

4) 治療効果と微小残存病変の関連の予備的評価

5) 治療効果と血清抗ALK抗体価の関連の予備的評価

6) 骨の成長への影響の評価

プライマリーエンドポイント：

〔第I相パート〕第II相用量における安全性（用量制限毒性 (dose-limiting toxicity, DLT) 発症数）

〔第II相パート〕奏効率

用法・用量：

〔第I相パート〕試験開始用量は 165mg/m²（最大 250mg/dose）1日2回投与とする。

用量レベルを以下に設定する。

用量レベル	用量 mg/m ² , 1日2回
0	165（最大 250mg）
+1	215
+2	280

各用量レベルの患者数を3例とする。DLTの発症なしの場合には、用量レベルを上昇する。DLTの発症が3例中1例の場合には、同用量レベルにさらに3例の患者を追加する。DLTの発症が6例中1例以下の場合には、用量レベルを上昇する。用量レベル +2

（280mg/m²）において、DLTの発症なし、あるいはDLTの発症が6例中1例以下の場合には、同用量を第II相試験推奨用量として、第II相パートに移行する。DLTの発症が6例中2例以上の場合には、用量レベルを低下する。低下した用量レベルにおいてDLTの発症なし、または1例の場合に、その用量レベルを第II相試験推奨用量として、第II相パートに移行する。その他の場合には試験を終了する。

〔第II相パート〕第I相パートにおいて推奨された用量を第II相用量とする。

目標症例数：

〔第I相パート〕再発または難治性 ALK 陽

性 ALCL 患者、あるいは神経芽腫患者 9~18 例

〔第II相パート〕再発または難治性 ALK 陽性 ALCL 患者 14 例（第I相パートの第II相用量例を含む）

第II相パート症例数設定の根拠：閾値奏効率を 50%、期待奏効率を 89%として、 α を 0.05（両側）、検出力を 90%の設定とした場合の必要症例数は 14 例となる。

D. 考察

希少疾患における臨床研究においては、統計的な検出力が不足する中で個々の患者のリスクを最小限にしていかに治療法開発、エビデンス構築をしていくかが課題である。世界的にも Small clinical trial の問題として検討されている。米国では 2001 年に Institute of Medicine of the national academies (IMO) から Small clinical trials: Issues and challenges、欧州では 2005 年に EMA から Guideline of clinical trials in small populations が公表され、取り組みが進められている。今回は、PMDA 相談の結果をふまえ、第I/II相試験として設定した。

E. 結論

統計的視点から研究計画を検討し、デザインは第I/II相・オープンラベル・非ランダム化試験、および薬物動態試験とし、第I相パートでは第II相試験推奨用量での安全性と薬物動態を確認し、第II相パートでは奏効率などを評価する計画とした。

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 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

再発または難治性小児 ALK 陽性未分化大細胞型リンパ腫に対するクリゾチニブの
第 I/II 相医師主導治験の実施計画（プロトコール）作成研究
－ 試験管理体制の環境整備（薬事対応）－

担当責任者 浅田 隆太 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 室長

研究要旨 医薬品医療機器総合機構（PMDA）における事前面談を 2 回実施し、第 I/II 相医師主導治験の試験デザインにおける検討用法・用量、対象患者等について、相談を行った。相談結果を踏まえて、第 I/II 相医師主導治験の試験デザインをある程度決定することができた。

A. 研究目的

医師主導治験の計画・実施する上で、適切にデザインされた試験とするために、医薬品医療機器総合機構（以下、PMDA）における事前面談、対面助言（薬事戦略相談）を実施することは重要である。本研究では、より適切な試験デザインとするために、PMDA の事前面談を実施することを目的とする。

B. 研究方法

PMDA の事前面談を実施し、その結果を踏まえて、第 I/II 相医師主導治験の試験デザインを決定する。

（倫理面での配慮）

第 I/II 相医師主導治験を実施する際は、「医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令」（GCP）を遵守する。「臨床研究に関する倫理指針」及びヘルシンキ宣言などの国際的倫理原則を遵守する。また、本試験では、小児を対象とすることから、小児においては自発的同意を本人及び代諾者より文書で得る。

C. 研究結果

2014 年 5 月 19 日に PMDA の事前面談を実施した。本事前面談においては、医師主導治験の用法・用量、臨床データパッケージに関する相談事項を基に、PMDA の審査チームと議論を行った。相談事項に関して、開始用量の問題点、既承認の成人用量との関係における考慮すべき点、対象患者の問題点、考慮すべき点等が指摘された。また、相談事項以外に関して、ALK 融合遺伝子陽性の診断法について、問題点、考慮すべき点が指摘された。

上記の問題点を考慮して、第 I/II 相医師主導治験の試験デザインの再考を行った。

再考した試験デザインについて、2015 年 1 月 26 日に再度、事前面談を行った。

本事前面談においては、「第 I 相パートの対象患者について」、「第 I 相パートの用法・用量について」、「ALK 融合遺伝子陽性の判定について」を相談事項として、PMDA の審査チームと議論を行った。それぞれの相談項目に関して、薬事戦略相談の資料作成時の留意点が提示された。また、試験デザインの

大枠は問題がないことが確認できた。

D. 考察

PMDA の 2 回の事前面談において、第 I/II 相医師主導治験の試験デザインについて議論を行うことにより、試験デザインの大枠を決定することができた。しかし、検討用法・用量の妥当性、ALK 融合遺伝子に関する体外診断薬の必要性等、検討すべき内容も明らかとなった。今後、PMDA の薬事戦略相談を実施し、試験デザインを確定し、治験実施計画書を固める必要がある。また、体外診断薬に関しても、検討を行う必要がある。

E. 結論

PMDA の事前面談を 2 回実施することにより、第 I/II 相医師主導治験の試験デザインをある程度決定することができた。

F. 研究発表

1. 論文発表

現時点で該当情報はない。

2. 学会発表

現時点で該当情報はない。

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

現時点で該当情報はない。

2. 実用新案

現時点で該当情報はない。

3. その他

現時点で該当情報はない。

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）

再発または難治性小児 ALK 陽性未分化大細胞型リンパ腫に対するクリゾチニブの
第 I/II 相医師主導治験の実施計画(プロトコール)作成研究
－ 試験実施体制の環境整備 －

業務項目担当責任者 深野玲司 国立病院機構九州がんセンター医員

研究要旨 本研究の目的は、再発または難治性小児 ALK (anaplastic lymphoma kinase) 陽性未分化大細胞型リンパ腫 (anaplastic large cell lymphoma, ALCL) に対するクリゾチニブの第 I/II 相医師主導治験の実施計画 (プロトコール) の作成である。引き続き、医師主導治験、その成果による薬事承認を目標とする。これにより、至適治療が確立されていない小児 ALK 陽性 ALCL 患者に対し、より有効で安全な治療選択肢の提供が期待される。独立行政法人医薬品医療機器総合機構による薬事戦略相談事前面談、海外における同薬剤の開発に関する情報等を踏まえて実施計画の骨子を策定した。試験実施に必要な薬剤提供などの協力を得るために、クリゾチニブの製造販売企業である株式会社ファイザーによる自主研究支援制度に応募した。臨床研究中核病院である名古屋医療センターにおいて試験管理体制の環境整備、および聖マリアンナ医科大学病院、名古屋医療センター、九州がんセンター、国立成育医療研究センターにおいて試験実施体制の環境整備を行った。

A. 研究目的

本研究の目的は、再発または難治性小児 ALK (anaplastic lymphoma kinase) 陽性未分化大細胞型リンパ腫 (anaplastic large cell lymphoma, ALCL) に対するクリゾチニブの第 I/II 相医師主導治験の実施計画 (プロトコール) の作成である。

ALK 陽性 ALCL は若年期に発症年齢のピークを示す非ホジキンリンパ腫であり、国内における小児の年間新規発症数 20 例程度の稀な疾患である。再発または難治性小児 ALK 陽性小児 ALCL に対する治療は未確立であり、造血細胞移植を含むさまざまな治療が選択されているものの、特に従来の化学療法に抵抗性の難治例の予後は

不良である。株式会社ファイザーが開発したザーコリ（一般名：クリゾチニブ）は、ALK の受容体チロシンキナーゼに対する阻害剤であり、国内外で ALK 陽性の切除不能な進行・再発の非小細胞肺癌に対する製造販売が承認されている。クリゾチニブの ALCL に対する開発は途上であり、欧米においても未承認である。米国で行われた小児を対象とした第 I 相臨床試験 (ADV L0912) において、9 例の再発・増悪 ALCL 中、8 例に奏功を認めたことが報告された (Lancet Oncol 14: 472-80, 2013.)。また、15 歳以上を対象とした日本を含む国際第 I 相臨床試験 (A8081013) において、13 例の再発・増悪 ALCL 中、

8 例に奏功を認めたことが報告された (Blood 122: 4342, 2013.)。上記から、国内においても、再発または難治性小児 ALK 陽性 ALCL に対するクリゾチニブの治療開発は必要と考えられる。

本研究により、再発または難治性小児 ALK 陽性小児 ALCL に対するクリゾチニブの第 I/II 相医師主導治験実施計画が作成され、引き続き、医師主導治験、その成果による薬事承認に至ることにより、至適治療が確立されていない再発または難治性小児 ALK 陽性 ALCL 患者に対するより有効で安全な治療選択肢の提供が期待される。

B. 研究方法

1. プロトコール作成

米国で行われた小児を対象とした第 I 相臨床試験 (ADV0912) を参考として、独立行政法人医薬品医療機器総合機構による薬事戦略相談 (事前面談) における指摘事項、海外における同薬剤の開発に関する情報等を踏まえてプロトコールを作成する。

2. 製造販売企業との交渉

クリゾチニブの製造販売企業である株式会社ファイザーに試験薬剤提供などの試験実施に対する協力を依頼する。

3. 研究実施体制の整備

臨床研究中核病院である国立病院機構名古屋医療センターにおいて GCP に対応した本試験の管理体制の環境整備を進める。聖マリアンナ医科大学病院、国立病院機構名古屋医療センター、国立病院機構九州がんセンター、国立成育医療研究センターにおいて、本試験の実施体制の環境整備を進める。

4. 医師主導治験の計画

次年度に医師主導治験に必要な研究費を申請する。

(倫理面への配慮)

本研究で行う臨床試験は

1. ヘルシンキ宣言、および臨床研究に関する倫理指針に則り、患者の利益を最優先に考えて行う。医師主導治験については、「医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令」(GCP 省令、平成 9 年厚生省令 第 28 号)、「医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令の一部を改正する省令」(平成 20 年厚生労働省令 第 24 号)、「医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令」のガイダンス(薬食審査発 12 28 第 7 号、平成 24 年 12 月 28 日)、および「医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令」のガイダンスの一部改正等について(薬食審査発 0404 第 4 号、平成 25 年 4 月 4 日)を遵守して行う。
2. 臨床研究中央倫理審査委員会、および施設倫理委員会の承認を得て実施する。
3. 患者、および患者家族に対し、治療開始前に、統一した治療研究の説明文書を用いて、文書による同意を得る。同説明文では、検査の内容、治療の内容、急性毒性、晩期毒性を含めた副作用について説明を行う。小児においては、年齢に応じた説明を行い、アセントを得る。
4. 個人情報保護を厳重に行い、臨床試験の効果と安全性について第三者の監視のもとで行う。
5. 検体の保存と研究利用について、保存期間を明示し、文書による同意を得た上で匿名化番号を付して厳重な個人情報管理のもとに行う。
6. 遺伝子解析を行う場合は、指針を遵守し、開示請求、苦情、遺伝カウンセリング等に対応できる体制を整備して行う。

C. 研究結果

2014年5月19日に独立行政法人医薬品医療機器総合機構(PMDA)の薬事戦略相談事前面談を実施し、試験デザインおよびALK陽性の診断法について検討した。その結果、当初280mg/m²とした開始用量を165mg/m²に修正した。

2014年12月5日から9日まで第56回米国血液学会学術集会(San Francisco、米国)に出席し、欧米を含む諸外国でのALK阻害剤やその他の新規薬剤についての情報収集および意見交換を行った。再発または難治性ALK陽性ALCLに対する新規薬剤の報告は少数のみであり、特に小児での報告はなかった。成人を含めても、再発または難治性ALK陽性ALCLに対するクリゾチニブをはじめとした新規薬剤の有効性や安全性については、現時点では世界的に未確立の状態である。

2015年1月28日に再度PMDAの薬事戦略相談事前面談を実施し、対象疾患を中心とした試験デザインと薬剤投与量の上限定について検討を行った。また、有効性の効果判定について、中央診断の必要性について検討した。PMDAによる2回の薬事戦略相談事前面談を経て、実施計画骨子を策定した。

2015年1月29および30日にEuropean Intergroup for Childhood non-Hodgkin Lymphoma, EICNHL meeting (Leuven、ベルギー)において、欧州における小児ALCLに対するクリゾチニブの開発計画に関する情報収集を行うとともに、本件を含む日本における取り組みを紹介した。

D. 考察

再発または難治性ALK陽性ALCL患者を対象としたアレセンサ塩酸塩の有効性と安全性を検討する医師主導治験(第II

相)を開始した。ALK陽性ALCLは希少疾患であり、全国からの患者登録を強力に推進する必要があると考えられる。小児および成人の血液腫瘍研究グループとの協力を有機的に行うことが重要である。

欧州においても再発又は難治性ALK陽性ALCLに対するALK阻害剤を用いた臨床試験は計画されておらず、標準的治療は確立していない。本研究により、再発又は難治性ALK陽性ALCLに対する新たな治療法が確立することが期待される。

E. 結論

再発または難治性ALK陽性ALCL患者を対象としたアクリゾチニブの医師主導治験の骨子を策定した。再発または難治性ALK陽性ALCLに対する標準的治療は確立しておらず、欧州においても未だALK阻害剤を用いた臨床試験は実施されていない。2015年度中に医師主導治験の開始を目指す。

F. 論文発表

1. Inagaki J, Fukano R, Noguchi M, Kurauchi K, Tanioka S, Okamura J. Hematopoietic stem cell transplantation following unsuccessful salvage treatment for relapsed acute lymphoblastic leukemia in children. *Pediatr Blood Cancer*. 62:674-679, 2015.
2. Inagaki J, Fukano R, Kurauchi K, Noguchi M, Tanioka S, Okamura J. Hematopoietic stem cell transplantation in children with refractory cytopenia of childhood: single-center experience using high-dose cytarabine containing myeloablative and aplastic anemia

- oriented reduced-intensity conditioning regimens. Leuk Lymphoma. Biol Blood Marrow Transplant. 21:565-9, 2015.
3. Kodama Y, Fukano R, Noguchi M, Okamura J, Inagaki J. Folinic acid after MTX as prophylaxis for GVHD in pediatric bone marrow transplantation. Int J Hematol. 101:92-88, 2015.
 4. 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. Statistical analysis of relation between plasma methotrexate concentration and toxicity in high-dose methotrexate therapy of childhood nonHodgkin lymphoma. Pediatr Blood Cancer. 2014 Oct 30. [Epub ahead of print]
 5. Fukano R, Mori T, Kobayashi R, Mitsui T, Fujita N, Iwasaki F, Suzumiya J, Chin M, Goto H, Takahashi Y, Hara J, Park YD, Inoue M, Koga Y, Inagaki J, Sakamaki H, Adachi S, Kawa K, Kato K, Suzuki R. Haematopoietic stem cell transplantation for relapsed or refractory anaplastic large cell lymphoma: a study of children and adolescents in Japan. Br J Haematol. 168:557-563, 2015.
 6. Nishimura M, Kodama Y, Fukano R, Okamura J, Ogaki K, Sakaguchi Y, Migita M, Inagaki J. Meralgia Paresthetica as a Presentation of Acute Appendicitis in a Girl With Acute Lymphoblastic Leukemia. J Pediatr Hematol Oncol. 2014 Jun 17. [Epub ahead of print]
 7. Mori T, Fukano R, Saito A, Takimoto T, Sekimizu M, Nakazawa A, Tsurusawa M, Kobayashi R, Horibe K. Analysis of Japanese registration from the randomized international trial for childhood anaplastic large cell lymphoma (ALCL99-R1). Rinsho Ketsueki. 55:526-33, 2014.
 8. Fukano R, Nishimura M, Ito N, Nakashima K, Kodama Y, Okamura J, Inagaki J. Efficacy of prophylactic additional cranial irradiation and intrathecal chemotherapy for the prevention of CNS relapse after allogeneic hematopoietic SCT for childhood ALL. Pediatr Transplant. 18:518-253, 2014.
2. 学会
1. Reiji Fukano, Shosuke Sunami, Takeshi Mori, Masahiro Sekimizu, Tetsuya Takimoto, Tetsuya Mori, Tetsuo Mitsui, Akiko M. Saito, Tomoyuki Watanabe, Kouichi Ohshima, Junichiro Fujimoto, Atsuko Nakazawa, Ryoji Kobayashi, Keizo Horibe, Masahito Tsurusawa. 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 ASH Annual Meeting and Exposition, San Francisco, USA, December 6-9, 2014
 2. 深野玲司, 稲垣二郎, 厚井裕三子, 織田信弥, 大野真司, 堀田紀子, 内野真

也，田村和朗，恒松由記子．2歳時より20年間に5重がんを経験したLi-Fraumeni症候群の1女性例、第20回日本家族性腫瘍学会学術集会、福島、2014年6月13日

3. 深野玲司，稲垣二郎，厚井裕三子，織田信弥，大野真司，関友美，堀田紀子，船戸道徳，内野眞也，田村和朗，梶村春彦，恒松由記子．3種類の小児がん罹患を経て左乳腺に乳癌と悪性葉状腫瘍を同時発症したLi-Fraumeni症候群の1例、第56回日本小児血液・がん学会学術総会、岡山、2014年11月29日

G. 知的所有権の出願・取得状況（予定を含む）

1. 特許申請：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

再発または難治性小児 ALK 陽性未分化大細胞型リンパ腫に対するクリゾチニブの
第 I/II 相医師主導治験の実施計画（プロトコール）作成研究
－ 試験実施体制の環境整備 －

担当責任者 大隅 朋生 独立行政法人国立成育医療研究センター
小児がんセンター 血液腫瘍科 医員

研究要旨 再発または難治小児未分化大細胞型リンパ腫に対するクリゾチニブの第 I/II 相医師主導治験の実施計画の作成を目的として、本研究を行った。欧米での国際会議に参加し、計画・実施されている試験に関する情報収集を行った。それらを踏まえて医師主導治験の実施計画を作成し、PMDA への 2 回の事前面談を行い、計画の修正を行った。

A. 研究目的

本研究は、再発または難治小児未分化大細胞型リンパ腫（ALCL）に対するクリゾチニブの第 I/II 相医師主導治験の実施計画（プロトコール）の作成を目的とする。

クリゾチニブ（ザーコリ®）は本邦において ALK 融合遺伝子陽性の非小細胞肺癌に対する薬事承認を有している。また、クリゾチニブは理論的にも、また海外における第 I 相試験から得られた知見からも、小児 ALCL への効果に関して大きな期待が寄せられている薬剤といえる。しかしながら、小児 ALCL は我が国で新規発症が年間 20-40 例程度と非常に希少であり、クリゾチニブの保険承認拡大に関して、企業主導の開発は非常に困難である。そこで本研究では、医師主導第 I/II 相治験の計画をすすめ、クリゾチニブの再発または難治小児 ALCL に対する有効性・安全性を明らかにし、保険承認拡大につなげることを目的としている。

B. 研究方法

再発または難治小児 ALCL に対するクリゾチニブの第 I/II 相医師主導治験を立案する。その後、PMDA への事前面談を行い、試験に関する妥当性に関する議論を重ね、治験実施に向けた準備をすすめる。

（倫理面での配慮）

第 I/II 相医師主導治験を実施する際は、「医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令」（GCP）を遵守する。「臨床研究に関する倫理指針」及びヘルシンキ宣言などの国際的倫理原則を遵守する。また、本試験では、小児を対象とすることから、小児においては自発的同意を本人及び代諾者より文書で得る。

C. 研究結果

2014 年 5 月にチェコ、プラハで行われた 26th Annual Meeting of the International BFM Study Group (iBFM) において、欧州における小児 ALCL に対するクリゾチニブの開発に関する情報収集を行った。

その後、プロトコールの作成をすすめ、

2014年5月19日および2015年1月26日にPMDAの事前面談を行った。事前面談の結果を踏まえて、試験デザインに関して修正を行った。並行して、製薬企業に治験協力の要請を行った。

また、2015年1月にベルギー、ルーベンで行われた the European Intergroup for Childhood NHL (EICNHL)の meeting に参加し、欧州で計画されている試験に関する情報収集を行った。

D. 考察

小児 ALCL に対するクリゾチニブに関しては、米国において第Ⅱ相試験が行われており、その試験において質の高いエビデンスが得られれば、クリゾチニブは再発・難治例のみならず初発例においても、小児 ALCL に対する標準治療における重要な役割を担う薬剤に据えられる可能性がある。我が国とのドラッグラグを最小限とするためにも計画中の医師主導治験を早急に実現することの重要性が再認識された。

一方で、欧州においても小児 ALCL に対するクリゾチニブの試験計画が進められているが、クリゾチニブが成人肺癌での承認が得られていること、小児において肺癌の発症がほとんど見られないこと、から企業の協力が得られず、その計画は難航していることがわかった。

本研究における試験計画については、PMDA の 2 回の事前面談を経て、第 I/II 相医師主導治験の試験デザインを決定することができた。

E. 結論

本研究で計画した治験の早期実現が、ドラッグラグを最小限とするために非常に重要である。本試験の骨格を大枠において定めることができた。

F. 研究発表

1. 論文発表
現時点で該当情報はない。
2. 学会発表
現時点で該当情報はない。

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
現時点で該当情報はない。
2. 実用新案
現時点で該当情報はない。
3. その他
現時点で該当情報はない。

学 会 等 発 表 実 績

委託業務題目「再発または難治性小児ALK陽性未分化大細胞型リンパ腫に対するクリゾチニブの第Ⅲ相医師主導治験の実施計画(プロトコル)作成研究」

機関名 聖マリアンナ医科大学

1. 学会等における口頭・ポスター発表

発表した成果（発表題目、口頭・ポスター発表の別）	発表者氏名	発表した場所（学会等名）	発表した時期	国内・外の別
Relapsed/Refractory Non-Hodgkin Lymphoma in Japan. (口頭発表)	<u>Tetsuya Mori</u>	第56回日本小児血液・がん学会学術集会日米合同シンポジウム（岡山）	2014年11月28日	国内

2. 学会誌・雑誌等における論文掲載

掲載した論文（発表題目）	発表者氏名	発表した場所（学会誌・雑誌等名）	発表した時期	国内・外の別
Statistical analysis of relation between plasma methotrexate concentration and toxicity in high-dose methotrexate therapy of childhood nonHodgkin lymphoma.	Tsurusawa M, Goshō M, <u>Mori T</u> , 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.	Pediatr Blood Cancer.	2014 Oct 30. doi: 10.1002/pbc.25305 . [Epub ahead of print]	国外
Haematopoietic stem cell transplantation for relapsed or refractory anaplastic large cell lymphoma: a study of children and adolescents in Japan.	Fukano R, <u>Mori T</u> , Kobayashi R, Mitsui T, Fujita N, Iwasaki F, Suzumiya J, Chin M, Goto H, Takahashi Y, Hara J, Park YD, Inoue M, Koga Y, Inagaki J, Sakamaki H, Adachi S, Kawa K, Kato K, Suzuki R.	Br J Haematol.	168:557-563,2015.	国外
Improved treatment results of children with B-cell non-Hodgkin lymphoma: A report from the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group B-NHL03 study.	Tsurusawa M, <u>Mori T</u> , Kikuchi A, Mitsui T, Sunami S, Kobayashi R, Takimoto T, Saito A, Watanabe T, Fujimoto J, Nakazawa A, Ohshima K, Horibe K; for the lymphoma committee of the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group.	Pediatr Blood Cancer.	2014; 61: 1215-21	国外

Analysis of Japanese registration from the randomized international trial for childhood anaplastic large cell lymphoma (ALCL99-R1).	<u>Mori T</u> , Fukano R, Saito A, Takimoto T, Sekimizu M, Nakazawa A, Tsurusawa M, Kobayashi R, Horibe K.	Rinsho Ketsueki.	55:526-33,2014.	国内
【小児血液疾患-よくわかる最新知見-】造血器悪性疾患非ホジキンリンパ腫	森 鉄也	小児科	5 卷 11 号 1757-1762, 2014.	国内

(注1) 発表者氏名は、連名による発表の場合には、筆頭者を先頭にして全員を記載すること。

(注2) 本様式はexcel形式にて作成し、甲が求める場合は別途電子データを納入すること。

学 会 等 発 表 実 績

委託業務題目「再発または難治性小児ALK陽性未分化大細胞型リンパ腫に対するクリゾチニブの第I/II相医師主導治験の実施計画（プロトコール）作成研究」

機関名 独立行政法人国立病院機構名古屋医療センター

1. 学会等における口頭・ポスター発表

発表した成果（発表題目、口頭・ポスター発表の別）	発表者氏名	発表した場所（学会等名）	発表した時期	国内・外の別
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、ポスター（ポスター賞受賞）	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	第6回日本臨床試験学会学術集会総会	2015/2/20	国内
CDISC SDTMデータを指標とした収集データ最適化の検討（ポスター）	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	第6回日本臨床試験学会学術集会総会	2015/2/20	国内
小児血液がん領域の臨床試験におけるデータ収集（ポスター）	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	第6回日本臨床試験学会学術集会総会	2015/2/20	国内

学 会 等 発 表 実 績

委託業務題目「再発または難治性小児ALK陽性未分化大細胞型リンパ腫に対するクリゾチニブの第I/II相医師主導治験の実施計画(プロトコールC)作成研究」

機関名 国立病院機構九州がんセンター

1. 学会等における口頭・ポスター発表

発表した成果（発表題目、口頭・ポスター発表の別）	発表者氏名	発表した場所（学会等名）	発表した時期	国内・外の別
2歳時より20年間に5重がんを経験したLi-Fraumeni症候群の1女性例（口頭発表）	深野玲司, 稲垣二郎, 厚井裕三子, 織田信弥, 大野真司, 堀田紀子, 内野眞也, 田村和朗, 恒松由記子	第20回日本家族性腫瘍学会学術集会（福島）	2014年6月13日	国内
3種類の小児がん罹患を経て左乳腺に乳癌と悪性葉状腫瘍を同時発症したLi-Fraumeni症候群の1例（口頭発表）	深野玲司, 稲垣二郎, 厚井裕三子, 織田信弥, 大野真司, 関友美, 堀田紀子, 船戸道徳, 内野眞也, 田村和朗, 梶村春彦, 恒松由記子	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	国内
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.（ポスター発表）	Reiji Fukano, Shosuke Sunami, Takeshi Mori, Masahiro Sekimizu, Tetsuya Takimoto, Tetsuya Mori, Tetsuo Mitsui, Akiko M. Saito, Tomoyuki Watanabe, Kouichi Ohshima, Junichiro Fujimoto, Atsuko Nakazawa, Ryoji Kobayashi, Keizo Horibe, Masahito Tsurusawa.	56th ASH Annual Meeting and Exposition, San Francisco, USA.	2014年12月6日	国外

2. 学会誌・雑誌等における論文掲載

掲載した論文（発表題目）	発表者氏名	発表した場所（学会誌・雑誌等名）	発表した時期	国内・外の別
Hematopoietic Stem Cell Transplantation Following Unsuccessful Salvage Treatment for Relapsed Acute Lymphoblastic Leukemia in Children	Inagaki J, Fukano R, Noguchi M, Kurauchi K, Tanioka S, Okamura J.	Pediatr Blood Cancer.	62:674-679,2015.	国外

Hematopoietic stem cell transplantation in children with refractory cytopenia of childhood: single-center experience using high-dose cytarabine containing myeloablative and aplastic anemia oriented reduced-intensity conditioning regimens.	Inagaki J, <u>Fukano R</u> , Kurauchi K, Noguchi M, Tanioka S, Okamura J.	Biol Blood Marrow Transplant.	21:565-569,2015.	国外
Folinic acid after MTX as prophylaxis for GVHD in pediatric bone marrow transplantation.	Kodama Y, <u>Fukano R</u> , Noguchi M, Okamura J, Inagaki J.	Int J Hematol.	101:92-88,2015.	国外
Statistical analysis of relation between plasma methotrexate concentration and toxicity in high-dose methotrexate therapy of childhood nonHodgkin lymphoma.	Tsurusawa M, Goshō M, Mori T, Mitsui T, Sunami S, Kobayashi R, <u>Fukano R</u> , Tanaka F, Fujita N, Inada H, Koh K, Takimoto T, Saito A, Fujimoto J, Nakazawa A, Horibe K.	Pediatr Blood Cancer.	2014 Oct 30.[Epub ahead of print]	国外
Haematopoietic stem cell transplantation for relapsed or refractory anaplastic large cell lymphoma: a study of children and adolescents in Japan.	<u>Fukano R</u> , Mori T, Kobayashi R, Mitsui T, Fujita N, Iwasaki F, Suzumiya J, Chin M, Goto H, Takahashi Y, Hara J, Park YD, Inoue M, Koga Y, Inagaki J, Sakamaki H, Adachi S, Kawa K, Kato K, Suzuki R.	Br J Haematol.	168:557-563,2015.	国外
Meralgia Paresthetica as a Presentation of Acute Appendicitis in a Girl With Acute Lymphoblastic Leukemia.	Nishimura M, Kodama Y, <u>Fukano R</u> , Okamura J, Ogaki K, Sakaguchi Y, Migita M, Inagaki J.	J Pediatr Hematol Oncol.	2014 Jun 17.[Epub ahead of print]	国外
Analysis of Japanese registration from the randomized international trial for childhood anaplastic large cell lymphoma (ALCL99-R1).	Mori T, <u>Fukano R</u> , Saito A, Takimoto T, Sekimizu M, Nakazawa A, Tsurusawa M, Kobayashi R, Horibe K.	Rinsho Ketsueki.	55:526-33,2014.	国内
Efficacy of prophylactic additional cranial irradiation and intrathecal chemotherapy for the prevention of CNS relapse after allogeneic hematopoietic SCT for childhood ALL.	<u>Fukano R</u> , Nishimura M, Ito N, Nakashima K, Kodama Y, Okamura J, Inagaki J.	Pediatr Transplant.	18:518-253,2014.	国外

Statistical Analysis of Relation Between Plasma Methotrexate Concentration and Toxicity in High-Dose Methotrexate Therapy of Childhood NonHodgkin Lymphoma

Masahito Tsurusawa, MD,^{1*} Masahiko Goshō, PhD,¹ Tetsuya Mori, MD,² Tetsuo Mitsui, MD,³ Shosuke Sunami, MD,⁴ Ryoji Kobayashi, MD,⁵ Reiji Fukano, MD,⁶ Fumiko Tanaka, MD,⁷ Naoto Fujita, MD,⁸ Hiroko Inada, MD,⁹ Katsuyoshi Koh, MD,¹⁰ Tetsuya Takimoto, MD,¹¹ Akiko Saito, MD, PhD,¹² Junichiro Fujimoto, MD,¹¹ Atsuko Nakazawa, MD,¹³ Keizo Horibe, MD,¹² and
for the lymphoma committee of the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group

Background. Plasma monitoring of Methotrexate (MTX) levels is a standard approach to predict MTX-related toxicities in a high-dose (HD) MTX monotherapy for childhood acute lymphoblastic leukemia. However, it is uncertain whether plasma MTX levels can predict MTX-related toxicity in the HDMTX plus additional chemotherapy for childhood B-cell nonHodgkin lymphoma (B-NHL). **Procedures.** To statistically analyze the relationship between MTX pharmacokinetic parameters and MTX-related toxicities, we collected data from patients with delayed MTX elimination ($\geq 1 \mu\text{M}$ at 48 hr and/or $\geq 0.5 \mu\text{M}$ at 72 hr) in the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group (JPLSG) BNHL 03 study. Blood MTX levels were measured at 24, 48, and 72 hr after 3 or 5 g/m² HD-MTX administration for 24 hr. **Results.** Three hundred and four patients received 2–4 courses of the HDMTX plus additional chemotherapy,

and delayed MTX elimination was observed in 165 courses of 127 patients. In those, nephrotoxicity was significantly correlated with plasma MTX levels for each patient ($P=0.03$), and also for each course ($P=0.009$), but no other toxicities were correlated. Another analysis according to HDMTX courses showed no significant correlation between the first high plasma MTX levels and subsequent MTX levels in later course. It also showed that incidence of liver and gastrointestinal toxicities was most frequent in the first HDMTX course, and then sharply decreased in later courses ($P<0.001$). **Conclusions.** Our results suggest that plasma MTX level is not a reliable predictor for adverse events except for nephrotoxicity in multiple HDMTX therapy courses in childhood B-NHL. *Pediatr Blood Cancer* 2015;62:279–284. © 2014 Wiley Periodicals, Inc.

Key words: childhood; HDMTX; nonHodgkin lymphoma; toxicity

INTRODUCTION

In the past two decades, treatment outcome of childhood B-cell nonHodgkin Lymphoma (B-NHL) has been greatly improved by using a short intensive multiagent regimen including high-dose methotrexate (HDMTX), intermediate-dose cyclophosphamide (CPA) and anthracycline [1–4]. Since this treatment rationale is based on rapid elimination of tumor cells with short cell cycle time by subsequent administration of multiple anticancer agents, imprudent prolongation of treatment intervals or dose reduction according to drug toxicity may increase the risk of treatment failure [5–8]. Therefore, the balance between efficacy and adverse events is one of the major clinical challenge to achieve a high cure rate of the disease. Among the multiple drugs, MTX-related toxicity may possibly be predicted based on plasma MTX levels in childhood acute lymphoblastic leukemia (ALL), because HDMTX is used as monotherapy in intensification and maintenance phases [9,10]. However, it might be difficult to predict what kinds of toxicities are associated with plasma MTX levels in a HDMTX plus additional chemotherapy for childhood BNHL, because CPA and anthracycline which are concomitantly used with HDMTX, also induce various toxicities similar to MTX toxicities. In addition, it is unknown whether high plasma MTX level is associated to a particular patient, in other words, the first high MTX level is likely to repeat in later HDMTX courses in a particular patient.

In this study, to answer those clinical issues, we statistically analyzed the relationship between MTX pharmacokinetic parameters and MTX-related toxicities in patients with B-NHL treated by the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group (JPLSG) B-NHL03 protocol study [4].

Additional Supporting Information may be found in the online version of this article at the publisher's web-site.

¹The Advanced Medical Research Center, Aichi Medical University, Aichi, Japan; ²Division of Pediatric Oncology, National Center for Child Health and Development, Tokyo, Japan; ³Department of Pediatrics, Yamagata University Hospital, Yamagata, Japan; ⁴Department of Pediatrics, Japanese Red Cross Narita Hospital, Chiba, Japan; ⁵Department of Pediatrics, Sapporo Hokuyu Hospital, Sapporo, Japan; ⁶Department of Pediatrics, Kushi Cancer Center, Fukuoka, Japan; ⁷Department of Pediatrics, Saiseikai Yokohama Nanbu Hospital, Kanagawa, Japan; ⁸Department of Pediatrics, Hiroshima Red Cross Hospital and Atomic Bomb Survivors Hospital, Hiroshima, Japan; ⁹Department of Pediatrics, Kurume University Hospital, Kurume, Japan; ¹⁰Department of Hematology-Oncology, Saitama Children's Medical Center, Saitama, Japan; ¹¹Clinical Research Center, National Center for Child Health and Development, Tokyo, Japan; ¹²Clinical Research Center, National Hospital Organization Nagoya Medical Center, Nagoya, Japan; ¹³Department of Pathology, National Center for Child Health and Development, Tokyo, Japan

Grant sponsor: Ministry of Health, Labor and Welfare of Japan; Grant numbers: H14-Koka(Gan)-031; H15-Koka(Gan)-024; H16-GanRinsho-004; H17-GanRinsho-004; H20-GanRinsho-Ippan-017; H23-GanRinsho-Ippan-014

Conflict of interest: Nothing to declare.

*Correspondence to: Masahito Tsurusawa, MD, Advanced Research Center, Aichi Medical University, Nagakute, Aichi 480-11, Japan. E-mail: mtsuru@aichi-med-u.ac.jp

Received 22 May 2014; Accepted 15 September 2014

© 2014 Wiley Periodicals, Inc.

DOI 10.1002/pbc.25305

Published online 30 October 2014 in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com).

PATIENTS AND METHODS

Patients and Protocol Treatment

The protocol was conducted in 112 hospitals of the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study group (JPLSG) after approval by each institution's review board, and written informed consent was provided by patients or legal guardians before treatment. A total of 346 untreated B-NHL patients under 18 years of age, were registered to participate in the JPLSG B-NHL03 study (University hospital Medical Information Network Japan, UMIN ID: C000000317) between November 2004 and January 2011. Patients were stratified into four therapy groups (G1, G2, G3, G4) based on Murphy's stage, tumor resectability and BM/CNS involvement. Chemotherapy regimens are shown in supplemental Table SI. HDMTX was administered to patients in regimen A (2A for G2, 3A for G3, and 4A1 and 4A2 for G4). G2 received four courses (2A → 2B, ×2), G3 and G4 received six courses (3A → 3A → 3B, ×2; 4A1 → 4A2 → 4B, ×2) of chemotherapy regimens. Regimen A consisted of HDMTX, dexamethasone, vincristine, intermediate-dose cyclophosphamide (CPA), and pirarubicin (THP-adriamycin, THP). Patients in G2 and G3 received 3 g/m² HDMTX and those in G4 received 5 g/m² HDMTX. HDMTX was administered for 24 hr and intravenous hydration at a rate of 100 ml/m²/hr with 4.3% glucose, NaHCO₃ 33 mEq/L, L-Lactate 20 mEq/L, NaCl 35 mEq/L, and KCl 20 mEq/L was initiated 12 hr before the MTX infusion and was maintained for 48 hr after the infusion. During this period, acetazolamide (125 mg <5 years old or 250 mg ≥5 years old) was administered every 12 hr. Urine pH was checked with each void and a bolus of NaHCO₃ (8.4 mEq in 20 ml) was administered if the pH was <7.0. After 12 hr of MTX infusion, leucovorin (LV) 15 mg/m² was given orally every 6 hr for a total of seven doses. When patients showed high plasma MTX levels (≥0.2 μM) at 72 hr, LV rescue was continued until MTX concentration level decreased to less than 0.2 μM.

Measurements of Plasma MTX Concentration

Plasma MTX concentrations were determined by each institute, and the measurements were performed by a monoclonal antibody-based immunoassay (fluorescence polarization immunoassay, FPIA) in 91 institutes, or by an enzyme multiplied immunoassay technique (EMIT) in 21 institutes. Delayed MTX elimination was defined as plasma MTX concentration ≥1 μM at 48 hr and/or ≥0.5 μM at 72 hr after MTX administration. Since only one third of the data of MTX concentrations at 24 hr after MTX administration (the end of 24-hr infusion) was available and there were also no sufficient sampling points between 24 and 48 hr to calculate the pharmacokinetic parameters of MTX, we could not analyze the appropriate pharmacokinetic parameters including systemic clear-

ance (CLSYS) based on the two-compartmental model. We therefore calculated the basic two parameters of MTX (elimination rate constant (ke) and terminal half-life (t_{1/2})). The terminal slope of MTX concentration (C) versus time (t), which represents ke, was calculated as $ke = [\ln(C_1) \cdot \ln(C_2)] / (t_2 \cdot t_1)$, where C1 and C2 were concentrations at t1 (48 hr) and t2 (72 hr), respectively. The t_{1/2} was calculated by dividing 0.693 by ke.

Statistics

Plasma MTX levels and toxicity data were prospectively collected for each treatment phase and toxicity severity was graded according to National Cancer Institute-Common Toxicity Criteria (NCI-CTC) version 2.0. Continuous variables were summarized as the mean ± standard deviation (SD) or median (minimum, maximum) and categorical variables were presented as numbers and percentages. Correlation between the two variables was estimated by Spearman's correlation coefficient. The plasma MTX concentrations in patients with an adverse event (AE) were compared to those in patients without the AE by using Wilcoxon's rank sum test. In this analysis, one observation for each patient was taken into account. The observation with the AE and the highest concentration at 48 hr was preferentially used if a patient received more than one course and had more than one observation. Furthermore, log-transformed MTX concentrations were compared between patients with and without AE using generalized estimating equations (GEE) method [11] including AE (yes vs. no) and course as factors, in order to take into account repeated measures of the same patient. The presence (≥grade 3) of toxicity (hepatic toxicity, stomatitis, and infection) were analyzed using the GEE with repeated-measures logistic regression model including nephrotoxicity (yes vs. no) and course as factors. We assumed an exchangeable covariance matrix for the repeated-measures in the GEE analyses. All tests were two-sided, and p values less than 0.05 were considered to indicate statistical significance. Statistical analyses were carried out using SAS 9.3 (SAS Institute, Inc., Cary, NC).

RESULTS

Pharmacokinetic Parameters

One hundred twenty seven patients out of a total of 304 patients who received HDMTX therapy showed delayed MTX elimination. MTX concentrations in patients with delayed MTX elimination are summarized in Table I. Percentages of patients with delayed MTX elimination by treatment groups were 26.2% in G2, 40.5% in G3, and 62.2% in G4, respectively. The male to female ratio in patients with delayed MTX elimination was more than double than patients without delayed MTX elimination (107/20 = 5.35 vs. 123/54 = 2.27,

TABLE I. Summary of High Plasma MTX Concentrations at 48 and 72 hr After MTX Dosing*

Group	No. of patients	No. of courses	MTX concentration at 48 hr		MTX concentration at 72 hr	
			Mean ± SD	Median (Min, Max)	Mean ± SD	Median (Min, Max)
2	26	27	2.63 ± 2.25	1.86 (0.99, 11.00)	0.66 ± 0.52	0.61 (0.08, 1.90)
3	45	53	3.41 ± 5.19	1.77 (0.80, 29.70)	1.02 ± 1.55	0.44 (0.17, 8.23)
4	56	85	3.80 ± 6.29	1.82 (0.93, 48.00)	1.06 ± 1.79	0.54 (0.05, 11.00)

* ≥1 μM at 48 hr and/or ≥0.5 μM at 72 hr after MTX administration.

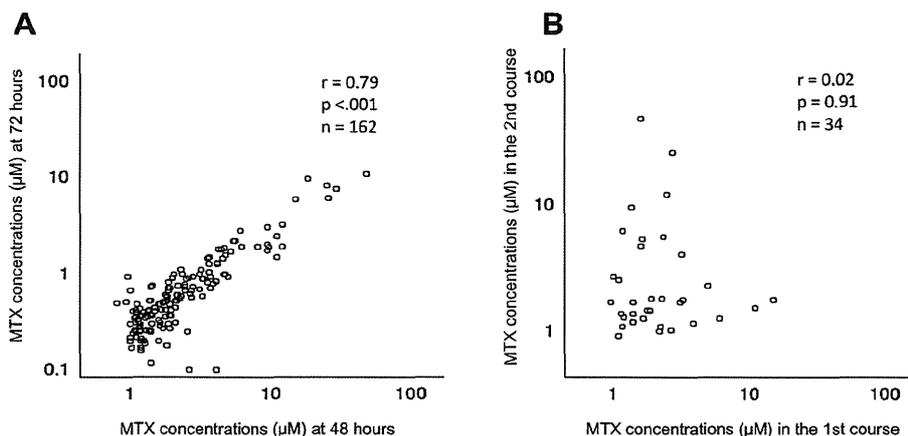


Fig. 1. Correlation between blood MTX concentrations at 48 and 72 hr in patients with delayed MTX clearance (A). Correlation between blood MTX concentrations in first and second courses at 48 hr (B). r denotes Spearman's rank correlation coefficient.

$P = 0.004$ by Fisher's exact test), and the ratios according to treatment group were 5.5 in G2, 10.2 in G3, and 3.6 in G4. Thus, males with G3 showed the highest risk of delayed MTX elimination. However, there was no significant difference in age between the two groups (mean of years 8.8 vs. 8.8). MTX concentrations were widely variable between

patients at either dosage. MTX concentrations at 48 hr ranged from 0.99 to 29.7 μM in the 3 g/m^2 HDMTX group, and 0.93 to 48 μM in the 5 g/m^2 HDMTX group. There was a significantly positive correlation between MTX concentrations at 48 and 72 hr in each patient (Fig. 1A). On the other hand, there was no significant

TABLE II. Relationship Between Plasma MTX Pharmacokinetics (MTX Concentration and MTX Half-Life) and Adverse Events

	Adverse event (number of patients base)			Adverse event (number of courses base)		
	No, n = 118	Yes, n = 9	P^a	No, n = 156	Yes, n = 9	P^b
Nephrotoxicity \geq grade 2^c						
48 hr	1.93 (0.80, 25.50)	6.17 (0.99, 48.00)	0.0307	1.81 (0.80, 25.50)	6.17 (0.99, 48.00)	0.009
72 hr	0.53 (0.08, 9.89)	1.82 (0.35, 11.00)	0.0023	0.50 (0.05, 9.89)	1.82 (0.35, 11.00)	<0.001
$t_{1/2}$ (hr)	12.3 (4.5, 35.4)	14.1 (9.9, 42.6)	0.373	12.7 (4.5, 1571.7)	14.1 (9.9, 42.6)	0.318
	Adverse event (number of patients base)			Adverse event (number of courses base)		
	No, n = 84	Yes, n = 42	P^a	No, n = 120	Yes, n = 44	P^b
Hepatic toxicity \geq grade 3/4^c						
MTX 48 hr	1.98 (0.80, 48.00)	1.91 (0.95, 15.00)	0.65	1.82 (0.80, 48.00)	1.82 (0.95, 15.00)	0.95
MTX 72 hr	0.58 (0.08, 11.00)	0.59 (0.16, 6.00)	0.96	0.51 (0.05, 11.00)	0.53 (0.16, 6.00)	0.58
$t_{1/2}$ (hr)	12.6 (4.5, 35.4)	13.0 (8.0, 1,571.7)	1.00	12.8 (4.5, 35.4)	12.9 (8.0, 1,571.7)	0.26
	Adverse event (number of patients base)			Adverse event (number of courses base)		
	No, n = 68	Yes, n = 58	P^a	No, n = 98	Yes, n = 66	P^b
Oral mucositis \geq grade 3/4^c						
MTX 48 hr	1.86 (0.80, 48.00)	2.28 (0.95, 25.50)	0.38	1.69 (0.80, 48.00)	2.23 (0.95, 25.50)	0.25
MTX 72 hr	0.49 (0.08, 11.00)	0.60 (0.10, 9.89)	0.35	0.45 (0.05, 11.00)	0.59 (0.10, 9.89)	0.23
$t_{1/2}$ (hr)	12.9 (5.7, 35.4)	12.6 (4.5, 1,571.7)	0.83	12.8 (5.4, 35.4)	12.7 (4.5, 1,571.7)	0.23
	Adverse event (number of patients base)			Adverse event (number of courses base)		
	No, n = 23	Yes, n = 103	P^a	No, n = 37	Yes, n = 127	P^b
Infection \geq grade 3/4^c						
MTX 48 hr	2.03 (0.80, 48.00)	1.90 (0.93, 29.70)	0.49	1.90 (0.80, 48.00)	1.81 (0.93, 29.70)	0.56
MTX 72 hr	0.70 (0.22, 11.00)	0.56 (0.08, 9.89)	0.31	0.50 (0.22, 11.00)	0.52 (0.05, 9.89)	0.25
$t_{1/2}$ (hr)	13.0 (10.0, 35.4)	12.4 (4.5, 27.7)	0.48	12.9 (8.5, 35.4)	12.6 (4.5, 1,571.7)	0.74

Data are presented as median (min, max). n: number of patients or courses. ^aWilcoxon's rank sum test. ^bGeneralized estimating equations method for repeated log-transformed MTX concentrations. ^cNCI-CTC version 2.0.

correlation between MTX concentrations at 48 hr in the first and next HDMTX courses in each patient (Fig. 1B).

Toxicities

In order to clarify what kinds of MTX toxicities are closely associated with MTX pharmacokinetic parameters, we statistically analyzed the correlation between the parameters (plasma MTX levels and half-life ($t_{1/2}$)) and MTX-related toxicities (stomatitis, nephrotoxicity, hepatic toxicity, and infection). In this study, we excluded hematological toxicity and CNS toxicity from the analysis, because neutropenia \geq grade 3 was observed in almost all (>98%) patients regardless of MTX levels, and CNS toxicity \geq grade 3 occurred in only one case. In general, adverse events (AEs) \geq grade 3 were collected for analysis, but serum creatinine and proteinuria \geq grade 2 were used for nephrotoxicity because the number of nephrotoxic AEs \geq grade 3 was very few ($n=4$) and proteinuria has been shown to be a HDMTX-related nephrotoxicity [12]. The number of patients with nephrotoxicity \geq grade 2 was nine: five in grade 2, one in grade 3 and one in grade 4 with high serum creatinine levels, and two in grade 2 with proteinuria. As shown in Table II, only nephrotoxicity was significantly correlated with higher MTX levels for each patient, and also for each course, but other toxicities had no correlations to MTX levels. MTX half-life showed no significant relation to any of the MTX-related toxicities. We also analyzed statistical difference in the frequency of other toxicities, such as hepatic toxicity, stomatitis and infection between patients with nephrotoxicity and patients without (Table III). These results showed that patients with nephrotoxicity tended to have higher frequencies of hepatic toxicity, although the difference did not reach significant levels.

Lastly, we studied the difference in incidences of severe toxicities according to HDMTX courses in all patients of group 3 and group 4 (Fig. 2). Incidences of hematological toxicities did not vary widely during the four courses. However, incidences of non-hematological toxicities such as liver and gastrointestinal toxicities showed a large variation during the courses: the incidence was the greatest in the first course, and then sharply decreased in later courses in both groups ($P < 0.001$). In addition, the incidences seemed to be unrelated with plasma MTX levels.

Modification of Protocol Treatments

In our study, treatment modifications according to delayed MTX elimination were reported in 15 patients (2 in group 2, 4 in group 3, and 9 in group 4). Eleven of which had suffered from MTX-induced nephrotoxicity with high creatinine levels (6 in grade 1, 3 in grade 3, 1 in grade 3 and 1 in grade 4). The modifications were as follows: dose reduction or prolongation of treatment intervals of CPA and THP in 8, withdrawal of CPA and THP in 2, reduction of HDMTX dose (from 5 to 3 g/m²) in the next HDMTX course in 3 (2 between 1st and 2nd course, one between 2nd and 3rd course), and exchanging course 4A with course 4B without HDMTX in 2. Of the 15 patients, 14 patients except one, who had CNS involvement, survived without diseases.

DISCUSSION

Recent pharmacokinetic and pharmacogenetic studies of HDMTX treatment in childhood lymphoid malignancies have

TABLE III. Incidence of MTX-Related Toxicities According to Nephrotoxicity

Group		Nephrotoxicity \geq grade 2		<i>P</i> ^a
		No	Yes	
Hepatic toxicity				
Total	Grade 3	36 (23.2)	3 (33.3)	0.051
	Grade 4	2 (1.3)	2 (22.2)	
	\geq grade 3/4	38 (24.5)	5 (55.6)	
2	Grade 3	5 (20.0)	1 (50.0)	0.34
	Grade 4	0 (0.0)	0 (0.0)	
	\geq grade 3/4	5 (20.0)	1 (50.0)	
3	Grade 3	10 (20.4)	0 (0.0)	0.79
	Grade 4	1 (2.0)	1 (33.3)	
	\geq grade 3/4	11 (22.4)	1 (33.3)	
4	Grade 3	21 (25.9)	2 (50.0)	0.10
	Grade 4	1 (1.2)	1 (25.0)	
	\geq grade 3/4	22 (27.2)	3 (75.0)	
Oral mucositis				
Total	Grade 3	57 (36.8)	3 (33.3)	0.84
	Grade 4	5 (3.2)	1 (11.1)	
	\geq grade 3/4	62 (40.0)	4 (44.4)	
2	Grade 3	5 (20.0)	1 (50.0)	0.42
	Grade 4	1 (4.0)	0 (0.0)	
	\geq grade 3/4	6 (24.0)	1 (50.0)	
3	Grade 3	20 (40.8)	1 (33.3)	0.46
	Grade 4	0 (0.0)	1 (33.3)	
	\geq grade 3/4	20 (40.8)	2 (66.7)	
4	Grade 3	32 (39.5)	1 (25.0)	0.39
	Grade 4	4 (4.9)	0 (0.0)	
	\geq grade 3/4	36 (44.4)	1 (25.0)	
Infection				
Total	Grade 3	119 (76.8)	7 (77.8)	0.87
	Grade 4	1 (0.6)	0 (0.0)	
	\geq grade 3/4	120 (77.4)	7 (77.8)	
2	Grade 3	20 (80.0)	1 (50.0)	0.28
	Grade 4	0 (0.0)	0 (0.0)	
	\geq grade 3/4	20 (80.0)	1 (50.0)	
3	Grade 3	38 (77.6)	3 (100.0)	NC
	Grade 4	0 (0.0)	0 (0.0)	
	\geq grade 3/4	38 (77.6)	3 (100.0)	
4	Grade 3	61 (75.3)	3 (75.0)	0.75
	Grade 4	1 (1.2)	0 (0.0)	
	\geq grade 3/4	62 (76.5)	3 (75.0)	

^aGeneralized estimating equations method for repeated adverse event (\geq grade 3/4). NC: not calculated. Data are n (%).

shown significant relations between polymorphisms in genes coding for enzymes involved in folate metabolisms and MTX-related toxicities. However, individual prediction of MTX toxicity and dose adjustment of HDMTX based on pretreatment genotyping do not reach a practical use [13–15] and routine monitoring of plasma MTX concentrations still has an important role to predict MTX toxicities in clinical practice.

In the present study, we analyzed the relation between MTX pharmacokinetics and MTX-related toxicities in the HDMTX plus additional chemotherapy for childhood B-NHL. We found that plasma MTX levels were significantly correlated with nephrotoxicity (creatinine and/or proteinuria \geq grade 2), but not other toxicities. MTX half-life was not associated with any toxicity. These results suggest that MTX-induced nephrotoxicity could be

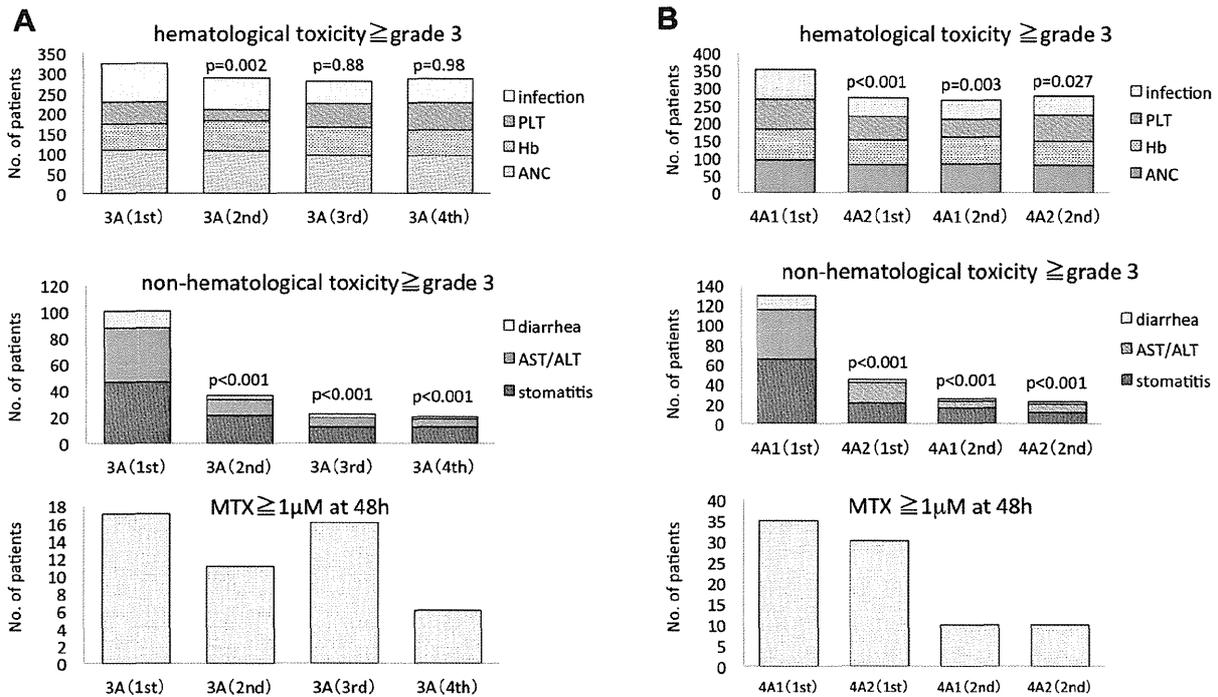


Fig. 2. Incidence of MTX-related toxicities and delayed MTX elimination according to HDMTX course. Left panel (A) for group 3; Right panel (B) for group 4. Number in vertical axis shows number of patients with hematological toxicities (upper panel), non-hematological toxicities (middle panel), and delayed MTX elimination ($\geq 1 \mu\text{M}$ at 48 hr) (lower panel). Number of patients who received HDMTX therapy of each course was 108 in 1st 3A1, 106 in 2nd 3A1, 95 in 3rd 3A1, and 94 in 4th 3A1 in group 3, and 94 in 1st 4A1, 83 in 1st 4A2, 79 in 2nd 4A1, and 78 in 2nd 4A2 in group 4, respectively. *P* values reported from Dunnett's test based on the generalized estimating equation method comparing the toxicity count by course (reference group is 3A (1st) or 4 A1 (1st)).

caused by the long-time exposure to high plasma MTX levels during 48–72 hr, but is not related with MTX half-life determined in the elimination phase in our study.

Very few studies have been reported on nephrotoxicity of HDMTX in lymphoma patients [12,16]. May et al. [16] retrospectively studied the incidence of nephrotoxicity in adults with lymphoma, and reported a 21% (37/179 courses) incidence of nephrotoxicity with creatinine \geq grade 2 in patients associated with delayed MTX elimination. This was five times higher than 4% (7/165 courses) incidence of nephrotoxicity in our study. This discrepancy may be due to the difference in age of patients between the two studies. They also suggested that renal toxicity was not related to delayed MTX elimination, because the ratio (20%) of nephrotoxicity of patients who do not have was the almost same as patients with delayed MTX elimination. However, this is not consistent with our findings, because the incidence of nephrotoxicity \geq grade 2 in patients without delayed MTX elimination was 0% in our study (data not shown). Lack of correlation between delayed MTX elimination and other toxicities was rather unexpected. This finding suggests that MTX-related toxicities such as stomatitis, hepatic toxicity and infection are affected by CPA and THP as well as MTX in the HDMTX courses in childhood B-NHL treatment.

In our study, delayed MTX elimination was significantly associated with male sex. This finding is inconsistent with some HDMTX studies in childhood ALL, in which female sex has been reported to be associated with high MTX concentrations or low

MTX clearance [17,18], whereas other studies have shown that gender is not significantly associated with MTX concentrations or pharmacokinetic polymorphism in childhood ALL [19,20]. Thus, the role of gender in MTX pharmacokinetics still remains to be elucidated in childhood ALL. In childhood NHL, our results may provide actionable observation that male sex has two times higher risk than female to suffer delayed elimination of MTX in HDMTX therapy, although male sex was not an unfavorable prognostic factor in outcome [4].

There was no significant relation between the first high plasma MTX levels and subsequent MTX levels in the later HDMTX course. This finding showed that there was a wide intra-individual variability of blood MTX levels as previously described by others [21]. Since MTX is primarily eliminated by kidney, creatinine clearance may reflect blood MTX levels. However, there have been controversial studies for relation between creatinine concentrations and plasma MTX levels. One study of children who received 3 or 5 g/m² of HDMTX has shown a positive correlation between serum creatinine concentrations and blood MTX levels [22] whereas, another study for children who received 1 or 2 g/m² failed to show the positive association [21]. Although creatinine clearance is not steady, it is unlikely that creatinine clearance may change during administration of HDMTX, since all patients were strictly monitored and maintained a high urine output and urinary alkalization during HDMTX administration in our study. From the point of view of clinical practice, we