

IV. 研究成果の刊行物・別刷

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

Classification and characteristics of acute leukemia in children

足立 壮一

Key words : 急性リンパ性白血病, 急性骨髄性白血病, 慢性骨髄性白血病, WHO 分類, 予後因子解析

はじめに

小児白血病は小児がんの約40%を占め、白血病のうち約70%は急性リンパ性白血病(acute lymphoblastic leukemia: ALL), 約25%は急性骨髄性白血病(acute myeloid leukemia: AML)であり, そのほかに慢性骨髄性白血病(chronic myelogenous leukemia: CML), 骨髄異形成症候群(myelodysplastic syndrome: MDS), 若年性骨髄単球性白血病(juvenile myelomonocytic leukemia: JMML)などが少数例みられる。白血病の確定診断は骨髄穿刺によってなされるため, 小児では精神的なトラウマを残さないようにとの配慮から近年は鎮静下に行われることが多い。骨髄で正常細胞が減少し, 白血病細胞が全体の30%(旧FAB分類, 新WHO分類では20%)以上を占めていれば白血病と診断される。

本稿では, 急性リンパ性白血病, 急性骨髄性白血病, 慢性骨髄性白血病の分類と特徴について解説する。骨髄異形成症候群, 若年性骨髄単球性白血病の分類と特徴については‘骨髄異形成症候群/若年性骨髄単球性白血病’の稿を参照されたい。

1 急性リンパ性白血病

1970年代から用いられてきたFAB(French-American-British)分類では芽球の形態によりALLの細胞はL1, L2, L3に分けられていたが, 現在ではその分類はあまり意味がないとされている。より重要なのは, 芽球の細胞表面に出ている分子(抗原, マーカー)を, フローサイトメトリー(FACS)を用いて調べることである。細胞表面には細胞系列によって特異的なマーカーが出る。例えばALLかAMLか, ALLの中でT細胞型ALLかB前駆細胞型ALLか, などが約1日でわかるようになった。このほか細胞質内マーカーもあり, 診断困難例では有用な検査法である。なおALLの約半数の症例はCD13やCD33などの骨髄球系抗原を有し, かつては混合性白血病(mixed lineage leukemia)あるいはbiphenotypic leukemiaと呼ばれたこともあったが, その多くは骨髄球系抗原を有するALLである。

またこれらの症例は骨髄球系抗原を有さないALLと治療法も変えなくてよいことが示されている¹⁾。日本小児白血病リンパ腫研究グループ(JPLSG)の免疫委員会では白血病のマーカー診断の標準化を行い, 図1に示すような診断のためのパネルを作成した。primary panelではB細胞系3種類, T細胞系3種類, 骨髄系4種類,

VI

小児造血器腫瘍の臨床

| primary panel | | | |
|------------------|---------|------|-------------|
| B細胞系 | T細胞系 | 骨髄系 | non-lineage |
| CD19 | 細胞表面CD3 | MPO | CD10 |
| CD79a | 細胞質内CD3 | CD13 | CD34 |
| κ/λ | CD7 | CD33 | CD45 |
| | | CD41 | CD56 |
| | | | HLA-DR |
| | | | TdT |
| (16種類) | | | |

| secondary panel | | | | 追加パネル | |
|-----------------|------|---------------|-------|-------|---------------------|
| B細胞系 | T細胞系 | 骨髄系 | | B細胞系 | T細胞系 |
| CD20 | CD2 | CD14 | CD15 | CD24 | CD1a |
| CD22 | CD4 | CD65 | CD36 | CD58 | TCR α/β |
| 細胞表面IgM | CD5 | CD117 | CD42b | | TCR γ/δ |
| 細胞質内 μ 鎖 | CD8 | glycophorin A | CD61 | | |
| | | | CD64 | | |
| (17種類) | | | | (5種類) | |

図1 急性白血病の免疫学的診断に有用なマーカー解析パネル

non-lineage が6種類の合計16種類の抗原を決定し、1,774例の小児ALL症例²⁾、および375症例のAML³⁾で報告をしている。細胞表面マーカーの検索とならんで重要な検査が遺伝子検査および染色体検査である。がんはすべて細胞の核内にある遺伝子に変異して起こると考えられているが、白血病は骨髄細胞のがん化により起こる。遺伝子異常は染色体異常として検出されることもあるが、DNAあるいはRNAを調べることもできる。転座はRNAを用いたRT-PCR法で迅速に調べることができる。遺伝子異常ではBCR-ABL, MLL転座, TEL-AML1, E2A-PBX1がWHO分類(第4版)でも記載されている。通常ヒトの染色体は46本であるがALL細胞では50本以上ある(hyperdiploidy)ことも多く、逆に少ない(hypodiploidy)こともある。これらの情報は白血病を分類し、予後を規定するうえで重要なだけでなく、治療に当たっては腫瘍量(微小残存病変(minimal residual disease: MRD))をモニターする手段にもなる。

また、近年では探索的ゲノム研究から、Ikaros^{4,5)}、CRLF2^{6,7)}などの遺伝子異常と予後の相関が報告されており、ALLでも下記のAML同様に臨床研究においても、遺伝子変異、発現量の検討は必須である。

2 急性骨髄性白血病

形態学的分類(FAB分類)のM0~M7は、M3の急性前骨髄球性白血病(acute promyelocytic leukemia: APL)は治療法が異なるため重要であるが、小児でも成人同様に、予後因子としてはキメラ遺伝子、遺伝子変異を重視したWHO分類の方が臨床的には使われるようになってきている。最新のWHO分類(第4版)ではAMLは表1のように分類されている。

キメラ遺伝子の判明している染色体異常とともに成人で予後良好とされる遺伝子変異(NPM1⁸⁻¹⁰⁾、CEBPA^{11,12)}が分類の最上位になっている。またAML with gene mutationsという項目の記載があり、今後、FLT3-ITD(後述)をはじめ、追加記載される可能性が高い。

FLT3は、transmembrane glyco-proteinの一種で、c-KITと同じファミリーに属するreceptor tyrosine kinaseである¹³⁾。細胞の増殖・分化に関与し、主として骨髄系およびリンパ系前駆細胞に発現がみられるが、種々の悪性腫瘍疾患でも発現が認められる。AMLでは、t(15;17)やnormal karyotypeに高頻度にみられる。構造上の特徴としては、1回膜貫通型タンパクで、リガンドと結合してダイマーを形成するextra-

表1 急性骨髄性白血病のWHO分類(第4版)

1. 反復性染色体異常を伴うAML(acute myeloid leukaemia with recurrent genetic abnormalities)
 - AML with t(8;21)(q22;q22); *RUNX1-RUNX1T1*(*AML1-ETO*)
 - AML with inv(16)(p13.1q22) or t(16;16)(p13.1;q22); *CBFB-MYH11*
 - APL with t(15;17)(q22;q12); *PML-RARA*(APL; M3)
 - AML with t(9;11)(p22;q23); *MLLT3-MLL*
 - AML with t(6;9)(p23;q34); *DEK-NUP214*
 - AML with inv(3)(q21q26.2) or t(3;3)(q21;q26.2); *RPN1-EVI1*
 - AML(megakaryoblastic) with t(1;22)(p13;q13); *RBM15-MKL1*
 - provisional entity: AML with mutated *NPM1*
 - provisional entity: AML with mutated *CEBPA*
2. 多血球系異形成を伴うAML(acute myeloid leukaemia with myelodysplasia-related changes)
3. 治療関連AMLおよびMDS(therapy-related myeloid neoplasms)
4. 上記カテゴリー以外のAML(acute myeloid leukaemia, not otherwise specified)
 - AML with minimal differentiation(M0)
 - AML without maturation(M1)
 - AML with maturation(M2)
 - acute myelomonocytic leukaemia(M4)
 - acute monoblastic/monocytic leukaemia(M5)
 - acute erythroid leukaemia(M6)
 - pure erythroid leukaemias(M6a)
 - erythroleukaemia, erythroid/myeloid(M6b)
 - acute megakaryoblastic leukaemia(M7)
 - acute basophilic leukaemia
 - acute panmyelosis with myelofibrosis
5. myeloid sarcoma
6. myeloid proliferations related to Down syndrome
 - transient abnormal myelopoiesis
 - myeloid leukaemia associated with Down syndrome
7. blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasms

FAB分類を右に対比させた。

cellular domain, transmembrane domain, および intra-cellular kinase domain の3領域で構成されている。*FLT3* の internal tandem duplication(ITD)は様々な長さ(3-400ヌクレオチド)をもち, juxtamembrane domain に相当する exon 14 と exon 15 の間に起こる。*FLT3* に ITD が起こると, リガンド依存性にダイマーが形成されて, リン酸化と恒常的な活性化が起こり, 下流のシグナル伝達(PI3K, RAS, JAK2, STAT5, MAPK)に影響することが知られている。*FLT3*-ITD をもつAML症例の予後は不良であり, AML05プロトコールでも予後不良因子として治療層別化に採用されている。更に, *FLT3* inhibitor は分子標的薬として治療応用が進んでいる。

AML99プロトコール登録症例では, 解析可能であった normal karyotype 33例中9例(27.3%)に*FLT3*-ITDが同定され, 多変量解析の結果からも予後不良因子としての意義が示された。ただし, 2歳未満の症例では, *FLT3*-ITDは認められなかった¹⁴⁾。また, 成人AMLで予後不良とされている*FLT3*-D835 mutationに関しては, 小児では不良予後との相関を示さなかった。

3 慢性骨髄性白血病

CMLはフィラデルフィア(Ph)染色体を有する慢性骨髄増殖性疾患である。Ph染色体上の*BCR-ABL*キメラ遺伝子により, 白血病幹細胞は成熟血球への分化能力を保持するとともに,

表 2 慢性骨髄性白血病の病期分類 (European LeukemiaNet の基準)

| |
|---|
| 慢性期 (CP): 以下の移行期, 急性転化期以外のもの |
| 移行期 (AP): 以下のいずれかに該当するもの |
| 1. 末梢血もしくは骨髄中の芽球 15-29 % |
| 2. 末梢血もしくは骨髄中の芽球と前骨髄球が計 30 % 以上 (芽球 30 % 未満) |
| 3. 末梢血中の好塩基球 20 % 以上 |
| 4. 治療に関連しない血小板減少 (100,000/ μ L 未満) |
| 急性転化期 (BC): 髓外腫瘍 (肝脾腫, リンパ節腫脹を除く) の出現, もしくは末梢血, 骨髄のいずれかで芽球 30 % 以上 (ただし, 髓外腫瘍のみの BC は生検で確認) |
| 第 2 慢性期: CP から AP/BC に移行して CP に回復した場合 |

正常幹細胞より旺盛な血球産生能力を有するため, やがてほとんどの成熟顆粒球系細胞は白血病幹細胞由来となる. 無治療の場合は数年の慢性期ののち移行期を経て, あるいは突然, 急性

転化して死亡する.

European LeukemiaNet の判定基準¹⁵⁾は表 2 のとおりであり, JPLSG CML-08 の病期判定もこの基準にて行われている.

文 献

- 1) Pui CH, et al: Acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet* 371: 1030-1043, 2008.
- 2) Iwamoto S, et al: Flow cytometric analysis of de novo acute lymphoblastic leukemia in childhood: report from the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group. *Int J Hematol* 94: 185-192, 2011.
- 3) Ohta H, et al: Flow cytometric analysis of de novo acute myeloid leukemia in childhood: report from the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group. *Int J Hematol* 93: 135-137, 2011.
- 4) Mullighan CG, et al: BCR-ABL1 lymphoblastic leukaemia is characterized by the deletion of Ikaros. *Nature* 453: 110-114, 2008.
- 5) Mullighan CG, et al: Deletion of IKZF1 and prognosis in acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 360: 470-480, 2009.
- 6) Mullighan CG, et al: Rearrangement of CRLF2 in B-progenitor- and Down syndrome-associated acute lymphoblastic leukemia. *Nat Genet* 41: 1243-1246, 2009.
- 7) Cario G, et al: Presence of the P2RY8-CRLF2 rearrangement is associated with a poor prognosis in non-high-risk precursor B-cell acute lymphoblastic leukemia in children treated according to the ALL-BFM 2000 protocol. *Blood* 115: 5393-5397, 2010.
- 8) Becker H, et al: Favorable prognostic impact of NPM1 mutations in older patients with cytogenetically normal de novo acute myeloid leukemia and associated gene- and microRNA-expression signatures: a Cancer and Leukemia Group B study. *J Clin Oncol* 28: 596-604, 2010.
- 9) Schnittger S, et al: Nucleophosmin gene mutations are predictors of favorable prognosis in acute myelogenous leukemia with a normal karyotype. *Blood* 106: 3733-3739, 2005.
- 10) Suzuki T, et al: Clinical characteristics and prognostic implications of NPM1 mutations in acute myeloid leukemia. *Blood* 106: 2854-2861, 2005.
- 11) Taskesen E, et al: Prognostic impact, concurrent genetic mutations, and gene expression features of AML with CEBPA mutations in a cohort of 1182 cytogenetically normal AML patients: further evidence for CEBPA double mutant AML as a distinctive disease entity. *Blood* 117: 2469-2475, 2011.
- 12) Dufour A, et al: Acute myeloid leukemia with biallelic CEBPA gene mutations and normal karyotype represents a distinct genetic entity associated with a favorable clinical outcome. *J Clin Oncol* 28: 570-577, 2010.
- 13) Stirewalt DL, Radich JP: The role of FLT3 in haematopoietic malignancies. *Nat Rev Cancer* 3: 650-665, 2003.

- 14) Shimada A, et al: Tandem duplications of *MLL* and *FLT3* are correlated with poor prognosis in pediatric acute myeloid leukemia: A study of the Japanese childhood AML Cooperative Study Group. *Pediatr Blood Cancer* 50: 264–269, 2008.
- 15) Baccarani M, et al: Evolving concepts in the management of chronic myeloid leukemia: recommendations from an expert panel on behalf of the European LeukemiaNet. *Blood* 108: 1809–1820, 2006.



小兒造血器腫瘍の臨床

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

Acute myelogenous leukemia and chronic myelogenous leukemia
in children

足立 壮一

Key words : AML, *de novo* AML, APL, AML-DS, CML

急性骨髄性白血病(AML)

はじめに

AMLは小児期に発症する急性白血病の約25%を占め、最新の小児血液学会疾患登録例からは、新規診断AML症例数は年間約150例である。

AMLの10-15%を占める急性前骨髄球性白血病(APL)はFAB分類のM3に分類され、t(15;17)転座によりPML-RAR α キメラ遺伝子を形成し、*all-trans* retinoic acid(ATRA)を用いた特異的な治療により飛躍的に治療成績が向上した。またダウン症候群(21番染色体のトリソミー)では一般小児よりも白血病の発症率、特にFAB分類のM7に分類される急性巨核芽球性白血病の発症率が高く、その場合通常のAMLより強度の弱い化学療法でも長期生存が得られることが知られている。

本稿では、*de novo* AML, 急性前骨髄球性白血病, ダウン症候群に合併したAMLに分けて解説する。

1 *De novo* AML

de novo AMLの治療は1-2コースの寛解導入療法および対象疾患の予後因子(AML細胞のもつ遺伝子染色体異常および寛解導入療法の治療反応性)に基づいたリスク層別群ごとの寛解導入後治療(強化療法や造血幹細胞移植(HSCT))により構成される。AMLの治療の主体は多剤併用化学療法であり、その中心となるのがシタラビン(Ara-C)およびダウノルビシン(DNR)をはじめとしたアントラサイクリン系抗がん剤である。寛解導入療法レジメンは1970年代に確立されたAra-C 100mg/m²の7日間持続静注およびDNR 45mg/m²の3日間投与を行う'3+7'療法を基本としている¹⁾。現在、Ara-CおよびDNR, ミトキサントロン(MIT), イダルビシンなどの抗がん剤を基本に、エトポシド(VP-16)などを加えた多剤併用化学療法がAMLに対する寛解導入療法として一般的に使用されており、主な研究グループの完全寛解率(CR)は現在85-90%に達している。AMLの寛解導入後治療の中心は、寛解導入療法と同様にAra-Cとアントラサイクリン系抗がん剤を用いた多剤併用化学療法であり、化学療法による治療成績の向上に伴い最近のリスク層別化治療のもとでは

Souichi Adachi: Human Health Science, Kyoto University Graduate School of Medicine 京都大学大学院医学研究科 人間健康科学科

同種 HSCT は各々の研究グループにより定義された高リスク群に限られてきている。

一方、我が国では ANLL91 研究において、VP-16 を 5 日間先行投与した後に Ara-C 200 mg/m² (12 時間持続投与) を 7 日間とアントラサイクリン系抗がん剤と同様の抗白血病効果を有するアントラキノン系抗がん剤 MIT 5 mg/m² を 5 日間併用する ECM 療法を確立し、その後 AML99 研究、日本小児白血病リンパ腫研究グループ (JPLSG) による AML-05 研究でも使用され、我が国の小児 AML 標準的寛解導入療法レジメンとなっている⁹⁾。AML の寛解導入後治療は同種 HSCT の適応を含めて、AML 細胞のもつ遺伝子染色体異常や寛解導入療法における治療反応性などに基づいたリスク層別化により決定される⁹⁾。中間リスク群に対する同種 HSCT の適応については議論が分かれているが、小児 AML では最近の化学療法による治療成績の向上および晩期合併症などの影響を考慮して、我が国の AML-05 試験を含めて移植の適応外とするのが最近の傾向である。図 1 に AML-05 臨床試験の概要を示す。AML-05 は 484 症例が登録され、リスク確定例では低リスク群 129 例、中間リスク群 188 例、高リスク群 55 例で登録終了した。次期臨床試験では、現在層別化因子として注目されているフローサイトメトリー (FCM) による微小残存病変 (MRD) を導入予定である。急性リンパ性白血病 (ALL) においては欧米では重要な層別化因子として使用されているが、AML においても最近米国の St. Jude 小児病院、更には英国の UK MRC とオランダのグループによって、FCM による MRD 解析の結果が非常によく予後と相関することが証明された⁹⁾。FCM による MRD は、治療の有効性の指標としては確立しつつあるのが現状であり、我が国独自の検証を行う必要がある。

a. 予後因子解析

チロシンキナーゼ受容体である *FLT3* に internal tandem duplication (ITD) が起こると、リガンド依存性にダイマーが形成されて、下流のシグナル伝達に影響する。*FLT3*-ITD をもつ AML 症例の予後は不良であり、BFM や COG と

同様に AML-05 プロトコールでも予後不良因子として治療層別化に採用されている。一方で、成人 AML では *FLT3*-ITD と wt の比が高い症例のみ予後不良との報告がある。WHO 分類第 4 版で予後良好因子として規定されている *CEBPA* 変異は AML99 でも予後良好であった⁹⁾ が、近年 double mutation のみ予後良好であるとの報告もある。NPM 変異は AML99 症例では検出されなかった⁹⁾。また低リスク群における *c-kit* 変異は AML99 検体では予後不良であったが⁹⁾、COG プロトコールでは予後に有意差はみられなかった⁹⁾。いずれも予後因子は AML-05 検体で、現在解析中であり、結果が待たれる。

2 急性前骨髄球性白血病 (APL)

APL は AML の 10-15% を占め年長児で多く、小児では比較的まれな疾患である。ATRA を用いた分化誘導療法による寛解導入中死亡の減少および寛解導入率の上昇、アントラサイクリンを中心とした抗がん剤による強化療法の有効性などにより、完全寛解率 95% 前後、無イベント生存率 (EFS) 80-90%、全生存率 (OS) 90% 前後などの成績が得られており、APL は最も治療の見込める白血病の一つとなっている。また、HSCT は、APL が治療の可能性の高い白血病であることから、第一寛解期には行われず、再発後の救済療法ととらえられている。我が国では AML99-M3 研究において、58 例が登録され、寛解導入中に播種性血管内凝固症候群 (DIC) で死亡した 2 例を除く全例に寛解が得られ、7 年の EFS、OS が 91.4%、93.1% という諸外国を凌駕する成績を報告した⁹⁾。JPLSG では AML99-M3 研究を基本骨格とし、DIC への対応の強化と、強化療法の回数を減らした AML-P05 プロトコールを行い、2011 年 3 月に 46 例の登録症例で試験終了した。再発後の APL の予後は他の白血病と同様に不良であるため、今後は既に有用性が証明されている¹⁰⁾、RQ-PCR 法を用いた *PML/RAR α* キメラ mRNA による MRD を強化療法後に測定し、MRD 陽性例にゲムツズマブ オゾガマイシン (gemtuzumab ozogamicin: GO)

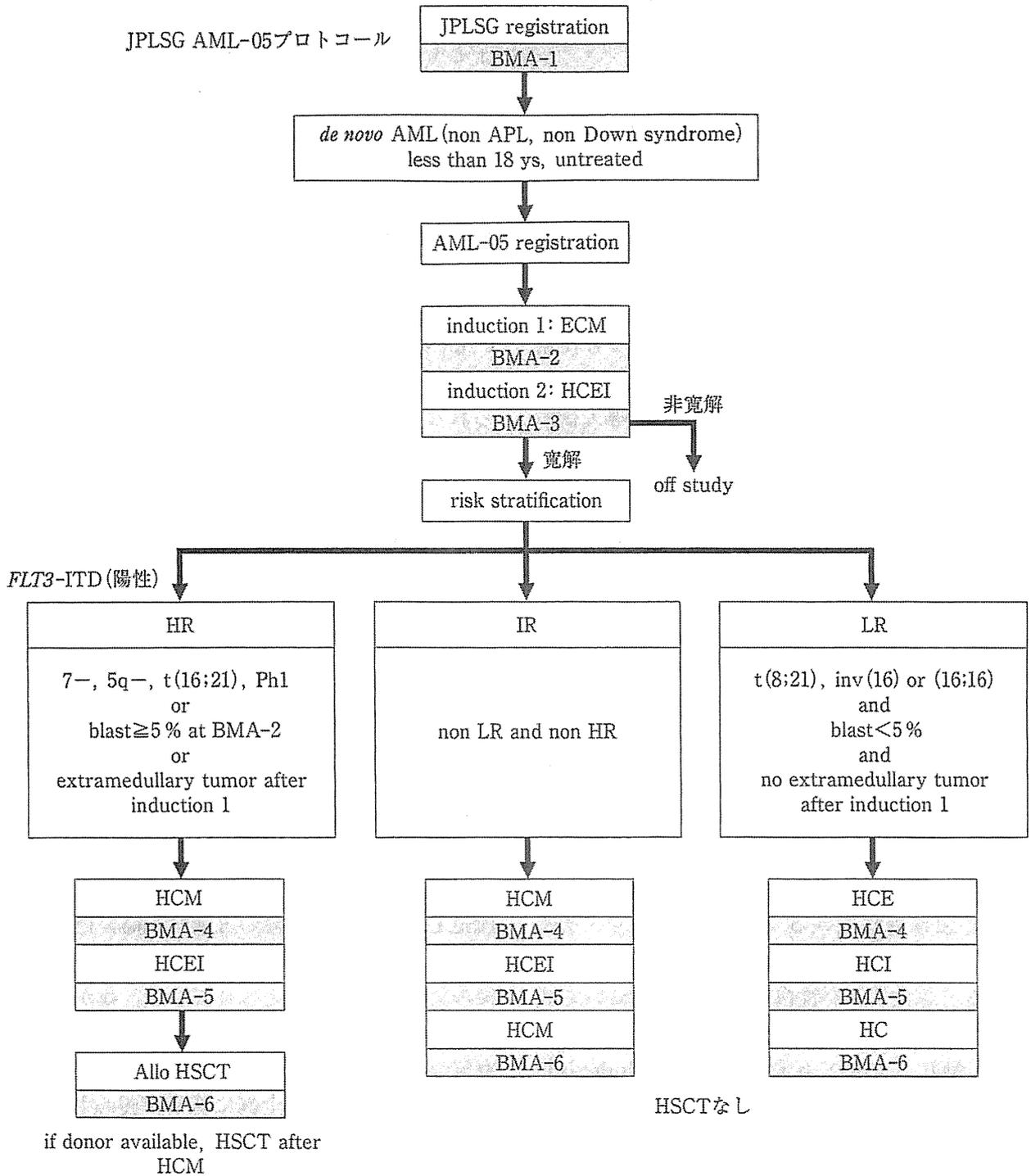


図1 AML-05プロトコール

を投与する追加治療を行うこと、標準リスク群の強化療法においてアントラサイクリン系抗がん剤の減量を意図し、かわりの治療として亜ヒ酸(ATO)を導入する次期プロトコールを作成中である。

3 ダウン症候群に合併したAML (AML-DS)

AML-DSはAML-non DSと比べ、治療反応性がよく高い生存率が期待できる一方で、治療関連毒性が高く、AML-non DSと違った治療戦略を立てる必要があるということが明らか

になっている。CCG-2861/2891やBFM93では非DS児の標準AMLプロトコルをDSに使用して治療関連死亡率が高かった(10-34%)。そのためAra-C大量療法やアントラサイクリン系抗がん剤を減量してBFM98では良好な成績(寛解導入率100%, 3年OS 91%, 3年EFS 89%)を得ている¹¹⁾。我が国での特徴的な治療法としてAML-DSに特化した治療で良好な成績を報告してきた。1987-97年の小島らのAT研究会におけるAML-DSの治療研究(AT-DS)(n=33), それに引き続いて小児AML共同治療研究会で2000年2月から2004年6月まで行われたAML99 Downプロトコル研究(AML99 DS, n=72)では寛解導入率97.2%, 3年EFS 83±8%, 3年OS 84±9%, 再発率13±7%という欧米に遜色ない成績を示した¹²⁾。JPLSGではAML99 DSの結果を受けて, 寛解導入療法1コースで寛解を得られなかった群を高リスク群とし, サルベージ治療を設定する一方で, それ以外の標準リスク群に対し, 治療減弱を行ったAML-D05プロトコルを行い, 74症例の登録があり, 2010年12月で登録終了した。AML-DSは再発後もHSCTで救済できる確率が低く, 血液学的寛解となった症例から再発がみられていることから, 次期プロトコルではAML-DSの原因遺伝子の一つとされるGATA1変異¹³⁾やFCMによるMRD残存と再発の関与をみる臨床研究を開始予定である。

慢性骨髄性白血病(CML)

小児CMLの発症頻度は全国アンケート調査などより, 年間15-20例と推測される。18歳未満の小児CMLの治療については‘小児白血病・リンパ腫の診療ガイドライン(2007年版)’(日本小児血液学会編)¹⁴⁾の中でガイドラインが公

表されており, 成人と同様に小児CML慢性期患者の第一選択薬はBCR-ABLを標的とするチロシンキナーゼ阻害剤(TKI)であるイマチニブで初期量は260mg/m²から開始する。また, 従来, 家族内にHLA完全一致ドナーがいれば, 診断1年以内に同種HSCTを行うことが推奨されていたが, イマチニブ登場後は成人同様にHSCTの適応はイマチニブ反応不良症例(急性転化症例含む)に限定されつつある。移植関連死亡軽減目的にて成人で盛んに行われているreduced-intensity stem cell transplantation(RIST)の小児における意義は今後の検討課題である。現在, JPLSGでは, 小児CML患者の治療成績を把握することを診断目的として, 診断時年齢18歳未満の初発時慢性期CML患者を対象に前方視的観察研究(CML-08)を行っており, 末梢血BCR-ABL/ABL mRNA比, FCMを用いたマーカー解析, イマチニブ血中濃度解析, BCR-ABL遺伝子変異解析の中央検査を行っている。BCR-ABL遺伝子変異出現後は成人同様にダサチニブなどの第2世代TKIが使用されるが, 有効性, 安全性とも現時点でのまとまったデータはない。イマチニブはBCR-ABLをはじめ, KIT, PDGFRなど数種類のチロシンキナーゼを阻害するため, 長期内服による身体的影響も重要課題である。小児特有の問題として成長障害や骨代謝障害などが挙げられる。嶋ら¹⁵⁾は, 48例の解析から, 思春期発来前(男児:10歳以前, 女児:8歳以前)にイマチニブ投与が開始された群で成長障害が発生する確率が高く, 思春期以降に成長の改善が認められると報告した。CML-08では身長推移と骨代謝マーカー, 性腺ホルモン, 性腺刺激ホルモンの推移を比較してイマチニブによる成長障害の機序を検討中であり, 結果が注目される。

VI

小児造血器腫瘍の臨床

文献

- 1) Rai KR, et al: Treatment of acute myelocytic leukemia: a study by cancer and leukemia group B. Blood 58: 1203-1212, 1981.
- 2) Tsukimoto I, et al: Risk-stratified therapy and the intensive use of cytarabine improves the outcome in childhood acute myeloid leukemia: the AML99 trial from the Japanese Childhood AML Coopera-

- tive Study Group. *J Clin Oncol* 27: 4007–4013, 2009.
- 3) Dohner H, et al: Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: recommendations from an international expert panel, on behalf of the European LeukemiaNet. *Blood* 115: 453–474, 2010.
 - 4) Rubnitz JE, et al: Minimal residual disease-directed therapy for childhood acute myeloid leukemia: results of the AML02 multicentre trial. *Lancet Oncol* 11: 543–552, 2010.
 - 5) Mizushima Y, et al: 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.
 - 6) Shimada A, et al: No nucleophosmin mutations in pediatric acute myeloid leukemia with normal karyotype: a study of the Japanese Childhood AML Cooperative Study Group. *Leukemia* 21: 1307, 2007.
 - 7) Shimada A, et al: KIT mutations, and not FLT3 internal tandem duplication, are strongly associated with a poor prognosis in pediatric acute myeloid leukemia with t(8;21): a study of the Japanese Childhood AML Cooperative Study Group. *Blood* 107: 1806–1809, 2006.
 - 8) Pollard JA, et al: Prevalence and prognostic significance of KIT mutations in pediatric patients with core binding factor AML enrolled on serial pediatric cooperative trials for de novo AML. *Blood* 115: 2372–2379, 2010.
 - 9) Imaizumi M, et al: Prospective study of a therapeutic regimen with all-trans retinoic acid and anthracyclines in combination of cytarabine in children with acute promyelocytic leukaemia: the Japanese childhood acute myeloid leukaemia cooperative study. *Br J Haematol* 152: 89–98, 2011.
 - 10) Diverio D, et al: Early detection of relapse by prospective reverse transcriptase-polymerase chain reaction analysis of the PML/RAR α fusion gene in patients with acute promyelocytic leukemia enrolled in the GIMEMA-AIEOP multicenter “AIDA” trial. *Blood* 92: 784–789, 1998.
 - 11) Creutzig U, et al: AML patients with Down syndrome have a high cure rate with AML-BFM therapy with reduced dose intensity. *Leukemia* 19(8): 1355–1360, 2005.
 - 12) Kudo K, et al: Prospective study of a pirarubicin, intermediate-dose cytarabine, and etoposide regimen in children with Down syndrome and acute myeloid leukemia: the Japanese Childhood AML Cooperative Study Group. *J Clin Oncol* 25: 5442–5447, 2007.
 - 13) Kanazaki R, et al: Down syndrome and GATA1 mutations in transient abnormal myeloproliferative disorder: mutation classes correlate with progression to myeloid leukemia. *Blood* 116: 4631–4638, 2010.
 - 14) 嶋田博之ほか: 慢性骨髄性白血病. 小児白血病・リンパ腫の診療ガイドライン 2007年版(日本小児血液学会編), p40–43, 金原出版, 2007.
 - 15) Shima H, et al: Distinct impact of imatinib on growth at prepubertal and pubertal ages of children with chronic myeloid leukemia. *J Pediatr* 159: 676–681, 2011.



2

急性骨髄性白血病

はじめに

小児急性骨髄性白血病 (AML) は、近年の強力な多剤併用抗がん剤治療と支持療法の進歩により、生存率の向上がみられてきた。急性前骨髄性白血病 (APL) および Down (ダウン) 症候群合併 AML (別項で記載) は予後良好で別プロトコールで治療される。ここでは *de novo* AML と APL について解説する。

1 分類

形態学的分類 (French-American-British Classification : FAB 分類) の M0 ~ M7 は、M3 の APL は治療法が異なるため重要であるが、予後因子としてはキメラ遺伝子、遺伝子変異を重視した WHO 分類の方が臨床的には使われるようになってきている。最新の WHO 分類 (第 4 版) では AML は以下のように分類されている。FAB 分類を右に対比させる。

- a) 反復性染色体異常を伴う AML (acute myeloid leukaemia with recurrent genetic abnormalities)
- AML with t(8;21)(q22;q22) ; *RUNX1-RUNX1T1* (*AML1-ETO*)
 - AML with inv(16)(p13.1q22) or t(16;16)(p13.1;q22) ; *CBFB-MYH11*
 - APL with t(15;17)(q22;q12) ; *PML-RARA* (APL:M3)
 - AML with t(9;11)(p22;q23) ; *MLLT3-MLL*
 - AML with t(6;9)(p23;q34) ; *DEK-NUP214*
 - AML with inv(3)(q21q26.2) or t(3;3)(q21;q26.2) ; *RPNI-EVII*

2. 急性骨髄性白血病

- AML (megakaryoblastic) with t(1;22)(p13;q13) ; *RBM15-MKLI*
- Provisional entity : AML with mutated *NPM1*
- Provisional entity : AML with mutated *CEBPA*

キメラ遺伝子の判明している染色体異常とともに成人で予後良好とされる遺伝子変異(*NPM1*, *CEBPA*)が分類の最上位になっている。また AML with gene mutations という項目の記載があり、今後、*FLT3-ITD* (後述)をはじめ、追加記載される可能性が高い。

- b) 多血球系異形成を伴う AML (acute myeloid leukaemia with myelodysplasia-related changes)
- c) 治療関連 AML および MDS (therapy-related myeloid neoplasms)
- d) 上記カテゴリー以外の AML (acute myeloid leukaemia, not otherwise specified)
 - AML with minimal differentiation (M0)
 - AML without maturation (M1)
 - AML with maturation (M2)
 - Acute myelomonocytic leukemia (M4)
 - Acute monoblastic/monocytic leukaemia (M5)
 - Acute erythroid leukaemia (M6)
 - Pure erythroid leukaemias (M6a)
 - Erythroleukaemia, erythroid/myeloid (M6b)
 - Acute megakaryoblastic leukaemia (M7)
 - Acute basophilic leukaemia
 - Acute panmyelosis with myelofibrosis
- e) Myeloid sarcoma
- f) Myeloid proliferations related to Down syndrome, Transient abnormal myelopoiesis, Myeloid leukaemia associated with Down syndrome
- g) Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasms

◇2 頻 度

わが国における新規の *de novo* AML は年間 150 例前後、APL は 15 例前後である。

◇3 病 因

AML は急性リンパ性白血病 (ALL) と異なり、白血病幹細胞分画が同定され¹⁾、骨髓異形成症候群 (MDS) と同様に造血幹細胞レベルでの異常が推定されている。免疫不全マウスを用いた白血病幹細胞の同定や抗がん剤感受性などの研究の進展が期待される。

◇4 臨床像と診断基準

急性リンパ性白血病 (ALL) と同様に、臨床像は白血球減少による発熱、感染症様症状、赤血球減少による貧血、血小板減少による出血傾向などで、皮膚や粘膜に浸潤して歯肉腫脹や皮疹を生じたり、単球性の白血病 (M4, M5) では腫瘤を形成することもある。

診断基準としては WHO 分類を用い、骨髓において骨髓芽球が全有核細胞数の 20% 以上を占める場合を AML とする。M6 のみは、赤芽球が全有核細胞数の 50% 以上でかつ芽球が非赤芽球の 20% 以上である。また、 $t(8;21)(q22;q22)$ 、 $inv(16)(p13;q22)$ 、 $t(16;16)(p13;q22)$ などの染色体異常がクローナルに認められた場合は、芽球の比率にかかわらず AML とする。APL では、初診時の染色体検査あるいは FISH 法あるいはサザンプロット法で、 $t(15;17)(q22;q12)$ (染色体検査) あるいは PML-RAR α 融合遺伝子 (FISH 法) あるいは RARA 遺伝子再構成 (サザンプロット法) を確認する。

◇5 リスク分類、治療層別と予後

AML と診断された後、APL とダウン症候群に伴う AML は別プロトコールで治療され、*de novo* AML は寛解導入療法後にリスク別に治療方針が異なる。

2. 急性骨髄性白血病

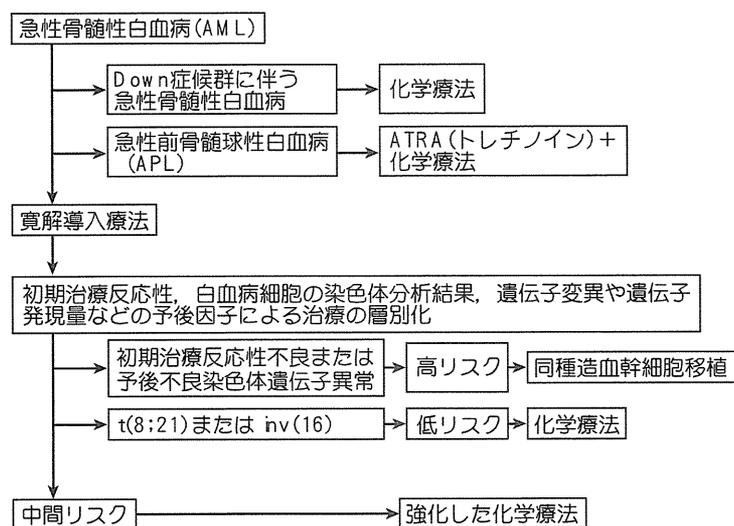


図 1 急性骨髄性白血病アルゴリズム

小児急性骨髄性白血病の治療シエマ。Down症候群に伴うAMLとAPLは別治療である。

(小児白血病・リンパ腫の治療ガイドライン 2007年版〔日本小児血液学会 編〕より引用改変)

アルゴリズムを図1に示す。

1. *de novo* AML

AMLの治療の主体は化学療法であるが、その中でもシタラビンおよびダウノルビシンをはじめとしたアントラサイクリン系抗がん剤を基本としている。寛解導入療法レジメンは1970年代に確立されたシタラビン 100 mg/m^2 の7日間およびダウノルビシン 45 mg/m^2 の3日間投与を行う“7 and 3”療法が成人領域では基本である。現在、シタラビンおよびダウノルビシン、ミトキサントロン、イダルビシンなどのアントラサイクリン系抗がん剤を基本に、エトポシド等を加えた多剤併用療法がAMLに対する寛解導入療法として一般的に使用されており、主な研究グループの完全寛解率は現在85～90%に達している。

化学療法による治療成績の向上に伴い最近のリスク層別化治療のもとでは、

表 1 小児 AML 治療成績の比較

| Study | n | CR | コース | alb SCT | pEFS (年) | pOS (年) |
|----------------------------|-----|-----|------------------------|---------|------------|------------|
| Japan AML99 2000 ~ 2002 | 240 | 94% | 6 | 19% | 61% (5) | 75% (5) |
| SJCRH AML02 2002 ~ 2008 | 230 | 94% | 5 | 27% | 63% (3) | 71% (3) |
| MRC AML12 1995 ~ 2002 | 455 | 92% | 4 ~ 5 | 7% | 56% (5) | 66% (5) |
| BFM 2004 2004 ~ 2009 | 566 | | 4 ~ 5 + maintenance | NA | 54% (5) | 72% (5) |
| NOPHO 93 1993 ~ 2000 | 243 | 92% | 6 ~ 7 | 23% | 48% (5) | 65% (5) |
| CCG 2961 1996 ~ 2002 | 901 | 88% | 3 | 18% | 42% (5) | 52% (5) |

CR : 完全寛解, alb SCT : 同種造血幹細胞移植, pEFS : 無イベント生存率, pOS : 全生存率

日本の治療成績は欧米と比較しても良好な成績である。

(文献 3 他, JPLSG AML05 プロトコールに記載)

同種造血幹細胞移植は各々の研究グループにより定義された高リスク群に限られてきている。主な研究グループによる小児 AML の治療強度と成績を表 1 に示す。強化療法は、シタラビンとアントラサイクリン系抗がん剤を中心に、寛解導入療法も含めて 4 ~ 6 コースの化学療法を行うのが一般的である。成人同様に、小児 AML においても大量シタラビン療法の多用が良好な治療成績に結び付くと考えられ、薬剤の総投与量よりも各コースにおける治療強度が治療成績と密接に関係していると考えられる。

狭義の AML (*de novo* AML) は、白血病細胞の遺伝子染色体異常に基づき予後良好群、予後不良群、中間群に分けられることが多い。予後良好群は t(8;21) や inv(16) などの core binding factor 関連白血病 (CBF 白血病)、予後不良群は、7- や 5q-, Ph 陽性例などが挙げられている²⁾。また現在強力な予後因子と

2. 急性骨髄性白血病

して初期治療反応性も挙げられている。英国 MRC(Medical Research Council) グループでは、寛解導入療法初回コース後の非寛解例を、ドイツ BFM グループでは寛解導入療法初回コース開始後 15 日目の骨髄芽球が、5%以上のものをハイリスク (high risk) としている。

2. *FLT3*-ITD

最近新たな予後因子として PDGF 受容体ファミリーに属する膜受容体型チロシンキナーゼである FMS-like tyrosine kinase 3(*FLT3*)の internal tandem duplication (*FLT3*-ITD)が注目されている。*FLT3*-ITD は成人および小児 AML の 15～30%に存在するといわれ、従来の染色体遺伝子異常を中心とした予後因子とは独立した強力な予後因子であることが報告されており、ドイツの BFM グループでは BFM2004 研究において *FLT3*-ITD 陽性例を high risk に分類している。わが国でも後述する AML99 症例にて *FLT3*-ITD は予後不良因子であることが判明し、AML05 では *FLT3*-ITD 陽性例を high risk に分類している。また予後良好群に分類されている t(8;21) 症例において、*c-kit* 変異症例は予後不良であることも報告された。

現在 AML の長期無病生存割合は約 50%～60%に達している。同種造血幹細胞移植 (SCT) は、現状では最も有効な治療手段と考えられているが、ドナー、またはさまざまな移植関連合併症および晩期合併症などの問題から、むしろ高リスク群や再発例などに適応が限定されつつある。AML99 プロトコールのシェーマを図 2 に示す。中間リスク群には HLA (ヒト主要組織適合性抗原) 一致血縁ドナーがある場合は第 1 寛解期に同種移植、ない場合には 4 コースの強化療法後で自家骨髄移植 (ABMT) を行う群と 5 コースの強化療法を行う群とでランダム化比較試験を行った。しかし、この比較試験は患者家族の同意が半数しか得られず、ABMT 割付群の ABMT 施行率が低かったことにより、2002 年 6 月に中止になっている。高リスク群は第 1 寛解期における SCT の絶対適応とし、血縁ドナーがいた場合は血縁者間同種骨髄移植を、いない場合は非血縁者間同種骨髄移植を寛解導入後早期に行うこととした。2000 年 1 月 1 日～2002 年 6 月 12 日までに登録された 250 例の 5 年全生存率 (OS)、無イベント生

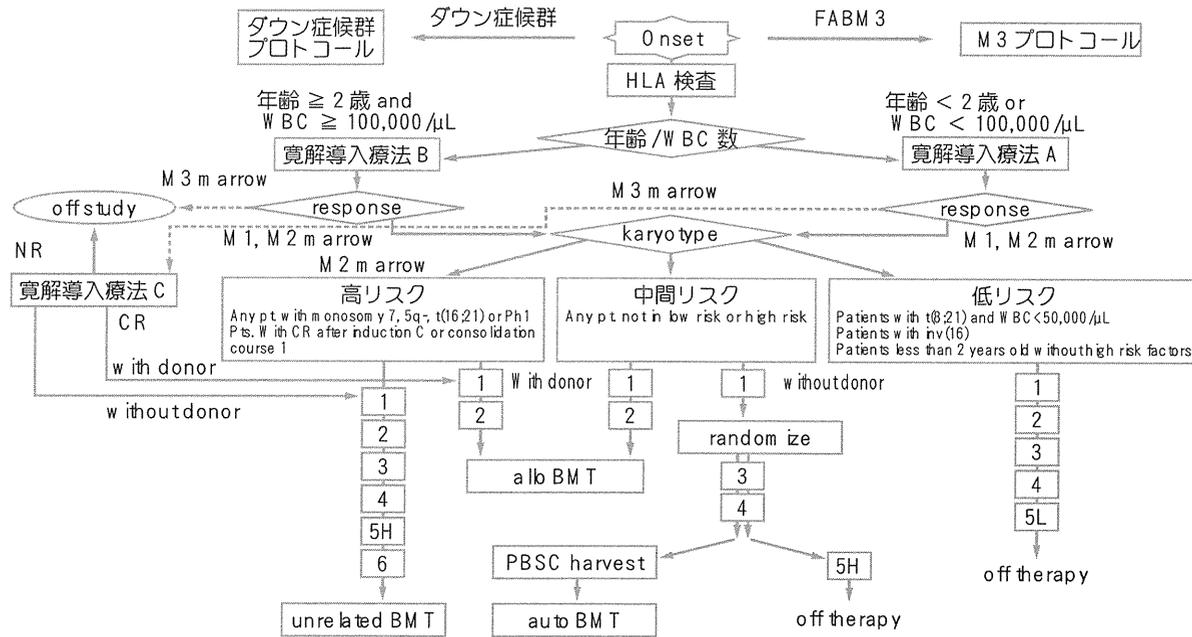


図2 AML99 プロトコール

AML99 プロトコールシエマの全体図。寛解導入療法はリスク別に 2 種類あり，治療反応性等により 3 群に分けられて治療される。

(文献 3 より)

2. 急性骨髄性白血病

存率 (EFS) はそれぞれ 75.6%, 61.6% であり, 欧米と比較しても最も良い成績であった。また, 低リスク群 85 例, 中間リスク群 71 例, 高リスク群 22 例の 5 年 OS/EFS は 86.2%/71.3%, 72.3%/59.8%, 56.5%/56.5% であり, 予後因子による層別化が有効に機能していることが示唆された³⁾。

以上の結果を踏まえて, わが国では現在, 2006 年から AML99 の層別化治療を基本骨格とする AML05 プロトコル (図 3) が行われ, 順調に登録が進み 2010 年 12 月末で登録終了となった。今回のプロトコルから臨床研究の質を高くする目的で全例, 診断および寛解判定を central review にて行うこととし, AML with multilineage dysplasia は過去の日本の報告例のまとめでは, heterogenous な疾患群と考えられたこと⁴⁾より, 今回の研究においてはプロトコルに含めて予後因子の解析を行うこととした。また AML99 の中間リスク群の移植例と非移植例の解析から, 3 年 OS に有意差がなかった (移植群 82.6% vs 非移植群 77.6%) こと, 晩期障害を考慮して AML05 では移植群を I-BFM と同様にできるだけ限定するというコンセプトに従って, 中間リスク群も全例, 化学療法のみとした。また予後不良因子として高リスク群に採用された *FLT3*-ITD 以外の予後因子を同定する目的で, MRD としてのキメラスクリーニングの検討や保存検体を用いた新規予後因子の探索が付随研究として行われ, 現在解析中である。以下, 各論的に主な予後因子を概観し, *CEBPA*, *FLT3*-ITD, *BAALC* については AML99 プロトコル登録症例から得られた知見を含め解説する。なお, WHO 分類 (第 4 版) に挙げられている *NPM* 変異は, AML99 症例の normal karyotype 33 例の解析では 1 例もみられなかった。

3. 予後因子

(1) *CEBPA* (CCAAT enhancer binding protein- α)

CEBPA は骨髄球系に発現し, 細胞の分化を調節する転写因子である⁵⁾。幼弱な myeloblast から meta-myelocyte の分化段階まで強発現し, 以降は分化に伴い発現が低下する。構造的には, イントロンを挟まない 1 つのエクソン領域からなり, N 末側に 2 つの transcription activating domain があり, C 末側には, DNA binding domain がある。N 末側に遺伝子変異があると, 2 番目の開

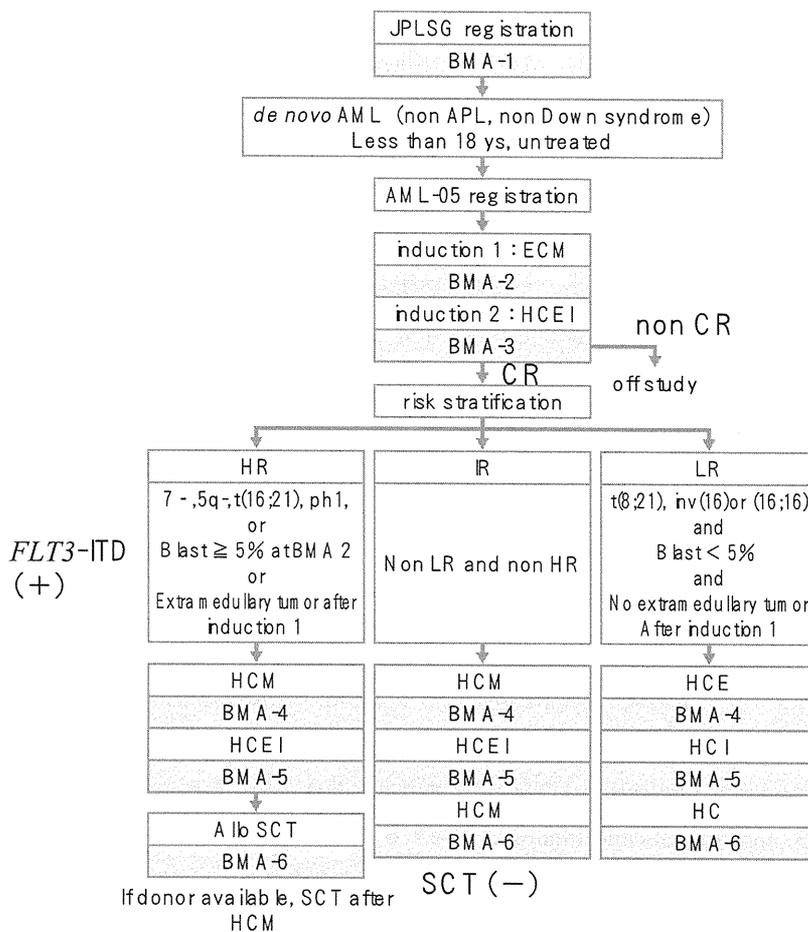


図3 JPLSG AML05 プロトコール
 わが国初の全国統一小児AML治療プロトコールである。
 (JPLSG AML05 プロトコールに記載)

始コドンからの翻訳が行われるため、ドミナント・ネガティブ効果を示す。また本来 *CEBPA* は、DNA への結合時に、ダイマーを形成するが、C 末側に遺伝子変異があると、ダイマー形成がうまくいかないか、形成できても、機能低下をきたし、骨髄球系の細胞分化・増殖異常を示すことになる。