

備も肝要であると考えられた。

#### E. 結論

今回の新生児施設における TAM 症例の検討では、早期死亡率は 24%と予後良好な疾患とは言えなかった。予後不良因子として、多い白血球数、出血症状があること、重度の肝機能異常、腹水があることが挙げられた。その後も症例が蓄積されつつあり、少量 AraC 療法の効果が明らかになりつつある。特に、何らかの治療を必要とした症例での有効性が確かめられた。今後、標準的な管理治療プロトコルの推奨が急務であると考えられた。

また、実際の NICU の現場での管理において、新生児科医が、化学療法が必要な TAM 症例を診療する際には、適切に全身状態を把握しながら各種のパラメータをモニタリングすることで、新生児に対しても効果的かつ安全に化学療法が行うことが可能であると考えられた。可能であれば、治療が必要となる可能性のある重症例は、小児血液専門医のいる施設の NICU で、小児血液専門医と新生児科医が協力して、管理・治療を行うことが望ましい。そのためのシステムや管理治療プロトコルを利用しやすい形で提供していくことが、より多くの症例を安全に管理するためには、肝要であると考えられた。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

第 114 回日本小児科学会学術集会(2011 年 8 月、東京)分野別シンポジウム 2 ダウン症候群に発症する一過性骨髄異常増殖症(TAM) SS2-3 ダウン症候群にみられる一過性骨髄異常増殖症(TAM)についての新生児施設への調査(日本小児科学会誌・vol. 115・p245・2011)

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定も含む)

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

特になし

#### I. 研究協力者

なし

#### 参考文献:

- 1) 一過性骨髄異常増殖症(TAM)の治療戦略村松秀城、菊地陽. 日小血会誌 2011 25: 179-184

<図表>

図1 施設背景

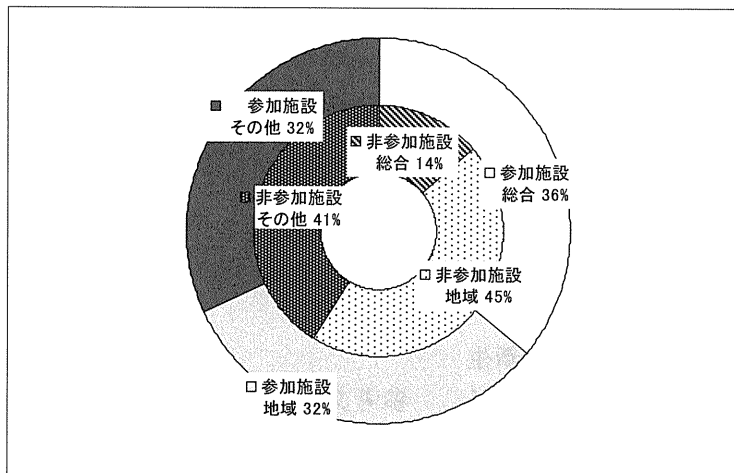
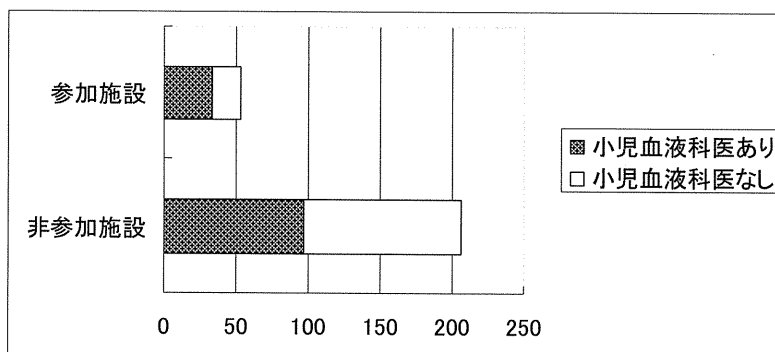


図2 小児血液専門医はいますか？

2-a 施設数



2-b 割合

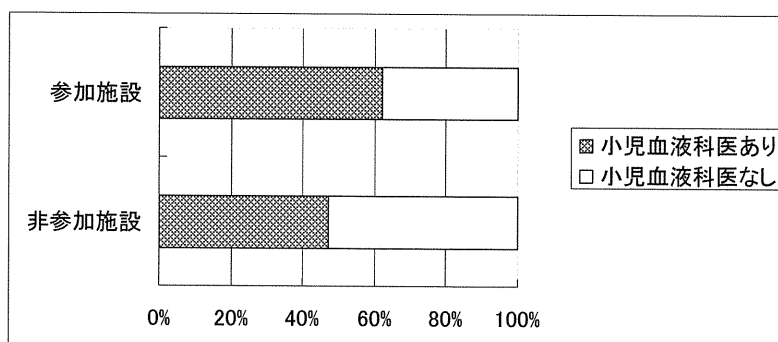
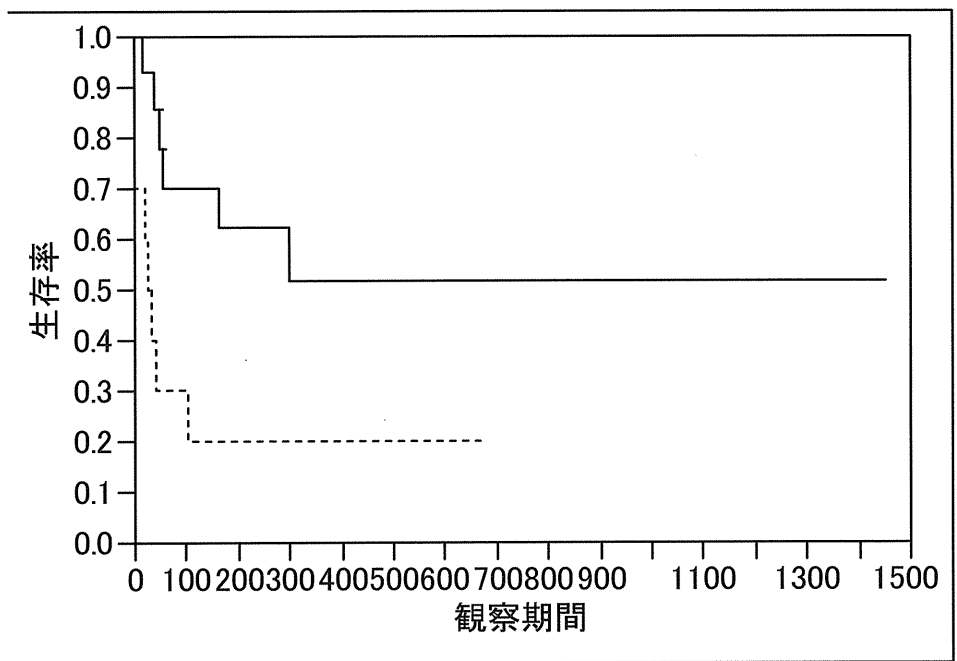


図 3. 交換輸血・ステロイド・少量 AraC 療法を行った群での生存曲線

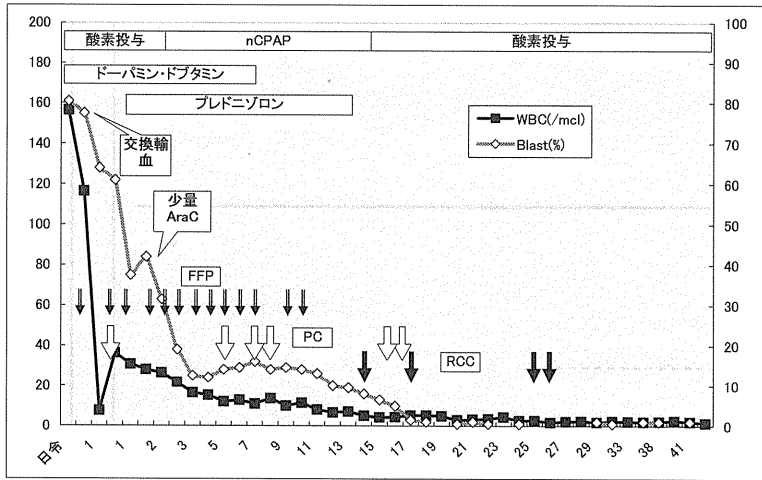


実線：少量 AraC 療法あり群、破線：少量 AraC 療法なし群

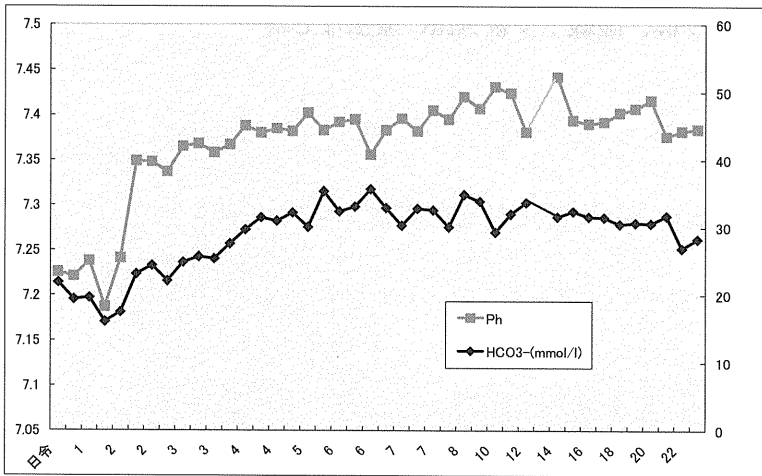
Log-rank 検定 p=.0193

図4 経過表

a. WBC と Blast の推移と治療



b. pH と HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> の推移



c. 尿酸とクレアチニンの推移

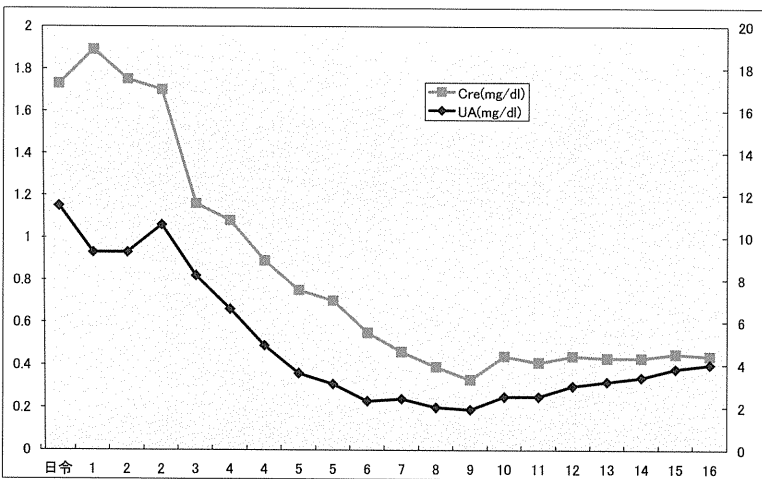


表 1. 早期死亡に関連する因子の単変量解析

因子	OR	95%Cimin	95%Cimax	P value
性別 (男)	5.4783	1.5729	25.8102	0.0062
在胎週数 (週)	0.6565	0.5074	0.8140	0.0004
人工呼吸管理あり	7.5000	2.1623	35.3284	0.0009
出血症状あり	13.5714	4.1443	51.0263	<0.0001
腹水あり	13.0000	3.9371	49.1161	<0.0001
全身浮腫あり	9.2500	2.9485	32.2728	0.0006
脾腫あり	5.3429	1.6840	18.2809	0.0043
末梢血腫瘍芽球(%)	1.0241	1.0072	1.0429	0.0067
末梢血白血球数(/ $\mu$ L)	1.000011	1.000005	1.000019	0.0024
AST (IU/L)	1.0200	1.0084	1.0421	0.0054
ALT (IU/L)	1.0223	1.0085	1.0402	0.0053
LDH (IU/L)	1.0009	1.0005	1.0015	0.0008
芽球の消失なし	8.1818	2.2323	35.2210	0.0014

表 2. 多変量解析

選択された因子	OR	95%Cimin	95%Cimax	p	
出血症状	27.33	3.248	469.224	0.0017	*
全身浮腫	12.94	1.8624	176.851	0.0085	*
腫瘍芽球(%)	0.95998	0.906	1.002	0.1014	
AST	1.01	0.999	1.027	0.0582	
LDH	1	1	1.002	0.054	

表 3. 早期死亡に関連する因子<カットオフ値を用いた多変量解析>

選択された因子	OR	95%Cimin	95%Cimax	p
出血症状あり	16.6729	2.6847	178.1514	0.0019
LDH 1200 IU/L 以上	12.6552	1.9285	143.6039	0.0071
末梢血白血球数 10 万 / $\mu$ L 以上	10.3743	1.7711	88.2150	0.0089
腹水あり	3.0817	0.4996	19.2023	0.2189

表 4. 交換輸血・ステロイド・少量 AraC 療法を行った群での生存・死亡例数

	少量 AraC 療法あり	少量 AraC 療法なし	
生存	9	2	11
死亡	5	8	13
	14	10	24

OR 7.2 [95%CI: 1.2-62.0] (p=0.0277)

表 5. 症例<入院時検査所見>

WBC	156500 /mcl	T-Bil	6.52 mg/dl	ヒアルロン酸	51900 ng/ml
blast	80 %	D-Bil	1.46 mg/dl		(<50)
Hb	10.6 g/dL	U-Bil	0.45 mcg/dl	4 型コラーゲン	3168 ng/ml
plt	17.0 $\times$ 10 <sup>4</sup> /mcl	AST	811 IU/l		(<150)
		ALT	200 IU/l	P3P	81 U/ml
PT	<10 秒	LDH	8010 IU/l		(0.3-0.8)
APTT	135 秒	TP	2.8 g/dl		
Fibrinogen	<50 mcg/dL	BUN	13.6 mg/dL		
AT3	7 %	Cre	1.73 mg/dl		
D-dimer	0.6 mcg/ml	UA	11.5 mg/dl		
FDP	2.5 mcg/ml	NH3	338 mcg/dl		
		CRP	0.6 mg/dl		

ヒト化マウスを用いた一過性骨髄異常増殖症の病態に関する研究

研究分担者 渡邊健一郎 京都大学 小児科 講師

研究要旨

ダウン症候群でみられる一過性骨髄異常増殖症(Transient Abnormal Myelopoiesis, TAM)の病態、急性巨核芽球性白血病(Acute Megakaryoblastic Leukemia, AMKL)への移行のメカニズムを解明するため、ヒト化マウスモデルを作成した、10例のTAM患者検体を高度免疫不全NOGマウスに移植し、3例で生着を確認した。生着した細胞は、移植した患者検体と同様の形態、表面抗原、GATA1遺伝子変異を有していた。TAM細胞はNOGマウス内で長期に渡り維持が可能で、TAM/AMKLの新たな疾患解析モデルとして有用であると考えられた。

A. 研究目的

一過性骨髄異常増殖症(TAM)は、新生児期に一過性の芽球の増加をみる、ダウン症候群患者特有の病態である。芽球は自然に消退するが、重症例も多く存在することがわかってきた。また、TAMのあった患者では、約20%に急性巨核芽球性白血病(AMKL)を発症することが知られている。TAM/AMKLの細胞ではGATA1遺伝子の変異があることがわかっているが、TAM発症および自然消退、AMKL発症の機構は未だ明らかにされていない。

TAM細胞はin vitroで維持することは困難で、十分に病態を再現できている遺伝子改変マウスモデルの報告も限られている。

本研究はTAMの病態、AMKLへの移行のメカニズムを解明し治療法を開発するため、高度免疫不全マウスNOGマウスを用いてヒト化マウスを作成し、新たな疾患解析モデルを確立することを目的とする。

B. 研究方法

保護者の同意が得られた患者の末梢血から単核球を分離して、NOGマウスに尾静脈より移植した。経時的にマウス骨髄における患者由来TAM細胞のキメリズムをフローサイトメトリーで解析した。生着した細

胞については、形態、表面抗原、GATA1遺伝子変異、染色体を調べ、患者末梢血球のTAM細胞と同一であるかを検討した。

(倫理面への配慮)

本研究は、ヘルシンキ宣言に従い、京都大学医学部医の倫理委員会の承認を得ている。検体採取の際には、十分な説明を行い、文書による同意を得ている。遺伝子解析については、ヒトゲノム遺伝子解析研究に関する倫理指針に従っている。

C. 研究結果

現在までに10例のTAM患者検体を移植し、うち3例で生着を確認した。いずれも生着したヒト細胞は、形態、フローサイトメトリーによる表面抗原解析、GATA1遺伝子変異解析で患者検体と同一の特徴を示していた。生着した細胞は移植後12週と長期に渡りNOGマウス内で維持が可能であった。3例中1例では、生着した細胞を別のNOGマウスに移植し継代することが可能であった。

D. 考察

海外でTAM細胞を別の免疫不全マウスの骨髄内に移植をした報告はあるが、十分な生着は得られて

いなかった(Leukemia, 2010;24:1012-7)。今回の我々の検討では、TAMの中にはNOGマウスの骨髄環境で長期に維持できるものが存在することが示された。この系を用いれば、TAMの病態、AMKL発症機構の解析が可能になると考えられた。

#### E. 結論

TAM患者検体をNOGマウスに移植し生着を得ることに成功し、新たな疾患解析モデルを作成した。これにより、TAMからAMKLの移行のメカニズム等TAM特有の興味深い病態解析が可能になり、また治療開発にも寄与できると考えられる。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

1. 論文発表  
未
2. 学会発表  
未

#### H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし



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

疫学研究用登録システムの確立と統計解析に関する研究

研究分担者 齋藤明子 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  
臨床研究企画部 臨床疫学研究室 室長

研究要旨 小児造血器腫瘍領域の診療の質を向上させる目的で、病態解明の為の研究や、新治療法・標準的治療法開発を目的とした臨床研究は必要不可欠である。ダウン症候群の新生児期に多くみられる一過性骨髄異常増殖症(transient abnormal myelopoiesis; TAM)の疾患発生や診療実態、臨床経過の実態を把握する為、日本小児白血病リンパ腫研究グループ(JPLSG)の TAM 委員会が前方向的観察研究を開始した。研究の質を確保する目的で、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疫学研究室は、特定非営利活動法人臨床研究支援機構と連携して、データ管理の実務と方法論の研究を実施し、標準化・効率化を図る研究活動を実施した。今後も継続して当該領域のデータ管理の基盤整備に努める。

A. 研究目的

小児造血器腫瘍性疾患の病態解明を目的とした各種研究、新治療法・標準的治療法開発を目的とした臨床研究、及び疫学研究は、当該領域の診療の質を向上させる上で必要不可欠である。この実現を目的として 2003 年に日本小児白血病リンパ腫研究グループ(JPLSG)が発足し、その後一過性骨髄異常増殖症(transient abnormal myelopoiesis; TAM)治療研究委員会が組織された。Down 症候群の新生児期に多く見られる一過性骨髄増殖症(TAM)は、従来自然軽快する予後良好な病態と考えられていたが、近年はその 2-3 割に早期死亡が見られるとの報告がなされ、稀少疾患群であることも考え合わせ、発生率、診療実態、病態、臨床経過等を網羅的に把握することで医療の質向上に役立てる努力が必要であると考えられることから、疫学的情報を収集する為のシステム構築、及び研究より得られるデータの質確保を目的として、TAM 治療研究委員会による臨床研究が計画され、本分担研究者は、研究支援の実務を行うと共に、研究遂行の為の基盤・システム整備活動を行うこととなった。

B. 研究方法

1. 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(OSCR DC)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した。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、同職員は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うことで双方向性の教育・育成を図った。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・効率化を図った。このシステムを用いて、JPLSG TAM 観察研究のデータ管理を行った。

2. データ管理部門として、患者の個人情報及び診療情報の保護に関するポリシーを遵守した活動を行うとともに、関係者への個人情報保護に関する啓蒙をはかった。

(倫理面への配慮)

JPLSG の個人情報保護ポリシー <[http://www.jplsg.jp/fre12\\_privacypolicy.htm](http://www.jplsg.jp/fre12_privacypolicy.htm)>、OSCR の個人情報保護方針 <[http://www.npo-oscr.jp/index.php?option=com\\_content&view=article&id=13&Itemid=23&c99f22fa438cb5760d19ede05181680c=5679c302044dfe04db89998f](http://www.npo-oscr.jp/index.php?option=com_content&view=article&id=13&Itemid=23&c99f22fa438cb5760d19ede05181680c=5679c302044dfe04db89998f)>

9d08a402>、及び独立行政法人国立病院機構名古屋医療センターの個人情報保護について

<[http://www.nnh.go.jp/med\\_guide/hospital/nyuin02.php](http://www.nnh.go.jp/med_guide/hospital/nyuin02.php)> を遵守して行っている。

## C. 研究結果

### 1. 臨床研究の質確保

TAM 観察研究開始に先立ち、実施計画書/同意説明文書作成支援、データ管理計画作成、登録受付番号発行システム確立、臨床研究開始説明会などを実施した。又、収集したデータを入力する為のデータベースの構築による研究の進捗管理や督促機能を装備したシステムを整備・運用すると共に、安全性情報管理業務を継続中である。今年度 TAM 観察研究については初となる追跡調査及びデータクリーニング作業を実施した。

同時並行的に、質管理に関する研究を実施した。以下にその結果を示す。

#### (1) JPLSG 研究への参加経験が質の高い臨床研究情報収集への影響するか：

JPLSG では、稀少疾患に対する網羅的な情報収集を目的として、JPLSG 参加施設で発生する白血病・リンパ腫疾患を前向きに調査する疫学研究と、中央診断による精度の高い確定診断を得た後の臨床研究登録情報の収集という 2 段階構えでの研究情報を収集するシステムを採用している。JPLSG 登録数が多い施設は、IRB 承認臨床試験数や登録数も多く、IRB 承認までの時間も短縮されていることが判明した。データ管理業務の中でも特に督促に関する業務を整備することにより、高い CRF 回収率が得られているものの、登録数が多い施設で CRF 提出に要する日数が長いという結果が得られたことから、施設側への負担増大は無視できない重要な課題であることが分かった。有害事象、逸脱、中止症例についても登録数が多い施設ほど多数発生していたが、興味深いことに、有害事象発生から報告までの日数は、登録数によらず一定であることが分かった。参加経験を蓄積することにより施設側の研究基盤が充実しているなどグループとしての成熟が窺われる。本研究成果は、日本臨床試験研究会でポスター発表を行った。

### 2. 個人情報保護ポリシーの遵守

患者の個人情報及び診療情報の漏洩、混交、紛失、盗用などを防ぐ為、B. 研究方法 の 2 に示す各種基準、ガイドランに従い実務を適切に行った。

### 3. JPLSG の各種委員会の効率的かつ円滑な連携の為のシステム整備

JPLSG DC は、監査委員会への資料提供や監査同行業務をサポートしている。これらの活動を通して、データの質を維持したまま、効率的な運営を実施する為の具体的な提案を行ってきた。

### 4. 臨床研究デザインの工夫及び疫学研究の開発

当該グループは研究開始当初より、臨床研究への症例登録手続きに先立ち、JPLSG 登録を行ってきた。これは主として、研究グループが診断技術向上と標準化を目指した中央診断施設への一貫した検体搬送システムを確立する意図に基づいていた。JPLSG 登録症例の中には、臨床研究の候補者であっても細かい対象に関する規定への抵触などの理由で臨床研究に参加しない症例が存在する。臨床研究不参加症例のその後の治療内容と臨床効果を把握することが出来れば、臨床研究に参加し、厳密な管理の下で規定の治療を受けた患者から得られた臨床研究結果の一般化の妥当性評価が可能となる。この点に着目し、当該領域の患者を網羅的に把握できる前向きコホート研究のシステムを確立するための実施計画書を作成し、日本小児血液学会の倫理審査承認を取得して運用を開始している。研究代表者施設の倫理審査委員会の承認取得後、2012年2月27日現在までに JPLSG 参加 144 施設中 132 施設からの臨床研究審査委員会の承認取得が得られている。今後は疾患発生動向及びそのアウトカムについて、定期的に追跡報告できるシステムの構築を進める。

## D. 考察

稀少な小児造血器疾患領域の診療の質向上を目指した病態研究や治療開発研究は、将来ある小児の福祉向上に必要不可欠であるが、市場が小さく、極めて困難であることも事実である。登録、中央診断・検査、症例経過報告などの手順を、簡便かつ標準化すること、及び稀少疾患の全容を把握することも目指し、JPLSG 疫学研究と TAM 治療研究を平行して管理している。患者リクルートや長期フォローアップとの連携が整理できる可能性があり有望であると考えている。被験者を危険に晒すことなく、データの質を落とさない範囲で業務の簡略化・標準化が図れるよう、今後も引き続き地道な努力を払う予定である。

## E. 結論

臨床疫学研究室は JPLSG のデータセンター機能を有する OSCAR DC と共同で JPLSG が企画・実施している各種臨床研究の質管理の実務・研究を担当している。臨床研究支援体制整備はまだ開発途上であり、効率化・標準化を図るための地道な努力を継続して行っていく必要がある。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

該当なし

##### 2. 学会発表等

(1) 齋藤明子、永井かおり、岡部有貴子、西岡絵美子、三和郁子、佐藤則子、古川知佐子、上島裕子、生越由枝、西村真希、鶴澤正仁、堀部敬三. 臨床研究作業工程の標準化がもたらす臨床試験の質管理への影響に関する検討. 日本臨床試験研究会第 3 回学術集会総会 in 福岡、2012.2.23

(2) 岡部有貴子、西岡絵美子、永井かおり、三和郁子、佐藤則子、古川知佐子、上島裕子、生越由枝、西村真希、鶴澤正仁、堀部敬三、齋藤明子. 安全性情報収集の最適化に関する検討. 日本臨床試験研究会第 3 回学術集会総会 in 福岡、2012.2.23

(3) 西岡絵美子、永井かおり、岡部有貴子、三和郁子、佐藤則子、古川知佐子、上島裕子、生越由枝、西村真希、鶴澤正仁、堀部敬三、齋藤明子. 臨床試験における逸脱情報収集方法に関する検討. 日本臨床試験研究会第 3 回学術集会総会 in 福岡、2012.2.23

#### 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

### Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表レイアウト

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版
村松秀城、菊地陽.	一過性骨髄異常増殖症(TAM)の治療戦略.	日本小児血液学会雑誌	25	179-184	2011
Yokoyama T, Toki T, Aoki Y, Kanazaki R, Park MJ, Kanno Y, Takahara T, Yamazaki Y, Ito E, Hayashi Y, Nakamura T.	Identification of TRIB1 R107L gain-of-function mutation in human acute megakaryocytic leukemia.	Blood	119	2608-2611	2012
Shiba N, Hasegawa D, Park MJ, Murata C, Matsubara A, Ogawa C, Manabe A, Arakawa H, Ogawa S, Hayashi Y.	CBL mutation in chronic myelomonocytic leukemia secondary to familial platelet disorder with propensity to develop acute myeloid leukemia(FPD/AML).	Blood	119	2612- 2614,	2012
Shiba N, Taki T, Park MJ, Nagasawa M, Kanazawa T, Takita J, Ohnishi H, Sotomatsu M, Arakawa H, Hayashi Y.	CBL mutation in childhood therapy-related leukemia.	Leukemia	25	1356-1358	2011
Shiba N, Park MJ, Taki T, Takita J, Hiwatari M, Kanazawa T, Sotomatsu M, Ishii E, Arakawa H, Ogawa S, Hayashi Y.	CBL mutations in infant acute lymphoblastic leukaemia.	Br J Haematol	156	672-674	2012
Okii K, Takita J, Hiwatari M, Nishimura R, Sanada M, Okubo J, Adachi M, Sotomatsu M, Kikuchi A, Igarashi T, Hayashi Y, Ogawa S.	IDH1 and IDH2 mutations are rare in pediatric myeloid malignancies.	Leukemia	25	382-384	2011
Yoshida K, Sanada M, Shiraishi Y, Nowak D, Nagata Y, Yamamoto R, Sato Y, Sato-Otsubo A, Kon A, Nagasaki M, Chalkidis G, Suzuki Y, Shiosaka M, Kawahata R, Yamaguchi T, Otsu M, Obara N, Sakata-Yanagimoto M, Ishiyama K, Mori H, Nolte F, Hofmann WK, Miyawaki S, Sugano S, Haferlach C, Koeffler HP, Shih LY, Haferlach T, Chiba S, Nakauchi H, Miyano S, Ogawa S.	Frequent pathway mutations of splicing machinery in myelodysplasia.	<i>Nature</i>	478	64-69	2011

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 156 : 413-414, 2012	Br J Haematol	156 :	413-414	2012
Kuramitsu M, Sato-Otsubo A, Morio T, Takagi M, Toki T, Terui K, RuNan Wang, Kanno H, Ohga S, Ohara A, Kojima S, Kitoh T, Goi K, Kudo K, Matsubayashi T, Mizue N, Ozeki M, Masumi A, Momose H, Takizawa K, Mizukami T, Yamaguchi K, Ogawa S, Ito E, Hamaguchi I.	Extensive gene deletions in Japanese patients with Diamond-Blackfan anemia.	Blood			in press
Kamio T, Ito E, Ohara A, Kosaka Y, Tsuchida M, Yagasaki H, Mugishima H, Yabe H, Morimoto A, Ohga S, Muramatsu H, Hama A, Kaneko T, Nagasawa M, Kikuta A, Osugi Y, Bessho F, Nakahata T, Tsukimoto I, Kojima S.	Relapse of aplastic anemia in children after immunosuppressive therapy: a report from the Japan Childhood Aplastic Anemia Study Group.	Haematologica	96(6)	814-819	2011
Kudo K, Terui K, Sasaki S, Kamio T, Sato T, Ito E.	CD7-positive acute myelomonocytic leukemia with trisomy 21 as a sole acquired chromosomal abnormality in two adolescents.	Leuk Res.	35(9)	e167-8	2011
Yoshida K, Sanada M, Kato M, Kawahata R, Matsubara A, Takita J, Shih LY, Mori H, Koeffler HP, Ogawa S.	A nonsense mutation of IDH1 in myelodysplastic syndromes and related disorders.	Leukemia	25	184-186	2011

Yoshida K, Sanada M, Shiraishi Y, Nowak D, Nagata Y, Yamamoto R, Sato Y, Sato-Otsubo A, Kon A, Nagasaki M, Chalkidis G, Suzuki Y, Shiosaka M, Kawahata R, Yamaguchi T, Otsu M, Obara N, Sakata-Yanagimoto M, Ishiyama K, Mori H, Nolte F, Hofmann WK, Miyawaki S, Sugano S, Haferlach C, Koeffler HP, Shih LY, Haferlach T, Chiba S, Nakauchi H, Miyano S, Ogawa S.	Frequent pathway mutations of splicing machinery in myelodysplasia.	Nature	478	64-69	2011
Yamagishi M, Nakano K, Myiyake A, Yamochi T, Kagami T, Tsutsumi A, Sato-Otsubo A, Muto S, Utsunomiya A, Yamaguchi K, Ogawa S, Watanabe T.	Polycomb-Mediated Loss of miR-31 Activates NIK-Dependent NF- $\kappa$ B Pathway in Adult T Cell Leukemia and Other Cancers.	Cancer Cell	21	121-135	2012
Nishio N, Takahashi Y, Tanaka M, Xu Y, Yoshida N, Sakaguchi H, Doisaki S, Hama A, Muramatsu H, Shimada A, Kojima S.	Aberrant phosphorylation of STAT5 by granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in infant cytomegalovirus infection mimicking juvenile myelomonocytic leukemia.	Leuk Res	35	1261-1264	2011
Muramatsu H, Takahashi Y, Shimoyama Y, Doisaki S, Nishio N, Ito Y, Hama A, Shimada A, Yagasaki H, Ito M, Kojima S.	CD20-negative Epstein-Barr virus-associated post-transplant lymphoproliferative disease refractory to rituximab in a patient with severe aplastic anemia.	Inter Jo Hematol	93	779-781	2011
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.	Inter J Hematol	93	186-191	2011

Ismael O, Shimada A, Hama A, Sakaguchi H, Doisaki S, Muramatsu H, Yoshida N, Ito M, Takahashi Y, Akita N, Sunami S, Ohtsuka Y, Asada Y, Fujisaki H, Kojima S.	Mutations profile of polycythemia vera and essential thrombocythemia among Japanese children.	Pediat Blood Cancer		In press	2011
Hama A, Muramatsu H, Makishima H, Sugimoto Y, Szpurka H, Jasek M, O'Keefe C, Takahashi Y, Sakaguchi H, Doisaki S, Shimada A, Watanabe N, Kato K, Kiyoi H, Naoe T, Kojima S, Maciejewski JP.	Molecular lesions in childhood and adult acute megakaryoblastic leukaemia.	Brit J Haematol	156	316-325	2012
Morishima T, Watanabe K, Niwa A, Fujino H, Matsubara H, Adachi S, Suemori H, Nakahata T, Heike T.	Neutrophil differentiation from human-induced pluripotent stem cells.	J Cell Physiol	226	1283-1291	2011
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.	154	612-617	2011



## IV. 研究成果の代表的論文

## 一過性骨髄異常増殖症 (TAM) の治療戦略

村松 秀城<sup>1,2</sup>, 菊地 陽<sup>1,3</sup><sup>1</sup> JPLSG TAM 委員会,<sup>2</sup> 名古屋大学大学院医学系研究科小児科学, <sup>3</sup> 帝京大学医学部小児科学講座

## The Treatment Strategy for Transient Abnormal Myelopoiesis

Hideki MURAMATSU<sup>1,2</sup> and Akira KIKUCHI<sup>1,3</sup><sup>1</sup> Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group (JPLSG) TAM Committee<sup>2</sup> Department of Pediatrics, Nagoya University Graduate School of Medicine<sup>3</sup> Department of Pediatrics, Teikyo University School of Medicine

**Abstract** Transient abnormal myelopoiesis (TAM), which occurs in approximately 10% of infants with Down syndrome, is characterized by the appearance of blast cells with megakaryoblastic and/or erythroblastic characteristics in the peripheral blood. While most TAM patients have a favorable clinical course with spontaneous disappearance of blast cells, vital organ failure and early death occurs in some patients. Several multicenter clinical studies have identified risk factors that are significantly associated with death; these factors include high white blood cell (WBC) count, early gestational age, and high serum bilirubin level. More recently, a German group reported that chemotherapy with low-dose cytosine arabinoside improved the survival outcome of severe TAM patients. Retrospective analysis of 153 TAM patients by the MDS committee of the Japanese Society of Pediatric Hematology confirmed that low-dose cytosine arabinoside therapy improved the outcome of TAM patients with high WBC count ( $>100 \times 10^9/l$ ). On the basis of these clinical data, we propose a treatment strategy for TAM patients that utilizes a risk stratification system.

**要 旨** 一過性骨髄異常増殖症 (transient abnormal myelopoiesis: TAM) は約 10% の Down 症候群児の新生児期に一過性に白血球芽球が末梢血中に増加する疾患である。従来、予後良好であると考えられていたが、一方で臓器障害のために早期死亡する症例が一部存在することが報告されている。国内外の多施設共同研究により、早期死亡のリスク因子として白血球数高値、早産児、血清ビリルビン高値の存在等が同定されている。近年、ドイツのグループより少量シタラビンによる化学療法が重症 TAM の生存率を向上させることが報告されている。日本小児血液学会 MDS 委員会による TAM 153 例の全国後方視的解析においても、白血球数  $100,000/\mu l$  以上の症例において早期の少量シタラビン療法が生命予後を改善することが確認された。これらの結果に基づき、リスク分類に基づく少量シタラビン療法を中心とした治療介入を提唱する。

**Key words:** transient abnormal myelopoiesis, Down syndrome, cytarabine, GATA1

## I. はじめに

一過性骨髄異常増殖症 (transient abnormal myelopoiesis: TAM) は Down 症候群の新生児期に、一過性に白血球芽球が末梢血中に増加する疾患である。

国際的には transient myeloproliferative disorder (TMD), transient leukemia (TL) も同じ病態を指す用語として用いられているが、2008 年改訂の WHO 分類第 4 版では、TAM の呼称が採用されている<sup>1)</sup>。正確な発症頻度は不明であるが、Down 症候群の 5~10% に TAM は合併すると考えられている。わが国では、年間 100 万人の出生数のうち、Down 症候群の発症頻度は 1,000 出生に 1 例程度であること、Down 症候群の 5~10% に TAM が合併することから、年間 50~100 例の TAM が新規に発生していると予想される。

TAM のほぼ全例で *GATA1* 遺伝子の変異がみられる<sup>2-5)</sup>

2011 年 6 月 19 日受理

別刷請求先: 〒466-8550 名古屋市昭和区鶴舞町 65  
名古屋大学大学院医学系研究科小児科学 村松秀城  
Reprint requests to Hideki Muramatsu, Department of  
Pediatrics, Nagoya University Graduate School of  
Medicine, 65, Tsurumai, Showa-ku, Nagoya, 466-8550  
Japan

ため、Down 症候群新生児ガスリーカードの検体を用いた *GATA1* 変異のスクリーニングによる TAM 合併頻度の推測が試みられている。Pine らは 590 例の Down 症候群新生児のうち、3.8% に *GATA1* 変異が検出されたと報告した<sup>6)</sup>。同報告では、Hispanic 系では非 Hispanic 系に比べて 2.6 倍 *GATA1* 変異が多く、人種差が推察されるものの、Down 症候群における TAM 発症頻度は 5% 以下であろう、としている。しかし、ガスリーカード検体由来の genomic DNA を用いた検索は、末梢血中の芽球割合が低い症例では *GATA1* 変異をとらえられない可能性があり、発症頻度を低く見積もっているかもしれない。

従来、TAM は予後良好であると判断されてきたが、一部の症例で重症化し予後不良であることが判明している。ほぼ無症状の症例も存在する一方、芽球の浸潤に伴う症状として、肝脾腫、肝障害、腎不全、呼吸障害、胸水、腹水、全身浮腫などを伴う重症例が存在する<sup>7-12)</sup>。東海地区の TAM 70 例の後方視的検討<sup>10)</sup> では、16 例 (23%) が早期死亡しており、その死亡日の中央値 (範囲) は 33 (1~143) 日であった。死因は肝不全 11 例、呼吸循環不全 3 例、腎不全 1 例、先天性心疾患関連死亡 1 例であり、多くの症例は多臓器不全を合併していた。

## II. 診 断

TAM の明確な診断基準はいまだ確立されていないが、各治療研究および WHO 分類における診断基準を表 1 にまとめた。骨髄よりも末梢血で芽球の割合が高い傾向がみられるため、末梢血中の芽球出現が重要であるが、末梢血・骨髄に芽球が認められず、剖検で肝細胞に多数の芽球浸潤を認め、TAM と診断された症例も存在する。CD7, CD34, CD41, CD42b などの表面抗原が高発現していることが多く<sup>8)</sup>、フローサイトメトリー検査は診断

の一助となる。上述のように、ほとんどの症例で *GATA-1* 遺伝子変異を有することが知られており、現在は *GATA-1* 遺伝子変異解析が診断に必須であると考えられている。

また臨床上、急性巨核芽性白血病 (AMKL; acute megakaryocytic leukemia) との異同が問題になることがある。発症時期として、ドイツ<sup>9)</sup> は生後 6 カ月、アメリカ<sup>6)</sup> は生後 3 カ月以内の発症を TAM の診断基準に含めている。しかし、ほとんどの症例は生後 1 カ月以内に発症しており (東海地区の検討では生後 1 カ月以降に発症した症例は 4.3% (3 例/70 例) のみであった<sup>10)</sup>、生後 1 カ月以降の TAM 発症例は非典型例といえる。一方、わが国の AML99 プロトコールに登録された Down 症候群に合併した AMKL 72 例の発症年齢 (中央値 (範囲)) は、22 (7~88) カ月であった<sup>13)</sup>。発生頻度は少ないが、Down 症候群児において生後 1~12 カ月に巨核芽球の増多を認めた場合、注意深く両者の鑑別を行う必要がある。両者を明確に区別することは、芽球の形態・表面抗原検査・染色体検査においては現時点では難しく、遅滞なく適切な治療方針を決定するために、両者を鑑別可能な診断法の開発が望まれる。

一方、Down 症候群の臨床症状を有さない新生児に合併した TAM 症例が報告されている。その多くはトリソミー 21 のモザイクが存在するが、一部の症例では FISH を用いた体細胞の検討でもトリソミー 21 が証明されていない。Sandoval らによる文献のレビューでは、2005 年までに 32 例の Down 症候群の臨床症状を有さない TAM が報告されており、うち 13 例では体細胞のモザイクが証明されなかった<sup>14)</sup>。近年、国内においても同様の症例が複数の施設から報告されており<sup>15-17)</sup>、通常の Down 症候群に合併した TAM との異同は今後の検討課

表 1 各治療研究および WHO 分類における TAM の診断基準

	DS	Mosaic-DS	non-DS	年齢	芽球 (%)	芽球の局在	中央診断			文献
							形態中央診断	表面抗原検査	<i>GATA-1</i> 変異解析	
ドイツ	あり	含む	含まない	6 カ月以内	5%以上	末梢血 or 骨髄	あり	あり	一部の症例で検討	Klusmann <sup>6)</sup>
アメリカ	あり	含む	含まない	3 カ月以内	規定なし	末梢血 or 浸出液・臓器	あり	あり	記載なし	Massey <sup>5)</sup>
WHO 第 4 版	あり	記載なし	含まない	新生児	記載なし	記載なし	—	—	—	WHO <sup>10)</sup>
JPLSG TAM-10	あり	含む	含む	生後 90 日以内	規定なし	末梢血 or 骨髄	あり	あり	あり	JPLSG TAM-10 プロトコール

DS: Down syndrome, WHO: world health organization, JPLSG: Japan pediatric leukemia/lymphoma study group.

題である。

JPLSG による TAM-10 研究においては、中央診断検査として形態中央診断・フローサイトメトリー法による芽球表面抗原検査と *GATA1* 遺伝子変異解析を行うとともに、研究登録対象症例の定義として「Down 症候群ないしモザイク型 Down 症候群の患者において、日齢 90 日未満に末梢血中に芽球が出現した症例。ただし、体細胞が正常核型の症例であっても、日齢 90 日未満に巨核芽球の特徴を有する Down 症候群にみられる TAM と同様な芽球が出現し、芽球にトリソミー 21 および *GATA1* 変異を認められる症例は対象とする」を用いている。

### III. 予後不良因子と少量シタラビン療法

#### 1. 予後不良因子の解析

多施設症例集積研究報告がアメリカ・ドイツ・日本よりなされている。その結果を表 2 にまとめた。アメリカの Massey らは、前方視的観察研究を行い、TAM 48 例の臨床像を解析した (POG-9481 study)<sup>8)</sup>。17%の症例が早期死亡し、白血球数高値、ビリルビン・肝逸脱酵素の上昇、自然寛解に至らない場合などが、予後不良因子であると報告している。一方、ドイツの Klusmann らは前方視的観察研究により TAM 146 例の予後を解析した<sup>9)</sup>。多変量解析により早期産、腹水、白血球数高値 (100,000/ $\mu$ l 以上)、出血傾向、自然寛解に至らない場合などが早期死亡に関連する独立した予後因子として同定された。筆者らは東海地区の TAM 70 例の予後を後方

視的に解析し、早期産、白血球数高値 (100,000/ $\mu$ l 以上)、直接ビリルビン値上昇が独立した予後因子であることを同定し、在胎週数・白血球数による簡便な予後予測分類を提唱している<sup>10)</sup> (図 1)。菊地らの TAM 全国アンケート調査 (2003~2005 年, 73 例) の解析により、在胎週数、白血球数による予後分類が有用であることが確認され、全身浮腫を有する症例はきわめて予後不良であることが示された<sup>11)</sup>。

TAM 症例のうち、約 20%が 2 歳頃をピークに AMKL を発症する。しかし、TAM 発症時に AMKL 発症例を予測する因子はいずれの TAM 多施設症例集積研究報告でも同定されていない<sup>8-11)</sup>。Kanezaki らは、*GATA1s* の発現量に基づいて *GATA1* 遺伝子変異を分類し、発現量が少ない *GATA1* 遺伝子変異を有する TAM 症例において AMKL 発症リスクが有意に高いことを報告している<sup>18)</sup>。

#### 2. 少量シタラビン療法の成績

カナダの Al-Kasim らは、2002 年に少量シタラビン療法 (0.8~3 mg/kg/日, 5~7 日間) により芽球数が速やかに減少し、ビリルビン低下など臓器障害の症状軽減も認め、同療法が有効であった重症 TAM 3 例を報告した<sup>7)</sup>。Klusmann らによる 146 例の前方視的観察研究では、28 例に少量シタラビン療法が行われ<sup>9)</sup>、少量シタラビン療法が行われた患者 ( $n=28$ ) は、治療を受けなかった患者 ( $n=118$ ) と比較して有意に重症度 (ICU 入室率 (46% vs. 20%,  $p=0.001$ ), 凝固異常の合併 (21% vs. 4%,  $p=0.001$ ), 肝線維症の合併 (10% vs. 3%,  $p=0.001$ ))

表 2 TAM の臨床研究のまとめ

症例数 (例)	少量シタラビン投与例 (投与例/全例)	早期死亡 (死亡例/全例)	早期死亡予後因子	*単変量 **多変量	AML 発症例 (発症例/生存例)	報告者
48	4% (2/48)	17% (8/48)	白血球数 AST, ALT 芽球の消失なし 血球数の正常化なし	*	23% (9/40)	Massey <sup>8)</sup>
146	19% (28/146)	15% (22/146)	在胎週数 (37 週未満) WBC (10 万/ $\mu$ l 以上) 出血傾向, 腹水 芽球の消失なし 少量シタラビン治療なし	**	23% (29/124)	Klusmann <sup>9)</sup>
70	3% (2/70)	23% (16/70)	在胎週数 (37 週未満) WBC (10 万/ $\mu$ l 以上) D.Bil (5 mg/dl 以上)	**	22% (12/54)	Muramatsu <sup>10)</sup>
73	14% (10/73)	22% (16/73)	在胎週数 (37 週未満) WBC (10 万/ $\mu$ l 以上) D.Bil (5 mg/dl 以上) AST, ALT, 全身浮腫	*	23% (13/57)	菊地 <sup>11)</sup>

AML: acute myeloid leukemia, AST: aspartate aminotransferase, ALT: alanine aminotransferase, WBC: white blood cell, D.Bil: direct bilirubin.