

録を開始した。2012年2月29日現在、参加予定施設数118施設中、IRB承認施設は115施設、登録患者数102（観察研究R08-I：48、臨床試験R08-II：54）例である。

2. non-T-ALLの中間危険群S2に対する臨床試験ALL-R08-IIはALL-REZ BFM95/96の治療を修正して適用し、寛解導入療法後もMRDが残存する例については、同種移植を行うことによりS2の無イベント生存率(EFS)を過去の日本の治療によるEFSより改善させ得るか、有効性と安全性を検証する試験である。

試験は進行中であり、2012年2月29日現在、ALL-R08-II登録症例数は54例である。最新の定期モニタリング(第5回、2011年12月31日現在)結果では、登録症例53例中25例が治療中で、移植群で10例が治療完了している。18例がプロトコル治療中止となっており、主な中止理由はBMA5の時点における非寛解、再々発、患者または主治医の申し出によるものであった。プロトコル治療中の死亡、およびプロトコル治療に関連する重篤な有害事象はない。予定時期に実施した中間解析結果でも安全性、有効性は想定範囲内であり、効果安全性評価委員会において継続許可を得た。

3. 前方視的観察研究ALL-R08-Iも進行中であり、2012年2月29日現在の登録症例数は48例である。このうち、低危険群S1に1例が推奨治療を実施中である。
4. 高危険群のうち、T-ALLに対しては2011年12月1日に「小児難治性T細胞性急性リンパ性白血病に対するネララビン、フルダラビン、エトポシドを用いた寛解導入療法第I/II相臨床試験(ALL-RT11)」を開始し、2012年2月29日現在1例が登録中である。また、その他の高危険群に対して、ボルテ

ゾミブを組み込んだ新規寛解導入療法開発のための試験「小児難治性急性リンパ性白血病に対するボルテゾミブ併用化学療法第I/II相臨床試験」も準備中である。

5. 昨年に引き続き、2012年2月のRomaでの第12回Interim Meeting of the Resistant Disease Committee of the I-BFM-SGにてヨーロッパ内外各国とともに次期国際共同研究IntReALL2010の実施の詳細について議論を行い、研究計画書のみならずデータベースや収集システムなどに関する具体的な準備に入った。

D. 考察

2009年6月に開始した臨床研究ALL-R-08には登録予定数の約70%が登録され、治療中である。ALL-R08-IIにおいては、77%の症例が集積され、BMA3のMRDによる層別化も順調に行われ、中間解析による安全性評価も終了した。有効性は化学療法群の治療終了後の観察期間が必要であるため、現時点での評価は不十分であるが、予後の改善が期待できる。

今期は予後不良である再発・難治のT-ALLに対しても新規薬剤を導入した寛解導入療法試験ALL-RT11が開始され、難治ALLへの有効性評価が待たれる。有効性が期待されながら本邦では使用できない薬剤もいまだ多いが、今後は米国TACL、ヨーロッパのITCCなどとも連携しつつ、新規薬剤の治験の早期開始、早期承認のための体制の整備なども行っていく。症例数の少ない群に対し、新規薬剤を早期に評価するには国際共同研究も必要であろう。第12回Interim Meeting of the Resistant Disease Committee of the I-BFM-SGでも希少疾患群や新規薬剤、治療に関する情報収集・提供を行うとともに、国際共同研究IntReALL2010の開始の準備を進めた。より有効な治療の確立のための国際共同研究体制は整いつつある。

E. 結論

全再発 ALL の前方視的観察を行う臨床研究 ALL-R-08 を実施している。この中で、non-T の中間危険群 S2 に対する MRD による治療選択を組み込んだ臨床試験 ALL-R08-II も行っており、順調に進行中である。また、T-ALL に対する第 I / II 相臨床試験 ALL-RT11 も開始となった。ボルテゾミブを組み込んだ新規寛解導入療法の第 1 / 2 相試験と、ALL-R08 終了後の次期国際共同研究 IntReALL2010 の準備も進んでいる。予後不良群に対しては新薬導入や国際研究を含めたあらゆる治療戦略を視野に入れ、次年度も更なる検討を重ねていく。

F. 健康危険情報

本研究の臨床試験でプロトコール治療に関連する重篤な有害事象は発生していない。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Goto H, Yanagimachi M, Goto S, Takeuchi M, Kato H, Yokosuka T, Kajiwara R, Yokota S. Methylated chrysin reduced cell proliferation, but antagonized cytotoxicity of other anticancer drugs in acute lymphoblastic leukemia. *Anticancer Drugs*. 2012 ; 23: 417-25.

2) Horibe K, Takimoto T, Yokozawa T, Makimoto A, Kobayashi Y, Ogawa C, Ohno R, Koh N, Katsura K, Tobinai K. Phase I study of nelarabine in patients with relapsed or refractory T-ALL/T-LBL. *Rinsho Ketsueki*. 2011 ; 52 : 406-15. Japanese.

2. 学会発表

1) 小川千登世、真部淳、小原明、石黒明.
本邦における L-アスパラギナーゼ治療の凝

固障害に対する支持療法調査. 第 73 回日本血液学会学術集会, 2011 年 10 月 15 日, 名古屋

2) Ogawa C, Manabe A, Ohara A, Ishiguro A. Survey of supportive therapy for coagulation disorder during L-asparaginase (L-asp) therapy in Japan. *ISTH2011*, Jul 25, 2011 Kyoto

3) Ogawa C. Interim analysis of ALL-R08 ; safety data of S2 group in Japan. 12th Interim Meeting of the I-BFM Resistant Disease Committee, 10th-12th February 2012, Rome

4) Yamanaka J, Ogawa C. Implementation of IntReALL in Japan - GCP / Regulations. 12th Interim Meeting of the I-BFM Resistant Disease Committee, 10th-12th February 2012, Rome

5) Goto H. Preclinical in vitro Drug Testing using Pediatric Acute Leukemia Cells. 12th Interim Meeting of the I-BFM Resistant Disease Committee, 10th-12th February 2012, Rome

6) Kato I. Leukemic cells in the extra-medullary site contribute to the relapse of the disease. 12th Interim Meeting of the I-BFM Resistant Disease Committee, 10th-12th February 2012, Rome

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

厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）

分担研究報告書

急性リンパ性白血病における遺伝子増幅法による微小残存病変の診断確立ための研究

研究分担者 鶴澤正仁 愛知医科大学医学部小児科 教授

研究趣旨

本研究の目的は、わが国の小児造血器腫瘍、特にリンパ系腫瘍における免疫受容体遺伝子再構成を用いた微小残存病変(MRD)定量法を標準化することにより、各疾患の治療研究における診断・治療に必要な質の高い情報を供給出来得る分子生物学的診断システムを確立することにある。

本年度われわれは、2009年より取り組んできた遺伝子再構成ターゲットの拡大とRQ-PCRの導入によって標準化を達成されたと考えるMRD定量法を用いて、小児リンパ性白血病関連の治療研究においてMRD定量を行いその成果を検証した。また欧州BFMグループのMRD専門研究機関EuroMRD主催のQuality Control Roundへ継続的に参加し、定量精度の維持とさらなる定量技術の改善を試みた。

研究協力者氏名

堀 壽成 愛知医科大学医学部小児科講師

A.研究目的

本研究の目的は、わが国の小児造血器腫瘍、特にリンパ系腫瘍における免疫受容体遺伝子再構成を用いた微小残存病変(MRD)定量法を標準化することにより、各疾患の治療研究における診断・治療に必要な質の高い情報を供給出来得る分子生物学的診断システムを確立することにある。

B.研究方法

従来わが国における免疫受容体遺伝子再構成を用いた微小残存病変定量は、小児がん白血病研究グループ(CCLSG)により実施され、その測定は欧州の国際共同研究BIOMED-1での再構成ターゲットをベースにしたnested PCRによる半定量法で行われてきた。しかしその後BIOMED-2を経て標準化された現在の欧州BFMグループにおける再

構成検出率や定量精度とは明らかな差が存在し、全国規模の治療研究を行うにあたってこれらの世界標準化が必要と考えられた。このため我々はBFMグループにおける分子診断の中心施設であるErasmus Medical Center免疫学教室の協力の下、再構成スクリーニングにおけるターゲットの拡大とRQ-PCR法の導入を行い、TCRβ鎖、IgH鎖におけるDH-JH、SIL-TALの遺伝子再構成の検出およびTaqmanプローブ法によるRQ-PCRでのMRD定量を可能とするに至った。昨年度来、実際の治療研究および依頼検体について上記の方法を適用してその再構成検出率、定量結果を過去のデータと比較検討し、今後開始される治療研究での実用性を検証するとともに、2009年に参加資格を取得したBFMグループのALL-MRD専門研究機関(EURO-MRD)の年2回にわたるQuality Control Roundに、定量精度の確認とその維持を目的として継続的に参加した。

C.研究結果

- (1) 受領検体112例のうち、プロトコール除外例等で解析対象外症例が10例、検体の不足、不備にて解析不能の症例が18例で、これらを除く評価可能症例84例の初診時検体について再構成スクリーニングを行い、83例(98.8%)で1個以上の再構成を検出した。昨年度より新たにスクリーニングの対象となったTCR β は9例で検出されたが、SIL-TALは検出されなかった。さらにこの83例のうち定量用フォローアップ検体を受領できた71例については、70例(98.6%)でRQ-PCRによるMRD定量が可能であった。またその定量感度は 10^{-4} 乗以下が63例(88.7%)で、 10^{-5} 乗に達していたものは51例(71.8%)であった。PCRによるMRD定量を盛り込んだ初めての全国規模の治療研究であるALL-R08 IIにおいて送付された検体22例については、解析対象外が1例、検体の不足、不備が7例で、これらを除く評価可能症例14例全例で再構成の検出およびMRD定量が可能であった。その定量感度が 10^{-5} 乗に達していたものは11例(78.6%)であった。またCCLSG ALL2004RQ研究における送付検体58例では、再構成検出率98%、感度 10^{-3} 乗以下での定量可能症例は全体の97.7%、 10^{-5} 乗以下は70.5%であった。
- (2) 本年度より正式参加を承認された欧州BFMグループにおけるALL-MRD専門研究機関(EURO-MRD)の再構成検出およびRQ-PCRによるMRD定量法の精度管理を目的とするQuality Control Roundの第19回(6/7-9、ロンドン)、第20回(11/9-11、ロッテルダム)に参加し、当施設の定量技術の精度を確認した。これは、RQ-PCRデータの解釈(task1)、未知の患者検体における再構成検出とMRD定量(task2)、塩基配列とともに与えられた患者検体のMRD定量(task3)の3つの課題について参加全施設が本部より送付された同じデータ、

検体を解析する形式で行われ、第19回における当施設の一致率はtask1 95%、task2 100%、task3 75%であった(第20回については現在スコアリング中)。

D. 考察

本研究において本年度の取り組みは、昨年度に引き続き、実際の治療プロトコールにおけるMRD定量システムの実践とその精度の検証と位置づけられる。昨年度同様、ALL-R08 II、あるいはCCLSG ALL2004RQにおいて、プロトコールの運用に必要なレベルの結果を一定の時間内で得ることができ、再構成検出率、MRD定量達成率ともが95%以上の高いレベルで維持されていることが明らかとなった。この結果に反映される定量精度は、世界規模で行われるQC Roundにて検証されており、本法は今後実施される臨床研究にも十分に貢献できるものと考えられた。また昨年度より懸案となっていた新規ターゲットの再構成検出状況については、TCR β 以外、特にSIL-TALの検出は稀と考えられるため、手技の効率化の観点から、これらについてはスクリーニングの段階で他の再構成が検出できなかった場合のみに限定することとして、スクリーニング方法の改訂を行った。今後もEuroMRDへの参加と解析症例の蓄積によって現在の水準を維持し、さらなる改善を試みたい。

E. 結論

本年度われわれは、昨年度に引き続き、小児リンパ性腫瘍の臨床研究において、RQ-PCRの導入等にて改訂した新たな方法によって免疫受容体遺伝子再構成を用いたMRD定量を行い、定量精度の向上を検証した。また継続的なEuroMRD QC Roundへの参加によって精度管理を行うとともに、定量精度の世界標準化の達成を確認した。

F. 健康危険情報

無し

G. 研究発表

1、原著論文

- 1) Tsurusawa M. Standard therapy and current research topics for childhood/adolescent acute lymphoblastic leukemia. Rinsho Ketsueki. 2011 Oct;52(10): 1585-93.
- 2) Iwamoto S, Tsurusawa M, 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. 2011 Aug;94(2):185-92.
- 3) Sekimizu M, Tsurusawa M, et al. Chromosome abnormalities in advanced stage T-cell lymphoblastic lymphoma of children and adolescents: a report from Japanese Paediatric Leukaemia/Lymphoma Study Group (JPLSG) and review of the literature. Br J Haematol. 2011 Sep;154(5):612-7.
- 4) Shima H, Tsurusawa M, et al. Distinct impact of imatinib on growth at prepubertal and pubertal ages of children with chronic myeloid leukemia. J Pediatr. 2011 Oct;159(4):676-81.
- 5) Taga T, Tsurusawa M, et al. Continuous and high-dose cytarabine combined chemotherapy in children with down syndrome and acute myeloid leukemia: Report from the Japanese children's cancer and leukemia study group (JCCLSG) AML 9805 down study. Pediatr Blood Cancer. 2011 Jul 15;57(1):36-40.
- 6) Shimomura Y, Tsurusawa M, et al. Assessment of late cardiotoxicity of pirarubicin (THP) in children with acute lymphoblastic leukemia. Pediatr Blood Cancer. 2011 Sep;57(3):461-6.

- 7) Ohta H, Tsurusawa M, 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. 2011 Jan;93(1):135-7.

2、著書

- 1) 鶴澤正仁 小児のリンパ腫 416-418頁 血液専門医テキスト 2011年 日本血液学会編 南江堂
- 2) 鶴澤正仁 小児 ALL 治療での MRD 測定 の役割は何か 34-35 頁
- 3) 「小児白血病リンパ腫の診療ガイドライン 2011年版」編集責任者・日本小児血液学会編 金原出版

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

無し

2. 実用新案登録

無し

3. その他

無し

厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）

分担研究報告書

急性リンパ性白血病におけるフローサイトメトリー法による微小残存病変の診断確立

研究分担者 出口隆生 三重大学医学部附属病院小児科 講師

研究要旨 小児急性リンパ性白血病(ALL)における免疫学的微小残存病変(FCM-MRD)検出システムを確立するため、平成21年6月より小児B前駆細胞性(BCP)ALL再発例に対する全国共同治療研究 ALL-R08 臨床試験でFCM-MRDの測定を開始した。また乳児ALLにおいても全国共同治療研究 MLL-10 に従って平成23年1月から測定を開始した。平成24年3月までに ALL-R08 で43例が登録され、のべ約260ポイントで測定を行った。すべての症例で少なくともBMA3までの追跡が可能であった。MLL-10では25例が登録され、のべ90ポイントあまりの測定を実施し、1例のみ途中で測定不能となった症例を認めた。またALL-R08臨床試験では42例でBMA3測定ポイントにてPCR法を用いたMRD(PCR-MRD)と比較が行われ相関係数は0.8203と良好な値を示した。またT-ALLでは4カラー法を改良した6カラー法を用いて、平成24年1月よりALL-T11臨床試験に従って2例の解析を開始している。今後小児初発BCP-ALL臨床試験 ALL-B12の開始による検体数の著増に備え、検査態勢の強化が望まれる。

A. 研究目的

小児ALL治療における微小残存病変(MRD)が現時点で最も強力な予後因子であることは、ドイツのBFMグループやアメリカのSt. Jude小児病院、イギリスのUKALLなど、欧米の治療研究により、小児ALLの初発例・再発例ですでに有用性が示されている。しかしこれまで我が国では、小児ALLで全国規模の臨床試験が実施されてこなかったことから、MRDの臨床応用はごく一部の実施に留まっていた。

日本小児白血病リンパ腫研究グループ(JPLSG)を母体とした全国的規模での臨床研究開始により、非ホジキンリンパ腫・急性骨髄性白血病などでは診断や治療の統一的検討が実施されてきたが、平成22年度からJPLSGが主体となって実施される小児白血病の包括的診断・検体保存に関する臨床研究が開始され、初期診断については体制がかなり整いつ

つあるものの、MRD測定システムの確立は未だ十分ではなく、切迫した課題となっている。

平成21年6月の小児再発BCP-ALL治療研究に引き続き、平成23年3月には乳児ALL臨床試験が、平成24年1月には小児・若年T-ALL臨床試験が開始された。今後、症例数が最も多い小児B前駆細胞性ALL全国共同治療研究が開始予定であるが、これらの臨床試験においてはMRDを積極的に測定し、我が国のデータを蓄積させることが必須である。

MRD測定にはフローサイトメトリー(FCM)とPCRによる2つの方法があり、我々はFCMを用いた免疫学的手法の確立を目的としている。分担研究者らはすでに平成14年度からFCM-MRD研究の先駆者であるSt. Jude小児病院のDr. Campanaらと協力し、予備的検討を行ってきた。これまでBCPおよびT細胞性(T-)ALLの初発例・再発例を中心に基礎的検討を

行った上で、平成 21 年度以降、全国規模の小児白血病臨床試験の中で前向き研究を開始している。この分担研究により、永続的に全国規模で FCM-MRD が測定可能な体制を確立するために必要な条件を明らかにすることが期待される。

B. 研究方法

平成 21 年 6 月から平成 24 年 3 月までの間に、三重大学医学部小児科・JPLSG/日本小児白血病研究会 (JACLS) マーカー解析センターにて再発診断を行った ALL-R08 登録例 62 例のうち適格性を満たした 43 例と、平成 23 年 1 月から平成 24 年 3 月までに MLL-10 に登録された 25 例、ALL-T11 に登録された 2 例において FCM-MRD の測定を行った。

1. 検体送付施設はプロトコールに指定された検体依頼書を三重大学に事前に送付した上で、ヘパリン加骨髄 (BM) もしくは末梢血 (PB) を宅配便で送付した。

2. 送付された BM は洗浄の後、細胞濃度を調整した上で全血法を用いた手法で JPLSG 診断パネルに基づいて白血病の病型診断を受けた。また同時に MRD 診断パネルに従って FCM-MRD 用検体を調製した。

3. 診断時検体にて MRD がフォロー可能と判断された場合はフォロー可能である旨、データセンターを通して施設に報告し、以後の検体送付をお願いした。

4. ALL-R08 もしくは MLL-10 プロトコールで規定された検体採取ポイントで採取された BM を用いて MRD を測定した。フォローアップ検体は単核球分離を行った後、細胞濃度を調整し、検体を調整した。

5. MRD 測定はセントジュード小児病院から報告された 4 カラー FCM-MRD 測定法を基にカスタマイズしたパネルを用いて、最大 3 種類の抗原についてサンプル調整を行った。T-ALL においては CD7, sCD3 を加えた 6 カラー改変法を用いて測定した。

6. 調整されたサンプルは BD Bioscience 社の FACS Calibur もしくは FACS Canto II FCM にて

データ収集を行い、MRD を解析した。

7. 解析された MRD の結果はデータベースに保存され、後の予後解析のために用いる予定である。

8. ALL-R08 症例における FCM-MRD の結果を、平成 24 年 2 月までに解析が終了した PCR-MRD の BMA3 検体の結果と比較し、相関を調べた。

C. 研究結果

(1) PCR-MRD と結果を比較検討した ALL-R08 症例は 42 例であった。FCM-MRD は 0.00%～63.02%、PCR-MRD が 0.00%～88.00% (8.8×10^{-1}) であった。BMA3 における移植適応判定に用いるカットオフ 0.1% (1.0×10^{-3}) 未満の症例数は、FCM-MRD で 19 例、PCR-MRD で 19 例であった。カットオフ値を挟んで判定が異なったうちの 1 例は FCM が 0.08%、PCR が 0.10% (1.0×10^{-3}) であり、値は非常に近かった。もう一例は FCM-MRD が 19.3% であるにも関わらず、PCR-MRD は陰性を示した。BMA3 での診断一致率は約 89.5%、42 例全体での相関係数は 0.8203 であった。

(2) FCM-MRD 全体では現在までに対象となった 70 例のうち、BMA3 までの解析が終了した 68 例の全てで MRD がフォロー可能であったが、正常細胞と発現の近く、immunophenotypic shift を来した症例 (ALL-R08)、およびもともと正常と発現のほとんど変わらなかった 1 例 (MLL-10) の計 2 例を除いた 68 例で MRD の評価が可能であった。

(3) 乳児 ALL 治療研究 MLL-10 では、現在までに 25 例の解析を終了しており、1 例のみ BMA3、4 の解析が不能となった。PCR 法との検討は未だ実施されていない。

(4) T-ALL では、従来 4 color の検討であったが細胞表面 CD3 と CD7 を加え、FACS Canto II FCM による 6 color でのパイロット研究を行い、問題がないのを確認した上で、平成 24 年 1 月から測定を開始した。平成 24 年 3 月の時点で 2 例の解析が進行中である。

D. 考察

ALL-R08 臨床試験において平成 24 年 3 月までに BMA3 までの解析が終了している 42 例では、引き続き再発診断時の表現型が、正常 B リンパ球前駆細胞に近い白血病も含まれていたものの、治療早期 (BMA2-BMA3) では免疫学的表現型が正常に近くても比較的容易に検出され、パイロット研究と同様の結果であった。MRD 量が多めの 1 例で判定が難しかったが、PCR 法の結果と比較することで、実際にはほとんど全てが MRD 細胞であると確認できた。PCR-MRD との相関は昨年示したのと同様に本年も良好であると考えられた。昨年に引き続き全体として FCM-MRD が低い値を示す傾向があった。1 例において、PCR では陰性、FCM では陽性となる値を示した症例が存在したが、結果が全く乖離していることから、TCR/IgH 再構成バンドがポリクローナルであり、PCR プライマーとして不適切なクローンを選択してしまった可能性が高いと考えられた。MLL-10 臨床試験では、MLL 遺伝子再構成を有する乳児白血病特有の表現型に合わせて、7.1 (NG2) や CD133 などの検査項目を加えて検討を行った。平成 43 年 3 月までに 25 症例の検討を行っており、今後、PCR 法による MRD 検査結果との比較検討を行う予定である。

T-ALL では、パイロット研究中の症例で初発時に TdT 陽性であったが、再発時陰性となった症例があった。この症例は 6-color での解析を行っていたため、sCD3 陰性、cCD3 陽性という、通常の末梢血・骨髄では認めない集団を持続的に検出していたため、TdT が陰性となる immunophenotypic shift を来しても MRD のフォローが可能であった。この結果を受けて平成 24 年 1 月から実施している T-ALL MRD は 6-color 法に移行して開始した。

なお現在、三重大学小児科では我が国における小児白血病の診断検体のおよそ 4 割を取り扱い、FCM-MRD は急性骨髄性白血病 (AML) やダウン症における一過性骨髄増殖症の MRD 検査を含めてほとんどすべてを取り扱っている。2 人の技術補佐員とともに医師 2 名の体制で業務を遂行しているが、現時点ですでに業務量は飽和状態に近づいている。今後、T-ALL

や BCP-ALL の MRD, AML は成育医療センター研究所や京都大学と連携し、検査を分担していくよていであるが、BCP-ALL の開始後は検体数が倍増する可能性もある。現在、このような検査センター運営に関する経費の一部しか公的資金では賄われておらず、維持継続可能な体制の構築には FCM-MRD の保険収載など、抜本的な診療体系の改革が必要であろう。

E. 結論

1. FCM を用いた MRD は、治療選択への評価ポイントである BMA3 において、臨床試験に用いられている PCR-MRD と非常に高い相関を持つ結果を示した。

2. 従って再発 ALL における FCM-MRD 測定は PCR-MRD と同様に有用であることが我が国の再発例においても示唆された。

3. 今後は ALL-R08 研究での臨床予後と比較することで分子学的 MRD との有有用性の直接比較が可能となると考えられる。

4. T-ALL による 6 color 解析の有用性が示され、全国規模での実施が始まった。

5. 研究体制については引き続き質の良い臨床研究を行うために、財政面を含めたインフラ体制の整備を行う必要がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

(1) Flow cytometric analysis of de novo acute lymphoblastic leukemia in childhood: report from the Japanese Pediatric Leukemia/ Lymphoma Study Group.

Iwamoto S, Deguchi T, Ohta H, Kiyokawa N, Tsurusawa M, Yamada T, Takase K, Fujimoto J, Hanada R, Hori H, Horibe K, Komada Y. Int J Hematol. 94(2):185-92, 2011.

(2) 小児がん診療ハンドブックー実地診療に役立つ診断・治療の理念と実践ー

II 章 診断的アプローチ 2. 免疫学的診断 p75-80 堀部敬三編 発行: 2011 年 8 月 25 日 医薬ジャーナル社

2. 学会発表

(1) 出口隆生、櫻井直人、出口美智子、雨宮喜雄、岩本彰太郎、駒田美弘

小児ALL初発例におけるフローサイトメトリーを用いたMRDと予後

平成23年11月25日 第53回日本小児血液・がん学会学術集会

日本小児血液・がん学会誌 プログラム・総会号 p247, 2011

(2) 浅井大介、今村俊彦、末延聡一、長谷川大一郎、出口隆生、橋井佳子、松本公一、河崎裕英、堀 浩樹、堀部敬三、八木啓子、原 純一、小田 慈

JACLS ALL02コホートにおけるIKZF1/CRLF2遺伝子解析

平成23年11月25日 第53回日本小児血液・がん学会学術集会

日本小児血液・がん学会誌 プログラム・総会号 p174, 2011

(3)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

平成23年11月25日 第53回日本小児血液・がん学会学術集会

日本小児血液・がん学会誌 プログラム・総会号 p203, 2011

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

急性リンパ性白血病治療研究における新規細胞分子診断法の臨床研究への応用

研究分担者 清河 信敬 国立成育医療研究センター研究所小児血液・腫瘍研究部 部長

研究要旨 臨床研究への応用を目的とした小児急性リンパ芽球性白血病（ALL）の新規細胞分子診断法として BCR-ABL 蛋白のビーズアレイによる検出について検討した。CD66c のマーカー解析と BCR-ABL 蛋白の検出を組み合わせることによって B 前駆細胞性 ALL のうち Ph1 (*bcr-abl/BCR-ABL*) 陽性亜群を簡便かつ迅速に診断可能と考えられた。

A. 研究目的

小児造血器腫瘍は、化学療法等の治療の進歩により 80%を越える長期生存率が期待できるようになったが、20%は未だ難治例でその病態解明と治療法の確立が必要である。また、長期生存者では治療による性腺機能不全、二次がんなど晩期合併症が問題となっており、毒性を低減化した治療法の確立が求められる。2003年に既存の4つの小児がん研究グループの共同研究組織として日本小児白血病リンパ腫研究グループ（JPLSG）が設立され、データセンター、臨床試験運営体制、病理・免疫・分子の中央診断体制等の整備が行われてきた。この基盤のもとに、これまでに非ホジキンリンパ腫（NHL）、急性骨髄性白血病（AML）、乳児 ALL 等に対して 14 の臨床試験を行われ、平成 22 年度までに 10 の臨床試験が登録終了となっている他、7 つの試験で目標症例数の達成が見込まれている。そして、今回、最も頻度の高い ALL において初めて国内統一の臨床試験を平成 23 年度に開始され、続いてリンパ腫各病型、フィラデルフィア染色体（Ph1）陽性 ALL の新規臨床試験も開始される。その他、これらの臨床試験実施にあたって造血細胞移植の標準治療の確立が図られているほか、QOL 評価の調査研究、長期フォローアップ指

針策定等が行なわれ、小児造血器腫瘍全体の実態と長期予後を把握するために JPLSG 全施設の参加を得て疫学研究が実施されている。

上記の全体的な研究の進行の中で、本研究では、急性リンパ芽球性白血病（ALL）の治療に対して有用性の高い新規細胞分子診断法について検討を行い、臨床研究へ応用することを目的とする。新たな分子診断法の有用性について検証し、臨床応用を図ることによって、ALL の迅速かつ正確な診断や予後不良亜群の層別化を可能とする診断体制の整備に貢献し、ALL の長期生存率向上と晩期合併症の軽減に寄与することを目指す。

Ph1ALL は小児白血病の中で最も頻度が高い B 前駆細胞性（BCP-）ALL の亜群で、*t(9;22)(q34;q11)* の染色体異常に伴う *bcr-abl* キメラ遺伝子に起因した *bcr-abl* 蛋白を有する。Abl はチロシンキナーゼであり、*bcr* と融合することによって恒常的に活性化されることが発症や病態に関与していると考えられている。Ph1ALL は BCP-ALL の数%を占めるに過ぎないが、通常の ALL 治療では予後が非常に不良であること、*imatinib* を代表とするチロシンキナーゼ阻害剤が有効であることから、層別化して、特化した治療を行なうことで、予後向上が期待される。Ph1ALL の診

断は、PCR による *bcr-abl* キメラ遺伝子の検出によるが、通常では結果の報告までに数日を有する。これに対して、最近、フローサイトメトリーを用いたビーズアレイによって *bcr-abl* 蛋白を検出する方法が開発された。そこで、本研究では、*bcr-abl* 蛋白ビーズアレイを用いた Ph1ALL の迅速診断法について検討を行なう。

B. 研究方法

成育医療研究センターで行っている小児白血病のマーカー中央診断の一環として、BCP-ALL の CD66c の発現を解析した。骨髓あるいは末梢血検体に対して、全血法、直接法による蛍光標識抗体を用いた染色を行い、フローサイトメトリーにより解析を行なった。陽性率 20%以上を陽性と判定した。

Ph1 陽性 ALL 細胞株 NALM-27 と Ph1 陰性 ALL 細胞株 NALM-6 から蛋白抽出液を調整し、ビーズアレイ BCR-ABL キット (Becton Dickinson 社) を用いて BCR-ABL 蛋白の検出を行ない、フローサイトメトリーにより解析を行なった。(倫理面への配慮)

本研究で実施した、小児白血病の臨床検体に対するマーカー解析は、実施に際して当該倫理委員会および施設責任者の承認を得て、関連指針を遵守して実施した。また、個人情報保護法を遵守し、検体提供者への人権擁護や個人情報保護に最善、細心の注意を払って実施した。

C. 研究結果

Ph1 ALL では、CD66c が aberrant 抗原として発現することが報告されている。しかし、CD66c は、Hyperdiploid の症例等他の BCP-ALL の亜群でも陽性となる。そこで、BCP-ALL 238 例に対して CD66c の発現を検討したところ、94 例 (39.5%) で発現を認めた。キメラ遺伝子の有無との関係について検討し

た結果、CD66c の発現は Ph1ALL とキメラ(-)の症例に限定的であり、他のキメラ遺伝子陽性の症例には発現しないことが明らかとなった。逆に、Ph1ALL は全例で CD66c+であった。しかし、CD66c+の症例のうち、Ph1ALL (BCR-ABL 症例を含む) の占める割合は 12.7%にしか過ぎなかった。Ph1ALL 以外の CD66c+ALL についてさらに検討した結果、2 例は CRLF2 陽性症例で、それ以外は Hyperdiploid と Near-diploid が丁度半数ずつであった。

Ph1 陽性および陰性 ALL 細胞株から調整した蛋白抽出液に対しビーズアレイを用いて BCR-ABL 蛋白の検出を行なった結果、簡便かつ明確に BCR-ABL 蛋白の検出が可能であった。

D. 考察

今回の検討結果から、BCP-ALL に対して、CD66c と CRLF2 の発現を解析し、DNA Index を同時に検査し、さらに *bcr-abl* 蛋白の発現をビーズアレイによって検出することで、Ph1ALL を診断可能と考えられる。すなわち、CD66c 陽性例は BCP-ALL 全体の約 4 割を占めており、Ph1ALL はこのうちの 1 割に過ぎない。しかし、Hyperdiploid と CRLF2 陽性例をあらかじめ除外することで、CD66c+CRLF2-かつ Near-diploid 症例の約 1/5 が Ph1ALL と考えられるので、この症例群に対して *bcr-abl* 蛋白ビーズアレイを実施すれば、5 人に 1 人の確率で Ph1ALL を診断可能と推定される。

一方、今回の検討の結果から、*bcr-abl* 蛋白ビーズアレイは簡便で、明確かつ容易に陽性と陰性の判定が可能であり、最短で約 2 時間で結果を得ることができることが明らかとなった。従って、中央診断として行なった場合、検体到着当日に結果が報告可能であり、検体の搬送に一晩かかったとしても、検体採取翌日には Ph1ALL の診断が可能であることから、初期診断の際の層別化に応用が可能である。今後さらに、臨床的有用性について解

析し、実際にこのシステムで Ph1ALL の鑑別が可能かどうか検討を進める。

E. 結論

臨床研究への応用を目的とした BCP-ALL の新規細胞分子診断法として、BCR-ABL 蛋白のビーズアレイによる検出について検討し、CD66c のマーカー解析と組み合わせることによって、Ph1 (*bcr-abl*/BCR-ABL) 陽性亜群を簡便かつ迅速に診断可能と考えられた。検体到着後数時間で診断可能であることから、今後、Ph1 ALL の層別化治療を進める上で有用と考えられる。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Ohta H, Iwamoto S, Kiyokawa N, Tsurusawa M, Deguchi T, Takase K, Fujimoto J, Horibe K, Komada Y. Flow cytometric analysis of de novo acute myeloid leukemia in childhood: report from the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group. *Int J Hematol.* 2011 Jan;93(1):135-7.

2) Iwamoto S, Deguchi T, Ohta H, Kiyokawa N, Tsurusawa M, Yamada T, Takase K, Fujimoto J, Hanada R, Hori H, Horibe K, Komada Y. Flow cytometric analysis of de novo acute lymphoblastic leukemia in childhood: report from the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group. *Int J Hematol.* 2011 Aug;94(2):185-92.

2. 学会発表

1) 清河信敬, 三春晶嗣, 山田浩之, 橋本互,

飯島一智, 森鉄也, 斎藤正博, 福島敬, 康勝好, 真部淳, 菊地陽, 熊谷昌明, 林泰秀, 土田昌宏, 小原明. 10 カラーフローサイトメトリーを用いた小児白血病 MRD 検出の試み. 第 21 回日本サイトメトリー学会学術集会, 京都, 6 月 25 日-26 日, 2011.

2) 山田浩之, 清河信敬, 橋本互, 飯島一智, 嶋晴子, 嶋田博之, 森鉄也, 福島敬, 康勝好, 真部淳, 菊地陽, 熊谷昌明, 小原明, 林泰秀, 土田昌宏. 小児白血病における CD66c 発現の意義. 第 21 回日本サイトメトリー学会学術集会, 京都, 6 月 25 日-26 日, 2011.

3) 清河信敬, 山田浩之, 福島敬, 康勝好, 真部淳, 菊地陽, 熊谷昌明, 小原明, 林泰秀, 土田昌宏. 10 カラーフローサイトメトリー解析による小児白血病のマーカー診断. 第 114 回日本小児科学会学術集会, 東京, 8 月 12 日-14 日, 2011.

4) 清河信敬, 飯島一智, 加藤元博, 藤本純一郎, 林泰秀, 小原明. MLL 関連キメラが検出されない CD10 陰性 ALL のマーカーと発現遺伝子の特徴. 第 70 回日本癌学会学術総会, 名古屋, 10 月 3 日-5 日, 2011.

5) 小林 健一郎, 福島敬, 南木融, 清河信敬, 三春晶嗣, 山田浩之, 飯島一智, 大喜多肇, 森鉄也, 熊谷昌明, 藤本純一郎, 斎藤正博, 康勝好, 真部淳, 菊地陽, 林泰秀, 土田昌宏, 小原明. TCCSG ALL 登録症例のキメラ遺伝子発現と細胞マーカーとの関連に関する検討. 第 53 回日本小児血液・がん学会学術集会, 前橋, 11 月 25 日-27 日, 2011.

6) 三春晶嗣, 清河信敬, 小林 健一郎, 大喜多肇, 山田浩之, 飯島一智, 森鉄也, 福島敬, 斎藤正博, 康勝好, 真部淳, 菊地陽, 熊谷昌明, 藤本純一郎, 林泰秀, 土田昌宏, 小原明. 10 カラーフローサイトメトリーを用いた B 前駆細胞急性リンパ芽球性白血病の MRD 検出. 第 53 回日本小児血液・がん学会学術集会, 前橋, 11 月 25 日-27 日, 2011.

7) 木下明俊, 宮地勇人, 滝 智彦, 松下弘道, 矢部はるみ, 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, 足立壮一. 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, 前橋, 2011.11.25.

H. 知的財産権の出願・登録状況	該当なし
1. 特許取得	3. その他
該当なし	該当なし
2. 実用新案登録	

厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）

分担研究報告書

小児リンパ腫の標準的治療法の確立に関する研究

研究分担者 森 鉄也 国立成育医療研究センター血液腫瘍科 医長

【研究要旨】 JPLSG リンパ腫委員会による臨床試験（B-NHL03、B-NHL03 G-CSF、ALB-NHL03、LLB-NHL03、ALCL99）は、研究登録開始から 11-13 回の効果安全性評価委員会による定期モニタリングを通過し、安全に研究を進行している。ALB-NHL03 は 2010 年 1 月に、B-NHL03 は 2011 年 1 月に目標登録数を達成し登録を終了した。ALB-NHL03 登録例の染色体異常の集計を論文発表した（Sekimizu M, Br J Haematol. 2011; 154: 612-7.）。LLB-NHL03 の 2011 年 7 月現在の登録数は 22 例（予定登録数 48 例）であり研究期間を延長し登録を継続している。EICNHL との国際共同研究である ALCL99 の主な成果が順次論文発表されている（Attarbaschi A, Blood. 2011; 117:5616-9., Le Deley MC, J Clin Oncol. 2010; 28: 3987-93., Brugières L, J Clin Oncol. 2009; 27: 897-903. ほか）。EICNHL、COG との共同研究による高リスク群成熟 B 細胞リンパ腫に対するリツキシマブの効果の評価を目的とした国際共同臨床試験（Inter-B-NHL2010）、および EICNHL との共同研究による未分化大細胞型リンパ腫に対するビンブラスチン単剤による効果の評価を目的とした国際共同臨床試験（ALCL2012）への参加準備を進めている。I-BFM による Follicular lymphoma の後方視的登録・集計に情報提供を行った。JPLSG リンパ腫委員会による小児ホジキンリンパ腫、小児リンパ芽球性リンパ腫、再発・治療抵抗リンパ芽球性リンパ腫に対する多施設共同臨床試験の準備を継続している。

研究協力者氏名

鶴澤 正仁 愛知医科大学小児科 教授
堀部 敬三 国立病院機構名古屋医療センター
一臨床研究センター センター長
角南 勝介 成田赤十字病院小児血液腫瘍科
部長
菊地 陽 帝京大学小児科 教授
小林 良二 札幌北楡病院小児科 部長

A. 研究目的

- (1) 日本における小児悪性リンパ腫に対する標準治療の確立
- (2) 小児悪性リンパ腫に対する診断、あるいは治療の開発
- (3) 国内の小児悪性リンパ腫診療施設への根拠に基づいた医療（EBM）の普及

B. 研究方法

(1) 日本小児白血病リンパ腫研究グループ（JPLSG）リンパ腫委員会、European Intergroup for Childhood Non-Hodgkin Lymphoma（EICNHL）による以下の臨床試験を継続する。

1)-1. 小児成熟 B 細胞性腫瘍に対する多施設共同後期第 2 相臨床試験：B-NHL03（研究代表者：鶴澤正仁）

1)-2. 進行期小児成熟 B 細胞性腫瘍に対する顆粒球コロニー刺激因子（G-CSF）の一次的予防投与の有用性に関する無作為割付比較試験：B-NHL03 G-CSF（研究代表者：菊地 陽）

1)-3. 小児リンパ芽球型リンパ腫 stage I/II に対する多施設共同後期第 2 相臨床試験：LLB-NHL03（研究代表者：角南勝介）

1)-4. 小児リンパ芽球型リンパ腫 stage

III/IVに対する多施設共同後期第2相臨床試験：ALB-NHL03（研究代表者：角南勝介）

1)-5. ALCL99：小児未分化大細胞リンパ腫に対する多施設共同無作為化群間比較第3相臨床試験（研究代表者：堀部敬三）

1)-6. 小児非ホジキンリンパ腫におけるFDG-PET/CT 検査の有用性に関する研究（研究代表者：鶴澤正仁）

(2) JPLSG リンパ腫委員会、EICNHL、COG (Children Oncology Group)による以下の臨床研究への参加準備を進める。

2)-1. INTERGROUP TRIAL FOR CHILDREN OR ADOLESCENTS WITH B-CELL NHL OR B-AL: EVALUATION OF RITUXIMAB EFFICACY IN HIGH RISK PATIENTS. (Inter-B-NHL ritux 2010)

2)-2. International cooperative study for children with anaplastic large cell lymphoma (ALCL) and adults with ALK+ ALCL, including a randomized trial assessing the efficacy of vinblastine monotherapy in patients with standard risk (SR) ALCL (ALCL2012)

(3) JPLSG リンパ腫委員会による以下の臨床試験を計画、参加を検討する。

3)-1. 小児ホジキンリンパ腫に対する多施設共同観察研究（仮題）

3)-2. 小児リンパ芽球型リンパ腫に対する多施設共同観察研究実施計画書：ALB-NHL12（研究代表者：角南勝介）

3)-3. 治療抵抗もしくは再発小児リンパ芽球型リンパ腫に対する DexICE 治療の有効性及び安全性に関する多施設共同臨床第II相試験（仮題）

(4) 2006年に開始した JPLSG リンパ腫委員会による治療抵抗・再発非ホジキンリンパ腫調査結果を論文発表する。

(5) JPLSG リンパ腫委員会による稀な非ホジキンリンパ腫（主要病型以外で、登録、治療が整備されていない非ホジキンリンパ腫）調査を行う。

(6) JPLSG リンパ腫委員会による臨床試験により収集された研究利用可能な腫瘍検体を用いた生物学的研究 (biology research) 計画

を立案し実行する。

C. 研究結果

(1) 登録を継続している臨床試験

1)-1. B-NHL03 研究

2010年12月31日に登録を終了した。登録症例数は346例。2011年10月に第13回定期モニタリングレポートを効果安全性評価委員会に提出し研究継続可能と判定された。

1)-2. B-NHL03 G-CSF 研究

2010年12月31日に登録を終了した。登録症例数は60例。本研究はB-NHL03研究と同様に登録期間を2年間延長したが、目標登録数に達せずに登録終了した。2011年10月に第12回定期モニタリングレポートを効果安全性評価委員会に提出し研究継続可能と判定された。

1)-3. ALB-NHL03 研究

2010年1月31日に登録を終了した。登録症例数は154例。2011年10月に第13回定期モニタリングレポートを効果安全性評価委員会に提出し研究継続可能と判定された。

1)-4. LLB-NHL03 研究

2012年3月31日時点の登録症例数は23例。2011年10月に第11回定期モニタリングレポートを効果安全性評価委員会に提出し研究継続可能と判定された。本研究への登録は予測を下回り、当初設定した登録期間（2010年10月31日まで）に目標登録数の達成は困難と考えられたことから、効果安全性評価委員会に登録期間の延長（目標登録数達成まで；2016年10月頃まで）を申請し承認された（プロトコル改定）。

1)-5. ALCL99 研究

2006年6月に解析に必要な登録数に達し達したため割り付け試験は終了し、reference armによる登録を継続している。2011年2月28日時点の登録症例数は157例。メソトレキセート投与量・投与時間、髄注の有無に関連する割り付け試験 (R1) の結果 (J Clin Oncol 2009; 27: 897-903.)。ビンブラスチンによる維持療法の割り付け試験 (R2) の結果 (J Clin Oncol 2010; 28: 3987-93.) が論文発表され

た。また、寛解導入化学療法の安全性に関する論文が *Pediatr Blood Cancer* に掲載された (*Pediatr Blood Cancer* 2011 Jan 28, Epub)。

診断時の微小骨髄病変の検出を目的とした NPM-ALK PCR 解析を名古屋医療センターに整備した。診断時の微小骨髄病変は、ALCL99 研究に関連しドイツ、イタリアグループなどが予後に関連する因子と指摘している。

2)-1. 2008年2月から B-NHL03/ALB-NHL03 付随研究として小児非ホジキンリンパ腫における FDG-PET/CT 検査の有用性に関する研究の登録を開始した。

(2) 新たな臨床試験の開始

JPLSG、EICNHL、COG による国際共同研究である Inter-B-NHL ritux 2010 への参加を JPLSG リンパ腫委員会で決定し、同運営委員会で承認を得た。EICNHL-COG 会議において参加意思を表明した。国際共同研究組織と、モニタリング体制、薬剤供給などについて調整を続けている。

JPLSG、EICNHL による国際共同研究である ALCL2012 への参加を JPLSG リンパ腫委員会で検討している。

(3) 新たな臨床試験の計画

3)-1. 小児ホジキンリンパ腫に対する国内で初めての前方視的登録・観察研究の準備を進めている。ホジキンリンパ腫に対する後方視的集計結果を論文発表した (Koga Y, *Rinsho Ketsueki*, in press.)。

3)-2. 小児リンパ芽球型リンパ腫に対する多施設共同観察研究実施計画書：ALB-NHL12 (研究代表者：角南勝介) のプロトコールコンセプトを作成した。

3)-3. 治療抵抗もしくは再発小児リンパ芽球型リンパ腫に対する DexICE 治療の有効性及び安全性に関する多施設共同臨床第 II 相試験 (仮題) のプロトコールコンセプトを作成しプロトコールレビューワーキンググループに提示した。

(4) 治療抵抗・再発非ホジキンリンパ腫調査

治療抵抗・再発未分化大細胞リンパ腫 (*Br J Haematol* 2006; 132: 594-7.)、成熟 B 細胞リンパ腫 (*Pediatr Blood Cancer* 2008; 52:

591-5.)、リンパ芽球性リンパ腫 (*Pediatr Blood Cancer* 2009; 52: 591-5.) に関する調査結果を論文発表した。米国 National Cancer Institute のがん情報ウェブサイトに引用されている。

<http://www.cancer.gov/cancertopics/pdq/treatment/child-non-hodgkins/HealthProfessional/page9>

(5) 稀な非ホジキンリンパ腫調査

JPLSG リンパ腫委員会による稀な非ホジキンリンパ腫 (主要病型以外で、登録、治療が整備されていない非ホジキンリンパ腫) 調査 (研究代表者：小林良二) の成果として、末梢 T 細胞性リンパ腫の集計結果を論文発表した (*Pediatr Blood Cancer* 2010; 54: 212-5.)。また、ろ胞性リンパ腫、T 細胞/組織球豊富型大細胞 B 細胞リンパ腫の集計結果を第 52 回日本小児血液学会総会 (2010 年 12 月 17-19 日、名古屋) で発表した。JPLSSG 疫学研究を利用した小児非ホジキンリンパ腫における稀な病型に対する前方視的研究の研究計画書を作成した。研究開始を目指しデータセンターと調整を続けている。

(6) Biology research の推進

JPLSG リンパ腫委員会による臨床試験により収集された研究利用可能な腫瘍検体を用いた生物学的研究 (biology research) 計画を推進するために、JPLSG リンパ腫委員会に biology research ワーキンググループを設置した。JPLSG 登録されたリンパ腫症例の分子データベース構築とその病態解析研究 (研究代表者：角南勝介) の研究計画書を作成し、JPLSG 運営委員会の承認、研究代表者施設における倫理審査承認も得た。研究利用可能な検体のリスト作成を行っている。

小児ホジキンリンパ腫における病理組織学的特徴を第 52 回日本小児血液学会総会 (2010 年 12 月 17-19 日、名古屋) で発表した。

D. 考察

JPLSG リンパ腫委員会により、頻度の高い小児非ホジキンリンパ腫に対する疾患登録 (中央診断を含む)、臨床試験が整備された。

登録継続中の臨床試験は既に 11-13 回の効果安全性評価委員会による定期モニタリングを通過し、安全に研究を進行していると考えられる。また、ALB-NHL03、B-NHL03 は目標登録数を達成し、登録を終了した。一方、臨床試験への登録数は当初の期待を下回り、B-NHL03 G-CSF では目標登録数に達せずに登録を終了、LLB-NHL03 では登録期間を延長した。登録期間に目標登録数を達成しなかった主な原因は、試験開始当初の施設（倫理）審査承認手続きに時間を要し、実質的な試験開始時期が遅れたことによると考えられる。また、JPLSG リンパ腫委員会による臨床試験開始後に欧米の研究グループから新たに報告された臨床研究成果などにより、治療選択に幅が生じている可能性も推測される。

小児非ホジキンリンパ腫診療における FDG-PET による評価の位置づけは未だ未確立であり、2008 年 2 月に登録を開始した「小児非ホジキンリンパ腫における FDG-PET/CT 検査の有用性に関する研究」の成果が期待される。

小児未分化大細胞リンパ腫に対する最大規模の国際共同臨床研究となった ALCL99 に続き、JPLSG、EICNHL、COG による国際共同研究である Inter-B-NHL ritux 2010 への参加を決定した。ALCL に対する新たな国際共同研究の提案である ALCL2012 についての議論が続いている。稀少な頻度であり、既に一定の治療成績を達成している小児リンパ腫領域において、国際共同臨床試験への協力、推進は今後の重要な課題と考えられる。

極めて稀少な頻度から、治療抵抗・再発非ホジキンリンパ腫、稀な非ホジキンリンパ腫に関する情報は未整理であった。JPLSG リンパ腫委員会は、これらの情報の集計、解析を行い既に 4 編の論文発表を行った。今後、稀な非ホジキンリンパ腫に関する前方視的研究を検討している。

E. 結論

JPLSG リンパ腫委員会により継続中の臨床試験（B-NHL03、B-NHL03 G-CSF、ALB-NHL03、

LLB-NHL03、ALCL99）は、研究登録開始から 11-13 回の効果安全性評価委員会による定期モニタリングを通過し、安全に研究を進行している。ALB-NHL03、B-NHL03 は目標登録数を達成し、登録を終了した。一方、臨床試験への登録数は当初の期待を下回り、LLB-NHL03 において登録期間を延長している。

2008 年 2 月に小児非ホジキンリンパ腫における FDG-PET/CT 検査の有用性に関する研究を開始した。小児ホジキンリンパ腫に対する国内で初めての前方視的登録・観察研究、小児リンパ芽球型リンパ腫に対する多施設共同観察研究、治療抵抗もしくは再発小児リンパ芽球型リンパ腫に対する DexICE 治療の有効性及び安全性に関する多施設共同臨床第 II 相試験（仮題）、JPLSSG 疫学研究を利用した小児非ホジキンリンパ腫における稀な病型に対する前方視的研究、JPLSG 登録されたリンパ腫症例の分子データベース構築とその病態解析研究の準備を進めている。JPLSG、EICNHL、COG による国際共同研究である Inter-B-NHL 2010 への参加を決定した。JPLSG、EICNHL による国際共同研究である ALCL2012 への参加を検討している。

NHL-ALB11 登録例の核型解析結果の集計、ホジキンリンパ腫に対する後方視的集計、治療抵抗・再発非ホジキンリンパ腫に関する調査、稀な非ホジキンリンパ腫に関する調査により本年度までに 6 編の論文発表を行った。JPLSG、EICNHL による国際共同研究である ALCL99 の成果は現在まで 4 編の論文により発表されている。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Kanzaki S, Saito H, Mori T, Shimasaki N, Mukai M, Ogawa K. Thirteen-month-old boy with malignant lymphoma having symptoms mimicking acute otitis media and mastoiditis with facial palsy. *ORL J*

Otorhinolaryngol Relat Spec. 2011; 73:
266-70.

2) Sekimizu M, Sunami S, Nakazawa A, Hayashi Y, Okimoto Y, Saito AM, Horibe K, Tsurusawa M, Mori T. Chromosome abnormalities in advanced stage T-cell lymphoblastic lymphoma of children and adolescents: a report from Japanese Paediatric Leukaemia/Lymphoma Study Group (JPLSG) and review of the literature. Br J Haematol. 2011; 154: 612-7.

3) 二宮里紗, 東直行, 細根勝, 川名誠司, 小澤雅邦, 森鉄也. 【小児の腫瘍・肉芽腫】 臨床例 原発性皮膚型未分化大細胞リンパ腫 (PCALCL). 皮膚病診療 33 巻 4 号, 391-394. 2011.

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

フィラデルフィア染色体陽性白血病の標準治療確立：CML

研究分担者 嶋田博之 慶應義塾大学医学部 小児科 専任講師

研究要旨 本研究の目的は、18歳未満の小児慢性骨髄性白血病（CML）のイマチニブを用いた標準治療の確立である。本年度は2009年10月に開始した「小児慢性期慢性骨髄性白血病に対する多施設共同観察研究 CML-08」に登録された27症例において、登録患者の背景、治療内容、治療効果、有害事象などについての予備解析を実施した。

A. 研究目的

診断時年齢 18歳未満の初発時慢性期の慢性骨髄性白血病（CML）を対象に前方視的観察研究を行い、イマチニブ市販後の小児慢性期CMLの治療成績を把握する。末梢血BCR-ABL/ABL mRNA比、FACS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い、イマチニブによる治療効果や予後の予測因子を検討する。さらに、イマチニブの急性毒性を確認するとともに長期内服による身体への影響を調査する。

B. 研究方法

診断時年齢 18歳未満の慢性期CML（BCR-ABLキメラ遺伝子陽性）を対象に、予定登録数75例、登録期間2009年10月1日から2014年9月30日まで（5年間）、追跡期間2019年9月30日まで、と計画した前方視的観察研究を実施中である。試験的な治療介入は行わないが、「治療ハンドブック（ガイドライン解説）」を用いてイマチニブによる治療効果の判定時期および検査方法を規定している。

C. 研究結果

2011年6月30日現在、登録数27例（男19、

女8）。診断時年齢 中央値11歳1か月（3歳0か月～15歳7か月）、白血球数 中央値23.1万/ μ l（28,500～605,000）、血小板数 中央値55.1万/ μ l（11.7万～161.8万）、脾腫あり20例（74%）。Sokalスコアはlow 19例（70%）、intermediate 5例（19%）、high 3例（11%）で、診断時にPh⁺細胞のクローン性染色体異常を認めた症例はない。イマチニブ開始量は中央値278mg/m²（233～329mg/m²）、12か月のCHR達成率は100%、CCyR達成率は89.2%であった。Failureはなく、イマチニブ抵抗性（suboptimal response 2回）により第2世代チロシンキナーゼ阻害薬（TKI）に変更された症例は1例だった。病期進行例、死亡例、移植例はなかった。変異解析はsuboptimal responseの2例で実施されたが、変異は検出されなかった。一方、不耐容を理由に、イマチニブから第2世代TKIに変更された症例は4例（筋骨格痛3、CPK高値1）だった。

D. 考察

症例数は少ないものの、ファーストライン・イマチニブの反応は良好であった。イマチニブ継続には治療反応より不耐容が問題になる可能性が示唆された。

E. 結論

観察期間が短いものの、イマチニブの早期の治療効果および有害事象について信頼性の高い結果が得られている。症例数の蓄積および観察期間の更新によって、TKI による治療効果や予後因子の検討および長期毒性の解析が可能になると考える。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Shima H, Tokuyama M, Tanizawa A, Tono C, Hamamoto K, Muramatsu H, Watanabe A, Hotta N, Ito M, Kurosawa H, Kato K, Tsurusawa M, Horibe K, Shimada H. Distinct impact of imatinib on growth at prepubertal and pubertal ages of children with chronic myeloid leukemia. *J Pediatr.* 159:676-81, 2011.

2. 学会発表

1. Haruko Shima, Mika Tokuyama, Akihiko Tanizawa, Chikako Tono, Kazuko Hamamoto, Hideki Muramatsu, Akihiro

Watanabe, Noriko Hotta, Masaki Ito, Hidemitsu Kurosawa, Koji Kato, Masahito Tsurusawa, Keizo Horibe, Hiroyuki Shimada. Distinct impact of imatinib on growth in prepubertal and pubertal children with chronic myeloid leukemia. 52th ASH Annual Meeting. December 4-7, 2010. Orlando, FL, USA.

2. 嶋田博之、黒澤秀光、伊藤正樹、堀田紀子、渡辺輝浩、村松秀城、嶋 晴子、岡田雅彦、遠野千佳子、後藤裕明、小池健一、齋藤明子、鶴澤正仁、堀部敬三、谷澤昭彦. 小児慢性期慢性骨髄性白血病に対する多施設共同観察研究 CML-08:平成23年度予備解析. 第53回日本小児血液・がん学会学術集会. 2011年11月25日. 前橋

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