

多賀崇、高橋浩之、齋藤明子 日本臨床試験
学会 第6回学術集会総会 2015.2.20 (東京)
33) 才田 聡、梅田雄嗣、森あかね、八角高裕、
平松英文、平家俊男、渡邊健一郎、足立壮一；
Successful allogeneic hematopoietic stem
cell transplantation with reduced
intensity conditioning for GATA2
deficiency 第37回日本造血細胞移植学会総会
(神戸市) (2015.3.5-7)

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
該当なし
2. 実用新案
該当なし
3. その他
該当なし

II. 委託業務成果報告(業務項目)

形態中央診断システムの構築と運用に関する研究

担当責任者 宮地 勇人 東海大学医学部基盤診療学系 教授

研究要旨

小児急性骨髄性白血病（AML）に対する標準的治療法の確立を目指すための多施設共同臨床試験の実施において形態中央診断システムの運用は重要である。本研究の目的は、小児 AML の多施設共同臨床試験において形態中央診断システムを円滑に運用し、WHO 分類における形態診断の意義を検討することとした。多施設共同臨床試験のプロトコールは、AML-12「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」と AML-P05「小児急性前骨髄球性白血病（APL）に対する多施設共同後期第 II 相臨床試験」である。AML-12 の形態中央診断はプロトコールに従い、初発未治療 BMA-1、寛解導入療法 1 後の BMA-2、BMA-2'、寛解導入療法 2 後の BMA-3 および再発時の骨髄および末梢血塗抹標本にて実施した。26 年度の形態中央診断件数は AML-12 の BMA-1/-2/-2' /-3/再発がそれぞれ 57/41/7/3/17 件（全 141 件）、AML-P05 1 件であった。病型診断は FAB 分類に加え、形態検査所見で該当する WHO 分類を併記した。形態に基づく病型分類では全 56 例中、M1: 7, M2: 25, M4: 6, M5a: 3, M5b: 5, M7: 1, MRC: 6, POX 陰性: 3 例であった。また、AML 観察研究において、診断困難（初発）例について 26 年度は 4 例の形態中央診断を行った。以上、小児 AML の形態中央診断のシステムは、新たな小児 AML 多施設共同臨床試験において良好な運営を行うことが出来た。小児 AML の形態中央診断を通して、WHO 分類における形態診断の意義を明確化するとともに限界や課題が明らかとなった。

A. 研究目的

本研究では、小児急性骨髄性白血病（AML）に対する標準的治療法の確立を目指す多施設共同臨床試験において形態中央診断システムを円滑に運用すること、AML 観察研究における診断困難例の中央診断による診断支援を継続すること、および WHO 分類における形態診断の意義を検討

することを目的とした。

B. 研究方法

AML の形態中央診断は、東海大学医学部基盤診療学系臨床検査学（責任者：宮地勇人）に於いて行った。26 年度における多施設共同臨床試験プロトコールは、AML-12「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」と AML-P05「小児急性前骨髄球性白血病 (APL) に対する多施設共同後期第 II 相臨床試験」である。

AML-12 の形態中央診断の対象は、初発の AML 症例で、形態中央診断はプロトコールに従い、初発未治療 BMA-1、寛解導入療法 1 後の BMA-2 (BMA-2')、寛解導入療法 2 後の BMA-3 および再発時の骨髄および末梢血塗抹標本にて実施した。病型診断は FAB 分類に加え、形態検査所見で該当する WHO 分類 (第 4 版、WHO-4) を併記した。

AML 観察研究において、個々の病院では診断が難しい症例に絞った中央診断による診断支援は、平成 23 年 1 月から開始し、平成 26 年度も継続して実施した。診断困難例の形態中央診断は、各施設からの事務局への要請と事務局での対象症例としての確認に基づき、実施した。

(倫理面への配慮)

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

C. 研究結果

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

AML-12 の臨床試験における 26 年度の形態中

央診断件数は AML-12 の BMA-1/-2/2' /-3/再発がそれぞれ 57/41/7/3/17 件 (全 141 件) で、AML-P05 1 件であった。

診断困難 (初発) 例について 26 年度 4 例の形態中央診断を行った。診断は、形態診断を踏まえて、依頼施設から情報提供があった染色体検査、キメラ遺伝子検査、細胞表面マーカー検査など他の検査所見を総合して検討の上で確定した。診断困難例 4 例では、M5a/AML with 11q23 abnormalities/with variant MLL translocations 1 例、POX 陽性と細胞質内 CD3 陽性から M2/Mixed phenotype acute leukemia (MPAL) T/myeloid, NOS/AML-MRC 1 例 del(12)(p?), 細胞異形成と骨髄球比率の増加から MDS/MPN の急性転化 (?) 1 例、芽球の多形性から RAEB-2/acute megakaryoblastic leukemia 疑 1 例であった。

D. 結論

小児急性骨髄性白血病 (AML) に対する標準的治療法の確立を目指す新たな多施設共同臨床試験 AML-12「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」において形態中央診断システムは円滑に運用することが出来た。さらに、観察研究において、個々の病院では診断が難しい症例に絞って中央診断による診断支援を継続した。

新 WHO 分類における形態診断の意義として、以下のごとく確認された。1) 病型に特異的な染色体・遺伝子異常 (recurrent cytogenetic abnormalities) と特徴的な形態所見があり、その総合的な評価によって染色体・遺伝子異常を推定可能な場合が多い。2) 細胞異形成の定量的評価が重要である。3) 基本的な病型 (AML, not otherwise specified) は FAB 分類を踏襲し

ている。

予後に関係した特異的な染色体異常が示唆される形態所見が観察された場合、形態診断のコメントに記述した。AML with t(8;21)(q22;q22); (*RUNX1/RUNX1T1*)やAML with inv(16)(p13q22); (*CBFβ/MYH11*)が相当する。これらの染色体異常が示唆される場合、形態診断のコメントに記述した。さらに、芽球の血球貪食像(16;21, 8;16 転座など)や著しい巨核球系の形態異常(3q26.2/*EVI1*異常)が存在する場合、それぞれ特徴的な染色体異常の可能性について形態診断コメントで言及した。また、AML with t(8;21)(q22;q22); (*RUNX1/RUNX1T1*)症例で、KIT 変異を示唆する肥満細胞の集簇の所見についても記述した。

対象 56 例における形態に基づく病型分類では M1: 7, M2: 25, M4: 6, M5a: 3, M5b: 5, M7: 1, MRC: 6, POX 陰性: 3 例であった。

診断困難例 4 例では、M5a/AML with 11q23 abnormalities/with variant MLL translocations 1 例, M2/Mixed phenotype acute leukemia (MPAL)T/myeloid, NOS/AML-MRC 1 例, MDS/MPN の急性転化(?) 1 例と RAEB-2/acute megakaryoblastic leukemia 疑 1 例であった。

E. 考察

WHO 分類は、治療予後を反映する病型情報を提供するものの、迅速性や簡便性等の点で必ずしも実用的でない。初発未治療の形態中央診断は、免疫形質、染色体検査やキメラ遺伝子検査の結果が不明の段階であり、WHO 分類の病型は暫定的である。形態中央診断は、WHO 分類における血液形態検査の意義を認識した上で行った。AML の新 WHO 分類は、分子病態の解明と臨床的意義の明確化を踏まえ、2008 年に第 4 版(WHO-4)が公表された。WHO 分類は、形態、免疫形質とともに染色体・遺伝子異常に基づき体系化され

ている。すなわち、芽球 20%以上の症例において、病型診断は定型的な染色体異常、細胞異形成および形態所見により序列化している。形態診断に基づく FAB 分類にない病型として、以下があり、これらは白血病細胞の形態診断に優先する。①染色体・遺伝子異常、②細胞異形成、③先行 MDS(WHO-4 で追加)、先行化学療法(WHO-4 では治療薬で細分類しない)、④ダウン症候群関連(WHO-4 で追加)。

初発時の病型診断は FAB 分類に加え、形態検査所見で該当する WHO 分類を併記した。病型に特異的な染色体・遺伝子異常(recurrent cytogenetic abnormalities)と特徴的な形態所見があり、その総合的な評価によって染色体・遺伝子異常を推定可能な場合が多い。26 年度の形態中央診断では、AML with t(8;21)(q22;q22); (*RUNX1/RUNX1T1*)、AML with inv(16)(p13q22); (*CBFβ/MYH11*)などが相当する。これらの染色体異常が示唆される場合、形態診断のコメントに記述した。さらに、WHO 病型にないものの予後リスクの高い芽球の血球貪食像では特徴的な染色体異常(16;21, 8;16 転座など)の可能性について形態診断コメントで言及した。また、AML with t(8;21)(q22;q22); (*RUNX1/RUNX1T1*)症例では、肥満細胞の集簇は KIT 変異と治療抵抗性クローンの存在を示唆するため、この所見についても記述した。

AML with multilineage dysplasia (WHO-3)の病型診断の基準は、芽球 20%以上(骨髄または末梢血)、2 系統以上の細胞異形成(各系統 50%以上)で、予後不良因子とされる。第 4 版では、AML with myelodysplasia-related changes (AML-MRC)と名称変更され、基準として、MDS 既往、関連する染色体異常が追加された。先行する多施設共同臨床試験 AML-05 では、AML-MRC は小児 AML443 例中 93 例(21.0%)で、その内、28 例は形態所見のみで診断可能であり、形態所見に基づく病型診断の重要性が確認され

た。

WHO 分類の基本的な病型 (AML, not otherwise specified) は FAB 分類を踏襲している。対象 56 例における形態に基づく病型分類は、M2 が 25 例で最も多く、先行の多施設共同臨床試験 AML-05 と同様であった。一方、M7 は 1/56 例 (1.8%) のみで、AML-05 の 19/111 例 (17.1%) と比べ著しく少ない。この点の背景は不明であり、経過を追う必要がある。

形態診断においては、POX 陰性急性白血病、芽球比率 20%未満 (low percentage) 白血病、細胞異形成に乏しい MRC における限界があり、染色体・遺伝子異常や細胞表面マーカーの所見が最終診断の決め手となる。診断困難例 4 例では、M5a/AML with 11q23 abnormalities/with variant MLL translocations 1 例、POX 陽性と細胞質内 CD3 陽性から M2/Mixed phenotype acute leukemia (MPAL)T/myeloid, NOS 1 例 del(12)(p?), 細胞異形成と骨髓球比率の増加から MDS/MPN の急性転化 (?) 1 例、芽球の多形性から RAEB-2/acute megakaryoblastic leukemia 疑 1 例であった。POX 陰性急性白血病は、形態診断における限界で、診断困難例 4 例中 2 例と多い。特に RAEB-2/acute megakaryoblastic leukemia 疑 1 例は、細胞表面マーカー検査所見と併せた病型分類が必要であった。

以上、小児 AML の形態中央診断のシステムは、新規の小児 AML 多施設共同臨床試験において導入後、良好な運営を行うことが出来た。小児 AML の形態中央診断を通して、WHO 分類における形態診断の意義を明確化した。細胞表面マーカー検査と染色体検査所見との相互関係から、その診断における有用性ととも、形態検査の限界や課題が明らかとなった。小児 AML の形態中央診断は、その実施継続とともに、明らかとなった課題への取り組みが必要となる。

G. 研究発表

1. Matsushita H, Yahata T, Sheng Y, Nakamura Y, Muguruma Y, Matsuzawa H, Tanaka M, Hayashi H, Sato T, Damdinsuren A, Onizuka M, Ito M, Miyachi H, Pandolfi PP, Ando K. Establishment of a humanized APL model via the transplantation of PML-RARA-transduced human common myeloid progenitors into immunodeficient mice. PLoS One. 2014 ;9 :e111082.

2. Kinoshita A, Miyachi H, Matsushita H, Yabe M, Taki T, Watanabe T, Saito AM, Tomizawa D, Taga T, Takahashi H, Matsuo H, Kodama K, Ohki K, Hayashi Y, Tawa A, Horibe K, Adachi S. Acute myeloid leukaemia with myelodysplastic features in children: a report of Japanese Paediatric Leukaemia/Lymphoma Study Group. Br J Haematol. 2014 ;167 :80-6.

3. Tanaka Y, Tanaka Y, Gondo K, Maruki Y, Kondo T, Asai S, Matsushita H, Miyachi H. Performance evaluation of platelet counting by novel fluorescent dye staining in the XN-series automated hematology analyzers. J Clin Lab Anal. 2014 ;28 :341-8.

4. Tanaka Y, Matsushita H, Tanaka Y, Maruki Y, Hayashi F, Kondo T, Asai S, Miyachi H. Elimination of interference by lipids in the low WBC mode in the automated hematology analyzer XN-2000. Int J Lab Hematol. 2014;36 :e50-4.

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
予定なし
3. その他
予定なし

厚生労働科学研究委託費(革新的がん医療実用化研究事業)
委託業務成果報告(業務項目)

小児造血器腫瘍臨床研究の質の向上に関する研究

担当責任者 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
臨床試験研究部 臨床疫学研究室 室長

研究要旨

本研究は、小児造血器腫瘍に対し、晩期合併症の軽減と高い長期生存率が見込める標準的治療法の確立を目的とし、治療層別化のための診断体制を含めた臨床研究体制を整備し、質の高い臨床試験を実施してエビデンスの創出を図ることを目的としている。この実現化を目指し、日本小児白血病リンパ腫研究グループが2003年に発足し、当グループで行われる各種臨床研究の質確保を目的としたデータ管理を行うため、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が特定非営利活動法人臨床研究支援機構と連携し、その実務を行いつつ質管理に関する方法論の研究を行ってきた。平成26年度は登録終了及び/又は追跡終了した臨床試験の最終解析や論文化、二次的研究へのデータ利用に関する業務支援(AML-D05, AML-P05, AML-05, AML-05R, AML-05IF)、登録・追跡中の臨床研究の質管理支援(AML-12, AML-D11, AML-R11, CML-08, JMML-11)を行ってきた。更に急性前骨髄性白血病に対する治療法開発のための臨床試験(AML-P13)を新たに開始させた。またこれまで白血病・リンパ腫に対する前向きコホートを追跡する疫学研究を、その確定診断に必要な中央検査や中央診断のための体制整備や、MRD 確立・予後因子探索を目的とした検査実施体制整備、腫瘍試料と正常試料を合わせて収集・保存・利用できるようにするための体系的整備の要素を加えた前方視的介入研究の形(CHM-14)に改めて整備しなおしており、これに基づく臨床試験実施体制の整備を行った。臨床研究における質管理の実務を担当しながら、これと並行して、その標準化・効率化を図るための研究活動も実施してきた。また、当該グループが実施する監査システムや有害事象報告システムに関しても支援を行い、手順の見直しなど、臨床研究体制全体の有機的流れを構築している。尚、これらの業務を遂行する中で生じた問題点等は、班会議やメーリングリストなどを通じてグループ内へ周知し、恒常的な班研究者の質向上に努めてきた。一方、遺伝子診断及び解析と分子モニタリングに関する研究に関して、小児急性骨髄性白血病(AML)にみられる染色体異常で生じる9種類のキメラ遺伝子と *FLT3-ITD* の診断時スクリーニング検査を、2014年4月から7月にかけて JPLSG 登録された AML 患者 19 例について実施した。前年までのデータより、キメラ遺伝子のスクリーニング項目の改訂を行い、minor *BCR-ABL1*, Major *BCR-ABL1*, *NUP98-NSD1* を加えた。検査の結果、9例(47%)でいずれかのキメラ遺伝子を同定した。内訳は、*AML1-ETO* 4例, *MLL-AF9* 2例, *PML-RAR α 2*, *Major BCR-ABL1* 1例であった。また、*FLT3-ITD* 陽性例は19例中3例(16%)であった。また、2014年3月より開始された AML12 臨床研究でも同様の検査を行い、65例中

27例(41.5%)でキメラ遺伝子を同定した。内訳は *AML1-ETO* 23例, *CBFβ-MYH11* 1例, *MLL-AF9* 2例, *TLS/FUS-ERG* 1例であった。*FLT3-ITD* 解析を65例に行ったところ、3例(5%)が陽性であった。更に2014年12月より開始されたAML-P13研究に登録された1例について、*PML-RARα*のスクリーニング検査を行った。AML-12とAML-P13の開始に伴い、新たに内在性コントロール *ABL*の測定系を立ち上げた。また、AML-P13ではMRDを治療層別化に用いるため測定系の見直しと、再検査施設である岡山大学病院での系を確立した。今後、AML-12, AML-P13での症例数を蓄積するとともに、中央検査の標準化・正確性の向上を図っていく必要があると考える。以上より、当該領域の臨床試験を行う上での基盤整備に努める。

[遺伝子診断及び解析と分子モニタリングに関する研究・研究協力者]

山下友加 名古屋医療センター臨床研究センター 流動研究員

山田美穂 名古屋医療センター臨床研究センター 臨床検査技師

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は、当該領域の診療の質を向上させるうえで必要不可欠である。この実現を目的として2003年に設立された日本小児白血病リンパ腫研究グループが企画・実施する各種臨床研究の質管理の担当部門として、研究協力を行ってきた。臨床研究より得られる結果の質を確保する為、中央データセンターとして臨床研究の企画から結果公表に至る一連の作業過程の品質管理を担当し、正確な情報発信を適時に行うことにより、科学的なエビデンス創出に努めることが我々の使命である。特殊な実験的環境下で得られる臨床研究成果を、より広い患者集団へ適用することの妥当性を評価する為には、必要な臨床研究への参加の有無によらず、当該領域の患者集団の臨床経過を網羅的に把握し、患者集団の違いによる効果・安全性の比較が必要不可欠

であり、当該領域のより広い患者集団を対象としたコホートを定め、前向きに情報や試料を収集し、これらを二次的に利用可能とするような研究基盤の整備も行い、研究の活性化による社会還元を目指した研究実施基盤の整備も行う。更に、遺伝子診断・解析、分子モニタリングに関する研究基盤を整備する目的で、小児急性骨髄性白血病(AML)におけるキメラ遺伝子スクリーニング診断の臨床的有用性と陽性例において治療反応性の評価として経時的にキメラ遺伝子の発現量を定量することで微小残存病変(MRD)を評価する意義を検討する。また、AMLの *FLT3* Internal Tandem Duplication (ITD)の有無を調べ、*FLT3* ITD/WT allelic ratioの臨床的意義を評価する。

B. 研究方法

■小児造血器腫瘍臨床研究の質の向上に関する研究

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 臨床試験研究部 臨床疫学研究室が支援する形で、特定非営利活動法人臨床研究支援機構(NPO OSCR)データ管理部によるデータセンターを設置し、臨床研究の質管理を担当してきた。NPO OSCR 雇用のデータマネージャーは臨床研

究支援業務の実務を担当しながら、同時に臨床疫学研究室の研究生として、臨床研究の質向上の為の方法論の研究に携わり、研究活動の推進と研究支援者の育成を図ってきている。これら一連の活動を通して、データセンターとしての標準化・効率化を図り研究の質向上を目指す。

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る。

3. JPLSG の各種委員会(治療研究委員会、診断委員会、効果安全性評価委員会、監査委員会、事務局、外部検査部門)などの連携が効率的かつ円滑に行われるよう、システムの有機的整備を行う。

(倫理面への配慮)

臨床研究に関する倫理指針の施行に従い、データセンター業務運用のために必要な患者の個人情報及び診療情報の保護方針についてまとめたポリシーを遵守した活動を行い、倫理面への配慮をはかる。

■ 遺伝子診断及び解析と分子モニタリングに関する研究

4. 対象は、日本小児白血病リンパ腫研究グループ(JPLSG)で実施された JPLSG 疫学研究と 2014 年から新たに開始された AML12 および AML-P13 に登録予定の AML 患者である。

方法は、診断時の骨髓液あるいは末梢血の有核細胞から RNA を抽出し、定量的 RT-PCR 法によって AML に代表的な 9 種類のキメラ遺伝子、minor BCR-ABL1, Major BCR-ABL1, *AML1-ETO*, *CBFβ-MYH11*, *MLL-AF6*, *MLL-AF9*,

TLS/FUS-ERG, *PML-RAR α*, *NUP98-NSD1* の測定を行った。

FLT3-ITD 検査は、清井らの方法(Kiyoi H, et al. *Methods Mol Med.*

2006;125:189-97.)に従って実施した。初発時骨髓検体から genomic DNA を抽出し、PCR を行い、陽性例をダイレクトシーケンスで確認した。*FLT3-ITD/WT allelic ratio* の解析は、10ng の DNA を鋳型として、蛍光色素が修飾された primer を用いて PCR を行い、*FLT3-ITD* 部位を含む領域を増幅する。この PCR 産物をフラグメント解析することにより、*FLT3-WT* と *ITD* のフラグメントのピークの比より、アレル比を算出した。

(倫理面への配慮)

本研究は、名古屋医療センターの臨床研究審査委員会および JPLSG の研究審査委員会の承認を得て実施した。また、本研究は、臨床試験 JPLSG 疫学研究および AML-12、AML-P13 の一部であり、これらの臨床試験、疫学研究は日本小児血液学会臨床研究審査委員会、および参加施設の倫理審査委員会の承認を得て行った。すべての検体は、文書によるインフォームドコンセントを得た後に収集された。また、検体提出、収集においてすべて匿名化を行い、検体提供者の個人情報を適切に保護して実施した。

C. 研究結果

■ 小児造血器腫瘍臨床研究の質の向上に関する研究

1. 臨床研究の質確保

本年度は、JPLSG のデータセンターとして、12 臨床試験の支援を行ってきた。まず登録

中又は追跡中の臨床試験として、急性骨髄性白血病に対する臨床試験(AML-D11, AML-12, AML-R11)、慢性骨髄性白血病に対する臨床試験(CML-08)、若年性骨髄単球性白血病(JMML-11)に関するデータ管理業務として、症例登録、進捗管理、定期的なデータクリーニング、安全性情報管理業務などを実施した。今年度新規開始した急性前骨髄性白血病に対する治療開発を目的としたAML-P13臨床試験については、研究開始に先立ち実施計画書/同意説明文書作成支援、データ管理計画作成、オンライン登録票、症例報告書作成、データベース構築、臨床研究開始説明会実施などの支援業務を担当し、2014年12月に登録開始とした。尚、既に登録終了、又は試験期間が終了した5臨床研究(急性骨髄性白血病(AML-05, AML-D05, AML-P05))及びその付随研究(AML-05R, AML-05IF)について、研究終了に際しての支援実務として、全調査票の回収と最終追跡調査の実施、収集されたデータのクリーニング、症例検討の為の委員会資料作成、解析用データセット作成、最終報告書や公表論文作成に至る全般的な支援を実施するとともに、二次的なデータ利用に関するデータ抽出など対応し、後述(G. 研究発表 1. 論文発表)の論文公表まで完了した。

今後、慢性骨髄性白血病に対する臨床試験(CML-14)について、実施計画書/同意説明文書作成支援、データ管理計画作成、オンライン登録票・症例報告書作成、データベース構築などの支援業務を実施する予定である。前述の実務遂行と同時並行して、質管理に関する研究を実施した。

<小児血液がん領域の臨床試験におけるデータ収集>

小児血液がん領域における臨床試験のデータマネジメントには膨大な人的・経済的コストがかかる。これに対して、O'Leary Eらは、収集項目のうち論文化に使用された項目は18%と僅かであることを示した。そこで、JPLSGで行われている臨床試験の収集項目を最適化するため、症例報告書(CRF)における収集項目の特性を把握するために、AML-05臨床試験を題材に、収集項目数と論文化された項目数を比較し、その内訳など詳細を検討した。また、データマネジメント用の収集項目数を評価した。CRFで収集した項目のうち、論文に使用された項目は16%と僅かで、O' Leary Eらの研究と同等の結果が得られた。以下に論文化に使用された項目数の内訳について示す。

項目名	A	B	C	D	E
AML-05臨床試験	Prospective study evaluating induction therapy in association with the treatment of relapse with acute myeloid leukemia	Adult Patient leukemia with morphologic features of leukemia in relapse or report of leukemia	Current treatment induction therapy	Prognostic evaluation of CRF's relation to patient's acute leukemia outcome in relapse	CRF correspondence to prognostic factor of patient's outcome with relapse
研究発表	Tremblay J et al. Blood 2013	Favrethas B et al. Blood journal of hematology 2014	Vanessa D et al. Leukemia 2013	Nakano M et al. Blood 2014	Mason M et al. Hematology 2014
論文発表	AML-05臨床試験の症例報告書から抽出された項目	AML-05臨床試験の症例報告書から抽出された項目	AML-05臨床試験の症例報告書から抽出された項目	AML-05臨床試験の症例報告書から抽出された項目	AML-05臨床試験の症例報告書から抽出された項目
項目数	100	100	100	100	100
論文発表に使用された項目数	16	16	16	16	16
論文発表に使用された項目の内訳	16	16	16	16	16

当該試験のエンドポイントとして解析に用いられる追跡調査(転帰に関する項目)、再発関連、腫瘍関連の項目よりも、毒性、検査、治療介入、品質、有害事象などの項目を多くCRFで収集していた。小児白血病の治療介入は複雑であり、CRF上の収集項目に基づいて、逸脱や安全性情報の監視を行う、いわゆるデータマネジメント上必要な項目を多く取得していることが明らかに

なった。また、ID/個人関連情報、署名、品質などの項目は、総試験期間5年という長期にわたり患者を間違いなく登録させ、追跡を継続するという品質管理上必要な項目であることが分かった。小児血液がん領域のデータの特性を把握したことで、今後、リスクに基づくモニタリングを意識したCRF収集項目に役立てられることが示唆された。

2. 個人情報保護ポリシーの遵守

Webによる臨床研究情報収集システム(Ptosh)を利用したデータ収集を行う上で、患者情報、診療情報の漏えいや不適切利用の防止は重要な課題としている。JPLSGとして定めた個人情報保護ポリシーの遵守を徹底した活動を今後も継続していく予定である。

3. JPLSGの各種委員会の効率的かつ円滑な連携の為にシステム整備

JPLSG臨床研究の品質を保証する目的で、監査委員会が活動しており、当該委員会への資料提供を継続対応している。また、監査委員会へ現場での問題点に関する情報共有を図るとともに、今後の監査体制にあり方に関する検討を行ってきた。

■ 遺伝子診断及び解析と分子モニタリングに関する研究

2014年4月から2015年2月までの間にJPLSG疫学研究に登録されたAML患者19例において診断時に9種類のキメラ遺伝子スクリーニング検査を実施したところ9例(47%)でいずれかのキメラ遺伝子を同定した。内訳は、*AML1-ETO* 4例、*Major BCR-ABL1* 1例、*MLL-AF9* 2例、*PML-RAR α* 2例であった。また、内在性コ

ントロールとしてこれまで用いてきた*GAPDH*に加え、*ABL*についても系を立ち上げ測定を行った。

また、2014年3月より同グループにおいてAML12臨床研究が新たに開始され、同様の検査を行った。AML12に登録された65例65例中27例(41.5%)でいずれかの遺伝子が同定された。内訳は、*AML1-ETO* 23例、*CBFB-MYH11* 1例、*MLL-AF9* 2例、*TLS/FUS-ERG* 1例であった。

*FLT3-ITD*陽性例は疫学研究では19例中3例(16%)で、AML-12では65例中3例(5%)が陽性であった。

AML-P13の登録症例は2015年2月の段階で1例であり、*PML-RAR α* 陽性、*FLT3-ITD*陰性であった。今後MRDを行うに当たり、*PML-RAR α* のアイソフォームバリエーションごとの定量の系を立ち上げ、感度検定を行い、全ての系で10コピーまでの感度を確認した。また、第二検査施設である岡山大学での系の立ち上げの補助を行った。

D. 考察

■ 小児造血器腫瘍臨床研究の質の向上に関する研究

希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、治療に伴う毒性が強いため、営利企業が扱いつらい領域であり、医師主導の研究に頼らざるを得ない。当データセンターが設立して10年以上が経過し、担当する臨床研究数も着実に増加してきている。当研究班が国内における他の代表的ながん多施設共同研究グループと決定

的に異なる点は、“希少疾患領域”としての“小児”を扱っている点である。成長過程にある患者集団を対象とすることで逸脱の監視も、また妊よう性も含めた短期～長期にわたる毒性評価も極めて複雑化する。早期の固形がんなど、局所治療が主体となる治療開発と異なり、全身性疾患としての長期的な治療が必要になるこの領域で臨床試験を妥当なコストで行うためには、その研究デザインにおける大きな工夫が必要である。調査が必要以上に複雑化・煩雑化すると最終的にはコストが膨大化して、試験遂行が阻まれる状況に陥る。参加施設側の臨床研究支援体制も未だ発展途上であり、少ない小児科医師が多忙な臨床業務の傍ら、複雑な研究を行っている実情がある。その為、登録、中央診断・検査、症例経過報告などの手順は、なるべく簡便で、標準化されていることが望ましい。各種委員会の円滑な業務連携を当データセンターが支援する作業も含めて、実務経験を重ね、データの質を落とすことなく、業務の簡略化・標準化が図るため、今後も引き続き地道な努力が必要であると考えている。

■遺伝子診断及び解析と分子モニタリングに関する研究

2015年2月までの1年間のキメラスクリーニング、*FLT3*-ITD スクリーニング実施例は103例であり、前年とほぼ同等であった。キメラ遺伝子の陽性例の比率はこれまでの積算の比率と比較すると若干多く、またAML-12登録症例では*AML1-ETO*陽性例が85%と高頻度であった。一方*FLT3*-ITD陽性例は5%と頻度が低かった。しかし、疫学研究登録症例と合わせた84

例では、キメラ陽性例は42%、*FLT3*-ITD陽性例は7%と、これまでの報告と同等であり、AML-12での頻度の偏りは、今後症例数が集積されることにより、是正されると考えられる。

これまで本邦では内在性コントロールとして*GAPDH*を採用してきたが、今回AML-12とAML-P13の開始に伴い国際的に多く用いられている*ABL*についても、測定系を立ち上げ、スクリーニング時に同時に測定を行なっている。これによってこれまでの本邦のデータや、欧米を中心とした報告のデータとの比較が可能となると考えられる。また、*GAPDH*と*ABL*のどちらが内在性コントロールとして適しているのかを検証する材料になると考える。

FLT3-ITDのアレル比については、ITD陽性例が3例のみのため現時点では検討を行っていない。今後症例の集積具合を見て、順次検討を行なう予定である。

AML-P13は2014年12月開始のため、今後の症例数の集積が待たれる。本研究ではキメラ遺伝子のMRDによって治療介入を行なう。MRD測定では、初診時と比較して微量なmRNAの検出が必要であり、測定の感度が重要となる。そこでAML-P05での測定の経験を基に、*PML-RARα*のアイソフォームバリエーションであるbcr1/2/3それぞれを感度よく検出出来るよう、再度検出系の見直しを行なった。また、再検査施設として新たに岡山大学病院検査部が加わったため、連携して岡山大学での系の立ち上げを行なった。今後は2施設間の定期的な精度管理などについて、検討を行なっていく必要がある。

E. 結論

小児造血器腫瘍臨床研究の質の向上に関する研究に関して、臨床疫学研究室は OSCR データセンターと共同で JPLSG が企画・実施している各種臨床研究の質管理の実務・研究を担当してきた。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く必要がある。

遺伝子診断及び解析と分子モニタリングに関する研究に関して、小児 AML において、9 つのキメラ遺伝子と *FLT3-ITD* のスクリーニングを行い、治療層別に用いた。本年度より新たに開始された臨床研究において症例数を蓄積するとともに、中央検査として検査の標準化・正確性の向上のため努力して行く必要がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- (1) Matsuo H, Kajihara M, Tomizawa D, Watanabe T, Saito AM, Fujimoto J, Horibe K, Kodama K, Tokumasu M, Itoh H, Nakayama H, Kinoshita A, Taga T, Tawa A, Taki T, Tanaka S, Adachi S. Prognostic implications of CEBPA mutations in pediatric acute myeloid leukemia: a report from the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group. *Blood Cancer J.* 2014 Jul 11;4:e226. doi: 10.1038/bcj.2014.47.
- (2) Kinoshita A, Miyachi H, Matsushita H, Yabe M, Taki T, Watanabe T, Saito AM,

Tomizawa D, Taga T, Takahashi H, Matsuo H, Kodama K, Ohki K, Hayashi Y, Tawa A, Horibe K, Adachi S. Acute myeloid leukaemia with myelodysplastic features in children: a report of Japanese Paediatric Leukaemia/Lymphoma Study Group. *Br J Haematol.* 2014 Jul 8. doi: 10.1111/bjh.12993.

- (3) Matsuo H, Kajihara M, Tomizawa D, Watanabe T, Saito AM, Fujimoto J, Horibe K, Kodama K, Tokumasu M, Itoh H, Nakayama H, Kinoshita A, Taga T, Tawa A, Taki T, Shiba N, Ohki K, Hayashi Y, Yamashita Y, Shimada A, Tanaka S, Adachi S. EVI1 overexpression is a poor prognostic factor in pediatric patients with mixed lineage leukemia-AF9 rearranged acute myeloid leukemia. *Haematologica.* 2014 Nov;99(11):e225-7

2. 学会発表等

1. CDISC SDTMデータを指標とした収集データ最適化の検討 永井かおり、齋藤俊樹、西岡絵美子、三和郁子、佐藤則子、生越良枝、染谷こころ、長谷川裕子、鳥居薫、米島麻美子、岡野美江、堀部敬三、齋藤明子 日本臨床試験学会 第6回学術集会総会 2015. 2. 20 (東京)
2. 小児血液疾患領域の臨床試験における逸脱とアウトカム 西岡絵美子、永井かおり、三和郁子、佐藤則子、生越良枝、染谷こころ、長谷川裕子、鳥居薫、米島麻三子、岡野美江、鶴澤正仁、堀部敬三、足立壮一、石井榮一、角南勝介、真部淳、多和昭雄、多賀崇、高橋浩之、齋藤明子 日本臨床試験学会

第6回学術集会総会 2015. 2. 20 (東京) <ポスター賞受賞>

3. 小児血液がん領域の臨床試験におけるデータ収集 生越良枝、永井かおり、西岡絵美子、三和郁子、佐藤則子、染谷こころ、長谷川裕子、鳥居薫、米島麻美子、岡野美江、堀部敬三、齋藤明子 日本臨床試験学会 第6回学術集会総会 2015. 2. 20 (東京)

4. Shimada A, Yamashita Y, Tomozawa D, Tawa A, Watanabe T, Yokozawa T, Yamada M, Kudo K, Taga T, Iwamoto S, Terui K, Moritake H, Kinoshita A, Takahashi H, Nakayama H, Koh-K, Goto H, Kosaka Y, Saito AM, Fujimoto J, Horibe K, Hara Y, Oki K, Hayashi Y, Adachi S. Pediatric AML with FLT3-ITD/WT allelic ratio, NUP98-NSD1 chimera, NPM1, and WT1 mutations - JPLSG AML05 study. 25th Annual Meeting of the I-BFM Study Group 2014. 4. 27 Prague.

5. Hara Y, Shiba N, Ohki K, Park M, Shimada A, Tomizawa D, Saito AM, Fujimoto J, Taki T, Kinoshita A, Taga T, Arakawa H, Tawa A, Horibe K, Adachi S, and Hayashi Y. Poor Prognosis Associated with FAB Subtypes M4 and M5 in Japanese Pediatric Acute Myeloid Leukemia Patients with FLT3-ITD. ASH annual meeting and exposition. 2014. 12. 6 San Francisco.

6. Yuka Y, Takahashi H, Shimada A, Yamada M, Kinoshita A, Yuza Y, Moritake H, Terui K, Tomizawa D, Taga T, Horibe K, Adachi S. Incidence and clinical impact of FLT3 mutation in childhood acute

promyelocytic leukemia; JPLSG AML-05 study. 2014. 11. 28 第56回日本小児血液・がん学会 岡山

7. Takahashi H, Watanabe T, Kinoshita A, Yuza Y, Moritake H, Terui K, Iwamoto S, Nakayama H, Shimada A, Kudo K, Taki T, Yabe M, Matsushita H, Yamashita Y, Koike K, Ogawa A, Kosaka Y, Tomizawa D, Taga T, Saito AM, Horibe K, Nakahata T, Miyachi H, Tawa A, and Adachi S. High Event-Free Survival Rate with Minimum-Dose-Anthracycline Treatment in Childhood Acute Promyelocytic Leukemia: A Nationwide Prospective Study By the Japanese Pediatric Leukemia / Lymphoma Study Group (JPLSG). 56th ASH annual meeting and exposition. 2014. 12. 6 San Francisco.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得、2. 実用新案、3. その他
該当なし

小児AML患者における遺伝子解析に関する研究

担当責任者 林 泰秀 群馬県立小児医療センター顧問(院長補佐)

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*、*GATA2* 遺伝子異常および *NUP98-NSD1* 融合遺伝子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* 陰性例で *NUP98-NSD1* 融合遺伝子の発現パターンと類似の発現群 (*NUP98-NSD1* like signature) および *CSF3R* 遺伝子と *MLL-PTD* を解析し臨床像との関係を明らかにした。*NUP98-NSD1*、like signature 群は予後不良であった。この群に共通の高発現遺伝子として *MEL1* と *EVII* 遺伝子が抽出され、AML-05 例における *MEL1* 発現につき解析を行い *MEL1* 高発現例は予後不良であることが示唆された。*CSF3R* 遺伝子の解析では、エクソン 14 で 2 例、エクソン 17 で 8 例の変異がみられ、転座との関連がみられた。*MLL-PTD* 例は 362 例中 11 例 (3%) にみられ、予後不良であった。

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*、*GATA2* 遺伝子)と臨床像の相関を明らかにしてきた。

昨年度は *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い出し (*NUP98-NSD1* like signature 群) この群と臨床像との関係を検討した。今年度はこの群から高発現の遺伝子を抽出したので、その検討を AML-05 例で行った。

近年、*CSF3R* 遺伝子変異が骨髄異形成症候群 (MDS)/AML の原因遺伝子として同定された。*CSF3R* 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。今年度は AML-05 症例において *CSF3R* 遺伝子の解析を行ない、臨床像との関係を検討する。小児 AML における Mixed-lineage leukemia-partial tandem duplications (*MLL-PTD*)の頻度や予後について報告は少ない。*MLL-PTD* についても AML-05 において MLPA 法を用いて検討した。

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。高発現のみられた *MEL1*(*PRDM16*)遺伝子については real-time PCR 法にて AML-05 症例で定量解析を行った。

<*CSF3R* 遺伝子変異の解析>

今年度は、AML-99 と AML-05 の 534 例を用いて *CSF3R* 遺伝子のエクソン 14 と 17 を直接塩基決定法で変異解析を行った。

<*MLL-PTD* の解析>

JPLSG AML-05 臨床試験に登録された 443 症例の内 gDNA の入手できた 362 症例について、MLPA 法を用いた *MLL-PTD* 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* like signature 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。

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* like signature を示した 18 例は、高率に *FLT3-ITD* と *WT1* 変異を伴っており、有意に予後不良であった。AML-05 の 369 例でこの群で高発現を示す *MEL1* 遺伝子の real-time PCR 法による解析を行い、369 例中 84 例(23%)に高発現がみられ、中間群(24%)、高リスク群(42%)、寛解不能群(47%)であり、全生存率(DS)、event-free 生存率(EFS)ともに有意に低かった。

<CSF3R 遺伝子の解析>

534 例中 10 例(1.87%)に変異がみられた (図)。エクソン 14 では 2 例が(PoT618I)、エクソン 17 では 8 変異 (3 例が frame shift 変異、5 例がミスセンス変異)であった。エクソン 17 に変異がみられた症例はすべて t(8;21) 5 例を含む転座がみられ、10 例中 7 例が生存中であった。

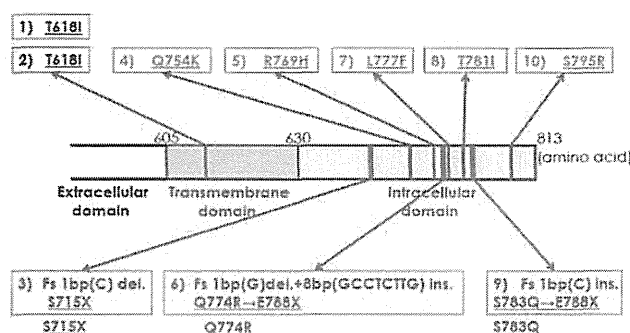


図 CSF3R 遺伝子変異の模式図

<MLL-PTD 遺伝子の解析>

362 症例中 11 例 (3.0%) で *MLL-PTD* が認められた。全例が正常核型で、*MLL* 再構成や *NPM1* 変異は認められなかった。FAB 分類の M5a が 5 例で認められた。4 例で *FLT3-ITD* が陽性で、寛解導入療法 2 終了後 3 例が非寛解で、3 例が再発し、4 例全例が死亡した。

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。小児 AML において *MLL-PTD* の頻度は低いが、予後不良因子であり、高リスクとして治療を行う必要がある。

今回の検討では、*NUP98-NSD1* 陰性例で同様の発現パターンを示す一群 (*NUP98-NSD1* like signature)をみい出し、この群も予後不良であった。

さらに小児 AML における *NUP98-NSD1* 融合遺伝子と同様のパターンを示す群で高発現がみられた *MEL1* 遺伝子を AML-05 プロトコール 369 症例の解析を行ったところ、高発現例は有意に予後不良で

あることが明らかになった。また *FLT3-ITD* 陽性群の層別化に有用であることが判明し、治療の層別化に重要と思われた。

CSF3R 遺伝子の解析ではエクソン 17 に変異がみられた症例と染色体転座の関係が興味深く思われた。

E. 結論

AML-05 に登録された小児 AML 380 例で *NUP98-NSD1* 融合遺伝子と発現パターンおよび *CSF3R* 遺伝子と *MLL-PTD* 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

(委託業務成果報告 (業務項目) には記入せずに、委託業務成果報告 (総括) にまとめて記入)

G. 研究発表

論文発表

1. 林 泰秀.小児固形腫瘍の分子遺伝学の最近の進歩. 日本小児外科学会雑誌 50 巻 1 号 P33-42, 2014.02,論文種類: 解説
2. 飯島 一智, 清河 信敬, 吉原 宏樹, 富田 理, 小林 健一郎, 福島 敬, 林 泰秀, 菊地 陽, 康勝好, 真部 淳, 小原 明.小児 Ph-like ALL 症例の表面マーカー、遺伝子発現解析.日本小児血液・がん学会雑誌 51 巻 3 号 P200-205,2014.09, 論文種類: 原著論文
3. 朴 明子.【胎児・新生児の肝・胆道疾患】胆汁うっ滞 一過性骨髄異常増殖症(TAM)と肝障害. 周産期医学 44 巻 10 号 P1290-1292,2014.10,論文種類: 解説
4. Hanada I, Terui K, Ikeda F, Toki T, Kanazaki R, Sato T, Kamio T, Kudo K, Sasaki S, Takahashi Y, Hayashi Y, Inukai T, Kojima S, Koike K, Kosaka Y, Kobayashi M, Imaizumi M, Mitsui T, Hori H, Hara J, Horibe K, Nagai J, Goto H, Ito E. Gene alterations involving the CRLF2-JAK pathway and recurrent gene deletions in Down syndrome-associated acute lymphoblastic leukemia in Japan. Genes Chromosomes Cancer. 53 : 902-10, 2014
5. Kato M, Imamura T, Manabe A, Hashii Y, Koh K, Sato A, Takahashi H, Hori H, Taki T, Inoue M, Hayashi Y, Horibe K, Tsuchida M, Kojima S, Oda M, Ohara A . Prognostic impact of gained chromosomes in high-hyperdiploid childhood acute lymphoblastic leukaemia: a collaborative retrospective study of the Tokyo Children's Cancer Study Group and Japan Association of Childhood Leukaemia Study. Br J Haematol. 166 : 295-8, 2014
6. Kinoshita A, Miyachi H, Matsushita H, Yabe M, Taki T, Watanabe T, Saito AM, Tomizawa D, Taga T, Takahashi H, Matsuo H, Kodama K, Ohki K, Hayashi Y, Tawa A, Horibe K, Adachi S. Acute

- myeloid leukaemia with myelodysplastic features in children: a report of Japanese Paediatric Leukaemia/Lymphoma Study Group. *Br J Haematol.* 167 : 80-6, 2014
7. Kiyokawa N, Iijima K, Tomita O, Miharu M, Hasegawa D, Kobayashi K, Okita H, Kajiwara M, Shimada H, Inukai T, Makimoto A, Fukushima T, Nanmoku T, Koh K, Manabe A, Kikuchi A, Sugita K, Fujimoto J, Hayashi Y, Ohara A. Significance of CD66c expression in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Res.* 38 : 42-8, 2014
 8. Koh K, Tomizawa D, Moriya Saito A, Watanabe T, Miyamura T, Hirayama M, Takahashi Y, Ogawa A, Kato K, Sugita K, Sato T, Deguchi T, Hayashi Y, Takita J, Takeshita Y, Tsurusawa M, Horibe K, Mizutani S, Ishii E. Early use of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for infants with MLL gene-rearrangement-positive acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia.* 29:290-6, 2015
 9. Matsuo H, Kajihara M, Tomizawa D, Watanabe T, Saito AM, Fujimoto J, Horibe K, Kodama K, Tokumasu M, Itoh H, Nakayama H, Kinoshita A, Taga T, Tawa A, Taki T, Shiba N, Ohki K, Hayashi Y, Yamashita Y, Shimada A, Tanaka S, Adachi S. EVII overexpression is a poor prognostic factor in pediatric patients with mixed lineage leukemia-AF9 rearranged acute myeloid leukemia. *Haematologica.* 99 : 225-7, 2014
 10. Moriwaki K, Manabe A, Taketani T, Kikuchi A, Nakahata T, Hayashi Y. Cytogenetics and clinical features of pediatric myelodysplastic syndrome in Japan. *Int J Hematol.* 100 : 478-84, 2014
 11. Nakayama H, Tabuchi K, Tawa A, Tsukimoto I, Tsuchida M, Morimoto A, Yabe H, Horibe K, Hanada R, Imaizumi M, Hayashi Y, Hamamoto K, Kobayashi R, Kudo K, Shimada A, Miyamura T, Moritake H, Tomizawa D, Taga T, Adachi S. Outcome of children with relapsed acute myeloid leukemia following initial therapy under the AML99 protocol. *Int J Hematol.* 100 : 171-9, 2014
 12. Jo A, Mitani S, Shiba N, Hayashi Y, Hara Y, Takahashi H, Tsukimoto I, Tawa A, Horibe K, Tomizawa D, Taga T, Adachi S, Yoshida T, Ichikawa H. High expression of EVII and MEL1 is a compelling poor prognostic marker of pediatric AML. *Leukemia.* 2015 Jan 8. doi: 10.1038/leu.2015.5. [Epub ahead of print]
 13. Park MJ, Sotomatsu M, Ohki K, Arai K, Maruyama K, Kobayashi T, Nishi A, Sameshima K, Takagi T, Hayashi Y. Liver disease is frequently observed in Down syndrome patients with transient abnormal myelopoiesis. *Int J Hematol.* 99 : 154-61, 2014
 14. Seki M, Yoshida K, Shiraishi Y, Shimamura T, Sato Y, Nishimura R, Okuno Y, Chiba K, Tanaka H, Kato K, Kato M, Hanada R, Nomura Y, Park MJ, Ishida T, Oka A, Igarashi T, Miyano S, Hayashi Y, Ogawa S, Takita J. Biallelic DICER1 mutations in sporadic pleuropulmonary blastoma. *Cancer Res.* 74 : 2742-9, 2014
 15. Shiba N, Funato M, Ohki K, Park MJ, Mizushima Y, Adachi S, Kobayashi M, Kinoshita A, Sotomatsu M, Arakawa H, Tawa A, Horibe K, Tsukimoto I, Hayashi Y. Mutations of the GATA2 and CEBPA genes in paediatric acute myeloid leukaemia. *Br J Haematol.* 164 : 142-5, 2014
 16. Shiba N, Ohki K, Park MJ, Sotomatsu M, Kudo K, Ito E, Sako M, Arakawa H, Hayashi Y. SETBP1 mutations in juvenile myelomonocytic leukaemia and myelodysplastic syndrome but not in paediatric acute myeloid leukaemia. *Br J Haematol.* 164 : 156-9, 2014
 17. Shiozawa Y, Takita J, Kato M, Sotomatsu M, Koh K, Ida K, Hayashi Y. Prognostic significance of leukopenia in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Oncol Lett.* 7 : 1169-1174, 2014
 18. Takita J, Chen Y, Kato M, Ohki K, Sato Y, Ohta S, Sugita K, Nishimura R, Hoshino N, Seki M, Sanada M, Oka A, Hayashi Y, Ogawa S. Genome-wide approach to identify second gene targets for malignant rhabdoid tumors using high-density oligonucleotide microarrays. *Cancer Sci.* 105 : 258-64, 2014
 19. Yoshimi A, Toya T, Kawazu M, Ueno T, Tsukamoto A, Iizuka H, Nakagawa M, Nannya Y, Arai S, Harada H, Usuki K, Hayashi Y, Ito E, Kirito K, Nakajima H, Ichikawa M, Mano H, Kurokawa M. Recurrent CDC25C mutations drive malignant transformation in FPD/AML. *Nat Commun.* 27 : 4770, 2014
2. 学会発表
 1. Seki M, Yoshida K, Shiraishi Y, Sato Y, Shimamura T, Nishimura R, Chiba K, Tanaka H, Kato K, Kato M, Hanada R, Nomura Y, Park M, Ishida T, Oka A, Miyano S, Hayashi Y, Ogawa S. Biallelic DICER1 mutations in sporadic pleuropulmonary blastoma. *AACR Annual Meeting 2014, San Diego, 2014.4.5-9*
 2. Yoshimi A, Toya T, Kawazu M, Ueno T, Tsukamoto A, Iizuka H, Nakagawa M, Nannya Y, Arai S, Ichikawa M, Harada H, Usuki K, Hayashi Y, Ito E, Kirito K, Nakajima H, Mano H, Kurokawa M. Recurrent CDC25C mutations drive malignant transformation in FPD/AML. *AACR Annual Meeting 2014, San Diego, 2014.4.5-9*
 3. 瓜生 久美子, 関 正史, 加藤 元博, 星野 論子, 樋渡 光輝, 中川原 章, 林 泰秀, 小川 誠司, 滝田 順子, 岡 明. 神経芽腫 120 検体におけるゲノム異常と予後解析. 第 117 回日本小児科学会学術集会, 名古屋, 2014.4.11-13
 4. 大木 健太郎, 鎌 裕一, 原 勇介, 佐野 仁志, 柴 徳生, 新井 心, 朴 明子, 外松 学, 林 泰秀. trisomy8 と MLL-AF9 を有する急性骨髄性白血病の clonal architecture の解析. 第 117 回日本小児科学会学術集会, 名古屋, 2014.4.11-13
 5. 佐野 仁志, 大木 健太郎, 朴 明子, 柴 徳生,

- 足立 壮一, 堀部 敬三, 多和 昭雄, 花田 良二, 月本 一郎, 林 泰秀. 小児 AML における G-CSF receptor(CSF3R)遺伝子異常の解析. 第 117 回日本小児科学会学術集会, 名古屋, 2014.4.11-13
6. 関 正史, 西村 力, 吉田 健一, 加藤 元博, 樋渡 光輝, 宮野 悟, 林 泰秀, 小川 誠司, 滝田 順子, 岡 明. RNA シーケンス解析による横紋筋肉腫における新規転座の検索. 第 117 回日本小児科学会学術集会, 名古屋, 2014.4.11-13
 7. 西村 力, 吉田 健一, 白石 友一, 関 正史, 真田 昌, 岡 明, 林 泰秀, 宮野 悟, 小川 誠司, 滝田 順子. 次世代シーケンサを用いた横紋筋肉腫の遺伝子変異全体図. 第 117 回日本小児科学会学術集会, 名古屋, 2014.4.11-13
 8. 原 勇介, 柴 徳生, 大木 健太郎, 朴 明子, 足立 壮一, 多賀 崇, 荒川 浩一, 多和 昭雄, 堀部 敬三, 林 泰秀. 小児急性骨髄性白血病における GATA2 変異の解析. 第 117 回日本小児科学会学術集会, 名古屋, 2014.4.11-13
 9. 星野 論子, 西村 力, 関 正史, 加藤 元博, 吉田 健一, 宮野 悟, 林 泰秀, 小川 誠司, 岡 明, 滝田 順子. 全エクソーム解析を用いた肝芽腫における網羅的ゲノム解析. 第 117 回日本小児科学会学術集会, 名古屋, 2014.4.11-13
 10. 吉田 美沙, 関 正史, 星野 論子, 樋渡 光輝, 加藤 元博, 吉田 健一, 小川 誠司, 林 泰秀, 滝田 順子, 岡 明. 次世代シーケンサーを用いた神経芽腫における 11q 領域の責任遺伝子探索. 第 117 回日本小児科学会学術集会, 名古屋, 2014.4.11-13
 11. 柴 徳生, 吉田 健一, 大木 健太郎, 金澤 崇, 足立 壮一, 多和 昭雄, 伊藤 悦朗, 荒川 浩一, 小川 誠司, 林 泰秀, JPLSG AML 委員会. 小児急性骨髄性白血病における分子生物学的背景を用いた新たな治療層別化への試み. 第 117 回日本小児科学会学術集会, 名古屋, 2014.4.11-13
 12. 朴 明子, 外松 学, 新井 心, 大木 健太郎, 小林 富男, 丸山 憲一, 鮫島 希代子, 林 泰秀. 芽球割合の低い TAM における臨床像の解析. 第 117 回日本小児科学会学術集会, 名古屋, 2014.4.11-13
 13. 15. 瓜生 久美子, 西村 力, 吉田 健一, 関 正史, 星野 論子, 吉田 美沙, 加藤 元博, 樋渡 光輝, 林 泰秀, 田尻 達郎, 中川原 章, 小川 誠司, 滝田 順子. 神経芽腫大規模検体における genetic landscape と予後解析. 第 73 回日本癌学会学術総会, 横浜, 2014.9.25-27
 14. 16. 原 勇介, 大木 健太郎, 柴 徳生, 朴 明子, 富澤 大輔, 多賀 崇, 足立 壮一, 荒川 浩一, 多和 昭雄, 林 泰秀. 小児急性骨髄性白血病における寛解導入療法終了後非寛解例の分子生物学的異常の同定と臨床像の検討. 第 73 回日本癌学会学術総会, 横浜, 2014.9.25-27
 15. 17. 吉田 美沙, 関 正史, 加藤 元博, 瓜生 久美子, 星野 論子, 西村 力, 樋渡 光輝, 吉田 健一, 岡 明, 小川 誠司, 林 泰秀, 滝田 順子. 神経芽腫における 11q 領域に関連した責任遺伝子探索. 第 73 回日本癌学会学術総会, 横浜, 2014.9.25-27
 16. 18. 関 正史, 吉田 健一, 白石 友一, 佐藤 悠佑, 島村 徹平, 千葉 健一, 田中 洋子, 花田 良二, 岡 明, 宮野 悟, 林 泰秀, 小川 誠司, 滝田 順子. 胸膜胚芽種における DICER1 RNase IIIB ドメイン変異の miRNA 生産への影響. 第 73 回日本癌学会学術総会, 横浜, 2014.9.25-27
 17. 星野 論子, 関 正史, 吉田 健一, 加藤 元博, 白石 友一, 佐藤 悠佑, 千葉 健一, 宮野 悟, 林 泰秀, 岩中 督, 岡 明, 小川 誠司, 滝田 順子. エクソーム解析とトランスクリプトーム解析を用いた肝芽腫における統合解析. 第 73 回日本癌学会学術総会, 横浜, 2014.9.25-27
 18. Iijima K, Kiyokawa N, Ueno H, Yoshihara H, Hasegawa D, Ohki K, Kato M, Fukushima T, Koh K, Hayashi Y, Manabe A, Ohara A. Gene expression and DNA methylation related to prognosis of childhood ALL without fusion genes. 第 76 回日本血液学会学術集会, 大阪, 2014.10.31-11.2
 19. Sekinaka-Mitsui K, Kawaguchi H, Hara Y, Sekinaka Y, Ogura Y, Ohyama R, Koh K, Hayashi Y, Nonoyama S. A case of CBFA2T3-GLIS2-positive acute megakaryoblastic leukemia with multiple myeloid sarcoma. 第 76 回日本血液学会学術集会, 大阪, 2014.10.31-11.2
 20. Ohki K, Ohkita H, Kobayashi K, Shiba N, Park M, Sotomatsu M, Fukushima T, Koh K, Hanada R, Manabe A, Kikuchi A, Tsutida M, Ohara A, Kiyokawa N, Hayashi Y. Analysis of iAMP21 and ERG genes in pediatric B-precursor ALL treated on TCCSG protocol. 第 76 回日本血液学会学術集会, 大阪, 2014.10.31-11.2
 21. Sano H, Ohki K, Park M, Shiba N, Hara Y, Sotomatsu M, Tomizawa D, Taga T, Kiyokawa N, Tawa A, Horibe K, Adachi A, Hayashi Y. CSF3R and CALR mutations and cytogenetic findings in pediatric myeloid malignancies. 第 76 回日本血液学会学術集会, 大阪, 2014.10.31-11.2
 22. Shimada A, Yamashita Y, Tomizawa D, Shiba N, Tawa A, Watanabe T, Yokozawa T, Kudo K, Taga T, Iwamoto S, Terui K, Moritake H, Kinoshita A, Takahashi H, Nakayama H, Koh K, Goto H, Kosaka Y, Saito A, Fujimoto J, Horibe K, Hara Y, Ohki K, Hayashi Y, Adachi A. Pediatric AML with FLT3-ITD /WT, NUP98-NSD1, NPM1 and WT1 mutations affected the clinical outcome. 第 76 回日本血液学会学術集会, 大阪, 2014.10.31-11.2

- 1
23. Hara Y, Ohki K, Shiba N, Shimada A, Tomizawa A, Taga T, Adachi S, Arakawa H, Tawa A, Hayashi Y. Genetic analysis of patients who did not achieve complete remission after induction therapy. 第76回日本血液学会学術集会, 大阪, 2014.10.31-11.2
 24. Shiba N, Hara Y, Ohki K, Yamato G, Park M, Kobayashi T, Ichikawa H, Tomizawa D, Taki T, Shimada A, Sotomatsu M, Arakawa H, Horibe H, Adachi S, Tawa A, Hayashi Y. The prognostic impact of high EVI-related genes expression in pediatric acute myeloid leukemia. 第76回日本血液学会学術集会, 大阪, 2014.10.31-11.2
 25. 新井 心, 朴 明子, 大木 健太郎, 外松 学. ウサギ ATG を用いた免疫抑制療法 3 ヶ月後に急激な骨髄機能不全をきたした再生不良性貧血の 2 例. 第 56 回日本小児血液・がん学会学術集会, 岡山, 2014.11.28-30
 26. 朴 明子, 新井 心, 大木 健太郎, 外松 学, 林 泰秀. 芽球割合の低い TAM における臨床像の解析(Transient abnormal myelopoiesis with low blast percentage is good prognosis in Down syndrome). 第 56 回日本小児血液・がん学会学術集会, 岡山, 2014.11.28-30
 27. 濱 麻人, 村松 秀城, 長谷川 大輔, 朴 明子, 岩本 彰太郎, 多賀 崇, 伊藤 悦朗, 柳沢 龍, 康 勝好, 林 泰秀, 足立 壮一, 水谷 修紀, 渡邊 健一郎. ダウン症における一過性異常骨髄増殖症の形態学的特徴 JPLSG TAM-10 形態中央診断の解析(Morphological characteristics of transient abnormal myelopoiesis (TAM) in Down syndrome: Analysis of central morphology review from the JPLSG TAM-10 study). 第 56 回日本小児血液・がん学会学術集会, 岡山, 2014.11.28-30
 28. 大木 健太郎, 朴 明子, 原 勇介, 柴 徳生, 外松 学, 富澤 大輔, 多賀 崇, 齋藤 明子, 藤本 純一郎, 多和 昭雄, 堀部 敬三, 足立 壮一, 林 泰秀. 小児 AML における IKZF1 欠失の頻度と予後解析 JPLSG AML-05(Frequency and prognosis of IKZF1 deletions in pediatric acute myeloid leukemia: The Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group (JPLSG) AML-05 Trial). 第 56 回日本小児血液・がん学会学術集会, 岡山, 2014.11.28-30
 29. 原 勇介, 大木 健太郎, 柴 徳生, 朴 明子, 富澤 大輔, 多賀 崇, 荒川 浩一, 足立 壮一, 多和 昭雄, 林 泰秀. 小児急性骨髄性白血病における寛解導入療法後非寛解例の遺伝子解析による予後不良因子の同定(Poor prognostic factors identified by molecular analysis of pediatric acute myeloid leukemia patients with non-complete remission after induction therapy). 第 56 回日本小児血液・がん学会学術集会, 岡山, 2014.11.28-30
 30. 大和 玄季, 柴 徳生, 吉田 健一, 大木 健太郎, 朴 明子, 原 勇介, 外松 学, 多賀 崇, 富澤 大輔, 足立 壮一, 多和 昭雄, 堀部 敬三, 荒川 浩一, 小川 誠司, 林 泰秀. 小児急性骨髄性白血病における ASXL1、ASXL2 遺伝子変異と臨床像(Clinical features of Patients with ASXL1 and ASXL2 mutations in pediatric acute myeloid leukemia). 第 56 回日本小児血液・がん学会学術集会, 岡山, 2014.11.28-30
 31. 川島 淳, 柴 徳生, 吉田 健一, 大木 健太郎, 大和 玄季, 原 勇介, 小坂橋 実希子, 奥野 はるな, 小川 誠司, 林 泰秀, 荒川 浩一. 再発バーキット白血病に対するクロファラビンの使用経験(Clofarabine therapy for relapsed Burkitt leukemia). 第 56 回日本小児血液・がん学会学術集会, 岡山, 2014.11.28-30
 32. 山本 英輝, 鈴木 完, 大串 健二郎, 山口 岳史, 朴 明子, 西 明. 嚢胞状神経芽腫の 1 乳児例. 第 56 回日本小児血液・がん学会学術集会, 岡山, 2014.11.28-30
 33. 瓜生 久美子, 西村 力, 吉田 健一, 関 正史, 星野 論子, 吉田 美沙, 加藤 元博, 樋渡 光輝, 岡 明, 林 泰秀, 田尻 達郎, 中川原 章, 滝田 順子. 神経芽腫におけるターゲット遺伝子の深々度シーケンス(Target deep sequencing of driver genes in neuroblastoma). 第 56 回日本小児血液・がん学会学術集会, 岡山, 2014.11.28-30
 34. 39. 川村 眞智子, 賀来 秀文, 滝 智彦, 大木 健太郎, 林 泰秀. t(9;17)(p24;q21)をもつ思春期急性リンパ性白血病における新規 JAK2 融合遺伝子の同定(Identification of the novel JAK2 fusion partner gene in adolescent acute lymphoblastic leukemia with t(9:17)(p24;q21)). 第 56 回日本小児血液・がん学会学術集会, 岡山, 2014.11.28-30
 35. 物井 綾香, 関 正史, 吉田 健一, 佐藤 悠佑, 加藤 元博, 樋渡 光輝, 星野 論子, 竹谷 健, 白石 友一, 千葉 健一, 田中 洋子, 宮野 悟, 岡 明, 林 泰秀, 小川 誠司, 滝田 順子. 神経芽腫再発 2 例に対する網羅的ゲノム解析(Genome-wide analysis in two relapsed neuroblastoma cases). 第 56 回日本小児血液・がん学会学術集会, 岡山, 2014.11.28-30
 36. 吉田 美沙, 関 正史, 加藤 元博, 瓜生 久美子, 星野 論子, 西村 力, 樋渡 光輝, 吉田 健一, 岡 明, 小川 誠司, 林 泰秀, 滝田 順子. 神経芽腫における ATM pathway 関連遺伝子の異常(Genomic alterations in genes regulating ATM pathway in neuroblastoma). 第 56 回日本小児血液・がん学会学術集会, 岡山, 2014.11.28-30
 37. Ohki K, Park M, Hara Y, Shiba N, Fukushima T, Koh K, Manabe A, Ohara A, Kiyokawa N, Hayashi Y. Genetic Abnormalities and Prognosis

in Pediatric B- precursor Acute Lymphoblastic Leukemia Treated on Tokyo Children' s Cancer Study Group Protocol. 56th ASH Annual Meeting and Exposition, San Francisco, 2014.12.6-9

特になし

3. その他
特になし

38. Osumi T, Sekimizu M, Mori T, Fukano R, Koga Y, Ueyama J, Tanaka F, Ohki K, Mitsui T, Mori T, Sunami S, Kada A, Moriya Saito A, Horibe K, Koh K, Komada Y, Kosaka Y, Ohshima K, Nakazawa A, Tsurusawa M, Kobayashi R, Adachi S. Differentiating Burkitt Lymphoma from Burkitt-like Lymphoma in Pediatrics: Report from the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group B-NHL03 Study. 56th ASH Annual Meeting and Exposition, San Francisco, 2014.12.6-9
39. Shiba N, Ohki K, Hara Y, Yamato G, Park M, Ichikawa H, Kobayashi T, Tomizawa D, Sotomatsu M, Arakawa H, Horibe K, Taga T, Adachi S, Tawa A, Hayashi Y. The Prognostic Impact of High MEL1 Gene Expression in Pediatric Acute Myeloid Leukemia. 56th ASH Annual Meeting and Exposition, San Francisco, 2014.12.6-9
40. Hara Y, Shiba N, Ohki K, Park M, Shimada A, Tomizawa D, Moriya Saito M, Fujimoto J, Taki T, Kinoshita A, Taga T, Arakawa H, Tawa A, Horibe K, Adachi S, Hayashi Y. Poor Prognosis Associated with FAB Subtypes M4 and M5 in Japanese Pediatric Acute Myeloid Leukemia Patients with FLT3-ITD. 56th ASH Annual Meeting and Exposition, San Francisco, 2014.12.6-9
41. Yamato G, Shiba N, Yoshida K, Ohki K, Park M, Hara Y, Tomizawa D, Sotomatsu M, Taga T, Adachi S, Tawa A, Horibe K, Arakawa H, Ogawa S, Hayashi Y. Clinical Features of Patients with ASXL1 and ASXL2 Mutations in Pediatric Acute Myeloid Leukemia. 56th ASH Annual Meeting and Exposition, San Francisco, 2014.12.6-9
42. Kitoh T, Gao K, Kato H, Miyata K, Shimomura Y, Hori T, Sakaguchi K, Horikoshi Y, Ohki K, Koh K, Hamakubo T. Flow Cytometric Detection of Asparagine Synthetase Protein in Leukemia Cells; Indication for L- Asparaginase Therapy. 56th ASH Annual Meeting and Exposition, San Francisco, 2014.12.6-9
43. Seki M, Yoshida K, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Kato M, Hanada R, Miyano S, Hayashi Y, Ogawa S, Takita J. Whole Exome and Transcriptome Analyses in Pediatric T-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia. 56th ASH Annual Meeting and Exposition, San Francisco, 2014.12.6-9

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

1. 特許取得
特になし

2. 実用新案登録