

小児急性リンパ性白血病の予後予測因子としての 寛解導入療法初期の尿中リン排泄量の検討

学位論文内容の要旨

急性リンパ性白血病(ALL)に対する寛解導入療法初期には、白血病細胞の崩壊とそれに伴う細胞内容(核酸、リン)の循環中への放出により、尿中リン排泄量・尿中尿酸排泄量が増加することが報告されており、これに伴う生化学的な異常は腫瘍崩壊症候群(ATLS)として知られている。これまでの研究によれば、腫瘍量の大きい症例、白血病細胞の増殖速度の速い症例、そして、白血病細胞の化学療法に対する感受性が高い症例でATLSをきたしやすいことが知られており、寛解導入療法初期の尿中リン排泄量ならびに尿酸排泄量は白血病細胞の化学療法に対する反応性を反映している可能性があると考えられる。近年、寛解導入療法に対する初期治療反応性が小児ALLの重要な予後予測因子として注目されるようになったが、末梢血芽球数や骨髄穿刺での芽球割合といった形態学的方法で評価されており、客観的かつ定量的な方法は確立されていない。本研究では、寛解導入療法初期3日間の尿中リン排泄量ならびに尿中尿酸排泄量を定量し、疾患の予後との関連について検討を行い、これが小児ALLの予後予測因子となり得るのかどうかについて検討を行った。

【対象と方法】1990年1月から2003年9月の13年6ヵ月の間に初発のALLと診断され、北海道大学医学部付属病院小児科に入院した69人を対象とした。入院時1歳未満または16歳以上であった2症例、入院前に化学療法を受けた3例、寛解導入療法前および寛解導入療法初期3日間の生化学検査の結果が得られなかった3例、寛解導入療法開始前に死亡した1例、第一寛解期に造血幹細胞移植を受けた8例が除外され、残った52人の患者が検討の対象となった。男児は34人、女児は18人で、診断時の年齢は1歳から15歳で平均は6.5歳であった。11人の患者で臓器腫大を認め、中枢神経浸潤例はなかった。ALLの診断は骨髄穿刺による骨髄の白血病細胞のFAB分類に基づいて行い、50例がFAB分類L1、2例がL2で、L3はいなかった。免疫学的細胞表面形質では、39人がB細胞系の細胞表面マーカーであり(33人がCD10陽性、6人が他のB細胞系表面マーカーで、成熟B細胞型はなし)、6人がT細胞型白血病、5人がmixed lineage leukemia、2人がその他の細胞表面マーカーを示した。細胞遺伝学的分析では、2例でTEL/AML1が検出され、8例で高2倍体(染色体数50以上)、1例で低2倍体(染色体数44未満)が検出された。診断時の血液検査所見は、白血球数平均25,300/ μ l(800-254,000/ μ l)、血清LDH平均2,059 IU/l(183-20,140 IU/l)、血清リン平均5.7mg/dl(3.8-15.5mg/dl)、血清尿酸平均4.5mg/dl(2.6-17.2mg/dl)であった。尿の生化学検査は、寛解導入療法開始前と寛解導入療法開始直後の3日間行い、24時間ごとにリンは酵素法、尿酸はウリカーゼ法により自動生化学分析装置を用いて測定した。この間の患者に対する輸液はリンを含まないものを用い、食事は病院食のみに制限した。1990年1月から1997年3月までの間に入院した児はH-90プロトコール、1997年4月から2001年9月の間に入院した児は日本小児白血病研究会(JACLS)ALL-97プロトコール、2001年10月から2002年3月の間に入院した児はJACLS ALL-01pプロトコール、2002年4月以降に入院した児はJACLS ALL-02プロトコールにより治療された。プロトコールの中で治療を受けた患者の特性や長

期予後などに統計学的有意差はなかった。腫瘍崩壊症候群の予防は、十分な補液による尿量の確保と、重炭酸ナトリウムによる尿のアルカリ化（尿 pH7.0-8.0）、アロプリノールの経口で行った。

【結果】52人の評価可能な患者のうち、2人（3.8%）は寛解導入不能で、この2人を含む10人（19.2%）が長期予後不良群（寛解導入不能、再発、原病による死亡）であり、他が予後良好群（寛解かつ生存）であった。予後不良群のうち、7人が死亡し、1人は非寛解生存中、2人が再寛解導入療法で第2寛解期となった。初発時白血球数は予後不良群で高値であったが統計学的有意差はなく、その他の臨床症状・検査所見には、予後不良群と予後良好群で明らかな差はなかった。寛解導入療法初期3日間の尿中リン排泄量は、長期予後不良群で低値で、1日目の尿中リン排泄量（予後不良群平均9.0mg/kg/日 vs 予後良好群平均27.0mg/kg/日、 $p=0.003$ ）および3日間の尿中リン排泄量の平均（15.2mg/kg/日 vs 29.3mg/kg/日、 $p=0.029$ ）で統計学的に有意であった。尿中尿酸排泄量は長期予後不良群で低値であったが有意差はなかった。予後予測因子としての尿中リン排泄量について検討するために、患者を寛解導入療法1日目の尿中リン排泄量により2群に分類し、その予後について比較した。Yuan-Hao Chenらの報告した正常小児の尿中リン排泄量平均値（12.46mg/kg/日）に較べ、低値である群（低リン排泄群）と高値である群（高リン排泄群）の2群に分類した。この2群の間では、低リン排泄群で白血球数が高値で男児が多い傾向であったが、初発時の臨床症状や検査所見に統計学的に有意な差はなかった。2群のKaplan-Meier法による生存曲線では、高リン排泄群の5年無病生存率が $89.6\pm 5.8\%$ であるのに対し、低リン排泄群では $42.6\pm 16.4\%$ で、有意に長期予後は不良であった（ $p=0.0024$ ）。今までに報告されている小児ALLの予後予測因子および尿中リン排泄量について、単変量解析を行ったところ、尿中リン排泄量低値（12.46mg/kg/日未満）のみが有意であった（Odds比6.58、95%信頼区間1.44-30.0、 $p=0.015$ ）。また、多変量解析では尿中リン排泄量低値のみが統計学的に有意な独立した予後予測因子であることが示された（Odds比7.55、95%信頼区間1.34-42.7、 $p=0.022$ ）。

【考察】本研究では、小児ALL症例において、寛解導入療法初期3日間の尿中リン排泄量および尿中尿酸排泄量と疾患の長期予後について検討し、長期予後不良例では、寛解導入療法開始1日目の尿中リン排泄量および初期3日間の平均が有意に低値であることが初めて示された。加えて、寛解導入療法1日目の尿中リン排泄量低値は、今までの小児ALLの予後予測因子との間に有意な相関は認めず、多変量解析でも、独立した予後予測因子であることが初めて示唆された。尿中リン排泄量は、腫瘍量を反映すると考えられる初発時の白血球数や血清LDH値、臓器腫大（あるいは髄外腫瘍）との関連は無く、免疫学的細胞表面形質に関しても（その違いにより細胞増殖速度が異なるとされるが）、尿中リン排泄量との間に明らかな関連はなかった。このことから寛解導入療法初期の尿中リン排泄量は白血病細胞の化学療法に対する反応性を反映しており、そのため予後予測因子となり得るものであると考えられた。尿中リン排泄量と形態学的な治療反応性の評価法とを比較すると、形態学的方法は定性的で主観的な方法であるが尿中リン排泄量はより定量的で客観的な方法であり、尿中リン排泄量による今回の方法では、末梢血や骨髄中の芽球のみならず、肝、脾、リンパ節、縦隔などを含む全身に分布している白血病細胞全体の治療反応性を評価することができると考えられるため、より有用であると考えられた。実際、今回の研究では、尿中リン排泄量では52例中18例（34.6%）が治療反応性不良と判断されたのに対し、形態学的方法（寛解導入療法開始8日目の末梢血芽球数）では52例中4例（7.7%）と違いがあった。実際の長期予後不良例は10例（19.2%）と形態学的方法で予想されるよりかなり多く、文献的にも形態学的方法での初期反応性良好群の20%以上で再発したという報告があり、形態学的方法では予後不良例を十分には判別し得ないのかもしれない。逆に、尿中リン排泄量では、より多くの症例を予後不良群と評価してしまう可能性もあり、他の予後予測因子と組み合わせで判断するなどの工夫が必要かもしれない。本研究は限られた症例数であるため、今後更に多数例での検討が必要と思われるが、尿中リン排泄量による小児ALLの初期反応性の評価は簡便で有用な方法である可能性がある。

【結語】寛解導入療法初期の尿中リン排泄量は、小児ALLの治療の初期反応性を評価するのに有用で

あり、新たな予後予測因子となる可能性がある。今回の報告は症例数が限られているため、今後の症例の蓄積が必要である。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 有 賀 正

副 査 教 授 佐々木 文章

副 査 教 授 今 村 雅 寛

学 位 論 文 題 名

小児急性リンパ性白血病の予後予測因子としての 寛解導入療法初期の尿中リン排泄量の検討

急性リンパ性白血病（ALL）に対する寛解導入療法初期には、白血病細胞の崩壊とそれに伴う細胞内容の循環中への放出により、尿中リン排泄量・尿中尿酸排泄量が増加することが報告されており、これに伴う生化学的な異常は腫瘍崩壊症候群(ATLS)として知られている。これまでの研究によれば、腫瘍量の大きい症例、白血病細胞の増殖速度の速い症例、そして、白血病細胞の化学療法に対する感受性が高い症例で ATLS をきたしやすいことが知られており、寛解導入療法初期の尿中リン排泄量ならびに尿酸排泄量は白血病細胞の化学療法に対する反応性を反映している可能性がある。近年、寛解導入療法に対する初期治療反応性が小児 ALL の重要な予後予測因子として注目されるようになったが、末梢血芽球数や骨髓穿刺での芽球割合といった形態学的方法で評価されており、客観的かつ定量的な方法は確立されていない。本研究では、寛解導入療法初期 3 日間の尿中リン排泄量ならびに尿中尿酸排泄量を定量し、小児 ALL の予後予測因子となり得るのかどうかについて検討を行った。

対象は、初発の小児 ALL の患者 52 例である。尿生化学検査は寛解導入療法開始前と寛解導入療法開始直後の 3 日間行い、24 時間ごとにリンは酵素法、尿酸はウリカーゼ法により自動生化学分析装置を用いて測定した。化学療法は、1990 年 1 月から 1997 年 3 月の間は H-90 プロトコール、1997 年 4 月から 2001 年 9 月の間は日本小児白血病研究会(JACLS) ALL-97 プロトコール、2001 年 10 月から 2002 年 3 月は JACLS ALL-01 p プロトコール、2002 年 4 月以降は JACLS ALL-02 プロトコールであり、プロトコール間で患者の特性や長期予後などに統計学的有意差はなかった。腫瘍崩壊症候群の予防は、十分な補液と尿のアルカリ化、アロプリノールの経口で行った。

52 人の評価可能な患者のうち、2 人 (3.8%) は寛解導入不能で、この 2 人を含む 10 人 (19.2%) が長期予後不良群（寛解導入不能、再発、原病による死亡）であり、他が予後良好群（寛解かつ生存）であった。初発時白血球数は長期予後不良群で高値であったが統計学的有意差はなく、その他の臨床症状・検査所見には、2 群間で明らかな差はなかった。寛解導入療法初期 3 日間の尿中リン排泄量は、長期予後不良群で低値であり、1 日目の尿中リン排泄量（予後不良群平均 9.0mg/kg/日 vs 予後良好群平均 27.0mg/kg/日、 $p=0.003$ ）お

よび3日間の尿中リン排泄量の平均(15.2mg/kg/日 vs 29.3mg/kg/日, $p=0.029$)で統計学的に有意であった。尿中尿酸排泄量も長期予後不良群で低値であったが、有意差はなかった。予後予測因子としての尿中リン排泄量について検討するために、患者を寛解導入療法1日目の尿中リン排泄量により2群に分類し、その予後について比較した。尿中リン排泄量が、正常小児の尿中リン排泄量平均値(12.46mg/kg/日)に較べ低値である群(低リン排泄群)と高値である群(高リン排泄群)の2群に分類した。この2群の間では、初発時の臨床症状や検査所見に統計学的有意差はなかった。2群のKaplan-Meier法による生存曲線では、高リン排泄群の5年無病生存率89.6%に対し、低リン排泄群では42.6%で、有意に長期予後は不良であった($p=0.0024$)。現在までに報告されている小児ALLの予後予測因子と尿中リン排泄量の単変量解析では、尿中リン排泄量低値(12.46mg/kg/日未満)のみが有意であり(Odds比6.58, 95%信頼区間1.44-30.0, $p=0.015$)、多変量解析では、尿中リン排泄量低値のみが統計学的に有意な独立した予後予測因子であることが示された(Odds比7.55, 95%信頼区間1.34 - 42.7, $p=0.022$)。

寛解導入療法初期の尿中リン排泄量は白血病細胞の化学療法に対する反応性を反映しており、そのため予後予測因子となり得るものと考えられ、形態学的な治療反応性評価法と比較して、より定量的で客観的な方法であり、末梢血や骨髄中の芽球のみならず、肝、脾、リンパ節、縦隔などを含む全身に分布している白血病細胞全体の治療反応性を、簡便・迅速かつ廉価に評価することができ、有用であると考えられた。

公開發表に際し、副査の佐々木教授から、尿中リン・尿酸に注目したきっかけ、尿中リン・尿酸の測定を寛解導入開始3日間とした理由、急性リンパ性白血病以外の悪性疾患・固形腫瘍などでの有用性、について質問があった。つづいて、副査の今村教授から、治療プロトコールによる尿中リン排泄量の違い、正常リンパ球と白血病細胞のリン含有量の差、末梢血および骨髄の芽球数と尿中リン排泄量の関連、寛解導入療法初期の反応性で長期の予後を予測できる理由、急性骨髄性白血病や悪性リンパ腫での尿中リン・尿酸排泄量、について質問があった。つづいて、主査の有賀教授から、従来の予後因子が今回の研究で有意でなかった理由、将来的に治療に変化があったときの本因子の有用性、についての質問があった。最後に、フロアーから、腎機能障害時のリン排泄量の評価についての質問があった。いずれの質問に対しても、申請者は誠意ある妥当な回答を行った。

本研究は、小児急性リンパ性白血病寛解導入療法初期の尿中リン・尿酸排泄量についての検討から、尿中リン排泄量が疾患の治療反応性の判定に有用であり、新たな予後予測因子として簡便・迅速かつ廉価に評価しうる方法であることを示し、今後の治療・研究に大きな示唆を与えた。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、申請者が博士(医学)の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。