

球減少時の経静脈的抗生剤予防投与を行っており、使用する抗生剤は様々であった。咽頭・鼻腔・尿・便いずれかの監視培養を行っている施設は25%であった。

施設支持療法指針とCRFにおいて確定した有害事象情報と連結した結果、grade3-4のFNの頻度はヘパフィルターの使用、キノロンによる腸内殺菌と関連があり、好中球減少時の経静脈的抗生剤予防投与とG-CSF予防投与により減少する傾向があった。発熱日数と発熱回数は監視培養と関連があり、ヘパフィルターの使用/好中球減少時の経静脈的抗生剤投与により発熱日数・回数が短縮する傾向があった。またST合剤連日投与、硫酸ポリミキシンBによる腸内殺菌を行なった群はCRP最高値が有意に低く、監視培養と無菌調剤が行なわれた群はCRP最高値がやや低い傾向があった。

D. 考察

AML-05臨床試験では治療中は細菌（とくに α 溶連菌やグラム陰性桿菌）、ウイルス、真菌などあらゆる病原体が起炎菌となる感染症が発症しやすいため、以下に示すような十分な感染予防を推奨している。

①好中球減少（ $500/\mu\text{l}$ 未満）が予想される際は、簡易無菌装置を用いることが望ましい。②内服可能となった時点で、ST合剤を $0.1\text{g}(=0.1\text{錠})/\text{kg}/\text{day}$ 分2週3回を目安に経口投与する。③好中球減少時

（ $500/\mu\text{l}$ 未満）には予防的抗真菌剤を開始する。④発熱を認めた場合直ちに医師が全身状態などを観察したのちに、各種培養を提出しempirical therapyを開始する。

今回、AML-05参加施設の支持療法の実態調査を初めて行い、その遵守率が検証された。骨髄抑制の遷延するAML治療において、できるだけ重篤な感染症合併のリスクを回避し、有害事象を減らすために各施設でのさまざまな工夫のもとに治療が遂行されている実態が明らかになった。

有害事象情報と連結した解析では支持療

法と寛解導入療法中の合併症頻度重症度に一定の傾向があることが示された。特に監視培養実施例は発熱回数が少なく、grade4の感染症発生頻度が低く、CRP最高値が低いなど早期に適切な介入がなされることにより重症度の悪化を未然に防ぐことができたことが示唆される。一方、Grade3-4好中球減少時のgrade3-4感染症がG-CSF予防投与群でむしろ多いことが示されるなど解析項目に含まれていない担当施設各々の事情が支持療法の実施方針に影響を与えた可能性があるのではないかと推測される。また、今回はリスク確定前の寛解導入療法に限って解析を行なったが、強化療法時の支持療法あるいは2歳未満等のハイリスク例についてはさらに検討が必要である。

E. 結論

骨髄抑制の遷延するAML治療において重篤な感染症合併のリスクを回避し、有害事象を減らすために各施設でのさまざまな工夫のもとに治療が遂行されている実態が明らかになった。有害事象情報と連結した解析ではヘパフィルターの使用、好中球減少時の経静脈的抗生剤投与、監視培養実施例が感染の頻度/重症度は低い傾向があった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1: Takahashi Y, Muramatsu H, Sakata N, Hyakuna N, Hamamoto K, Kobayashi R, Ito E, Yagasaki H, Ohara A, Kikuchi A, Morimoto A, Yabe H, Kudo K, Watanabe KI, Ohga S, Kojima S; on behalf of the Japan Childhood Aplastic Anemia Study Group. Rabbit antithymocyte globulin and cyclosporine as first-line therapy for children with acquired aplastic anemia. Blood. 2013 Jan 31;121(5):862-863.

- 2: Kunishima S, Tomii T, Kudo K, Saito H. G to T transversion at the first nucleotide of exon 26 of the MYH9 gene results in a novel missense mutation and abnormal splicing in platelets: Comment on "A G to C transversion at the last nucleotide of exon 25 of the MYH9 gene results in a missense mutation rather than in a splicing defecton" by Vettore et al. *Eur J Med Genet*. 2012 Sep 11. pii: S1769-7212(12)00250-9. doi: 10.1016/j.ejmg.2012.09.001.
- 3: Taga T, Saito AM, Kudo K, Tomizawa D, Terui K, Moritake H, Kinoshita A, Iwamoto S, Nakayama H, Takahashi H, Tawa A, Shimada A, Taki T, Kigasawa H, Koh K, Adachi S. Clinical characteristics and outcome of refractory/relapsed myeloid leukemia in children with Down syndrome. *Blood*. 2012 Aug 30;120(9):1810-5. Epub 2012 Jul 9.
- 4: Kuramitsu M, Sato-Otsubo A, Morio T, Takagi M, Toki T, Terui K, Wang R, 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*. 2012 Mar 8;119(10):2376-84. Epub 2012 Jan 18.
- 5: Shioda Y, Adachi S, Imashuku S, Kudo K, Imamura T, Morimoto A. Analysis of 43 cases of Langerhans cell histiocytosis (LCH)-induced central diabetes insipidus registered in the JLSG-96 and JLSG-02 studies in Japan. *Int J Hematol*. 2011 Dec; 94(6): 545-51. Epub 2011 Nov 17.
- 6: Asano T, Kogawa K, Morimoto A, Ishida Y, Suzuki N, Ohga S, Kudo K, Ohta S, Wakiguchi H, Tabuchi K, Kato S, Ishii E. Hemophagocytic lymphohistiocytosis after hematopoietic stem cell transplantation in children: A nationwide survey in Japan. *Pediatr Blood Cancer*. 2012 Jul 15;59(1):110-4. doi: 10.1002/pbc.23384. Epub 2011 Oct 28.
- 7: Kato K, Kojima Y, Kobayashi C, Mitsui K, Nakajima-Yamaguchi R, Kudo K, Yanai T, Yoshimi A, Nakao T, Morio T, Kasahara M, Koike K, Tsuchida M. Successful allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for chronic granulomatous disease with inflammatory complications and severe infection. *Int J Hematol*. 2011 Nov;94(5):479-82. Epub 2011 Oct 21.
- 8: Sakaguchi H, Takahashi Y, Watanabe N, Doisaki S, Muramatsu H, Hama A, Shimada A, Yagasaki H, Kudo K, Kojima S. Incidence, clinical features, and risk factors of idiopathic pneumonia syndrome following hematopoietic stem cell transplantation in children. *Pediatr Blood Cancer*. 2012 May;58(5):780-4. doi: 10.1002/pbc.23298. Epub 2011 Sep 15.
- 9: 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. doi: 10.1111/j.1399-3046.2011.01544.x. Epub 2011 Jul 15.

- 10: Morimoto A, Shioda Y, Imamura T, Kanegane H, Sato T, Kudo K, Nakagawa S, Nakadate H, Tauchi H, Hama A, Yasui M, Nagatoshi Y, Kinoshita A, Miyaji R, Anan T, Yabe M, Kamizono J; LCH Committee, Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group. Nationwide survey of bisphosphonate therapy for children with reactivated Langerhans cell histiocytosis in Japan. *Pediatr Blood Cancer*. 2011 Jan; 56(1): 110-5.
- 11: Imaizumi M, Tawa A, Hanada R, Tsuchida M, Tabuchi K, Kigasawa H, Kobayashi R, Morimoto A, Nakayama H, Hamamoto K, Kudo K, Yabe H, Horibe K, Tsuchiya S, Tsukimoto I. 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*. 2011 Jan; 152(1):89-98.
- 12: Yagasaki H, Takahashi Y, Hama A, Kudo K, Nishio N, Muramatsu H, Tanaka M, Yoshida N, Matsumoto K, Watanabe N, Kato K, Horibe K, Kojima S. Comparison of matched-sibling donor BMT and unrelated donor BMT in children and adolescent with acquired severe aplastic anemia. *Bone Marrow Transplant*. 2010 Oct; 45(10):1508-13. Epub 2010 Feb 1.
- 13: Kato K, Kobayashi C, Kudo K, Hara T, Masuko K, Koike K, Tsuchida M. Late recurrence of precursor B-cell acute lymphoblastic leukemia 9 years and 7 months after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2010 Oct; 32(7): e290-3.
- 14: Imamura T, Sato T, Shiota Y, Kanegane H, Kudo K, Nakagawa S, Nakadate H, Tauchi H, Kamizono J, Morimoto A. Outcome of pediatric patients with Langerhans cell histiocytosis treated with 2 chlorodeoxyadenosine: a nationwide survey in Japan. *Int J Hematol*. 2010 May; 91(4):646-51. Epub 2010 Apr 2
- 15: Kudo K, Hama A, Kojima S, Ishii R, Morimoto A, Bessho F, Sunami S, Kobayashi, Kinoshita A, Okimoto Y, Tawa A, Tsukimoto I. Mosaic Down syndrome-associated acute myeloid leukemia does not require high dose cytarabine treatment for induction and consolidation therapy. *Int J Hematol*. 2010 May; 91(4):630-5. Epub 2010 Mar 18.
- 16: Kudo K, Ohga S, Morimoto A, Ishida Y, Suzuki N, Hasegawa D, Nagatoshi Y, Kato S, and Ishii E. Improved outcome of refractory Langerhans cell histiocytosis in children with hematopoietic stem cell transplantation in Japan. *Bone Marrow Transplant*. 2010 May; 45(5): 901-6. Epub 2009 Sep 21.
- 17: Ohga S, Kudo K, Ishii E, Honjo S, Morimoto A, Osugi Y, Sawada A, Inoue M, Tabuchi K, Suzuki N, Ishida Y, Imashuku S, Kato S, Hara T. Hematopoietic stem cell transplantation for familial hemophagocytic lymphohistiocytosis and Epstein-Barr virus-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis in Japan. *Pediatr Blood Cancer*. 2010 Feb; 54(2): 299-306.
- 18: Morimoto A, Ishida Y, Suzuki N, Ohga S, Shioda Y, Okimoto Y, Kudo K, Ishii E; HLH/LCH Committee of the Japanese Society of Pediatric

Hematology. Nationwide survey of single-system single site Langerhans cell histiocytosis in Japan. *Pediatr Blood Cancer*. 2010 Jan; 54(1): 98-102.

2. 学会発表

1. 村松 秀城、井上雅美、住江愛子、気賀澤寿人、加藤俊一、河敬世、加藤剛二、熱田由子、坂口大俊、多賀崇、田淵健、工藤寿子 ダウン症候群に合併した急性骨髄性白血病に対する造血幹細胞移植の成績 第53回日本小児血液・がん学会 平成23年11月25日 前橋ベイシア文化ホール

2. 多和昭雄、斉藤明子、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、小阪義之、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 平成23年11月25日 前橋ベイシア文化ホール

3. 多賀崇、斉藤明子、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、足立壮一 ダウン症候群に発症した急性骨髄性白血病(AML-DS)の寛解導入不能例・再発例の多施設共同後方視的研究 第53回日本小児血液・がん学会 平成23年11月25日 前橋ベイシア文化ホール

4. 岡本康裕、石田宏之、田淵健、富澤大輔、多賀崇、工藤寿子、井上雅美、稲垣二郎、加藤剛二、康勝好、矢部晋正、坂巻壽、河敬世、熱田由子 「小児急性骨髄性白血病の非寛解期の造血幹細胞移植術の成績と予後因子の検討」第34回日本造血細胞移植学会(平成24年2月24日)、大阪国際会議場

5. 石田宏之、足立壮一、長谷川大一郎、岡本康裕、気賀澤寿人、稲垣二郎、井上雅美、康勝好、矢部晋正、河敬世、加藤剛二、坂巻壽、熱田由子、工藤寿子 「小児・思春

期AML寛解期に対するアロ造血幹細胞移植前処置の影響」第34回日本造血細胞移植学会(平成24年2月24日)、大阪国際会議場

6. 小嶋靖子、渡邊健一郎、田淵健、真部淳、稲垣二郎、落合秀匡、足立壮一、気賀澤寿人、小池和俊、矢部晋正、河敬世、加藤剛二、坂巻壽、熱田由子、工藤寿子 「小児若年者治療関連骨髄異形成症候群(t-MDS)/急性骨髄性白血病(t-AML)に対する造血幹細胞移植治療の検討」第34回日本造血細胞移植学会(平成24年2月24日)、大阪国際会議場

7. 坂口大俊、長谷川大一郎、田淵健、村松秀城、加藤剛二、康勝好、後藤裕明、稲垣二郎、矢部晋正、足立壮一、坂巻壽、熱田由子、工藤寿子 「小児AMLに対する自家造血細胞移植」第34回日本造血細胞移植学会(平成24年2月25日)、大阪国際会議場

8. Okuno Y, Shiba N, Shiraishi Y, Yoshida K, Nagata Y, Sato Y, Ohki K, Kato M, Park MJ, Kanazawa T, Kudo K, Chiba K, Tanaka H, Ito E, Takita J, Sanada M, Hayashi Y, Miyano S, Ogawa S. Clonal architecture and evolution of pediatric AML. 第74回日本血液学会(平成24年10月19日-21日)、京都国際会館

9. Shiba N, Yoshida K, Okuno Y, Shiraishi Y, Tanaka H, Chiba K, Nagata Y, Ohki K, Kato M, Park MJ, Takita J, Kanazawa T, Kudo K, Arakawa H, Ito E, Sanada M, Miyano S, Ogawa S, Hayashi Y. Whole exome resequencing reveals novel gene mutations in pediatric AML. 第74回日本血液学会(平成24年10月19日-21日)、京都国際会館

10. Taga T, Murakami Y, Tabuchi K, Adachi S, Tomizawa D, Kojima Y, Kato K, Goto H, Koike K, Yabe H, Kawa K, Atsuta Y, Kudo K. Pediatric AML Working Group of Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. Role of second

transplantation in childhood acute
myeloid leukemia in second remission.

第74回日本血液学会(平成24年10月19日
-21日)、京都国際会館

11. 柴徳生、吉田健一、奥野友介、白石友一、加藤元博、大木健太郎、朴明子、金澤崇、工藤寿子、滝田順子、加藤啓輔、荒川浩一、伊藤悦朗、花田良二、真田昌、小川誠司、林泰秀 「全エキソーム解析による小児急性骨髄性白血病の新規発症原因遺伝子変異の同定」第54回日本小児血液・がん学会(平成24年11月30日-12月2日)、パシフィコ横浜会議センター

12. 松岡明希菜、北澤宏展、伊藤理恵子、富井敏宏、鈴木喬悟、小倉妙美、堀越泰雄、工藤寿子、小泉沢、川崎達也、植田育也 「敗血症性ショックで発症した造血器悪性疾患の2例」第54回日本小児血液・がん学会(平成24年11月30日-12月2日)、パシフィコ横浜会議センター

13. 天野功二、堀本洋、工藤寿子、伊藤一之、目黒茂樹、瀧賀智子、石垣美千留、桑原和代、山崎友朗 「小児がん患児におけるトラマドール塩酸塩の使用経験」第54回日本小児血液・がん学会(平成24年11月30日-12月2日)、パシフィコ横浜会議センター

H. 知的財産権の出願・登録状況
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

小児 *de novo* AML および APL に対する標準的治療法の確立に関する研究

研究分担者 富澤 大輔 東京医科歯科大学医学部附属病院 小児科 助教

研究要旨： 本研究では、小児急性骨髄性白血病 (*de novo* AML) および急性前骨髄球性白血病 (APL) を対象に、これまで我が国で行われてきた全国規模の臨床試験の流れを継承し、標準的治療法の確立および更なる治療成績の向上を目指す。*de novo* AML に対しては本邦初の第Ⅲ相ランダム化比較試験となる AML-12 が計画され、実施計画書を作成した。本試験ではシームレス第Ⅱ相-第Ⅲ相臨床試験デザインを用い、初回寛解導入療法における大量シタラビン療法およびフローサイトメトリー法による微小残存病変 (MRD) の意義を検証する。一方、APL に対しては、MRD を用いた治療層別化と新規薬剤 (三酸化ヒ素およびゲムツズマブ・オンガミシン) の導入を骨子とした、AML-P12 臨床試験が計画され、実施計画書を作成中である。

A. 研究目的

1. 小児急性骨髄性白血病 (*de novo* AML) に対する標準的治療法を確立し、治療成績の向上を図る。
2. 小児急性前骨髄球性白血病 (APL) に対する標準的治療法を確立し、治療成績の向上を図る。

B. 研究方法

1. 小児急性骨髄性白血病 (*de novo* AML)

1999 年～2001 年に小児 AML 共同治療研究会による AML99 臨床試験が実施され、治療反応性および診断時 AML 細胞の核型異常に基づく層別化治療が行われた。その結果、寛解導入率 94%、5 年無イベント生存率 (EFS) 61%、5 年全生存率 (OS) 75% と世界でもトップレベルの治療成績が得られた。2003 年に日本小児白血病リンパ腫研究グループ (JPLSG) が設立され、AML99 試験に参加していなかった小児がん白血病研究グループ (CCLSG) も加わり、本邦初の小児 AML ナショナ

ルスタディ AML-05 臨床試験が行われた。AML-05 では、AML99 におけるリスク分類に加えて、予後不良な FLT3-ITD 陽性例を高リスク群に加えて第一寛解期における同種造血幹細胞移植の適応とした。一方、低リスク群と中間リスク群に対しては、総治療コース数を 5 と AML99 の 6 コースから減らし、特に低リスク群では心毒性を有するアントラサイクリン系抗がん剤および二次性白血病のリスクを有するエトポシド (VP-16) の総投与量を減じた。中間リスク群に対しては、第一寛解期における移植適応の一切を外した。すなわち、AML99 で得られた良好な治療成績を保ちつつ、治療後の晩期合併症リスクを減らすことを試みた。2006 年 11 月～2010 年 12 月の間に計 485 例 (適格 443 例) の症例が登録され、2012 年 5 月にデータの固定を行い、解析を実施した。その結果 3 年 EFS 54.2%、3 年 OS 73.1% と、AML99 と遜色のない治療成績が得られた。

このように、AML99、AML-05 と発展させてきた

小児 AML に対する治療戦略を踏襲した上で、更なる治療成績の向上を図るべく、「小児急性骨髄性白血病を対象とした初回寛解導入療法におけ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-12」を計画した。我々は、これまで心毒性を有するアントラサイクリン系抗がん剤の投与量は最小限に抑えつつ、強化療法を大量シタラビン(Ara-C)療法で強化してきたが、AML-12では、初回寛解導入療法において、Ara-Cの持続静注法とミトキサントロン(MIT)、VP-16を組み合わせた標準的レジメン(ECM)に対して、大量Ara-C療法とMIT、VP-16を組み合わせた試験レジメン(HD-ECM)のランダム化比較試験を実施し、小児AMLに対する初回寛解導入療法における大量Ara-C療法の意義を検証する。ただし、HD-ECMは今回初めて実施するレジメンであることから、同レジメンの安全性を施設限定で検証する第Ⅱ相試験(安全性検証相)を経てから、第Ⅲ相試験(有効性検証相)に移行する、「シームレス第Ⅱ-第Ⅲ相試験」デザインを採用した。

また、2010年にLancet Oncology誌に報告された米国St. Jude小児研究病院のAML02試験の結果、初回寛解導入療法後のフローサイトメトリ法を用いた微小残存病変(MRD)が、小児AMLにおいて最も強力な予後因子であることが明らかになった。これを受けて、AML-12臨床試験でも、MRD検査システムを整備し、その臨床的意義についても検証することにした。

AML-12の主たるエンドポイントは、3年EFSと初回寛解導入療法後のMRD陽性率である。

2. 小児急性前骨髄球性白血病(APL)

APLにおいても、1999年～2004年にかけて小児AML共同治療研究会によるAML99-M3臨床試験

が実施され、ATRAと抗がん剤併用による寛解導入療法、6コースの強化療法、ATRA単独間欠投与による1年間の維持療法からなる化学療法により、7年EFS 91.4%、7年OS 93.1%と非常に良好な成績が得られた。この結果をふまえて、JPLSGでは2006年からAML-P05臨床試験を開始した(2011年3月登録終了、2011年12月現在追跡期間中)。AML-P05では、AML99-M3で得られた良好な治療成績を維持しつつ、より安全性の向上を目指した。すなわち、寛解導入療法中の致命的な播種性血管内凝固(DIC)およびAPL分化症候群(APL-DS)を防止するために、寛解導入療法におけるトレチノイン(ATRA)単独投与期間の延長および白血球数に応じたデキサメタゾンの投与を行い、治療コース数をAML99-M3の7から5コースに減じた。その結果、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。

・AML99-M3、AML-P05の結果を踏まえて、我々はAPL-P11臨床試験を新たに計画している。本試験では、①比較的安全性の高いAML-P05寛解導入療法を踏襲、②心毒性のあるアントラサイクリンを減量した上で治療効果を補完する目的で三酸化ヒ素(ATO)の導入、③PML-RARAキメラmRNA測定を用いた微小残存病変(MRD)によるリスク層別化治療、④難治例に対するゲムツズマブ・オゾガミシン(GO)の導入、を行う予定である。

C. 研究結果

1. 小児急性骨髄性白血病(de novo AML)

AML-05臨床試験の解析により得られた4つの

知見, すなわち, 1)Core-binding factor (CBF) 群のEFSがAML99と比較して低下したが, アントラサイクリン系抗がん剤の過度な減量が原因と考えられたこと, 2)非CBF群ではAML99と比較して治療コース数および移植適応を減らしたにも関わらず同等の治療成績が得られたこと, 3)乳児例では寛解導入療法中の合併症が多く, 投薬量の調節が必要であること, 4)骨髄異形性症候群 (MDS) 関連の異常を有するAMLは予後不良であること, について各々2012年米国血液学会において報告した。

次期AML-12臨床試験について, JPLSG AML委員会においてプロトコル・コンセプトを作成し, JPLSGプロトコルレビュー・ワーキンググループの審査を経て, 2012年12月17日にAML-12実施計画書第1版が完成させた。現在日本小児血液・がん学会臨床研究審査委員会に提出を行い, 審査が行われている。2013年春の試験開始を予定している。

2. 小児急性前骨髄球性白血病 (APL)

AML-P05 臨床試験について, 2006年4月から2011年3月登録終了までに計46症例が登録された。2014年3月まで追跡を行う予定である。2013年1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, 了承された。

次期AML-P12試験については, JPLSG AML委員会においてプロトコル・コンセプトを作成し, JPLSGプロトコルレビュー・ワーキンググループの審査を経て, 現在AML-P12実施計画書を作成中である。2013年中の試験開始を予定している。

D. 考察

現在, 試験計画書作成に着手しているAML-12臨床試験は, 本邦小児AMLを対象とした初めての

第Ⅲ相ランダム化比較試験であり, AML治療の主要薬剤であるAra-Cの寛解導入療法における使用法について検討する重要な試験である。更に, 本試験では, 小児AMLにおける最も重要な予後因子となる可能性の高いフローサイトメトリー法を用いた微小残存病変 (MRD) の意義についても検証が行われる。いずれも, 小児AMLに対する標準的治療法の確立および更なる治療成績向上に結び付くことが期待される。

一方, APLについても, 現在計画中の次期AML-P11臨床試験において, MRDによる治療層別化と新規薬剤の導入 (ATOとGO) を行うと同時に, アントラサイクリン系抗がん剤の投与量を減じて心毒性のリスクを減じることで, より安全かつ有効な治療法の確立が期待される。

E. 結論

AML-12臨床試験およびAML-P12臨床試験の実施により, 小児de novo AMLおよびAPLに対する標準的治療法の確立および治療成績の向上が期待される。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Gruber TA, Larson Gedman A, Zhang J, Koss CS, Marada S, Ta HQ, Chen SC, Su X, Ogden SK, Dang J, Wu G, Gupta V, Andersson AK, Pounds S, Shi L, Easton J, Barbato MI, Mulder HL, Manne J, Wang J, Rusch M, Ranade S, Ganti R, Parker M, Ma J, Radtke I, Ding L, Cazzaniga G, Biondi A, Kornblau SM, Ravandi F, Kantarjian H, Nimer SD, Döhner K, Döhner H, Ley TJ, Ballerini P, Shurtleff S, Tomizawa D, Adachi S, Hayashi Y, Tawa A, Shih LY, Liang DC, Rubnitz JE, Pui CH, Mardis ER, Wilson RK,

- Downing JR. An inv(16) (p13.3;q24.3)-encoded *CBFA2T3-GLIS2* fusion protein defines an aggressive subtype of pediatric acute megakaryoblastic leukemia. *Cancer Cell* 2012;22:683-97
- 2) Taga T, Saito AM, Kudo K, Tomizawa D, Terui K, Moritake H, Kinoshita A, Iwamoto S, Nakayama H, Takahashi H, Tawa A, Shimada A, Taki T, Kigasawa H, Koh K, Adachi S. Clinical characteristics and outcome of refractory/relapsed myeloid leukemia in children with Down syndrome. *Blood* 2012; 120(9): 1810-5
- 3) 富澤大輔：乳児白血病。小児内科 44 (増刊号) : 566-567 東京医学者 2012
- 4) 富澤大輔：乳児白血病。小児科 53(12) : 1653-61 金原出版 2012
2. 学会発表
- 1) Yabe H, Nagasawa M, Yagasaki H, Horibe K, Tomizawa D, Kikuta A, Cho Y, Goto H, Yabe M on behalf of the Stem Cell Transplantation Committee of Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group (JPLSG). Recombinant human soluble thrombomodulin is effective in the treatment of early complications after hematopoietic stem cell transplantation in children and adolescents. 38th Annual Meeting of the European Group for Blood and Marrow Transplantation, Geneva, Switzerland, April 1-4, 2012
- 2) Taga T, Moriya Saito A, Kudo K, Tomizawa D, Terui K, Moritake H, Kinoshita A, Iwamoto S, Nakayama H, Takahashi H, Tawa A, Shimada A, Taki T, Kigawasa H, Koh K, Adachi S. Prognosis of refractory/relapsed myeloid leukemia with Down syndrome: A retrospective study by the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group (JPLSG). 8th Bi-annual Childhood Leukemia Symposium, Santiago, Chile, April 22-24, 2012.
- 3) Tomizawa D, Tawa A, Watanabe T, Saito AM, Kudo K, Taga T, Iwamoto S, Shimada A, Terui K, Moritake H, Kinoshita A, Takahashi H, Nakayama H, Koh K, Kigasawa H, Kosaka Y, Miyachi H, Horibe K, Nakahata T, Adachi S. Excess reduction of anthracyclines results in inferior event-free survival in core binding factor acute myeloid leukemia in children; a report from the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group (JPLSG). 54th Annual Meeting of the American Society of Hematology, Atlanta, USA, December 8-11, 2012.
- 4) Tomizawa D, Tawa A, Watanabe T, Saito AM, Kudo K, Taga T, Iwamoto S, Shimada A, Terui K, Moritake H, Kinoshita A, Takahashi H, Nakayama H, Koh K, Kigasawa H, Kosaka Y, Miyachi H, Horibe K, Nakahata T, Adachi S. Appropriate dose modification in induction therapy is essential for the treatment of infants with acute myeloid leukemia; a report from the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group (JPLSG). 54th Annual Meeting of the American Society of Hematology, Atlanta, USA, December 8-11, 2012.
- 5) Hasegawa D, Tawa A, Tomizawa D, Watanabe

- T, Saito AM, Kudo K, Taga T, Iwamoto S, Shimada A, Terui K, Moritake H, Kinoshita A, Takahashi H, Nakayama H, Koh K, Kigasawa H, Kosaka Y, Miyachi H, Horibe K, Nakahata T, Adachi S. Attempts to optimize post-induction treatment in childhood acute myeloid leukemia without core binding factors: a report from the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group (JPLSG). 54th Annual Meeting of the American Society of Hematology, Atlanta, USA, December 8-11, 2012.
- 6) Kinoshita A, Miyachi H, Matsushita H, Yabe M, Taki T, Watanabe T, Saito AM, Tomizawa D, Kiyokawa N, Taga T, Deguchi T, Hashii Y, Terui K, Takahashi H, Hayashi Y, Tawa A, Horibe K, Adachi S. Myelodysplasia-related changes have adverse prognostic significance in children with acute myeloid leukemia: a report from the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group (JPLSG). 54th Annual Meeting of the American Society of Hematology, Atlanta, USA, December 8-11, 2012.
- 7) Sandahl JD, Coenen EA, Forestier E, Harbott J, Johansson B, Kerndrup G, Adachi S, Auvrignon A, Beverloo HB, Chilton L, de Haas V, Harrison C, Inaba H, Kaspers G, Liang DC, Lin KS, Massetti R, Perot C, Pession A, Raimondi SC, Reinhardt K, Tomizawa D, von Neuhoff N, Zecca M, van den Heuvel-Eibrink MM, Hasle H. DEK-NUP214 t(6;9) (p23;q34) rearranged pediatric AML: a retrospective international study. 54th Annual Meeting of the American Society of Hematology, Atlanta, USA, December 8-11, 2012.
- 8) Coenen EA, Zwaan CM, Harrison CJ, Haas OA, de Haas V, Mihal V, De Moerloose B, Jeison M, Rubnitz J, Tomizawa D, Johnston D, MD, Alonzo TA, Hasle H, Reinhardt D, Auvrignon A, Dworzak M, Pession A, van der Velden VHJ, Swansbury J, Wong KF, Terui K, Savasan S, Winstanley M, Vaitkeviciene G, Zimmermann M, Pieters R, van den Heuvel-Eibrink MM. Pediatric Acute Myeloid Leukemia with t(8;16) (p11;p13): A distinct clinical and biological entity. Results of a collaborative study by the International Berlin-Frankfurt-Münster AML Study Group. 54th Annual Meeting of the American Society of Hematology, Atlanta, USA, December 8-11, 2012.
- 9) 大川哲平, 遠藤明史, 富澤大輔, 今井耕輔, 高木正稔, 梶原道子, 長澤正之, 森尾友宏, 水谷修紀. IKBA 遺伝子異常 (外胚葉形成不全免疫不全症) に対し非血縁者間骨髓移植を施行した 1 例. 第 34 回日本造血細胞移植学会総会, 2012 年 2 月 24 日, 大阪
- 10) 岡本康裕, 石田宏之, 田淵健, 富澤大輔, 多賀崇, 工藤寿子, 井上雅美, 稲垣二郎, 加藤剛二, 康勝好, 矢部普正, 坂巻壽, 河敬世, 熱田由子. 小児急性骨髄性白血病の非寛解期の造血細胞移植術の成績と予後因子の検討. 第 34 回日本造血細胞移植学会総会, 2012 年 2 月 24 日, 大阪
- 11) Taga T, Murakami Y, Tabuchi K, Adachi S, Tomizawa D, Kojima Y, Kato K, Goto H, Koike K, Yabe H, Kawa K, Atsuta Y, Kudo

- K. Role of second transplantation in childhood acute myeloid leukemia in second remission. 第74回日本血液学会総会, 2012年10月19日, 京都
- 12) Aoki Y, Suzuki N, Takagi M, Tomizawa D, Koh K, Ishii E, Tomizawa M, Saito Y, Ohara O, Mizutani S, Ishikawa F. Distinct pathogenesis of infant mixed-lineage leukemia with MLL-AF4 and MLL-AF9 translocations. 第74回日本血液学会総会, 2012年10月19日, 京都
- 13) Nagasawa M, Ookawa T, Endo A, Mitsuiki N, Ono T, Aoki Y, Isoda T, Tomizawa D, Imai K, Takagi M, Kajiwara M, Morio T, Mizutani S. Thrombomodulin-alpha improves the coagulation disorder associated TRM after allogeneic SCT. 第74回日本血液学会総会, 2012年10月21日, 京都
- 14) Endou A, Ookawa T, Tomizawa D, Imai K, Takagi M, Nagasawa M, Morio T, Mizutani S. Acute myeloid leukemia with ESWR1 split signal. 第74回日本血液学会総会, 2012年10月19日, 京都
- 15) 大川哲平, 長島彩子, 佐塚真帆, 杉江学, 富澤大輔, 滝敦子, 西山光則, 水谷修紀. 先天性白血病が疑われた新生児の一例. 第57回日本未熟児新生児学会, 2012年11月27日, 熊本
- 16) 長澤正之, 大川哲平, 遠藤明史, 満生紀子, 小野敏明, 青木由貴, 磯田健志, 富澤大輔, 高木正稔, 今井耕輔, 梶原道子, 森尾友宏, 水谷修紀. トロンボモジュリン- α は早期の凝固関連移植合併症死を改善する. 第54回日本小児血液・がん学会学術集会, 2012年11月30日, 横浜
- 17) 宮村能子, 平山雅浩, 渡邊智之, 杉田完爾, 石井榮一, 康勝好, 加藤剛二, 齋藤明子, 堀部敬三, 鶴澤正仁, 富澤大輔. MLL陽性乳児ALLに対するKIRリガンド不一致移植の有効性について: JPLSG MLL03臨床試験より. 第54回日本小児血液・がん学会学術集会, 2012年11月30日, 横浜
- 18) 遠藤明史, 渡邊健, 大川哲平, 富澤大輔, 今井耕輔, 高木正稔, 長澤正之, 森尾友宏, 水谷修紀. Chromosomally integrated HHV-6の病原性の解析. 第54回日本小児血液・がん学会学術集会, 2012年12月1日, 横浜
- 19) 湯坐有希, 高橋浩之, 盛武浩, 照井君典, 長谷川大一郎, 小池和俊, 小川淳, 井上雅美, 富澤大輔, 多賀崇, 多和昭雄, 足立壮一. APLに伴うDICに対するトロンボモジュリン製剤(rTM)の安全性~JPLSG AML-P05研究. 第54回日本小児血液・がん学会学術集会, 2012年12月1日, 横浜
- 20) 手束真理, 大川哲平, 磯田健志, 富澤大輔, 高木正稔, 今井耕輔, 長澤正之, 森尾友宏, 水谷修紀, 今留謙一. EBウイルス関連球形食食症候群の治療終了後早期再燃に対し, 同胞間骨髄移植を施行した一例. 第54回日本小児血液・がん学会学術集会, 2012年11月30日, 横浜
- 21) 林真由美, 康勝好, 磯部清孝, 森麻希子, 安井直子, 秋山康介, 荒川ゆうき, 加藤元博, 長谷川大輔, 大川哲平, 富澤大輔, 花田良二. L-アスパラギナーゼ(25,000単位/m²)筋肉内注射の経験. 第54回日本小児血液・がん学会学術集会, 2012年12月1日, 横浜
- 22) 山内健, 磯田健志, 大川哲平, 手束真理, 富澤大輔, 高木正稔, 今井耕輔, 梶原道子, 長澤正之, 森尾友宏, 水谷修紀. 高IgM症候

群の臍帯血移植後に遷延する骨髄球系分化障害に対してリメタゾン投与が奏功した一例。第54回日本小児血液・がん学会学術集会，2012年12月1日，横浜

(予定を含む)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

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

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

研究分担者 岩本彰太郎 三重大学医学部附属病院周産母子センター助教

研究要旨：本邦における小児急性骨髄性白血病（AML）の治療成績は世界水準にあるものの、更なる治療成績の向上のためには、臨床応用可能な予後因子の解析が必要である。なかでも、早期治療反応性は、急性白血病の予後を予測する因子として注目されている。しかし、AML 治療反応性の評価は、従来より顕微鏡による形態学的判定に基づき行われている。そこで、本研究では、従来の方法では同定できないレベルのAMLの微小残存病変（MRD）を、免疫学的手法（多次元フローサイトメトリー法）を用いて同定するシステムを確立し、臨床試験に応用することを目指している。

本研究を開始するにあたり、既に本システムを確立し、臨床応用している米国 St. Jude 小児病院及び国立シンガポール大学病院研究室と連携を図り、必要な器材、臨床応用可能な抗体セットを用い、健常人骨髄細胞及びAML細胞の免疫学的特徴を解析し、本システムの臨床応用に向けて、MRD 検出感度（0.1%）の向上に取り組んできた。

本年度は、小児AML臨床試験（ダウン症候群に発症した小児AMLのMRD検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（AML-D11）、小児AML初回骨髄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））において、本システムを用いてAML細胞の治療反応性を評価・追跡可能であるかを検証する本邦初の試みを開始することができた。また、次期 de novo 小児AML多施設共同臨床試験においても本システムの導入を計画中である。

- A. 研究目的
- 日本の小児急性骨髄性白血病（AML）の予後因子の解析は遅れている。本研究では免疫学的手法（多次元フローサイトメトリー法）を用いて従来の顕微鏡による形態学的判定では同定できないレベルの微小残存白血病細胞（MRD）を同定する検査方法を開発し、臨床応用することを目指す。
- lycoA）のうち、6～8種類の標識が異なる抗体セットを駆使して、白血病細胞を正常細胞と区別できる抗体の組み合わせを症例ごとに決定する。MRD検出システム確立後は、小児AML患者検体（JPLSG 小児AML臨床試験登録症例）を用いて、MRD評価と予後との相関関係を前方視的に検討する。
- （倫理面への配慮）
- B. 研究方法
- 専用測定機器（BD FACSCantoII）を用いた多次元フローサイトメトリー（FCM）法で施行。17種類の抗体（CD4, 7, 11b, 13, 15, 19, 33, 34, 38, 41, 45, 56, 117, 133, HLD-DR, anti-NG2, G
- 患者検体使用においては、日本小児血液・がん学会及び日本小児白血病リンパ腫研究グループ（JPLSG）の倫理委員会が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う。ヘルシンキ宣言を遵

守し、個人情報保護のため、血液検体は連結不可能匿名化を図る。収集したサンプルは検査終了後、適切に廃棄し、他に使用しない。

C. 研究結果

前年度より抗体の種類を変更した。また、同時に染色する抗体数を6から8に増やすことで、MRD 検出効率を上げることができた。具体的には、健常人（骨髄ドナー）及び小児 AML 患児の骨髄検体を用いて、正常骨髄細胞及び小児 AML 細胞を、17 種類の抗体（CD4, 7, 11b, 13, 15, 19, 33, 34, 38, 41, 45, 56, 117, 133, HLD-DR, anti-NG2, GlycoA）のうち、標識の異なる 8 種類の抗体を組み合わせて染色し、それらの抗原発現パターンを測定機器（BD FACSCantoII）にて測定・解析することで、0.1%レベルで MRD を同定することが可能になった。そこで本年度から小児 AML 臨床試験（ダウン症候群に発症した小児 AML の MRD 検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（AML-D11）、小児 AML 初回骨髄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））においても同方法を用い、AML 細胞の治療反応性を評価・追跡可能であるかを検証する本邦初の試みを開始した。分担研究者ではある私は、既に、多次元フローサイトメトリーを用いた小児急性白血病における MRD の定量的検出法を世界に先駆けて確立し、その最先端の研究成果を発信し続けている St. Jude 小児病院（米国）の研究室あるいは国立シンガポール大学病院研究室（St. Jude 小児病院提携研究室）と現在も定期的な情報交換し、解析の向上に努めている。

また、次期 de novo 小児 AML 多施設共同臨

床試験にも本システムを導入するため、自施設以外でも解析施設を増やす取組を行ってきた。その結果、本研究代表者施設（京都大学）スタッフにも技術提供し、共通の精度管理のもと、AML-D11 臨床試験において共同解析施設として増やすことができた。

D. 考察

世界的にも治療判定として広く用いられつつある多次元フローサイトメトリー法による微小残存白血病細胞（MRD）同定システムを本邦で立ち上げる基礎研究に取り組んできたが、本年度から臨床試験に組み込み、前方視的検討が開始された。今後、このシステムによる MRD 検出症例と実際の予後との相関が得られれば、小児 AML 治療成績の更なる向上に繋がることが期待される。また、次期 de novo 小児 AML 多施設共同臨床試験においても本システムの導入を計画中であるが、検体処理数を考慮すると、当施設及び京都大学以外の施設（免疫学的中央診断施設；大阪大学及び国立成育医療センター）でも解析可能になるよう技術提供を行う必要がある。

E. 結論

本年度は、目標であった、本システムの臨床応用まで到達することができた。今後は、現在進行中の臨床試験において、本検査による早期治療判定結果と予後との相関が得られれば、将来、本検査結果をもとに治療介入を行うことで、小児 AML のさらなる治療成績の向上につながることで期待される。また、検出システムの感度の向上を図るべく、技術改良が必要である。

G. 研究発表

岩本彰太郎、出口隆生、駒田美弘、「フローサイトメトリー法による小児白血病診断およびMRDモニタリングの最先端」 第54回日

本小児血液・がん学会 2012. 11. 30(横浜)

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

予定なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

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に関する研究

研究分担者 林 泰秀 群馬県立小児医療センター 院長

研究要旨：小児急性骨髄性白血病(AML)の発生には癌関連遺伝子、細胞増殖関連遺伝子の異常が AML の発症や進展と関連することが報告されている。遺伝子異常と臨床情報を比較検討することにより、予後因子となる遺伝子異常を抽出することができ、治療成績の向上と副作用の軽減につながる。我々はこれまで AML99 登録症例を対象に癌関連遺伝子の解析を行い、*FLT3-ITD*、*MLL-PTD*、*KIT*、*CEBPA*、*NPM1*、*DNMT3A*、*CBL* 遺伝子異常と臨床像の相関について報告してきた。今年度は小児の AML の AML99 プロトコールにおける *NUP98-NSD1* 融合遺伝子の発現パターンおよび *GATA2* 遺伝子を解析し臨床像との関係を明らかにした。*NUP98-NSD1* 融合遺伝子は 157 例中 6 例(3.8%)にみられ、これらは正常核型が多く、有意に予後不良であった。GeneChip による発現アレイの解析では、*HOXA9*、*A10* と一部の *HOXB* family も陽性の特異な発現パターンを示した。*NUP98-NSD1* 陰性例で同様の発現パターンを示す一群 (*NUP98-NSD1* like signature)も予後不良であった。今後、AML のリスク層別化の際には、*NUP98-NSD1* 融合遺伝子陽性例や同一発現パターンを示す症例を考慮する必要があると思われた。*GATA2* 遺伝子の解析では、157 例中 7 例 (4.5%) で *GATA2* 遺伝子変異を同定した。また 7 例中 5 例で寛解期の検体が得られ、1 例で胚細胞変異を同定した。現在この家系の検索を行っているところである。予後については 7 例中 1 例のみ原疾患で死亡しているが、他の 6 例は再発なく長期生存中であり、*GATA2* 変異例は予後良好であることが示唆された。

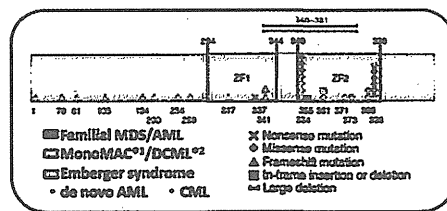
A. 研究目的

近年、小児急性骨髄性白血病(AML)はチロシンキナーゼに関連する遺伝子の活性化変異と予後との関連が報告されている。我々はこれまで小児 AML 共同治療研究会で行われた AML99 プロトコールにより治療された 157 症例の遺伝子異常 (*FLT3-ITD*、*KIT*、*MLL-PTD*、*NPM1*、*CEBPA*、*DNMT3A*、*CBL* 遺伝子)と臨床像の相関を明らかにしてきた。

近年、造血器腫瘍における *NUP98* 再構成を有する症例の報告が集積されつつあり、*NUP98* 再構成を有する症例は有意に予後が不良であるとの報告もみられるが、小児造血器腫瘍における臨床像は明らかでなく、多数例の検討はされていない。最近 SNP アレイを用いた高解像度ゲノムワイド解析で、染色体 G バンド法で検出できない *NUP98-NSD1* 融合遺伝子が AML で同定され、予後との相関が報告された。

今年度は *NUP98-NSD1* 融合遺伝子を有する AML の発現アレイを解析し、それと類似の発現パターンを有する群をみ出し、臨床像との関係を検討した。

近年、*GATA2* 遺伝子変異が家族性骨髄異形成症候群(MDS)/AML の原因遺伝子として同定された。*GATA2* は血液細胞の発生・分化・増殖に関与し、白血化との関連性が示唆されている(図1)。一方、*GATA2* 遺伝子変異は Mono MAC 症候群や Emberger 症候群でも同定され、原因遺伝子として注目されている。今年度は AML99 症例において *GATA2* 遺伝子の解析を行ない、臨床像との関係を検討した。



*1: monocytopenia and mycobacterial infection syndrome.
*2: a syndrome associated with defects in dendritic cells, monocytes, and B and NK lymphoid cells. Hyde et al. Nature Genet. 2011

図1 *GATA2* 遺伝子

造血幹細胞、造血前駆細胞の増殖と分化制御に重要な転写因子で、正常赤芽球や巨核芽球の分化にも関与している。

B. 研究方法

<NUP98-NSD1 融合遺伝子とその関連群の解析と臨床像>

今年度は、AML99 研究で治療された AML157 例において RNA を用いて cDNA を作成し、NUP98 遺伝子、NSD1 遺伝子それぞれにプライマーを設定し、RT-PCR 法にて増幅後、電気泳動でバンドを確認した後、直接塩基決定法で解析した。また、十分な検体の得られた 124 例については Affymetrix 社の Gene Chip による遺伝子発現解析を併せて行った。

<GATA2 遺伝子変異の解析と臨床像>

今年度は、AML99 研究で治療された AML157 例（年齢 0 才～15 才）を対象とした。FAB 分類では M0 5 例、M1 23 例、M2 44 例、M3 13 例、M4 22 例、M5 21 例、M6 1 例、M7 17 例、分類不能 3 例で、Down 症候群 8 例であった。これらの RNA を用いて GATA2 遺伝子のエクソン 17 からエクソン 23 までを RT-PCR 法にて増幅後、直接塩基決定法で変異解析を行った。

（倫理面への配慮）

遺伝子解析にあたっては、三省合同のゲノム指針に則り、患者又は両親から同意を得、当センターの倫理委員会の承認を得て行った。

C. 研究結果

<NUP98-NSD1 融合遺伝子の解析>

NUP98-NSD1 融合遺伝子の検討では、AML 157 例のうち 6 例（3.8%）に NUP98-NSD1 を認め、さらに遺伝子発現解析で、NUP98-NSD1 を認めた 6 症例に酷似した遺伝子発現パターン(NUP98-NSD1 like signature)を示した 18 例を同定した。NUP98-NSD1 を同定した 6 例全例が染色体 G-banding では同定不可能であった。融合遺伝子がみられた 6 例のうちわけは、2 才～15 才、M1 1 例、M4 2 例、M5 2 例、分類不能 1 例で 6 例中 4 例は正常核型（いずれも死亡）、2 例は 9q-の症例（いずれも生存）であり、全例、染色体分析では t(5;11)は同定できなかった。6 例中 FLT3-ITD が 4 例、WT1 変異が 2 例、RAS 変異が 2 例、KIT 変異が 1 例にみられた。

発現アレイの解析では HOXA9、HOXA10 の高発現に加え、一部の HOXB の発現もみられ、MLL 再構成陽性例とは異なる発現パターンを示した。NUP98-NSD1 を認めた 6 例および NUP98-NSD1 like signature を示した 18 例は、ともに高率に FLT3-ITD と WT1 変異を伴っており、NUP98-NSD1 の有無にかかわ

らず、有意に予後不良であった（図 2）。この 24 例中、16 例は中間リスク群に層別化されており、t(6;11)/MLL-AF10、t(7;11)/NUP98-HOXA9、t(6;9)/DEK-NUP214 等のキメラ融合遺伝子がみられた。

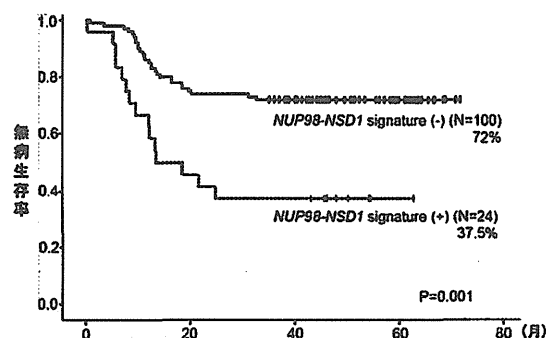


図 2 NUP98-NSD1 signature 陽性、陰性群の 4 年無病生存率

<GATA2 遺伝子の解析>

157 例中 7 例（4.5%）で GATA2 遺伝子変異を同定した。FAB 分類では、M0 1 例、M1 2 例、M3 2 例、M4 2 例であった。変異部位はいずれも MDS/AML や Mono MAC 症候群で高頻度に変異が認められる zinc finger domain 内であった。7 例中 5 例で寛解期の検体が得られ解析を行い、1 例で胚細胞変異を同定した。7 例中 1 例[FAB-M4; 11q23(+)]のみ原疾患で死亡しているが、他の 6 例は再発なしに長期生存中である。

D. 考察

小児 AML では、t(8;21)、t(15;17)、inv(16)が多くみられ、その予後は良好とされる一方、KIT 遺伝子変異、FLT3-ITD を有する症例は予後不良とされている。しかし、そのいずれにも属さない症例が数多く存在する。

今回の検討では、NUP98-NSD1 融合遺伝子を有する 6 例は正常核型が多くみられ、有意に予後不良であった。また NUP98-NSD1 陰性例で同様の発現パターンを示す一群(NUP98-NSD1 like)も予後不良であった（図 2）。今後、NUP98-NSD1 陽性例と NUP98-NSD1 like 症例についてリスク層別化の再検討および治療戦略の再考が必要であると考えられた。

さらに小児 AML における NUP98-NSD1 融合遺伝子の臨床的意義を検討するためには、より多数例での解析が必要である。現在 AML-05 プロトコール 380 症例の解析を行っ

ている。今後 *NUP98-NSD1* like 例の RNA-sequencing を含む詳細な検討を行う。また AML-05 症例でも検討を行い、その臨床的意義を明らかにする予定である。

GATA2 遺伝子の解析では (図 1)、157 例中 7 例 (4.5%) で *GATA2* 遺伝子変異を同定した。また 7 例中 5 例で寛解期の検体が得られ、解析を行い、1 例で胚細胞変異を同定した。現在家系の詳細な検索を行っているところである。予後については 7 例中 1 例のみ原疾患で死亡しているが、他の 6 例は再発なく長期生存中であり、*GATA2* 変異例は予後良好であることが示唆された。

E. 結論

AML99 に登録された小児 AML 157 例で *NUP98-NSD1* 融合遺伝子と発現パターンおよび *GATA2* 遺伝子を検討し、臨床像との相関を明らかにした。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Gruber TA, Larson Gedman A, Zhang J, Koss CS, Marada S, Ta HQ, Chen SC, Su X, Ogden SK, Dang J, Wu G, Gupta V, Andersson AK, Pounds S, Shi L, Easton J, Barbato MI, Mulder HL, Manne J, Wang J, Rusch M, Ranade S, Ganti R, Parker M, Ma J, Radtke I, Ding L, Cazzaniga G, Biondi A, Kornblau SM, Ravandi F, Kantarjian H, Nimer SD, Döhner K, Döhner H, Ley TJ, Ballerini P, Shurtleff S, Tomizawa D, Adachi S, Hayashi Y, Tawa A, Shih LY, Liang DC, Rubnitz JE, Pui CH, Mardis ER, Wilson RK, Downing JR. An *Inv(16)(p13.3q24.3)*-Encoded *CBFA2T3-GLIS2* Fusion Protein Defines an Aggressive Subtype of Pediatric Acute Megakaryoblastic Leukemia. *Cancer Cell*. 22 : 683-697, 2012
2. Shimada A, Taki T, Koga D, Tabuchi K, Tawa A, Hanada R, Tsuchida M, Horibe K, Tsukimoto I, Adachi S, Kojima S, Hayashi Y. High *WT1* mRNA expression after induction chemotherapy and *FLT3-ITD* have prognostic impact in pediatric acute myeloid leukemia: a study of the Japanese Childhood AML Cooperative Study Group. *Int J Hematol*. 96 : 469-476, 2012
3. Doisaki S, Muramatsu H, Shimada A, Takahashi Y, Mori-Ezaki M, Sato M, Kawaguchi H, Kinoshita A, Sotomatsu M, Hayashi Y, Furukawa-Hibi Y, Yamada K,

Hoshino H, Kiyoi H, Yoshida N, Sakaguchi H, Narita A, Wang X, Ismael O, Xu Y, Nishio N, Tanaka M, Hama A, Koike K, Kojima S. Somatic mosaicism for oncogenic *NRAS* mutations in juvenile myelomonocytic leukemia. *Blood*. 120 : 1485-1488, 2012

4. 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. *Blood* 119 : 2612-2614, 2012
5. 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
6. 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
7. Takita J, Yoshida K, Sanada M, Nishimura R, Okubo J, Motomura A, Hiwatari M, Oki K, Igarashi T, Hayashi Y, Ogawa S. Novel splicing factor mutations in juvenile myelomonocytic leukemia. *Leukemia*. 26 : 1879-1898, 2012
8. Yokoyama T, Toki T, Aoki Y, Kanezaki 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
9. Kawashima N, Shimada A, Taketani T, Hayashi Y, Yoshida N, Matsumoto K, Takahashi Y, Kojima S, Kato K. Childhood acute myeloid leukemia with bone marrow eosinophilia caused by *t(16;21)(q24;q22)*. *Int J Hematol*. 95 : 577-580, 2012
10. 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* 95 : 509-515, 2012

11. Okubo J, Takita J, Chen Y, Oki K, Nishimura R, Kato M, Sanada M, Hiwatari M, Hayashi Y, Igarashi T, Ogawa S. Aberrant activation of ALK kinase by a novel truncated form ALK protein in neuroblastoma. *Oncogene*. 31 : 4667-4676, 2012
12. Inukai T, Kiyokawa N, Campana D, Coustan-Smith E, Kikuchi A, Kobayashi M, Takahashi H, Koh K, Manabe A, Kumagai M, Ikuta K, Hayashi Y, Tsuchida M, Sugita K, Ohara A. Clinical significance of early T-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia: Results of the Tokyo Children's Cancer Study Group Study L99-15. *Brit J Haematol* 156 : 358-365, 2012
13. Yamada Y, Kato M, Toki F, Watanabe M, Nishi A, Matsushita I, Hirato J, Hayashi Y. Eosinophilic gastrointestinal disorder in an infant with feeding dysfunction. *Int Arch Allergy Immunol*. 158 Suppl 1:83-86, 2012

2. 学会発表

- 1) 柴 徳生, 市川 仁, 滝 智彦, 朴 明子, 嶋田 明, 田淵 健, 荒川浩一, 足立壮一, 堀部敬三, 林 泰秀. 発現アレイを用いた小児急性骨髄性白血病における、*NUP98-NSD1* 融合遺伝子の解析. 第 115 回日本小児科学会学術集会, 福岡, 2012.4.21
- 2) 滝田順子, 西村 力, 大久保純, 吉田健一, 星野諭子, 真田 昌, 林 泰秀, 宮野 悟, 小川誠司, 五十嵐隆. 先端ゲノムスキニングを用いた難治性小児固形腫瘍における標的分子の探索. 第 115 回日本小児科学会学術集会, 福岡, 2012.4.21
- 3) 西村 力, 滝田順子, 吉田健一, 白石友一, 大久保純, 真田 昌, 林 泰秀, 宮野 悟, 小川誠司, 五十嵐隆. 次世代シーケンサーを用いた神経芽腫のエクソーム解析. 第 115 回日本小児科学会学術集会, 福岡, 2012.4.21
- 4) 大久保純, 滝田順子, 西村 力, 星野諭子, 吉田健一, 白石友一, 林 泰秀, 宮野 悟, 小川誠司, 五十嵐隆. 次世代シーケンサーを用いた Ewing 肉腫のエクソーム解析. 第 115 回日本小児科学会学術集会, 福岡, 2012.4.21
- 5) 大木健太郎, 大喜多瑩, 清河信敬, 朴明子, 康 勝好, 花田良二, 真部 淳, 菊地 陽, 小原 明, 林 泰秀. TCCSG の小児 B 前駆細胞型急性リンパ性白血病における CRLF2 と IKZF1、JAK 遺伝子解析. 第 115 回日本小児科学会学術集会, 福岡, 2012.4.21
- 6) 大木健太郎, 奥野はるな, 柴 徳生, 金澤 崇, 朴 明子, 外松 学, 神谷尚宏, 小川千登世, 林 泰秀. 第 2 再発時に初めて MLL-AF4 陽性となった B 前駆型急性リンパ性白血病 1 例におけるクローン構造の検討. 第 8 回来た関東小児がんセミナー, 高崎, 2012.5.19
- 7) 朴 明子, 林 泰秀. TAM に合併する肝機能障害について. 第 48 回日本周産期・新生児医学会学術集会, さいたま, 2012.7.8
- 8) 土岐文彰, 山本英輝, 西 明, 鈴木則夫, 平戸純子, 島山信逸, 新井 心, 大木健太郎, 朴 明子, 外松 学, 林 泰秀. 治療に難渋し救命し得なかった乳児進行神経芽腫の 1 例. 第 23 回群馬小児がん研究会, 前橋, 2012.8.24
- 9) 三谷幸代, 城 青衣, 嶋田 明, 柴 徳生, 林 泰秀, 市川 仁. 2 遺伝子の発現に基づく高リスク小児急性骨髄性白血病の同定. 第 71 回日本癌学会学術総会, 札幌, 2012.9.19
- 10) 倉田盛人, 後飯塚僚, 北村大介, 滝田順子, 林 泰秀, 北川正伸, 中村卓郎. BLNK 欠損 preB-ALL と B 細胞分化における C/Ebpb の働き. 第 71 回日本癌学会学術総会, 札幌, 2012.9.20
- 11) 星野諭子, 西村 力, 奥野友介, 樋渡光輝, 永田安伸, 吉田健一, 真田 昌, 白石友一, 宮野 悟, 林 泰秀, 小川誠司, 滝田順子. 神経芽腫におけるエピジェネティック関連遺伝子の網羅的ゲノム解析. 第 71 回日本癌学会学術総会, 札幌, 2012.9.20
- 12) 柴 徳生, 吉田健一, 奥野友介, 白石友一, 田中洋子, 永田安伸, 滝田順子, 荒川浩一, 伊藤悦朗, 真田 昌, 宮野悟, 小川誠司, 林 泰秀. 全エクソーム解析による小児急性骨髄性白血病の新規発症原因遺伝子変異の同定. 第 71 回日本癌学会学術総会, 札幌, 2012.9.21
- 13) 関 正史, 西村 力, 奥野友介, 白石友一, 千葉健一, 田中洋子, 吉田健一, 真田 昌, 林 泰秀, 宮野 悟, 小川誠司, 滝田順子. 次世代シーケンサーによる再発肺芽腫のエクソーム解析. 第 71 回日本癌学会学術総会, 札幌, 2012.9.21

- 14) 西村 力, 吉田健一, 白石友一, 奥野友介, 千葉健一, 田中洋子, 佐藤悠佑, 真田 昌, 林 泰秀, 宮野 悟, 小川誠司, 滝田順子. SNP アレイをエクソーム解析を用いた横紋筋肉腫の初発・再発/転移巣のクローン比較. 第71回日本癌学会学術総会, 札幌, 2012.9.21
- 15) 樋渡光輝, 西村 力, 吉田健一, 白石友一, 奥野友介, 大久保淳, 永田安伸, 五十嵐隆, 宮野 悟, 林 泰秀, 小川誠司, 滝田順子. 次世代シーケンサーを用いたユーイング肉腫発生の分子生物学的検討. 第71回日本癌学会学術総会, 札幌, 2012.9.21
- 16) Kiyokawa N, Matsumoto K, Iijima K, Hasegawa D, Oboki K, Kobayashi K, Okita H, Takada S, Asahara H, Mōri T, Fukushima T, Saito M, Koh K, Hanada R, Tsuchida M, Manage A, Kikuchi A, Saito H, Fujimoto J, Hayashi Y, Ohara A. Fusion gene-specific signature of microRNA expression in childhood ALL. 第74回日本血液学会学術集会, 京都, 2012.10.19
- 17) Iijima K, Hasegawa D, Kiyokawa N, Kobayashi K, Okita H, Miharu M, Mori, T, Kikuchi A, Fujimoto J, Hayashi Y, Ohara A. Gene expression profile related to prognosis of childhood ALL without fusion genes. 第74回日本血液学会学術集会, 京都, 2012.10.19
- 18) Park MJ, Oda M, Kobayashi R, Suzuki N, Hara J, Horibe K, Hayashi Y. IL-7R gene mutations in childhood T-cell acute lymphoblastic leukemia. 第74回日本血液学会学術集会, 京都, 2012.10.19
- 19) Oki K, Okita H, Kobayashi K, Shiba N, Park MJ, Sotomatsu M, Fukushima T, Koh K, Hanada R, Manabe A, Kikuchi A, Tsuchida M, Ohara A, Kiyokawa N, Hayashi Y. Analysis of CRLF2 and IKZF1, JAK, IL7R genes in pediatric B-precursor ALL treated on TCCSG protocol. 第74回日本血液学会学術集会, 京都, 2012.10.19
- 20) Shimada A, Olfat I, Xu Y, Goto A, Nagai T, Narita A, Sakaguchi H, Doisaki S, Muramatsu H, Hama A, Takahashi Y, Yamada Y, Hayashi Y, Ogawa S. JAK2 V617F mutation in pediatric myeloproliferative neoplasm. 第74回日本血液学会学術集会, 京都, 2012.10.20
- 21) Shiba N, Yoshida K, Okuno Y, Shiraishi Y, Tanaka H, Chiba K, Nagata Y, Ohki K, Kato M, Park MJ, Takita J, Kanazawa T, Kudo K, Arakawa H, Ito E, Sanada M, Miyano S, Ogawa S, Hayashi Y. Whole exome resequencing reveals novel gene mutations in pediatric AML. 第74回日本血液学会学術集会, 京都, 2012.10.20
- 22) Okuno Y, Shiba N, Shiraishi Y, Yoshida K, Nagata Y, Sato Y, Ohki K, Kato M, Park MJ, Kanazawa T, Kudo K, Chiba K, Tanaka H, Ito E, Takita J, Sanada M, Hayashi Y, Miyano S, Ogawa S. Clonal architecture and evolution of pediatric AML. 第74回日本血液学会学術集会, 京都, 2012.10.20
- 23) Takahashi H, Koh K, Kato M, Fukushima T, Inukai T, Kiyokawa N, Taki T, Saito M, Kajiwara M, Ogawa C, Maeda M, Manabe A, Kikuchi A, Hayashi Y, Hanada R, Tsuchida M, Ohara A. Characteristics and prognostic impacts of structural chromosomal abnormalities in childhood ALL. 第74回日本血液学会学術集会, 京都, 2012.10.21
- 24) Shiba N, Ichikawa H, Taki T, Park MJ, Jo A, Mitani S, Shimada A, Sotomatsu M, Arakawa H, Tabuchi K, Adachi S, Tawa A, Horibe K, Tsuchida M, Hanada R, Tsukimoto I, Hayashi Y. NUP98-NSD1 related gene expression signature is associated with a poor prognosis in pediatric AML. 第74回日本血液学会学術集会, 京都, 2012.10.21
- 25) 大木健太郎, 柴 徳生, 新井 心, 朴明子, 外松 学, 清河信敬, 林 泰秀. 小児 B 前駆細胞型急性リンパ性白血病における clonal evolution の解析. 第54回日本小児血液・がん学会学術集会, 横浜, 2012.11.30
- 26) 関水匡大, 角南勝介, 中澤温子, 林 泰秀, 沖本由理, 齋藤明子, 堀部敬三, 鶴澤正仁, 森 鉄也. 進行期 T 細胞性リンパ芽球性リンパ腫の染色体異常解析—JPLSG からの報告. 第54回日本小児血液・がん学会学術集会, 横浜, 2012.11.30
- 27) 関 正史, 西村 力, 星野倫子, 奥野友介, 白石友一, 吉田健一, 千葉健一, 田中陽子, 真田 昌, 加藤啓輔, 土田昌宏, 宮野 悟, 林 泰秀, 小川誠司, 滝田順子. 先端的ゲノム解析技術を用いた胸膜肺芽腫における発症分子機構の解明. 第54回日本小児血液・がん学会学術集会, 横浜, 2012.11.30
- 28) 朴 明子, 大木健太郎, 新井 心, 外松学, 清河信敬, 小田 慈, 堀部敬三, 林泰秀. MLPA 法を用いた T-ALL 遺伝子異常についての解析. 第54回日本小児血