

登録があり、このうち 54 例が高リスク群（早期再発）であった。ALL-R08-I も 2013 年 10 月に登録を終了し、今年度は登録症例の予後調査を行った。2016 年 10 月まで予後追跡を行う予定である。

④ALL-RT11 の第 I 相試験は 3+3 デザインを採用した（図 2）。また各レベルでの投薬量設定を表 1 に示した。2014 年度まで、投与レベル 1 に 3 例の症例参加があり、用量規定毒性を認めなかった。今後、投与レベル 2 での試験が行われる。

D. 考察

日本において小児 ALL の年間発症数は 400～500 例であり、これらのうち 10～20%が再発すると予想される。すなわち小児の再発 ALL は年間 40～100 例の発症が見込まれる、希少疾患である。第一再発 ALL の予後は再発時期、再発部位、免疫学的分類によって層別化され、比較的予後良好な標準リスク群では、REZ-BFM 2002 や ALL-R3 といった現時点で標準的と考えられる治療により 70%の第二寛解生存率が期待できる。この群では、現在行われている治療を基に、より安全で長期毒性の少ない治療法を開発するために研究が進められている。一方で、第一再発 ALL の約半数と第二以降再発 ALL、造血細胞移植後再発例からなる高リスク群症例において予想される生存率は 20～30%であり、現時点で有望な標準的治療は存在しない。高リスク群に対しては、新規薬剤の導入も含めた新しい治療法の開発が必要である。このように小児の再発 ALL は、予後因子によって層別化され、それぞれ異なった方針に基づく治療法の開発が必要である。もともと希少疾患である小児の再発 ALL において、それぞれのリスクに応じた臨床試験を行うためには、必要な症例数を集積するという点で日本国内だけで完結するのは

困難である。今後、このような希少疾患に対する治療開発を行う上で国際共同研究が重要になると考えられる。IntReALL SR 2010 臨床試験は JPLSG が参加するはじめての国際共同 ICH-GCP 準拠試験であり、この臨床試験を通じて、国際共同研究の基盤整備が期待される。

E. 結論

小児の再発 ALL に対し、そのリスクに応じた臨床試験、臨床研究を実施した。ALL-R08 研究は現在、追跡期間中であり、今後、成績の最終解析が行われる。ALL-RT11 は再発 T 細胞性 ALL に対する第 I/II 相臨床試験であり、現在、第 I 相試験の途中である。標準リスク群患者に対する国際共同研究である IntReALL SR 2010 臨床試験が開始された。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし。

2. 学会発表

JPLSG ALL-R08-I 観察研究高リスク群 (S3/4) における中間解析結果
植木英亮、小川千登世、西眞範、望月慎史、後藤裕明 第 56 回日本小児血液・がん学会学術集会 2014 年 岡山

G. 知的財産権の出願・登録状況

予定なし。

引用文献

1. Bhojwani D, Pui CH. Relapsed childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet Oncol.* 14:e205-17, 2013
2. Eckert C, von Stackelberg A, Seeger K, Groeneveld TW, Peters C, Klingebiel T,

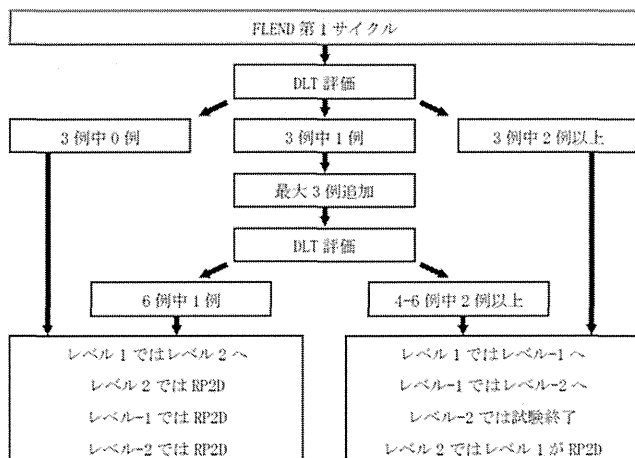
Borkhardt A, Schrappe M, Escherich G, Henze G. Minimal residual disease after induction is the strongest predictor of prognosis in intermediate risk relapsed acute lymphoblastic leukaemia - long-term results of trial ALL-REZ BFM P95/96. Eur J Cancer. 49:1346-55, 2013

3. Eckert C, Henze G, Seeger K, Hagedorn N, Mann G, Panzer-Grümayer R, Peters C, Klingebiel T, Borkhardt A, Schrappe M, Schrauder A, Escherich G, Sramkova L, Niggli F, Hitzler J, von Stackelberg A. Use of allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation based on minimal residual disease response improves outcomes for children with relapsed acute lymphoblastic leukemia in the intermediate-risk group. J Clin Oncol. 31:2736-42, 2013

4. Parker C, Waters R, Leighton C, Hancock J, Sutton R, Moorman AV, Ancliff P, Morgan M, Masarekar A, Goulden N, Green N, Révész T, Darbyshire P, Love S, Saha V. Effect of mitoxantrone on outcome of children with first relapse of acute lymphoblastic leukaemia (ALL R3): an open-label randomised trial. Lancet. 376:2009-17, 2010

図 2

ALL-RT08 臨床試験における用量決定方法



※RP2D: recommended phase2 dose (推奨用量)

表 1

ALL-RT11 における投薬量

投与レベル	症例数	ネララビン	フルダラビン	エトポシド
第 I 相				
-2	3-6	650	20	50
-1	3-6	650	20	75
1	3-6	650	30	75
2	3-6	650	30	100
第 II 相	22-25	650	RP2D	RP2D

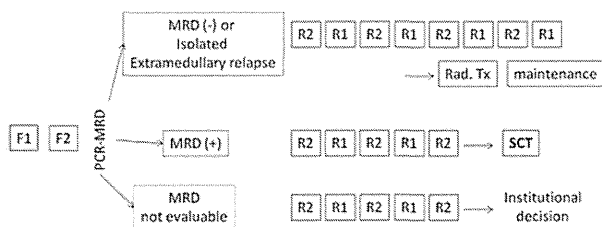
図 1

ALL-R08-II 臨床試験の概略

PROTOCOL OUTLINE:

R08-II

- Patients with non-T, intermediate risk of first relapse ALL



小児造血器腫瘍（リンパ系腫瘍）に対する標準治療確立のための研究
急性リンパ性白血病における遺伝子増幅法による微小残存病変の診断の確立

担当責任者 堀 壽成 愛知医科大学小児科 准教授（特任）

研究要旨

小児急性リンパ性白血病（ALL）の治療成績は近年めざましい向上を遂げ、長期無イベント生存率が約 80%まで達したが、その主たる要因に微小残存病変（Minimal Residual Disease: MRD）の定量値による治療層別化が挙げられる。本研究は、わが国の本疾患における診断・治療に必要な、質の高い MRD に関する情報を供給し得る分子生物学的診断システムを確立するため、遺伝子増幅法による免疫受容体遺伝子再構成を用いた MRD 定量を世界標準レベルの精度で行い、その際検出される遺伝子再構成の検出率および RQ-PCR への適応性に関する評価を行うものである。

A. 研究目的

本研究は、わが国の小児における急性リンパ性白血病における、免疫受容体遺伝子再構成を用いた遺伝子増幅法による微小残存病変（MRD）定量により、本疾患の各サブタイプの治療研究における診断・治療に必要な質の高い情報を供給し得る分子生物学的診断システムを確立することを目的とする。

B. 研究方法

小児急性リンパ性白血病の初診時白血病細胞より DNA を抽出し、Ig/TCR 遺伝子の既知の遺伝子再構成について PCR を用いて増幅、得られた産物のクロナリティを heteroduplex analysis にて確認後、モノクローナルと判断された産物のシーケンス解析を行い、データベースとの比較により特異的と確認できた配列を元に症例特異的プライマーを設計する。これを用いて、治療後寛解と判断された骨髄検体の DNA を

RQ-PCR にて増幅し、MRD を定量する。また、本法については欧州 BFM グループの専門研究機関（EuroMRD）の Quality Control Round に毎年参加して、定量精度の維持とさらなる定量技術の改善を試みる。

（倫理面への配慮）

本研究で行った臨床検体を用いた実験は、関連法規を遵守し、倫理委員会ならびに実施機関長の承認を経た上で、検体提供者への人権擁護、個人情報保護に細心の注意を払って実施した。

C. 研究結果

平成 26 年 4 月から 27 年 1 月において、当施設では合計 86 例の JPLSG 治療研究登録症例の骨髄・末血検体について RQ-PCR による Ig/TCR 遺伝子再構成を用いた MRD 定量を施行した。その内訳は、T-ALL (T-11) 69 例（若年成人 11 例を含む）、乳児白血病

(MLL) 16例、再発 ALL (IntReALL) 1例で、その解析状況は、定量完了 36例、定量不能 27例 (再構成検出不能 23例、定量感度不足 4例)、定量用検体待ち (再構成スクリーニング完了) 23例であった。検出された再構成は計 118で、その内訳は IgH 17、TCR γ 39、TCR δ 21、TCR β 35、Sil-TAL 6であった。また定量完了例において、その定量感度は全例で 10の-4乗以下を示し、10の-4乗 14例、10の-5乗 22例であった。

D. 考察

本年度われわれは JPLSG における ALL の治療研究に基づいて、T-ALL、乳児白血病、再発 ALL のそれぞれについて MRD 定量を行った。定量用検体が提出された症例では、全例で定められた期間内に結果を得ることが可能で、プロトコルの運用に支障ないことが確認できた。また、必要とされる 10の-3乗以下の定量感度を全例でクリアし、その定量精度にも問題ないものと考えられた。しかしながら再構成の検出頻度は全体で 73.3%で、その内訳は T-ALL で 77.0%で従来のレベル、MLL では 64.7%と低い傾向がみられ、研究全体でのより詳細な検討が必要と考えられた。今後の解析症例の蓄積と EuroMRD への参加による、定量水準の維持と改善の必要性が示唆された。

E. 結論

本年度われわれは JPLSG における ALL の治療研究に基づいて MRD 定量を行い、治療研究計画の遂行に必要な水準の MRD 情報を遅滞なく供給でき得ることを確認した。しかし、特に乳児白血病における遺伝子再構成検出頻度の低値が課題と考えられ、精度管理とともにその改善が求められる。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) ALL の微小残存病変の評価と活用法
堀壽成. 血液内科 68:210-219. 2014

2. 学会発表

1) Applicability of Ig/TCR gene

rearrangements for RQ-PCR based MRD quantification in adult ALL.

堀壽成、山田朋美、横田昇平、鶴澤正仁、渡辺新、菊田敦. 第 76 回日本血液学会学術集会.

2) Analysis of MRD time-point in the CCLSG

ALL2004 study. 堀壽成、山田朋美、横田昇平、鶴澤正仁、渡辺新、菊田敦.

第 56 回日本小児血液・がん学会学術集会.

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

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

小児造血器腫瘍（リンパ系腫瘍）に対する標準治療確立のための研究
急性リンパ性白血病におけるフローサイトメトリー法による微小残存病変の診断の確立

担当責任者 出口隆生 三重大学医学部附属病院小児科 講師

研究要旨 小児急性リンパ性白血病（ALL）におけるフローサイトメトリー法を用いた微小残存病変（FCM-MRD）検出システムを確立するため、小児白血病治療研究において FCM-MRD の測定を行った。平成 27 年 1 月までに再発 B 前駆細胞性（BCP）ALL 全国共同臨床試験 ALL-R08 では 80 例、のべ約 400 ポイントで、乳児 ALL 臨床試験 MLL-10 では 68 例、のべ約 230 ポイントの測定を実施し、1 例のみ途中で測定不能となった症例を認めた。T 細胞性（T-）ALL および BCP-ALL の初発例に対する臨床試験 ALL-T11・ALL-B12 では 4 カラー法を改良した 6 カラー法を用いて解析を行い、平成 27 年 1 月までに各々 49 例・171 例、各々約 190 検体・約 680 検体の解析を行った。現在、順次解析中であり、今後 PCR とのデータ比較を行うことで相関を確認し、PCR 法が適用出来ない症例やポイントでの実施可能性を検討する。

A. 研究目的

小児 ALL 治療における最も強力な予後因子のひとつが微小残存病変（MRD）であることは、ドイツの BFM グループやアメリカの St. Jude 小児病院、イギリスの UKALL 等、欧米の治療研究により初発例・再発例で共に有用性が示されている。しかし我が国における小児 ALL 全国共同臨床試験では、未だ ALL 症例のごく一部で臨床応用が開始されたのみであった。

日本小児白血病リンパ腫研究グループ（JPLSG）を母体とした全国的規模での臨床研究・診断検討の普及により、平成 22 年度から JPLSG が主体となって小児白血病の包括的診断・検体保存に関する臨床研究が開始され、初期診断は体制がかなり整いつつあるものの、MRD 測定システムの確立は未だ十分ではなく、切迫した課題であった。

平成 21 年 6 月の小児再発 BCP-ALL 治療研究 ALL-R08 に引き続き、平成 23 年 3 月には乳児

ALL 臨床試験 MLL-10 が、平成 24 年 1 月には小児・若年 T-ALL 臨床試験 ALL-T11 が、平成 24 年 11 月から小児 BCP-ALL 全国共同治療研究 ALL-B12 が、平成 25 年から小児 Ph 染色体陽性 ALL 臨床試験 ALL-Ph13 が開始されてきた。これらの臨床試験では MRD を積極的に測定し、我が国のデータを蓄積させることで将来の臨床応用に備える目的がある。

MRD 測定にはフローサイトメトリー（FCM）と PCR による 2 つの方法があり、我々は FCM を用いた免疫学的手法の確立を目的としている。すでに平成 14 年度から FCM-MRD 研究の先駆者である St. Jude 小児病院の Dr. Campana らと協力し、予備的検討を行ってきた。これまで BCP および T 細胞性（T-）ALL の初発例・再発例を中心に基礎的検討を行った上で、平成 21 年度以降、前述の全国規模の小児白血病臨床試験の中で前向き研究を開始している。この分担研究は、我が国において全国規模での

FCM-MRD 測定を永続的な体制として確立するために必要な条件を明らかにすることが目的である。小児 ALL の大部分を占める BCP-ALL の臨床試験開始後は検体数が飛躍的に増加し、費用面、運用面での問題点が明らかになりつつあるが、今後、臨床成績との関連を明らかにして我が国における実施可能性を検討する。

B. 研究方法

平成21年6月から平成27年1月までの間に、三重大学医学部小児科・JPLSG/日本小児白血病研究会 (JACLS) マーカー解析センターにて再発診断を行った ALL-R08 登録例 80 例と、平成23年1月から平成25年3月までに MLL-10 に登録された 68 例、ALL-T11 に登録された 49 例、ALL-B12 に登録された 171 例において、発症時 (BMA1)、day 8 末梢血 (PB)、day15 骨髄 (BMA2)、寛解導入療法後 (BMA3)、早期強化療法後 (BMA4) の各ポイントについて FCM-MRD の測定を行った。

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

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

3. 各々のプロトコールで規定された採取ポイントの BM・PB を用いて MRD を測定した。フォローアップ検体は単核球分離を行った後、細胞濃度を調整し、検体を調整した。

4. MRD 測定はセントジュード小児病院から報告された 4 カラー FCM-MRD 測定法を基にカスタマイズしたパネルを用い、最大 3 種類のサンプルで測定した。ALL-T11・B12 において

は 6 カラーによる改変法を用いて最大 2 種類のサンプルを用いて測定した。

6. 調整されたサンプルは BD Bioscience 社の FACS Calibur もしくは FACS Canto II FCM にてデータ収集を行い、MRD を解析した。

7. 解析された MRD の結果はデータベースに保存され、後の予後解析のために用いる予定である。ALL-R08 においてはすでに解析が終了した PCR-MRD との間で関連を検討された。

(倫理面への配慮)

すべての検体は各々の臨床試験によって番号化され、連結可能匿名化された状態で解析センターに送付された。臨床情報はデータセンターにて管理されている。

C. 研究結果

(1) PCR-MRD と結果を比較検討した ALL-R08 症例は 42 例であった。FCM-MRD は 0.00%~63.02%、PCR-MRD が 0.00%~88.00% (8.8×10^{-1}) であった。BMA3 における移植適応判定に用いるカットオフ 0.1% (1.0×10^{-3}) 未満の症例数は、FCM-MRD で 19 例、PCR-MRD で 19 例であった。カットオフ値を挟んで判定が異なっただの 1 例は FCM が 0.08%、PCR が 0.10% (1.0×10^{-3}) であり、値は非常に近かった。もう一例は FCM-MRD が 19.3% であるにも関わらず、PCR-MRD は陰性を示した。BMA3 での診断一致率は約 89.5%、42 例全体での相関係数は 0.8203 であった。なお、PCR で陰性であった症例のうち 2 例で FCM 陽性を示す症例があり、今後予後解析により、それらの臨床的意義が検討される。

(2) FCM-MRD の測定上問題となった症例は、正常細胞と発現が近く、immunophenotypic shift を来した症例が 1 例、およびもともと正常と発現のほとんど変わらなかった 9 例

(MLL-10 4例、T-ALL 2例、BCP-ALL 3例)を除いた358例でMRDの評価可能であった。なお、検体作成不可能であった症例がのべ10検体以上存在し、それらは凍結や高温などの要因によって検体到着時、すでにダメージのあった症例のみであった。

(3)臨床経過との関係：ALL-R08でMRDのSerialな解析結果を症例毎に検討した。臨床最も重要と考えられるBMA3の測定を行った59例中、BMA3でMRDが陰性となった症例は17例あり、その中でBMA5の測定を行った12例全てがMRD陰性を維持していた。BMA3で移植適応とならない0.1%未満のMRDを検出した13例では、BMA5を測定した11例中10例がBMA5でMRDが陰性化した。しかしながらBMA3で0.1%から1%のMRDを検出した12例では、BMA5を測定した11例中4例のみがMRD陰性化したのみであった。またBMA3で1%以上のMRDを検出した17例では、BMA5を測定した11例中MRDが陰性化したのは2例のみであった。

(4)BCP-ALL、T-ALLにおいては現在解析が進行中であり、平成27年度中には解析を終了した上で、PCR-MRDとの比較検討が行われる予定である。

D. 考察

ALL-R08臨床試験において平成25年3月までにBMA3までの解析が終了している55例では、引き続き再発診断時の表現型が、正常Bリンパ球前駆細胞に近い白血病も含まれていたものの、治療早期(BMA2~BMA3)では免疫学的表現型が正常に近くても比較的容易に検出され、パイロット研究と同様の結果であった。MRD量が多めの1例で判定が難しかったが、PCR法の結果と比較することで、実際にはほとんど全てがMRD細胞であると確認できた。

臨床経過との関係では、化学療法群となる低

MRD症例は継続的にMRDが陰性化していることが確認できた。さらにはBMA3でMRDが陽性でも、その後MRDが陰性化する症例を認めた。これらの症例が造血細胞移植でレスキューされる症例(およそ20~30%)と一致するかどうかは非常に興味深く、最終的な予後との相関の解析が待たれる。

ALL-R08ではPCR-MRDとの相関を検討してきているが、一貫して良好であると考えられた。若干FCM-MRDが低い値を示す傾向があり、また2例において、PCRでは陰性、FCMでは陽性となる値を示した症例が存在したが、結果が全く乖離していることから、TCR/IgH再構成バンドがポリクローナルであり、PCRプライマーとして不適切なクローンを選択してしまった可能性が高いと考えられた。MLL-10臨床試験では、MLL遺伝子再構成を有する乳児白血病特有の表現型に合わせて、7.1(NG2)やCD133などの検査項目を加えて検討を行ったが、平成27年1月までに検討を行った42例のうち4例で正常BCPと同様の抗原発現パターンのため、MRDの評価が困難であった。核型の分析ではこれら4例はすべてt(9;11)転座を有したCD34陰性ALLであり、この疾病亜群におけるMRD測定の改良が必要と考えられた。

T-ALLでは、TdT陰性化による測定不能を避けるため、6-color化およびCD99による検討を追加して解析を開始した。この2種の抗原解析でほとんどの症例はMRDフォローが可能であったが、2例においてターゲットの設定が困難でありフォロー不可能と判断した。この2例はともに $\gamma\delta$ 型T細胞受容体が陽性である特殊なタイプで、乳児におけるt(9;11)転座同様、この疾病群における測定系の改良が必要と考えられた。

BCP-ALLでは、4カラーで検討していたCD38とCD58などの抗原を複数組み合わせることで、

検討項目数を減らす試みを行ったが、正常と表現型が似た症例の 3 例で継続的フォローが困難であった。

現在、T-ALL/BCP-ALL では、PCR-MRD との相関や他の検査施設との相関など QC 的な検討を行った上、予後との検討を行っていく予定である。

FCM-MRD の測定機器は年々改良が重ねられ、マルチカラー化が進んできたが、ここ数年は St. Jude 小児病院では ALL は 7 カラー、AML は 8 カラーでの検討が主体となっている。また I-BFM では EuroFlow コンソーシアムによって定められた 8 カラーパネルによって診断と MRD 評価を一体化させている。現在、三重大学小児科では BCP-ALL では 7 カラー、T-ALL では 8 カラーの St. Jude 小児病院と同一のパネルを使用した解析の準備を終え、平成 27 年度中には移行予定である。

2014 年中に三重大学では診断検体も含め、年間 1,400 検体余りの FCM 解析を行っているが、今後、我が国の FCM-MRD 評価体系をどのように進めていくかは、医療を取り巻くインフラや診療報酬体系の改革も必要である。多次元フローサイトメトリーによる小児白血病診断や、FCM-MRD を保険収載された一般的な検査とまでするにはいまだいくつかの課題があるが、本研究によって確実に進捗を得られたと考える。

E. 結論

1. FCM を用いた MRD は、再発 ALL 臨床試験 ALL-R08 で、治療選択への評価ポイントである BMA3 では臨床試験に用いられている PCR-MRD と非常に高い相関を示した。

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

3. R08 臨床試験では、BMA3 で高い MRD を示しても、その後陰性化する症例を認め、それら

が移植によって救済された例であることを臨床的予後と検討する必要がある。

4. T-ALL・BCP-ALL における 6 color 解析の有用性が示され、全国規模で実施中である。

5. 平成 25 年度に ALL の FCM-MRD を 7/8 カラーパネル化への準備を終え、27 年度から変更予定である。4/6 カラーで追跡が困難であった症例での改善が期待される。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Yano M, Imamura T, Asai D, Moriya-Saito A, Suenobu S, Hasegawa D, Deguchi T, Hashii Y, Kawasaki H, Hori H, Kosaka Y, Kato K, Horibe K, Yumura-Yagi K, Hara J, Matsumoto K, Kiyokawa N, Oda M, Sato A; Japan Association of Childhood Leukemia Study. An overall characterization of pediatric acute lymphoblastic leukemia with 2 overexpression. *Genes Chromosomes Cancer*. 2014, 53(10): 815-823.

2. Kobayashi R, Takimoto T, Nakazawa A, Fujita N, Akazai A, Yamato K, Yazaki M, Deguchi T, Hashii Y, Kato K, Hatakeyama N, Horibe K, Hori H, Oda M; Lymphoma Committee, Japanese Association of Childhood Leukemia Study.

Inferior outcomes of stage III T lymphoblastic lymphoma relative to stage IV lymphoma and T-acute lymphoblastic leukemia: long-term comparison of outcomes in the JACLS NHL T-98 and ALL T-97 protocols. *Int J Hematol*. 2014, 99(6): 743-749.

3. Asai D, Imamura T, Yamashita Y, Suenobu

S, Moriya-Saito A, Hasegawa D, Deguchi T, Hashii Y, Endo M, Hatakeyama N, Kawasaki H, Horii H, Horibe K, Yumura-Yagi K, Hara J, Watanabe A, Kikuta A, Oda M, Sato A; Japan Association of Childhood Leukemia Study (JACLS) & Children's Cancer and Leukemia Study Group (CCLSG).

Outcome of TCF3-PBX1 positive pediatric acute lymphoblastic leukemia patients in Japan: a collaborative study of Japan Association of Childhood Leukemia Study (JACLS) and Children's Cancer and Leukemia Study Group (CCLSG).

Cancer Med. 2014, 3(3): 623-631.

2. 学会発表

1. Relationship between Immunophenotype and Clinical Manifestations in Infant.

Takao Deguchi, Daisuke Tomizawa, Nobutaka Kiyokawa, Keizo Horibe, Yoshihiro Komada
第56回日本小児血液・がん学会学術集会（岡山），2014年11月29日

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

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

小児造血器腫瘍（リンパ系腫瘍）に対する標準治療確立のための研究
次世代シーケンサーを用いた急性リンパ性白血病の微小残存病変（MRD）の解析

担当責任者 東京医科歯科大学 発生発達病態学分野 高木正稔

研究要旨

白血病微小残存病変 MRD は治療法を選択するうえで非常に重要な情報となる、現在までフローサイトメトリーや PCR を用いた方法が行われてきたが、現在の解析方法は検出感度、手技の煩雑さから、満足すべき検査方法とはなっていない。本研究では次世代シーケンサーを用いた MRD 測定方法を確立する。

A. 研究目的

白血病微小残存病変 MRD は治療法を選択するうえで非常に重要な情報となる、現在までフローサイトメトリーや PCR を用いた方法が行われてきたが、現在の解析方法は検出感度、手技の煩雑さから、満足すべき検査方法とはなっていない。表 1 にこれまで行われている MRD 解析方法の比較をまとめる。

表 1

方法	感度	利点	弱点
Flow cytometry	10 ⁻⁴ ～ 10 ⁻⁵	簡単、早い	発現している抗原によりできないことがある、スタンダードがない
RQ-PCR Ig/TCR	10 ⁻⁴ ～ 10 ⁻⁵	豊富な経験があるQCのスタンダードがある	手間がかかる
RQ-PCR Fusion mRNA	10 ⁻⁴ ～ 10 ⁻⁵	簡単	mRNA の判断なので、本当に MRD を反映しているのか？

PCR and NGS	10 ⁻⁵ ～ 10 ⁻⁶ ??	比較的簡単	コストパフォーマンスが悪い？
-------------	---	-------	----------------

本研究では次世代シーケンサーを用いた MRD 測定方法を確立し、その有用性を臨床検体を用いて解析する。

B. 研究方法

- 1、骨髄サンプルより、ゲノム DNA を調整し、IGH および TCR の遺伝子領域を次世代シーケンス様にアダプター配列を付加した共通および領域特異的プライマーを用いて増幅し、次世代シーケンサーを用いて解析する。
- 2、白血病細胞を正常骨髄と希釈系列を作成し混和し、最小検出限界を測定する。
- 3、臨床検体を用い、初発時、寛解導入療法中、寛解導入療法終了後の検体を解析する。

（倫理面への配慮）

ヒト検体を扱う研究であり、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針、臨床研究に関する倫理指針を遵守し、研究計画「課題番号：194 次世代シーケンサーを用いた微小残存病変

(MRD)解析技術の確立」として学内倫理委員会承認を得た。

C. 研究結果

臨床研究計画を策定し、研究計画「課題番号：194 次世代シーケンサーを用いた微小残存病変(MRD)解析技術の確立」として学内倫理委員会承認を得た。

次世代シーケンサーを用いた MRD 解析がどの程度の感度で白血病細胞を検出できるか、正常骨髄と希釈系列を作成し混和し、最小検出限界を測定する。研究計画に同意の得られた検体を用いて、初診時に得られた B 前駆細胞型急性リンパ性白血病細胞を正常骨髄と表 2 の割合で混和し、そこからゲノム DNA を抽出し、次世代シーケンサーを用いた解析を開始した。

表 2

leukemic cell (number)	WT cell (number)
1x10e7	0
1x10e6	9x10e6
1x10e5	9.9x10e6
1x10e4	1x10e7
1000	1x10e7
100	1x10e7
10	1x10e7
1	1x10e7
0	1x10e7

研究計画に同意の得られた 3 症例での初診時、および、寛解導入療法中、寛解導入療法終了後の骨髄単核球からゲノム DNA を抽出し、次世代シーケンサーを用いた解析を開始した。

D. 考察

次世代シーケンサーを用いた MRD 解析は比較的簡単に行えると考えられるまた、しかし解析にかかる費用が高額なことが問題点と考え

られる。今後の研究で、コストに見合う有用性、利便性であるか検討していく。

E. 結論

次世代シーケンサーを用いた MRD 解析開始した。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
2. 実用新案登録
3. その他

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

小児造血器腫瘍（リンパ系腫瘍）に対する標準治療確立のための研究

小児悪性リンパ腫の標準治療の確立

担当責任者 札幌北榆病院小児思春期科 小林良二

研究要旨 小児リンパ腫の本邦における標準治療を確立するために小児白血病研究会、さらに発展して小児白血病リンパ腫研究グループとして治療研究を行いリンパ芽球性リンパ腫においては欧米の報告と異なり病期 III が予後不良であることが明確となった。一方、成熟 B 細胞性リンパ腫においては海外の標準的な治療にて治療成績の向上を望めることが明らかとなった。両者の結果より、今後の我が国の現状に即した治療研究開発を推進する予定である。

A. 研究目的

小児のリンパ腫は小児がん全体の 10%前後と必ずしも多くなく、非ホジキンリンパ腫(NHL)が多くを占め、海外の小児の疫学データとは大きく異なっている。また成人においては、様々な病型があるのに対して小児 NHL ではリンパ芽球性リンパ腫・びまん性 B 細胞性大細胞リンパ腫・バーキットリンパ腫・未分化大細胞リンパ腫の 4 型で 90%をしめており大きく異なる。このため、本邦の小児悪性リンパ腫の標準的治療の確立が強く求められている。従来の研究で欧米小児との類似点・相違点が明らかとなりつつあり新たな治療研究で予後因子を明らかにすることによりさらなる治療成績の向上、予後良好の症例においては医療費軽減が見込まれる。本研究は小児悪性リンパ腫に対して晩期合併症軽減と高い長期生存率が見込める標準治療を確立するために、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する。

B. 研究方法

従来行われた小児白血病研究会(JACLS)および日本小児白血病リンパ腫研究グループ(JPLSG)におけるリンパ腫治療研究(NHL-T98、ALB03、B-NHL03)において治療成績の解析に加え予後因子や治療の安全性を確保するための解析を加えた。

（倫理面への配慮）

本治療研究は研究代表者施設での IRB 審査を受けた後、参加各施設の IRB 審査を行い、さらに患者家族(可能であれば患者本人)の文書での同意の下に行われた。

C. 研究結果

B-NHL03 においては 321 例が登録され 4 年生存率が 92.7%で、4 年無イベント生存率が 87.4%であった。進行病期のグループ 3,4 においても 4 年無イベント生存率は、それぞれ 84%、78%と比較的良好な成績が示された。

一方、JACLS NHL-T98 研究では、T リンパ芽球性リンパ腫の病期 III の成績が病期 IV や急性リンパ性白血病に劣ることが示された。すなわち、5 年無イベント生存率が前者は 44.4%であるのに対して後者はそれぞれ 70.0%、70.7%で

あった。このことから本邦の T リンパ芽球性リンパ腫の性質が欧米のものとは異なる可能性も考えられた。

ALB03 研究においてもやはり JACLS NHL-T98 研究と同様に病期 III の成績が劣る傾向があり (5 年無イベント生存率病期 III:70.6%,病期 IV 88.9%)、前述の可能性が示唆された。

D. 考察

小児リンパ腫は本邦における成人あるいは海外の小児と全く同じ病気とは言い切れない部分がある。同様の治療を行っても T リンパ芽球性リンパ腫の病期 III の群は治療成績が改善していない。今後、分子生物学的にもこれらの違いを明確にしていくことが必要である。

E. 結論

治療研究により成熟 B 細胞性リンパ腫においては治療成績の向上を認めた。一方で T 細胞性リンパ芽球性リンパ腫においては十分とはいえない治療成績である。この海外と本邦との違いを明確にしていくことが治療成績の向上、ひいては国民の福祉の改善につながるものと考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

Tsurusawa M, Mori T, Kikuchi A, Mitsui T, Sunami S, Kobayashi R, Takimoto T, Saito A, Watanabe T, Fujimoto J, Nakazawa A, Ohshima K, Horibe K. Improved Treatment Results of Children with B-cell Non-Hodgkin Lymphoma: A Report from the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group B-NHL03 Study. *Pediatric Blood & Cancer* 61: 1215-1221, 2014

Kobayashi R, Takimoto T, Nakazawa A, Fujita N, Akazai A, Yamato K, Yazaki M, Deguchi T, Hashii Y, Kato K, Hatakeyama N, Horibe K, Hori H, Oda M. Inferior outcomes of stage III T lymphoblastic lymphoma relative to stage IV lymphoma and T-

acute lymphoblastic leukemia: Long-term comparison of outcomes in the JACLS NHL T-98 and ALL T-97 protocols. *Int J Hematol* 99: 743-749, 2014

Tsurusawa M, Gosho M, Mori T, Mitsui T, Sunami S, Kobayashi R, Fukano R, Tanaka F, Fujita N, Inada H, Koh K, Takimoto T, Saito A, Fujimoto J, Nakazawa A, Horibe K; for the lymphoma committee of the Japanese Pediatric Leukemia/lymphoma Study Group. Statistical analysis of relation between plasma methotrexate concentration and toxicity in high-dose methotrexate therapy of childhood nonHodgkin lymphoma *Pediatr Blood Cancer* in press

2. 学会発表

Sunami S, Sekimizu M, Takimoto T, Mori T, Mitsui T, Fukano R, Mori T, Kikuta A, Koh K, Imamura T, Saito A, Watanabe t, Ohshima K, Fujimoto J, Nakazawa A, Kobayashi R, Horibe K, Tsurusawa M. Outcome of 136 Children with Advanced Lymphoblastic lymphoma Receiving an BFM-Type Therapy with Intensified Maintenance: A Report from the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group ALB-NHL03 Study. 56th Annual meeting of American Society of Hematology

Fukano R, Sunami S, Sekimizu M, Takimoto T, Mori T, Mitsui T, Mori T, Mitusi T, Mori T, Saito MA, Watanabe T, Ohshima K, Fujimoto J, Nakazawa A, Kiyokjawa N, Kobayashi R, Horibe K, Tsurusawa M. The Clinical Features and Prognosis of Early T-Cell Precursor Subtype of Lymphoblastic Lymphoma in the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group ALB-NHL03 Study. 56th Annual meeting of American Society of Hematology

Osumi T, Sekimizu M, Mori T, Fukano R, Koga Y,

Ueyama J, Tanaka F, Ohki K, Mitsui T, Mori T,
Sunami S, Kada A, Saito MA, 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 Annual meeting of
American Society of Hematology

G. 知的財産権の出願・登録状況

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

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

小児造血器腫瘍（リンパ系腫瘍）に対する標準治療確立のための研究
小児悪性リンパ腫治療研究における標準的診断法の確立

担当責任者 中澤 温子 国立成育医療研究センター病理診断部 部長

研究要旨

臨床研究登録症例の診断の確認、eligibilityの評価を行うため、JPLSG 疫学研究に一次登録された症例について、中央病理診断施設（国立成育医療研究センター病理診断部）において必要な免疫組織化学染色、遺伝子解析を施行後、病理診断報告書を作成し、各施設に送付した。余剰検体は国立成育医療研究センターにて保存した。

A. 研究目的

免疫組織化学染色、遺伝子解析を含めた中央病理診断により、臨床研究登録症例の診断の確認、eligibilityの評価を行う。

B. 研究方法

JPLSG 疫学研究に一次登録された症例について、中央病理診断施設（国立成育医療研究センター病理診断部）に検体を送付する。送付検体は、HE 染色標本 1 枚、ホルマリン固定パラフィン切片未染標本 20 枚、新鮮凍結組織、捺印標本である。中央病理診断施設で必要な免疫組織化学染色、遺伝子解析を施行後、病理診断報告書を作成し、各施設に送付する。余剰検体は国立成育医療研究センターにて保存する。

（倫理面への配慮）

本研究における病理診断は、関連法規を遵守し、倫理委員会の承認を経た上で、検体提供者への人権擁護、個人情報保護に細心の注意を払って実施した。

C. 研究結果

2014 年は臨床的にリンパ腫を疑われた症例

112 例について中央病理診断を行った。

D. 考察

小児リンパ腫では、迅速な治療開始が望まれるため、自施設での確定診断がつく前に中央病理診断施設に検体を送付される場合がある。疑い症例も含めて、中央病理診断を行うことにより、臨床研究への登録促進にも有益と考えられた。

E. 結論

免疫組織化学染色、遺伝子解析を含めた中央病理診断により、臨床研究登録症例の診断の確認、eligibilityの評価を行った。

F. 研究発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

小児造血器腫瘍（リンパ系腫瘍）に対する標準治療確立のための研究
フィラデルフィア染色体陽性急性リンパ性白血病およびフィラデルフィア染色体様急性リンパ性
白血病の標準治療の確立

担当責任者 嶋田博之 慶應義塾大学医学部 小児科 専任講師

研究要旨 本研究の目的は小児の難治性白血病の一つであるフィラデルフィア染色体陽性急性リンパ性白血病（Ph+ ALL）およびフィラデルフィア染色体様急性リンパ性白血病（Ph-like ALL）の標準的な治療法を開発することである。Ph+ ALL に関しては、2013 年 10 月から JPLSG ALL-Ph13 研究を開始した。ALL-Ph13 研究では、小児（1 歳以上 19 歳以下）の初発未治療の Ph+ALL に対してイマチニブ併用化学療法を行い、難治例に対してはダサチニブに変更した強化化学療法を行い、その有効性と安全性を検討することによって、チロシンキナーゼ阻害剤（TKI）の適正使用をめざす。さらには、微小残存病変（MRD）が消失した予後良好が見込まれる群に対しては同種造血幹細胞移植（allo-SCT）を行わないで、Ph+ALL に対する移植適応の条件を検証する。Ph-like ALL に関しては、国内の臨床研究グループの過去の臨床試験に参加した小児 B 前駆細胞性急性リンパ性白血病（BCP-ALL）の患者を対象に、ABL、PDGFRB、JAK2 などのチロシンキナーゼをコードする遺伝子再構成陽性例を同定し、後方視的に疫学調査を行い予後について検討した。

A. 研究目的

小児の難治性白血病の一つであるフィラデルフィア染色体陽性急性リンパ性白血病（Ph+ ALL）およびフィラデルフィア染色体様急性リンパ性白血病（Ph-like ALL）に対する標準的な治療法を開発する

B. 研究方法

1) Ph+ALL (ALL-Ph13 研究)

2013 年 10 月から JPLSG ALL-Ph13 研究（UMIN000011946）を開始した。小児（1 歳以上 19 歳以下）の初発未治療の Ph+ALL に対して、day15 からイマチニブ併用の寛解導入療法（IA）を行い、day33 に効果判定を行う。寛解が確認された症例は、イマチニブ併用の早

期強化療法（IB）に移行し、IB 終了後（TP2）における Ig/TCR PCR を用いた MRD が陰性の場合には、イマチニブ群としてイマチニブ併用の HR ブロック以降の化学療法を行う。寛解導入不能例、TP2 における Ig/TCR PCR を用いた MRD 陽性例、TP2～TP4 における寛解消失/再発例は、ダサチニブ群へ移行する。イマチニブ群もダサチニブ群も HR ブロック終了後（TP5）、Ig/TCR PCR を用いた MRD が陰性であれば移植なし群として化学療法を継続する。イマチニブ群では TP5 における Ig/TCR PCR を用いた MRD 陽性例または寛解消失/再発例はダサチニブ移植あり群へ移行するが、全症例でダサチニブを併用した hyper CVAD を行った後、allo-SCT を施行する。ダ

サチニブ群では TP5 における Ig/TCR PCR を用いた MRD 陽性例は移植あり群として allo-SCT を施行するが、ダサチニブへ変更後の寛解消失/再発例、及びダサチニブ併用強化療法(HR1)終了後までに完全寛解に至らない治療抵抗例は試験治療中止とする。イマチニブ、またはダサチニブの内服は移植なし群では維持療法終了時まで継続し、移植あり群ではダサチニブを前処置開始前々日まで内服、移植後は、移植後 30 日(day30)程度から内服再開し、移植後 365 日(day365)まで継続する。

本試験は、未成年者を対象としている。担当医は、適用法の下で法的な資格のある代諾者から、ヘルシンキ宣言、臨床研究に関する倫理指針、疫学研究に関する指針に従い、インフォームドコンセントを取得することを要する。また、未成年患者が研究参加についての決定等についての意思を表すことが出来る場合は、法的な資格のある代諾者からの同意のほかさらに未成年者である患者の意思を確認すること(インフォームドアセント)を必要とする。

2)Ph-like ALL (予後調査)

国内の臨床研究グループ(JACLS、TCCSG、CCLSG、KYCCSG)に登録され、検体利用に関して既に同意を得られている小児 BCP-ALL 患者を対象に、ABL1、PDGFRB、JAK2 などのキナーゼ関連遺伝子の再構成陽性例を同定し、調査票を用いて後方視的に予後を含めた臨床像の解析を行った。

C. 研究結果

1)Ph+ALL (ALL-Ph13 研究)

2014 年 11 月までの集計では、累積症例数は 23 例であり、予定集積ペースを上回っている。23 症例の診断時年齢は、中央値で 8.8 歳、男女比は、男:女=13:10、初発時骨髄での芽球比

率は、平均で 89.9%であった。重篤な有害事象は 13 症例 21 事象(緊急報告:2、通常報告:19)であった。緊急報告 2 例は、ともに治療中の死亡であり、1 例がイマチニブ併用寛解導入療法(IA)中の原因が特定できない死亡、1 例はイマチニブ/ダサチニブ併用再寛解導入療法(III)1 回目の敗血症による死亡であった。いずれも効果安全性審査委員会に報告し、試験継続可能との委員会判断が認められている。通常報告は、19 事象であり、内容は、GPT 増加 1 事象、フィブリノゲン減少 8 事象、可逆性後白質脳症症候群 1 事象、血清アミラーゼ増加 1 事象、血中ビリルビン増加 1 事象、腎結石 1 事象、髄膜炎 1 事象、低ナトリウム血症 1 事象、敗血症 1 事象であった。Ph+ALL の再発は、集計時点では 1 例もない。

2)Ph-like ALL (予後調査)

解析が可能であった 373 例中 30 例にキナーゼ関連遺伝子の再構成を認め、このうち ABL1 再構成が 4 例、PDGFRB 再構成が 7 例、JAK2 再構成が 3 例含まれた。4 例が初回治療で寛解導入不能で、12 例では一旦は寛解を得たもののその後再発を認めた。30 例の 5 年の EFS、OS はそれぞれ 45.2±20.6%、62.6±14.5%と不良であった。

D. 考察

1)Ph+ALL (ALL-Ph13 研究)

これまで国内では、小児 Ph+ALL に対し全症例に allo-SCT が実施されてきたのだが、ALL-Ph13 研究を遂行することによって、allo-SCT が実施しなくても、治癒する症例が少なからず存在することが証明されるだろう。allo-SCT を回避するための、イマチニブおよびダサチニブの使用法、併用する化学療法の強度、allo-SCT の適応に関する重要なエビデ

ンスが ALL-Ph13 研究から得られることが期待される。

2) Ph-like ALL (予後調査)

ABL1、PDGFRB、JAK2 などのキナーゼ関連遺伝子の再構成陽性 ALL の予後は比較的不良であることが分かった。これらの ALL には、イマチニブ、ダサチニブ、ルキソリチニブといった TKI の効果が期待されるため、初発例を対象とした前方視的な臨床試験を行い、TKI 併用化学療法が予後の改善につながるのかを検証することが必要である。まずは、ABL1/PDGFRB 再構成陽性 ALL に対するダサチニブの保険適応拡大も目指し、再発 ABL1/PDGFRB 再構成陽性 ALL を対象としたダサチニブ併用化学療法の臨床試験を進めていく。

E. 結論

ALL-Ph13 研究は観察期間がまだ短く、まとまった結果が得られていないが、症例集積状況は順調であり、TKI 使用および移植適応の適正化につながる重要な結果が得られることが期待される。また、TKI が併用される化学療法の強度についても、有害事象の種類、有害事象が起こった治療の組み合わせを検証することにより、改善されることが期待される。

Ph-like ALL については、ABL1、PDGFRB、JAK2 などのキナーゼ関連遺伝子の再構成陽性 ALL の解析では、比較的予後不良の結果が得られた。今後は、Ph+ALL に対する治療と同様に、TKI を併用した化学療法の開発を行っていく。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Atsushi Manabe, Hirohide Kawasaki,

Hiroyuki Shimada, Itaru Kato, Yuichi Kodama, Atsushi Sato, Kimikazu Matsumoto, Keisuke Kato, Hiromasa Yabe, Kazuko Kudo, Motohiro Kato, Tomohiro Saito, Akiko M. Saito, Masahito Tsurusawa, Keizo Horibe. Imatinib use immediately before stem cell transplantation in children with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia: Results from Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group (JPLSG) Study Ph+ALL04. Cancer Med. Article first published online: 31 JAN 2015.

2. 学会発表

1. Yuichi Kodama, Atsushi Manabe, Hirohide Kawasaki, Itaru Kato, Keisuke Kato, Atsushi Sato, Kimikazu Matsumoto, Atsushi Kikuta, Takashi Kaneko, Megumi Oda, Akiko Saito, Souichi Adachi, Keizo Horibe, Shuki Mizutani, Hiroyuki Shimada. Salvage therapy for children with relapsed or refractory Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. The 76th Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology. Oct.2014. Osaka.

G. 知的財産権の出願・登録状況

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

小児造血器腫瘍（リンパ系腫瘍）に対する標準治療確立のための研究

小児造血器腫瘍に対する造血細胞移植の標準治療の確立

担当責任者 矢部 普正（東海大学医学部基盤診療学系再生医療科学・准教授）

研究要旨

同種造血細胞移植は化学療法で治癒困難なハイリスク白血病に対して根治を期待しうる治療として広く行われているが、前処置毒性や graft-versus-host disease (GVHD) を始めとする様々な合併症による死亡のリスクも比較的高い。加えてドナー探しに要する時間は、最適な移植タイミングを逃してしまう可能性もある。本研究ではこれらの課題への具体的な対策を立案し、小児リンパ系腫瘍に対する標準的な造血細胞移植療法を確立する。

A. 研究目的

小児のハイリスク白血病の治療において、造血細胞移植は不可欠の治療法であるが、様々な合併症に悩まされることも少なくない。また、特に非血縁ドナーではコーディネートに4ヵ月以上を要することが多く、最適な移植のタイミングを逸する心配もある。

本研究では毒性の少ない移植前処置や、合併症対策を確立し、また生着不全の頻度が高いが移植時期の選択が容易な非血縁臍帯血移植の成績安定を目指すことで、標準的な造血細胞移植療法を確立する。

B. 研究方法

Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Group (JPLSG)登録された症例においてはプロトコルによる移植適応を遵守し、移植療法の詳細は基本的に JPLSG-SCT 委員会による「小児造血細胞移植臨床試験プロトコルマニュアル」に準じて行う。移植時期を最適化するために、早期にドナー候補を検索し、適切な臍帯血があれば、ピックアップしておく。

JPLSG 非登録例においては過去の文献や JPLSG-SCT 委員会による「小児造血細胞移植臨床試験プロトコルマニュアル」を参考に、最適と考えられる移植法を選択し、移植結果をヒストリカルコントロールと比較検討する。移植後早期合併症に共通する血管内皮障害や凝固障害に対しては、リコンビナントトロンボモジュリンを用いた前方視的観察研究を行う。

（倫理面への配慮）

JPLSG のプロトコル対象における造血細胞移植は、東海大学臨床研究審査委員会の承認を得ており、インフォームドコンセントはヘルシンキ宣言に基づいて、文書による同意を得た。

C. 研究結果

本研究は着手されたばかりのため、独自の臨床研究は開始されていないが、移植後早期合併症対策として、リコンビナントトロンボモジュリンを用いた前方視的観察研究の計画書が完成し、プロトコルレビューを経て、小児血液・がん学会倫理委員会に提出する段階となっ

ている。また、今までに JPLSG-SCT 委員会として「小児造血細胞移植臨床試験プロトコールマニュアル」を作成し、造血細胞移植の臨床研究を進めるための基盤整備を進めている。また、臨床研究を遂行するための検査体制の整備として、まず対象症例数の少ない骨髓系腫瘍を対象に、移植後ウイルス感染症のモニタリングとしての real-time PCR や生着判定に必要な short-tandem repeat (STR)法について検討した。

非血縁臍帯血移植については、東海大学小児科での急性リンパ性白血病 (ALL) に対する移植例を見ると、寛解導入療法後早期再発例、Ph 陽性 ALL の再発例、二次性 ALL の成人例、移植後再発の ALL 例などにおいても長期寛解が得られていた。

D. 考察

造血細胞移植は治療に伴うリスクが問題とされてきたが、近年の移植治療の進歩や支持療法の発達により、移植後早期死亡の減少が得られている。しかしながら、重症の血管内皮障害や凝固障害を呈した例では、治療が困難になることも稀ではない。わが国で開発されたリコンビナントトロンボモジュリンは、移植後早期合併症として肝中心静脈閉塞症に対する有効例の報告など、血管内皮障害や凝固障害に対する有用な薬剤となり得る。今後、前方視的観察研究によって、小児造血細胞移植での有用性を検討し、造血細胞移植の標準治療を確立する。

非血縁臍帯血移植は、当初生着不全や感染症の頻度が高いことが問題となり、また GVHD の合併が少ないとされる分、抗白血病効果も弱い可能性が指摘されていた。しかし、今回の東海大学の症例を見ると、再発非寛解例や移植後再発例など、骨髓移植でも治癒困難な例での長期寛解が確認されており、ハイリスクリンパ性

腫瘍に対する治療法として十分期待できるものと考えられた。

E. 結論

同種造血細胞移植は合併症対策を進めることでさらに安全性を高めることができ、非血縁臍帯血移植は十分な治療効果を保ちつつ、速やかな移植を可能にする。

F. 研究発表

1. 論文発表
原著論文；英文
1. Yabe M, Ohtsuka Y, Watanabe K, Inagaki J, Yoshida N, Sakashita K, Kakuda H, Yabe H, Kurosawa H, Kudo K, Manabe A; Japanese Pediatric Myelodysplastic Syndrome Study Group. Transplantation for juvenile myelomonocytic leukemia: a retrospective study of 30 children treated with a regimen of busulfan, fludarabine, and melphalan. *Int J Hematol.* 2014 Dec 11. [Epub ahead of print]
2. Tanjuakio J, Suzuki Y, Patel P, Yasuda E, Kubaski F, Tanaka A, Yabe H, Mason RW, Montañó AM, Orii KE, Orii KO, Fukao T, Orii T, Tomatsu S. Activities of daily living in patients with Hunter syndrome: Impact of enzyme replacement therapy and hematopoietic stem cell transplantation. *Mol Genet Metab.* 2014 Nov 8. pii: S1096-7192(14)00347-3. doi: 10.1016/j.yimgme.2014.11.002. [Epub ahead of print]
3. Kato M, Hasegawa D, Koh K, Kato K, Takita J, Inagaki J, Yabe H, Goto H, Adachi S, Hayakawa A, Takeshita Y, Sawada A, Atsuta Y, Kato K. Allogeneic haematopoietic stem cell transplantation for infant acute lymphoblastic leukaemia with KMT2A