associated with a Poor Prognosis in Pediatric Acute Myeloid Leukemia: A Study of the Japanese Childhood AML99 Cooperative Study Group 53th ASH Annual Meeting and Exposition December 10, 2011 San Diego
8. Shimada A, Tomizawa D, Kinoshita A, Hamamoto K, Tsukimoto I, Ogawa A, Taga T, Imamura T, Tawa A, Horibe K, Taki T, Hayashi Y, Adachi S. Heterogeneity in Infants with Acute Myeloid Leukemia: Retrospective Analysis of a Japanese Nationwide Survey 53th ASH Annual Meeting and Exposition December 10, 2011 San Diego

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
該当なし
2. 実用新案
該当なし
3. その他
該当なし

図1. AML1-ETOによる継時的MRD解析

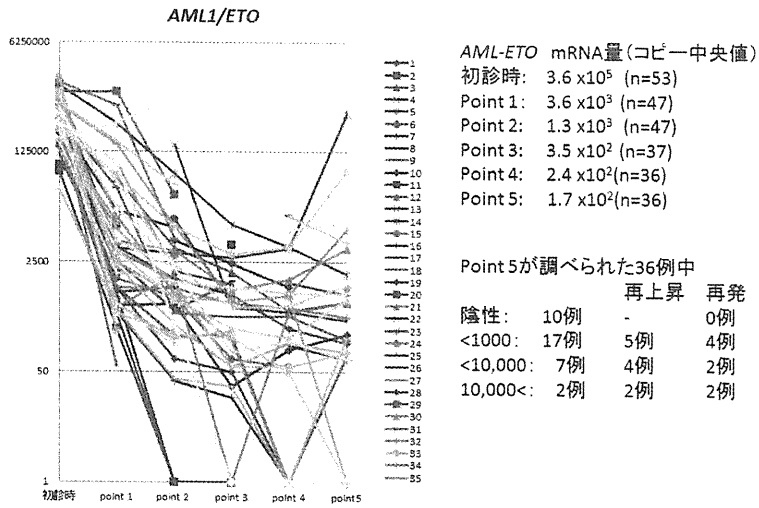


図2. CBFβ-MYH11による継時的MRD解析

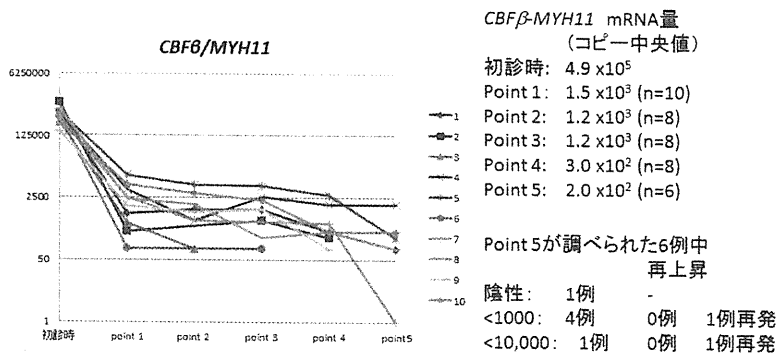
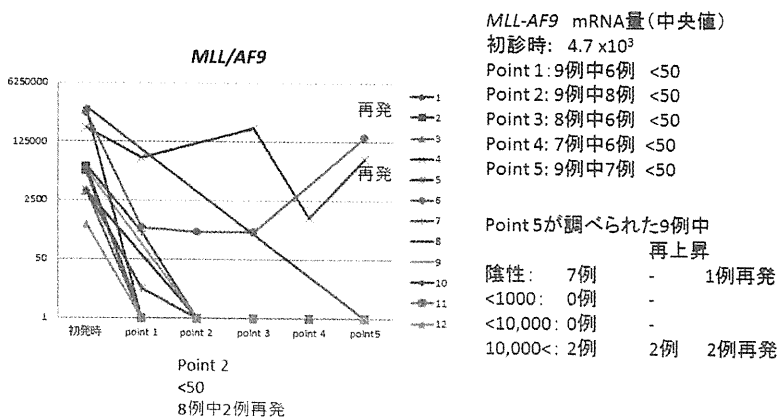


図3. MLL-AF9による継時的MRD解析



厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）
小児急性骨髄性白血病(AML)の標準的治療法の確立に関する研究
分担研究報告書

形態中央診断システムの構築と運用に関する研究

研究分担者 宮地 勇人 東海大学医学部基盤診療学系 教授

研究要旨

小児急性骨髄性白血病（AML）に対する標準的治療法の確立を目指すための多施設共同臨床試験の実施において形態中央診断システムの構築は重要である。本研究の目的は、小児 AML の多施設共同臨床試験において構築した形態中央診断システムの継続的な運用を行い、WHO 分類における形態診断の意義を検討することとした。多施設共同臨床試験のプロトコールは、AML-05「小児急性骨髄性白血病（AML）に対する多施設共同後期第 II 相臨床試験」、AML-P05「小児急性前骨髄球性白血病（APL）に対する多施設共同後期第 II 相臨床試験」、AML-D05「ダウン症候群に発症した小児急性骨髄性白血病に対するリスク別多剤併用化学療法の後期第 II 相臨床試験」である。形態中央診断は各プロトコールに従い、初発未治療 BMA-1、寛解導入療法 1 後の BMA-2、寛解導入療法 2 後の BMA-3 および再発時の骨髄および末梢血塗抹標本にて実施した。これら臨床試験（AML-05、AML-P05、AML-D05）において、初発時の病型診断症例（除外例は除く）は、症例の新規登録の開始以来の総数それぞれ 484、46、74 例の内、23 年度の形態中央診断件数は AML-05 の BMA-1/-2/-3、再発がそれぞれ 2、1、3、26 件であった。AML-P05 では、BMA-2、再発各 1 件、AML-D05 は 0 件であった。さらに診断困難（初発）例について 23 年度 13 件の形態中央診断を行った。病型診断は FAB 分類に加え、形態検査所見で該当する WHO 分類（第 3 版）を併記した。以上、一連の小児 AML 多施設共同臨床試験において形態中央診断システムを我が国で初めて導入後、継続的に良好な運営を行うことに成功した。形態中央診断は、小児 AML 診断の質を高め、多施設共同臨床試験でのリスク分類の精度向上により、層別化による治療成績の評価と各予後因子の意義の明確化において質の高い臨床研究に貢献すること、さらに診断困難例において小児 AML 診療の質向上に貢献することが期待される。

A. 研究目的

本研究では、小児急性骨髄性白血病（AML）に対する標準的治療法の確立を目指す多施設共同臨床試験において構築した形態中央診断システムを継続的に運用すること、および WHO 分類における形態診断の意義を検討することを目的とした。

B. 研究方法

AML の形態中央診断は、東海大学医学部基盤診療学系臨床検査学（責任者：宮地勇人）に於いて行った。多施設共同臨床試験の内訳は、AML-05「小児急性骨髄性白血病（AML）に対する多施設共同後期第 II 相臨床試験」、AML-P05「小児急性前骨髄球性白血病（APL）に対する多施設共同後期第 II 相臨床試験」、AML-D05「ダウン症候群に発症した小児急性骨髄性白血病に対するリスク

別多剤併用化学療法の後期第 II 相臨床試験」である。

形態中央診断の対象は、初発未治療 BMA-1、寛解導入療法 1 後の BMA-2、寛解導入療法 2 後の BMA-3 および再発時の骨髄および末梢血塗抹標本にて実施した。病型診断は FAB 分類に加え、形態検査所見で該当する WHO 分類（第 3 版、WHO-3）を併記した。完全寛解、骨髄再発の定義は、各プロトコールにしたがった。

AML-05 新規登録終了後、個々の病院では診断が難しい症例に絞って中央診断による診断支援を継続することとし、平成 23 年 1 月から開始した。診断困難例の形態中央診断は、各施設からの事務局への要請と事務局での対象症例としての確認に基づき、実施した。

（倫理面への配慮）

本研究は、日本小児血液学会及び日本小児白血病リンパ腫研究グループの倫理委員会の提唱するガイドラインに沿って、施設の倫理委員会で承認された臨床試験として行った。検体使用や取扱いは、「日本小児白血病リンパ腫研究グループ保存検体の収集・保存と分譲に関する規約」にしたがった。ヘルシンキ宣言を遵守し、検体は個人情報保護のため連結不可能匿名化を図った。

C. 研究結果

形態中央診断の実施は、各施設から実施施設に送付された未染の末梢血および骨髄塗抹標本について、まず、染色（普通、ペロキシダーゼ、エステラーゼ）後に、臨床検査技師による細胞カウントを行った。続いて、検査専門医／血液専門医による形態診断と報告書作成を行った。

AML-05、AML-P05、AML-D05 の 3 つの臨床試験における初発時の病型診断症例（除外例は除く）は、症例登録の開始以来 23 年度までにそれぞれ総数 484、46、74 例で、登録症例数は、集積予定症例数の目標に達成したため、AML-05 と

AML-P05 は平成 22 年 12 月 31 日、AML-D05 は平成 23 年 3 月 31 日にて、新規登録は終了となった。その内、23 年度の形態中央診断の実績は以下のごとくである。件数は AML-05 の BMA-1/-2/-3、再発がそれぞれ 2, 1, 3, 26 件であった。AML-P05 では、BMA-2、再発各 1 件、AML-D05 は 0 件であった。さらに診断困難（初発）例について 23 年度 13 件の形態中央診断を行った。

最終診断は、AML 診断小委員会にて、形態中央診断を踏まえて、染色体検査、キメラ遺伝子検査、細胞表面マーカー検査などの他の検査所見を総合して検討、議論の上で確定した。23 年度診断困難例 13 件の内訳は、AML with minimal differentiation 5 例、AML with myelodysplasia related changes 2 例、AML with maturation 2 例、Myeloid leukemia associated with Down syndromel 例、AML with inv(16) (p13q22); (CBF β /MYH11) 1 例、Acute myelomonocytic leukemia /Acute megakaryoblastic leukemia 1 例、RAEB-2 1 例であった。AML with minimal differentiation 5 例中、2 例で細胞表面マーカー上、Early T-precursor ALL が考えられた。

D. 考察

AML の新 WHO 分類は、分子病態の解明と臨床的意義の明確化を踏まえ、2008 年に第 4 版（WHO-4）が公表された。WHO 分類は、形態、免疫形質とともに染色体・遺伝子異常に基づき体系化されている。すなわち、芽球 20%以上の症例において、病型診断は定型的な染色体異常、細胞異形成および形態所見により序列化している。形態診断に基づく FAB 分類にない病型として、以下があり、これらは白血病細胞の形態診断に優先する。①染色体・遺伝子異常、②細胞異形成、③先行 MDS（WHO-4 で追加）、先行化学療法（WHO-4 では治療薬で細分類しない）、④ダウン症候群関連（WHO-4 で追加）。