

2008/10/1A

厚生労働科学研究費補助金

創薬基盤推進研究事業

多施設共同研究に登録された白血病の検体収集と

中央保存システムの確立に関する研究

平成20年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 直江 知樹

平成21（2009）年3月

厚生労働科学研究費補助金
創薬基盤推進研究事業

多施設共同研究に登録された白血病の検体収集と中央保存システムの確立に関する研究

平成20年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 直江 知樹
名古屋大学大学院医学系研究科 血液・腫瘍内科学

《目 次》

I. 研究組織	3
II. 総括研究報告書	7
直江 知樹 主任研究者	
III. 分担研究報告書	
1. 急性リンパ性白血病における検体収集とキメラ遺伝子スクリーニング	17
直江 知樹	
2. 急性骨髄性白血病における遺伝子異常による予後予測因子の解析	19
麻生 範雄	
3. 提案研究の審査と遺伝子解析	22
清井 仁	
4. 塗抹検体からのDNA抽出	26
小林 幸夫	
5. Major <i>bcr-abl</i> mRNA 定量における TMA 法 (Amp-CML) と Realtime quantitative PCR の相関	28
矢ヶ崎 史治	
6. 検体由来白血病細胞上の治療関連分子の選択	30
竹下 明裕	
7. 検体収集より得られた白血病細胞を用いての新規 ABL チロシンキナーゼ阻害剤の耐性化機構	33
田内 哲三	
8. 染色体のセントラルレビュー	37
滝 智彦	
IV. 研究成果の刊行に関する一覧表	43

I. 研 究 組 織

【多施設共同研究に登録された白血病の検体収集と

中央保存システムの確立に関する研究】 平成 20 年度名簿

	氏 名	所 属 ・ 職 名
主任研究者	直江 知樹	名古屋大学大学院医学系研究科 教授
分担研究者	麻生 範雄	熊本大学大学院医学薬学研究部 准教授
	清井 仁	名古屋大学医学部附属病院 講師
	小林 幸夫	国立がんセンター中央病院 医長
	矢ヶ崎 史治	埼玉医科大学国際医療センター 講師
	竹下 明裕	浜松医科大学 准教授
	田内 哲三	東京医科大学医学部 准教授
	滝 智彦	京都府立医科大学大学院医学研究科 講師

Ⅱ. 総括研究報告書

「多施設共同研究に登録された白血病の検体収集と中央保存システムの確立」
主任研究者 直江 知樹 名古屋大学大学院医学系研究科 血液・腫瘍内科学 教授

研究要旨

多施設共同研究に登録し、同一プロトコールで治療された白血病患者コホートにおいて、白血病検体を逐次的に収集・保存・解析しうるシステムを構築することを目的とした。検体収集を効率的に行うための各施設へのインセンティブとして、白血病関連キメラ遺伝子スクリーニングを検査会社に委託し、同時にDNA/RNAの抽出を行い、匿名化の上中央保存するシステムを導入することにより、匿名性を担保した検体の中央保存が効率的に実施された。今年度までに、JALSG AML201試験：211症例の臨床検体、APL204試験：230例のmRNA、Ph陰性ALL202試験：268例のmRNAを中央保存した。また、PhALL208-IMA試験では、初診時キメラ遺伝子解析に用いた残余検体を中央保存することを組み込み前方視的な検体収集を開始した。このような臨床情報と連結しうる白血病検体は、より正確な亜分類や予後予測ならびに最適な治療法の選択に資する検査法の開発に必須であり、また新規標的薬開発のためのバイオリソースとして活用されることが期待出来る。

A. 研究目的

白血病において明らかにされてきた病型特異的な染色体異常や、病態に関与している遺伝子異常の多くは白血病治療上の重要な予後因子でもあり、治療法の選択など臨床的にも重要な情報を与えてきた。しかし、EBMの確立に直結する、臨床情報との関連性を加味した上での網羅的かつ系統的な大規模解析は極めて不十分である。日本成人白血病治療共同研究グループ（JALSG）では、白血病の治療成績向上を目指した多施設共同臨床治療研究を推進し、これら疾患の治療指針を提唱してきたが、白血病細胞における遺伝子解析は、付随研究として個別に行われてきた。そのため、臨床研究登録症例の部分的な症例群での解析に留まるだけでなく、検体保存の中央化システムの構築がなされていないために、臨床検体の共有化ならびに遺伝子解析結果の蓄積が不十分であった。

本研究は、白血病に対する多施設共同治療研究登録症例において、病態に関与する遺伝子異常、発現状態を臨床的データとの関連性を考慮した中で網羅的に解析し、これら疾患群における分子病態に基づく細分化から最適な治療法の選択と治療成績の向上を目指すことを目的とする。そのため、治療研究登録全症例のDNA、RNAを中央保存化するシステムと遺伝子解析を前方視的ならびに後方視的に解析を行う上での倫理性を確保する審査システムの構築を行う。

B. 研究方法

DNA/RNA 中央保存システムの基盤整備と、後

方視的な検体収集を JALSG 運営委員会、検体研究・付随研究委員会と協議の上推進する。

C. 研究結果

既に登録が終了しているJALSG AML-201臨床試験登録症例において、遺伝子解析ならびに検体保存に関する同意が得られ、初診時白血病細胞が保存されている症例のアンケート調査を実施し、約250例の検体収集が可能であることが明らかになった。検体収集を効率的に行うための各施設へのインセンティブとして、白血病関連キメラ遺伝子スクリーニングを検査会社に委託し、同時にDNA/RNAの抽出を行い、匿名化の上中央保存するシステムを導入することにより、匿名性を担保した検体の中央保存が効率的に実施された。

保存検体数は以下の通りである。JALSG AML201試験：211症例の臨床検体、APL204試験：230例のmRNA、Ph陰性ALL202試験：268例のmRNA。

今回実施されたアンケート調査により、遺伝子解析ならびに検体保存に関する同意書が整備されていない施設があることが明らかとなり、検体の中央保存化にむけた統一した説明・同意文書の作製に着手した。

JALSGで計画中の次期臨床研究において、前方視的検体収集と中央保存を研究計画書に盛り込むべく、プロトコール小委員会と連携し、2008年6月より開始されたPhALL208-IMA試験

では試験登録にあたり行われるキメラ遺伝子スクリーニング検査、再発時に行われる遺伝子変異解析検査の残余検体を中央保存するための同意文書を組み入れ前方視的検体収集が開始された。

遺伝子解析に関する研究提案について、JALS G検体研究・付随研究委員会と統一性をもって審議・承認を実施していく基本方針を確認し、JALSGの中での提案研究に際しては、残余検体の中央保存化を求めている。

本研究班員施設において保存された染色体および保存検体を用いた分子病態の解明を開始し、中央保存された検体において優先的に行うべき遺伝子解析を決定するための予備的検討を開始した。

D. 健康危険情報

該当無し。

E. 研究発表

1. 論文発表

1. Yanada M, Sugiura I, Takeuchi J, Akiyama H, Maruta A, Ueda Y, Usui N, Yagasaki F, Yujiri T, Takeuchi M, Nishii K, Kimura Y, Miyawaki S, Narimatsu H, Miyazaki Y, Ohtake S, Jinnai I, Matsuo K, Naoe T, Ohno R; Japan Adult Leukemia Study Group. Prospective monitoring of BCR-ABL1 transcript levels in patients with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukaemia undergoing imatinib-combined chemotherapy. **Br J Haematol.** 143:503-10,2008.
2. Sanz MA, Grimwade D, Tallman MS, Lowenberg B, Fenaux P, Estey EH, Naoe T, Lengfelder E, Büchner T, Döhner H, Burnett AK, Lo-Coco F. Management of acute promyelocytic leukemia: recommendations from an expert panel on behalf of the European LeukemiaNet. **Blood.** 113:1875-91,2009.
3. Iwasaki T, Katsumi A, Kiyoi H, Tanizaki R, Ishikawa Y, Ozeke K, Kobayashi M, Abe A, Matsushita T, Watanabe T, Amano M, Kojima T, Kaibuchi K, Naoe T. Prognostic implication and biological roles of RhoH in acute myeloid leukaemia. **Eur J Haematol.** 81:454-60,2008.
4. Narimatsu H, Iino M, Ichihashi T, Yokozawa T, Hayakawa M, Kiyoi H, Takeo T, Sawamoto A, Iida H, Tsuzuki M, Yanada M, Naoe T, Suzuki R, Sugiura I. Clinical significance

of minimal residual disease in patients with t(8;21) acute myeloid leukemia in Japan. **Int J Hematol.** 88:154-8,2008.

5. Wakui M, Kuriyama K, Miyazaki Y, Hata T, Taniwaki M, Ohtake S, Sakamaki H, Miyawaki S, Naoe T, Ohno R, Tomonaga M. Diagnosis of acute myeloid leukemia according to the WHO classification in the Japan Adult Leukemia Study Group AML-97 protocol. **Int J Hematol.** 87:144-51,2008.
6. Yanada M, Takeuchi J, Sugiura I, Akiyama H, Usui N, Yagasaki F, Nishii K, Ueda Y, Takeuchi M, Miyawaki S, Maruta A, Narimatsu H, Miyazaki Y, Ohtake S, Jinnai I, Matsuo K, Naoe T, Ohno R; Japan Adult Leukemia Study Group. Karyotype at diagnosis is the major prognostic factor predicting relapse-free survival for patients with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia treated with imatinib-combined chemotherapy. **Haematologica.** 93:287-90,2008. Yamada Y, Ito K, Watanabe Y, Nosaka K, Horikawa K, Hidaka M, Kawano F, Sasaki Y, Mitsuya H, Asou N. Allogeneic bone marrow transplantation after l-asparaginase-induced pancreatitis in a patient with acute lymphoblastic leukemia. **Leuk Res** 2008;32:1944-1946.
7. Tatetsu H, Matsuno F, Takatsu N, Miyake H, Hoshino K, Nosaka K, Horikawa K, Hata H, Mitsuya H and Asou N. Treatment of therapy-related acute myeloid leukemia occurring in elderly non-Hodgkin lymphoma patients with low-dose cytarabine, aclarubicin and granulocyte colony-stimulating factor. **Leuk Res** 2009;33:197-200.
8. Jo A, Tsukimoto I, Ishii E, Asou N, Mitani S, Shimada A, Takashi Igarashi T, Hayashi Y and Ichikawa H. Age-associated difference in gene expression of pediatric acute myelomonocytic lineage leukemia (FAB M4 and M5 subtypes) and its correlation with prognosis. **Br J Haematol** 2009;144:917-929.
9. Nanri T, Iwanaga E, Fujie S, Yamada Y, Horikawa K, Mitsuya H and Asou N. Micafungin-induced immune hemolysis attacks. **Int J Hematol** 2009 (in press)
10. Iwanaga E, Nanri T, Matsuno N, Kawakita T, Mitsuya H, and Asou N. A JAK2-V617F activating mutation in addition to KIT and FLT3 mutations is associated with clinical outcome in

- patients with t(8;21)(q22;q22) acute myeloid leukemia. **Haematologica** 2009 (in press).
11. Sato T, Toki T, Kanezaki R, Xu G, Terui K, Kanegane H, Miura M, Adachi S, Migita M, Morinaga S, Nakano T, Endo M, Kojima S, Kiyoi H, Mano H, Ito E. Functional analysis of JAK3 mutations in transient myeloproliferative disorder and acute megakaryoblastic leukaemia accompanying Down syndrome. **Br J Haematol**.141:681-688,2008.
 12. Murata M, Ishikawa Y, Ohashi H, Terakura S, Ozeki K, Kiyoi H, Naoe T. Donor cell leukemia after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation: a case report and literature review. **Int J Hematol**.88:111-115,2008.
 13. Narimatsu H, Iino M, Ichihashi T, Yokozawa T, Hayakawa M, Kiyoi H, Takeo T, Sawamoto A, Iida H, Tsuzuki M, Yanada M, Naoe T, Suzuki R, Sugiura I. Clinical significance of minimal residual disease in patients with t(8;21) acute myeloid leukemia in Japan. **Int J Hematol**.88:154-158,2008.
 14. Gotoh M, Sasaki Y, Iguchi T, Fujimoto H, Kodama A, Kiyoi H, Naoe T, Ohyashiki K. Karyotypically independent clones with del(11q) and trisomy 10 in acute myeloid leukemia: trisomy 10 may appear as an additional change. **Int J Hematol**.88:123-124,2008.
 15. Iwasaki T, Katsumi A, Kiyoi H, Tanizaki R, Ishikawa Y, Ozeki K, Kobayashi M, Abe A, Matsushita T, Watanabe T, Amano M, Kojima T, Kaibuchi K, Naoe T. Prognostic implication and biological roles of RhoH in acute myeloid leukaemia. **Eur J Haematol**.81:454-460,2008.
 16. Ishida H, Isami S, Matsumura T, Umehara H, Yamashita Y, Kajita J, Fuse E, Kiyoi H, Naoe T, Akinaga S, Shiotsu Y, Arai H. Novel and orally active 5-(1,3,4-oxadiazol-2-yl)pyrimidine derivatives as selective FLT3 inhibitors. **Bioorg Med Chem Lett**.18:5472-5477,2008.
 17. Tanizaki R, Katsumi A, Kiyoi H, Kunishima S, Iwasaki T, Ishikawa Y, Kobayashi M, Abe A, Matsushita T, Watanabe T, Kojima T, Kaibuchi K, Kojima S, Naoe T. Mutational analysis of SOS1 gene in acute myeloid leukemia. **Int J Hematol**.88:460-462,2008.
 18. Abe A, Minami Y, Hayakawa F, Kitamura K, Nomura Y, Murata M, Katsumi A, Kiyoi H, Jamieson CH, Wang JY, Naoe T. Retention but significant reduction of BCR-ABL transcript in hematopoietic stem cells in chronic myelogenous leukemia after imatinib therapy. **Int J Hematol**.88:471-475,2008.
 19. Ishikawa Y, Xu J, Sakashita G, Urano T, Suzuki T, Tomita A, Kiyoi H, Nakamura S, Naoe T. Abnormal cytoplasmic dyslocalisation and/or reduction of nucleophosmin protein level rarely occurs in myelodysplastic syndromes. **Leuk Lymphoma**. 49:2359-2364, 2008.
 20. Maeshima A, Kobayashi Y, et al. Diffuse large B-cell lymphoma after transformation from low-grade follicular lymphoma: morphological, immunohistochemical and FISH analyses. **Cancer Science** 99:1760-8, 2008.
 21. Sentani K, Kobayashi Y, et al. Follicular lymphoma of the duodenum: clinicopathologic analysis of 26 cases. **Jpn J Clin Oncol** 38:547-52, 2008.
 22. Ono M, Kobayashi Y et al. Nocardia exalbida brain abscess in a patient with follicular lymphoma. **Int J Hematol** 88: 95-100, 2008.
 23. Maruyama D, Kobayashi Y, et al. Stromal Cells in Bone Marrow Play Important Roles in Pro-Inflammatory Cytokine Secretion Causing Fever Following Bortezomib Administration in Patients with Multiple Myeloma. **Int J Hematol**. 88: 396-402, 2008.
 24. Yokoyama H, Kobayashi Y, et al. Progressive multifocal leukoencephalopathy in a patient with B-cell lymphoma during rituximab-containing chemotherapy: case report and review of the literature. **Int J Hematol**. 88:443-7, 2008.
 25. Ogawa Y, Kobayashi Y, et al. Phase I and II pharmacokinetic and pharmacodynamic study of the proteasome inhibitor bortezomib in Japanese patients with relapsed or refractory multiple myeloma. **Cancer Sci**. 99:140-4, 2008.
 26. Maeshima AM, Kobayashi Y, et al. Histological and immunophenotypic changes in 59 cases of B-cell non-Hodgkin's lymphoma after rituximab therapy. **Cancer Sci** (in press)
 27. Yanada M, Sugiura I, Takeuchi J, Akiyama H, Marta A, Ueda Y, Usui N, Yamasaki E, Yujiri T, Takeuchi M, Nishii K, Kimura Y, Miyawaki S, Narimatsu H, Miyazaki Y, Ohtake S, Jinnai I, Matsuo K, Naoe T, Ohno R. Prospective monitoring of BCR-ABL1 transcript levels in patients with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukaemia undergoing imatinib-combined chemotherapy. **Br J**

- Haematol.** 143: 503-510, 2008.
28. Takeshita A, Asai T, Murakami M, Fujihara H, Ishizuka T, Nakai S, Yamada C, Suzumura T, Uchiyama Y, Maekawa M, Shigeno K, Washiyama N, Yamashita K, Unno N, Shinjo K. Effective Blood Utilization via System for Massive Blood Transfusion, including Cardiovascular Operation in Local Areas. **Jpn J Transfusion Cell Therapy** *in press*.
 29. Takeshita A, Yamakage N, Shinjo K, Ono T, Hirano I, Nakamura S, Shigeno K, Tobita T, Maekawa M, Kiyoi H, Naoe T, Ohnishi K, Sugimoto Y, Ohno R. CMC-544 (inotuzumab ozogamicin), an anti-CD22 immuno-conjugate of calicheamicin, alters the levels of target molecules of malignant B-cells. **Leukemia**, *in press*.
 30. 1) Okabe S, Tauchi T, Ohyashiki K. Characteristics of dasatinib- and imatinib-resistant chronic myelogenous leukemia cells. **Clin Cancer Res.** 14 · 6181-6186, 2008.
 31. 2) Kanda Y, Okamoto S, Tauchi T, et al. Multicenter prospective trial evaluating the tolerability of imatinib for Japanese patients with chronic myelogenous leukemia in the chronic phase: does body weight matter? **Int J Hematol.** 83 · 835-839, 2008.
 32. 3) Kiguchi T, Tauchi T, et al. Compliance with taking imatinib mesylate in patients with chronic myeloid leukemia in the chronic phase. **Leuk Res.** 2008 Jun 2. [Epub ahead of print]
 33. 4) Akahane D, Ito Y, Sumi M, Tauchi T, et al. Relapse of chronic myeloid leukemia-chronic phase 14 years after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. **Int J Hematol.** 88 · 119-120, 2008.
 34. 5) Akahane D, Tauchi T, et al. Activity of a novel Aurora kinase inhibitor against the T315I mutant form of BCR-ABL: in vitro and in vivo studies. **Cancer Sci.** 99 · 1251-1257, 2008.
 35. 6) Ohyashiki K, Kiguchi T, Tauchi T, et al. Leukocytosis is linked to thrombosis at diagnosis, while JAK2 V617F mutation is associated with thrombosis during the course of essential thrombocythemia. **Int J Hematol.** 87 · 446-448, 2008.
 36. 7) Yokoyama T, Miyazawa K, Naito M, Tauchi T, et al. Vitamin K2 induces autophagy and apoptosis simultaneously in leukemia cells. **Autophagy.** 4 · 629-640, 2008.
 37. 1. Kitoh T, Taki T, Hayashi Y, Nakamura K, Irino T, Osaka M. Transient abnormal myelopoiesis in a newborn with Down syndrome followed by an acute myeloid leukemia: identification of the same structural chromosomal abnormality at both stage of TAM and leukemia. **Cancer Genet Cytogenet** 188: 99-102, 2009.
 38. 2. Ohnishi H, Taki T, Yoshino H, Takita J, Ida K, Ishii M, Nishida K, Hayashi Y, Taniwaki M, Bessho F, Watanabe T. Complex t(1;22;11)(q44;q13;q23) translocation causing MLL-p300 fusion gene in therapy-related acute myeloid leukemia. **Eur J Haematol** 81: 475-480, 2008.
 39. 3. Sawada T, Nishiyama C, Kishi T, Sasazuki T, Komazawa-Sakon S, Xue X, Piao JH, Ogata H, Nakayama J, Taki T, Hayashi Y, Watanabe M, Yagita H, Okumura K, Nakano H. Fusion of OTT to BSAC results in aberrant up-regulation of transcriptional activity. **J Biol Chem** 283: 26820-26828, 2008.
 40. 4. Taketani T, Taki T, Sako M, Ishii T, Hayashi Y. HLXB9-ETV6 fusion gene in an acute megakaryoblastic leukemia patient and expression of the HLXB9 gene in leukemia and normal B cell lines. **Cancer Genet Cytogenet** 186: 115-119, 2008.
 41. 5. Hiwatari M, Ono R, Taki T, Hishiya A, Ishii E, Kitamura T, Hayashi Y, Nosaka T. Novel gain-of-function mutation in the extracellular domain of the PDGFRA gene in infant acute lymphoblastic leukemia with t(4;11)(q21;q23). **Leukemia** 22: 2279-2280, 2008
 42. 6. Hidaka T, Nakahata S, Hatakeyama K, Hamasaki M, Yamashita K, Kohno T, Arai Y, Taki T, Nishida K, Okayama A, Asada Y, Yamaguchi R, Tsubouchi H, Yokota J, Taniwaki M, Higashi Y, Morishita K. Down-regulation of TCF8 is involved in the leukemogenesis of adult-T cell leukemia/lymphoma. **Blood** 112: 383-393, 2008.
 43. 7. Tanaka R, Kuroda J, Stevenson W, Ashihara E, Ishikawa T, Taki T, Kobayashi Y, Kamitsuji Y, Kawata E, Takeuchi M, Murotani Y, Yokota A, Hirai M, Majima S, Taniwaki M, Maekawa T, Kimura S. Fully automated and super-rapid system for the detection of JAK2V617F mutation. **Leuk Res** 32: 1462-1467, 2008.
 44. 8. Chinen Y, Taki T, Nishida K, Shimizu D, Okuda T, Yoshida N, Kobayashi C, Koike K, Tsuchida M, Hayashi Y, Taniwaki M.

Identification of the novel AML1 fusion partner gene, LAF4, a fusion partner of MLL, in childhood T-cell acute lymphoblastic leukemia with t(2;21)(q11;q22) by bubble PCR method for cDNA. **Oncogene** 27: 2249-2256, 2008.

2. 学会発表

1. Miyawaki S, Ohtake S, Fujisawa S, Kiyoi H, Shinagawa K, Usui N, Miyamura K, Nishimura M, Miyazaki Y, Nishii K, Nagai T, Yamane T, Taniwaki M, Takahashi M, Yagasaki F, Kimura Y, Asou N, Honda S, Ohnishi K, Naoe T, and Ohno R. Long-Term Follow-up of the Randomized JALSG AML 201 Study Comparing High Dose Ara-C Therapy with Conventional Consolidation Therapy in Adult Acute Myeloid Leukemia (AML). 50th ASH Annual Meeting Dec 6-9 2008, Blood 2008;112: 56.
2. Sakamaki H, Miyawaki S, Ohtake S, Emi N, Yagasaki F, Mitani K, Matsuda S, Kishimoto Y, Miyazaki Y, Asou N, Takahashi M, Ogawa Y, Honda S, and Ohno R. Allogeneic Stem Cell Transplantation (Allo-SCT) in Adults with Acute Myelogenous Leukemia (AML). Final Analysis of JALSG AML97 Study. 50th ASH Annual Meeting Dec 6-9 2008, Blood 2008;112: 135.
3. Ohtake S, Miyawaki S, Fujita H, Kiyoi H, Shinagawa K, Usui N, Miyamura K, Nishimura M, Miyazaki Y, Nishii K, Nagai T, Yamane T, Taniwaki M, Takahashi M, Yagasaki F, Kimura Y, Asou N, Honda S, Ohnishi K, Naoe T, and Ohno R. Updated Results of JALSG AML201 Study Comparing Intensified Daunorubicin with Idarubicin in Patients with De Novo Acute Myeloid Leukemia: Effect of Hematopoietic Stem Cell Transplantation. 50th ASH Annual Meeting Dec 6-9 2008, Blood 2008;112:757.
4. Abe A, Kiyoi H, et al. Retention but Significant Reduction of BCR-ABL Transcript in Hematopoietic Stem Cells in Chronic Myelogenous Leukemia after Imatinib Therapy. The American Society of Hematology 50th Annual Meeting. Dec 2008, San Francisco USA.
5. Minami Y, Kiyoi H, et al. Treatment with Hsp90 Inhibitor, 17-AAG Overcomes Resistance to Small Molecule FLT3-Inhibitors in FLT3/ITD-Positive Leukemia Cells Harboring N676K-Mutation. The American Society of Hematology 50th Annual Meeting. Dec 2008, San Francisco USA.
6. Wakita A, Kiyoi H, et al. A Randomized Trial Comparing Individualized Vs. Non-Individualized Treatment for Elderly Acute Myeloid Leukemia: JALSG GML200 Study. The American Society of Hematology 50th Annual Meeting. Dec 2008, San Francisco USA.
7. Ishikawa Y, Kiyoi H, et al. The Genotype Consisting of Complex Karyotype and TP53 Gene Mutation Is Specific to Acute Myeloid Leukemia with Multilineage Dysplasia. The American Society of Hematology 50th Annual Meeting. Dec 2008, San Francisco USA.
8. Katsumi A, Kiyoi H, et al. Prognostic Implication and Biological Roles of RhoH in Acute Myeloid Leukemia. The American Society of Hematology 50th Annual Meeting. Dec 2008, San Francisco USA.
9. Shiotsu Y, Kiyoi H, et al. KW-2449, a Novel Multi-Kinase Inhibitor, Suppresses the Growth of Imatinib-Resistant Ph+ Leukemia Including BCR-ABL/T315I Both in Vitro and in Vivo. The American Society of Hematology 50th Annual Meeting. Dec 2008, San Francisco USA.
10. Ohtake S, Kiyoi H, et al. Updated Results of JALSG AML201 Study Comparing Intensified Daunorubicin with Idarubicin in Patients with De Novo Acute Myeloid Leukemia: Effect of Hematopoietic Stem Cell Transplantation. The American Society of Hematology 50th Annual Meeting. Dec 2008, San Francisco USA.
11. Miyawaki S, Kiyoi H, et al. Long-Term Follow-up of the Randomized JALSG AML 201 Study Comparing High Dose Ara-C Therapy with Conventional Consolidation Therapy in Adult Acute Myeloid Leukemia (AML). The American Society of Hematology 50th Annual Meeting. Dec 2008, San Francisco USA.
12. Sugimoto T, Kiyoi H, et al. Relationship Between Post-Translational Modification of CD20 Protein and the Responsiveness to Rituximab Treatment. The American Society of Hematology 50th Annual Meeting. Dec 2008, San Francisco USA.
13. Wakita A, Ohtake S, Takada S, Yagasaki F, Komatsu H, Miyazaki Y, Kubo K, Kimura Y, Takeshita A, Adachi A, Kiyoi H, Yamaguchi T, Yoshida M, Ohnishi K, Miyawaki S, Naoe T,

- Ueda R, Ohno R. A Randomized Trial Comparing Individualized Vs. Non-Individualized Treatment for Elderly Acute Myeloid Leukemia: JALSG GML200 Study. Blood (ASH Annual Meeting Abstracts), Nov 2008; 112: 2961.
14. Kato M, Kobayashi Y, et al. Genome-Wide Analysis of B Cell Non-Hodgkin's Lymphoma Disclosed Frequent Involvement of Genes in NFkB Pathway. 50th Annual Meeting. Dec 2008, San Francisco USA.
 15. Tobinai K, Kobayashi Y, et al. Phase I and Pharmacokinetic Study of Inotuzumab Ozogamicin (CMC-544) as a Single Agent in Japanese Patients with Follicular Lymphoma Pretreated with Rituximab. 50th Annual Meeting. Dec 2008, San Francisco USA.
 16. Fujihara H, Takeshita A, Uchiyama Y, Suzumura T, Yamada C, Nakai S, Shinjo K. The Usefulness of the Expected Elevation Value of Serum Albumin Before Replacement Therapy. Transfusion (AABB Annual Meeting Abstracts) Sep 2008; 48: 74A
 17. Tauchi T, Akahane D, Okabe S, Ashihara E, Kimura S, Maekawa T, Ohyashiki K. Combined effects of novel heat shock protein 90 inhibitor NVP-AUY922 and nilotinib against mutant forms of BCR-ABL. Blood (ASH Annual Meeting Abstracts), Nov 2008; 112:724.
 18. Okabe S, Tauchi T, Kimura S, Maekawa T, Ohyashiki K. The efficacy of histone deacetylase inhibitor, vorinostat against BCR-ABL positive leukemia cells include ABL kinase domain mutation in monotherapy and in combination with dasatinib. Blood (ASH Annual Meeting Abstracts), Nov 2008; 112:3194.
 19. Okabe S, Tauchi T, Kimura S, Maekawa T, Ohyashiki K. The analysis of HDAC inhibitor, vorinostat efficacy against wild type and BCR-ABL mutant positive leukemia cells in monotherapy and in combination with a pan-aurora kinase inhibitor, MK-0457. Blood (ASH Annual Meeting Abstracts), Nov 2008; 112:5025.
 20. 和田奈緒子、鈴島仁、山崎浩、江藤健一郎、釘宮倫子、下村泰三、西村慎太郎、堀川健太郎、津田弘之、満屋裕明、麻生範雄 ハイリスク骨髄異形成症候群に対する少量 cytarabine, aclarubicin および G-CSF (CAG) 療法 第70回日本血液学会総会 2008年10月10日～10月12日 京都
 21. 山口俊一朗、南里知子、宮家宏定、堀川健太郎、麻生範雄、満屋裕明 T-ALLの寛解導入中に顕在化したCharcot-Marie-Tooth病 第70回日本血液学会総会 2008年10月10日～10月12日 京都
 22. 石原園子、本田由美、原田奈穂子、野坂生郷、松野文彦、堀川健太郎、麻生範雄、満屋裕明、猪俣裕紀洋、猪山賢一 亜型分類困難な monomorphic post-transplant lymphoproliferative disorder 第70回日本血液学会総会 2008年10月10日～10月12日 京都
 23. 野坂生郷、南里知子、江良 択実、松野文彦、立津 央、中村 美紀、麻生範雄、満屋 裕明 当科で経験したEBウイルス感染症によるリンパ増殖性疾患の4例 第70回日本血液学会総会 2008年10月10日～10月12日 京都
 24. 鈴島仁、和田奈緒子、山崎浩、津田弘之、江藤健一郎、西村慎太郎、下村泰三、釘宮倫子、堀川健太郎、満屋裕明、麻生範雄 高齢者急性骨髄性白血病に対する少量 cytarabine, aclarubicin および G-CSF (CAG) 療法 第70回日本血液学会総会 2008年10月10日～10月12日 京都
 25. 岩永栄作、南里知子、河北敏郎、松野直史、満屋裕明、麻生範雄 急性骨髄性白血病におけるFLT3、CEBPA、NPM1、WT1 遺伝子変異 第70回日本血液学会総会 2008年10月10日～10月12日 京都
 26. 小野孝明、竹下明裕、岸本裕司、清井仁、岡田昌也、河合泰一、都築基弘、松田光弘、品川克至、小林透、大竹茂樹、西村美樹、高橋正知、矢ヶ崎史治、大西一功、木村之彦、岩永正子、麻生範雄、直江知樹、大野竜三 急性前骨髄球性白血病における付加染色体異常の意義—JALSG APL97解析 第70回日本血液学会総会 2008年10月10日～10月12日 京都
 27. 南里知子、麻生範雄、岸本裕司、清井仁、岡田昌也、河合泰一、都築基弘、松田光弘、品川克至、小林透、大竹茂樹、西村美樹、高橋正知、矢ヶ崎史治、竹下明裕、木村之彦、岩永正子、直江知樹、大野竜三 急性前骨髄球性白血病におけるRA症候群 (JALSG APL97研究) 第70回日本血液学会総会 2008年10月10日～10月12日 京都
 28. 田内哲三、赤羽大悟、岡部聖一、大屋敷一馬、T315I変異型BCR-ABLに対するMK-

- 0457及びDasatinib併用効果の検討. 第70回日本血液学会総会、京都.
29. 岡部聖一、田内哲三、大屋敷純子、大屋敷一馬. BCR-ABL陽性細胞株に対するオーロラキナーゼ阻害剤MK-0457、HDAC阻害剤(Vorinostat)の有効性の検討. 第70回日本血液学会総会、京都.
30. 神田善伸、岡本真一郎、田内哲三、木崎昌弘、猪口孝一、矢部麻里子、横山建次、伊藤良和、木村之彦、東原正明、別所正美、安藤潔、千葉滋、黒川峰夫、押味和夫、檀和夫、大屋敷一馬、池田康夫. 本邦の慢性骨髄性白血病患者に対するイマチニブ1日400mg投与の安全性、有効性を評価する多施設共同臨床試験. 第70回日本血液学会総会、京都.
31. 北原俊彦、木口亨、田内哲三、伊藤良和、宮澤啓介、木村之彦、大屋敷一馬. 慢性骨髄性白血病におけるイマチニブ服薬コンプライアンス: 当科における52症例の検討. 第70回日本血液学会総会、京都.
32. 赤羽大悟、後藤守孝、豊武寿理、藤本博昭、田内哲三、木村之彦、大屋敷一馬. 同種骨髄移植を施行しえた血友病A合併のT細胞性急性リンパ性白血病. 第70回日本血液学会総会、京都.

F. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得

米国特許第7,470,717号

発明の名称: Indazole Derivatives

発明者: 太田義久、金井文彦、奈良真二、神田裕、梅原浩司、塩津行正、直江知樹、清井仁

登録日: 2008年12月30日

2. 実用新案登録

該当無し。

3. その他

なし。

Ⅲ. 分 担 研 究 報 告 書

「急性リンパ性白血病における検体収集とキメラ遺伝子スクリーニング」
分担研究者 直江 知樹 名古屋大学大学院医学系研究科 血液・腫瘍内科学 教授

研究要旨

急性リンパ性白血病におけるJALSG研究では2002年以来、登録時に検体を検査メーカーに送付し、急性リンパ性白血病に特徴的な9種類のキメラ遺伝子mRNAをスクリーニングし、もしもBCR/ABL陽性であればイマチニブ併用プロトコールPh+ALL202に二次登録するシステムを構築し、良好な成績を収めてきた。2008年、新たにPh+ALL208IMAプロトコールがスタートするに伴い、これまでのスクリーニング検査の結果をまとめると共に、残余検体の収集・保管をこれまでから継続して行った。

A. 研究目的

多施設からの白血病検体を速やかに保存・管理し、有益な利用を図るシステムをJapan Adult Leukemia Study Groupを背景として構築する。今回は具体例として、急性リンパ性白血病で構築した、キメラ遺伝子スクリーニングと残余検体の保存について報告する。

2009/2/28)、Ph+ALL202 は終了済みで80例であり、キメラスクリーニングとプロトコール登録が上手くリンクしていることが明らかである。

- 3) これらの残余検体については、匿名化の上、保存中である。

B. C. 研究方法と結果

本試験における imatinib 併用寛解導入療法 Ph+ALL208 では JALSG Ph+ALL202 の理念を踏襲するが、①imatinib の投与期間を 63 日間から 42 日間に短縮して、地固め療法をより早期に開始する、②地固め療法では JALSG Ph+ALL202 の地固め療法コース（1）（C1）に imatinib を加えるとともに、imatinib 単独療法であった地固め療法コース（2）（C2）にシクロホスファミド(CPM)、ダウノルピシン(DNR)、ビンクリスチン(VCR)、ブレドニゾロン(PSL)からなる化学療法を併用した。

2002 年より、ALL202 および Ph+ALL202 がスタートし、Ph+ALL202 については 2004 年に登録が終了したものの、ALL202 については、現在も登録中のプロトコールで、昨年 11 月から Ph+ALL208IMA が新たにスタートしてる。この間（2002 年 8 月 31 日～2009 年 2 月 28 日）にキメラ遺伝子スクリーニングを行った患者総数は 500 例であった。

- 1) キメラ遺伝子のスクリーニング結果を表に示す。11 例については、Major と Minor BCR/ABL 両方が陽性であったので、Major として分類した。BCR/ABL は 35%に陽性であった。
- 2) ALL202 への登録は 421 例(2002 -

キメラ名	陽性数	陰性数	陽性率
minor			
bcr/abl	130(11)*	359	26.0%
Major			
bcr/abl	45*	462	9.0%
E2A/PBX1	19	481	3.8%
MLL/AF4	6	494	1.2%
MLL/ENL	4	496	0.8%
SIL/TAL1	5	495	1.0%
TEL/AML1	3	497	0.6%
MLL/AF9	0	500	0%
MLL/AF6	1	499	0.2%
合計	213(11)*		

D. 健康危険情報

特になし。

E. 研究発表

1. 論文発表

1. Yanada M, Sugiura I, Takeuchi J, Akiyama H, Maruta A, Ueda Y, Usui N, Yagasaki F, Yujiri T, Takeuchi M, Nishii K, Kimura Y, Miyawaki S, Narimatsu H, Miyazaki Y, Ohtake S, Jinnai I, Matsuo K, Naoto T, Ohno R; Japan Adult Leukemia Study Group. Pr ospective monitoring of BCR-ABL1 transcrip

t levels in patients with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukaemia undergoing imatinib-combined chemotherapy. **Br J Haematol.** 143:503-10,2008.

2. Sanz MA, Grimwade D, Tallman MS, Lowenberg B, Fenaux P, Estey EH, Naoe T, Lengfelder E, Büchner T, Döhner H, Burnett AK, Lo-Coco F. Management of acute promyelocytic leukemia: recommendations from an expert panel on behalf of the European LeukemiaNet. **Blood.** 113:1875-91,2009.
3. Iwasaki T, Katsumi A, Kiyoi H, Tanizaki R, Ishikawa Y, Ozeki K, Kobayashi M, Abe A, Matsushita T, Watanabe T, Amano M, Kojima T, Kaibuchi K, Naoe T. Prognostic implication and biological roles of RhoH in acute myeloid leukaemia. **Eur J Haematol.** 81:454-60,2008.
4. Narimatsu H, Iino M, Ichihashi T, Yokozawa T, Hayakawa M, Kiyoi H, Takeo T, Sawamoto A, Iida H, Tsuzuki M, Yanada M, Naoe T, Suzuki R, Sugiura I. Clinical significance of minimal residual disease in patients with t(8;21) acute myeloid leukemia in Japan. **Int J Hematol.** 88:154-8,2008.
5. Wakui M, Kuriyama K, Miyazaki Y, Hata T, Taniwaki M, Ohtake S, Sakamaki H, Miyawaki S, Naoe T, Ohno R, Tomonaga M. Diagnosis of acute myeloid leukemia according to the WHO classification in the Japan Adult Leukemia Study Group AML-97 protocol. **Int J Hematol.** 87:144-51,2008.
6. Yanada M, Takeuchi J, Sugiura I, Akiyama H, Usui N, Yagasaki F, Nishii K, Ueda Y, Takeuchi M, Miyawaki S, Maruta A, Narimatsu H, Miyazaki Y, Ohtake S, Jinnai I, Matsuo K, Naoe T, Ohno R; Japan Adult Leukemia Study Group. Karyotype at diagnosis is the major prognostic factor predicting relapse-free survival for patients with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia treated with imatinib-combined chemotherapy. **Haematologica.** 93:287-90,2008.

2. 学会発表

1. Yuichi Ishikawa, Tomoki Naoe, et al.
The Genotype Consisting of Complex Karyotype and TP53 Gene Mutation Is Specific to Acute Myeloid Leukemia with Multilineage Dysplasia
米国血液学会 サンフランシスコ、2008年

12月

F. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得
米国特許第7,470,717号
発明の名称：Indazole Derivatives
発明者：太田義久、金井文彦、奈良真二、神田裕、梅原浩司、塩津行正、直江知樹、清井仁
登録日：2008年12月30日

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし

「急性骨髄性白血病における遺伝子異常による予後予測因子の解析」
分担研究者 麻生範雄 熊本大学大学院医学薬学研究部血液内科学 准教授

研究要旨 急性骨髄性白血病は種々の染色体転座や遺伝子変異などによる複数の遺伝子異常を基盤に発症し、病態や治療反応性が異なることが明らかにされつつある、しかしながら、まだ遺伝子異常が明らかでない病型も多く、その解析は重要な課題である。本年度は自施設の白血病症例146例におけるFLT3、CEBPA、NPM1、WT1およびJAK2遺伝子変異を検索し、その組み合わせが予後予測に有用であることが示された。また、これらの遺伝子変異を全く認めない症例群の予後が極めて不良なことを明らかにした。さらに、これらの既知の遺伝子変異がない症例群において新しい転写因子の遺伝子変異を同定し、その機能を解析中である。今後はこれらの知見をJALSGにおいて収集した同一治療プロトコール登録例の検体を用いて検証し、予後予測因子としての意義を確立する。また、検体収集システムの確立、整備を進めることにより質の高い臨床研究の推進をサポートする。

A. 研究目的

急性骨髄性白血病（AML）の治療反応性は病型により大きく異なり、年齢と染色体異常が最も大きな予後因子である。染色体異常による予後良好群は約30%、予後不良群は10%を占め、残る60%は予後中間群とされる。予後中間群の治療反応性には種々混在しており、その予後の幅は広い。臨床的な治療方針、例えば同種造血幹細胞移植の適応の決定に当たっては予後予測は不可欠であり、染色体異常に加えて有用な分類が求められている。最近、遺伝子変異と治療反応性の関係が徐々に明らかにされつつある。例えば受容体型チロシンキナーゼFLT3の膜近傍部の繰り返し変異（FLT3-ITD）は予後不良例に多く、NPM1の変異は予後良好例に多い。いずれも正常染色体例に多く、予後予測因子として期待されている。これまでひとつひとつの遺伝子変異については予後との関係が報告されてきたが、いくつもの遺伝子変異を網羅的に解析して相対的な関係を検討する解析はほとんどなく、日本人における報告も少ない。本研究では多数例のAMLの遺伝子変異を網羅的に解析し、予後予測因子としての有用性を検討することを目的とする。また、既知の異常を認めない症例については新たな遺伝子変異を見いだすことを目的とする。さらに、得られた知見を同一治療プロトコール登録例の検体を用いて検証し、予後予測因子としての意義を確立する。

B. 研究方法

AML 症例において既知の異常として FLT3、

NPM1、N-RAS、K-RAS、CEBPA、MLL、AML1 および p53 等の遺伝子変異の有無を PCR 法と直接シーケンス法で解析する。遺伝子変異を認めない症例において新しい遺伝子変異の同定を試みる。とくに骨髄系細胞の分化増殖を調節する転写因子を網羅的に解析する。新しく同定した遺伝子変異の機能解析を行う。さらに、遺伝子変異と病態とくに治療反応性との関係を解析し、日本人の AML 症例における遺伝子変異の予後予測因子としての有用性を検討する。

C. 研究結果

自施設のAML症例146例においてFLT3、NPM1、CEBPA、WT1およびJAK2遺伝子変異を検索した。FLT3-ITDを27例(18%)、FLT3-TKDを10例(7%)、NPM1変異を33例(23%)、CEBPA変異を17例(12%)、WT1変異を7例(5%)およびJAK2変異を2例(1%)に認めた。FLT3-ITDとNPM1変異は重複例が多く、全体では45%にこれらの遺伝子変異を認めた。正常核型AMLの53例では75%に遺伝子変異が認められた。全AMLにおいては遺伝子変異の有無は生存率に影響を及ぼさなかった。一方、正常核型AMLにおいてはFLT3-ITDとともに遺伝子変異を認めない症例群の予後が不良であった。さらに、これらの既知の遺伝子変異がない症例群において新しい転写因子の遺伝子変異を同定し、その機能を解析中である。今後はこれらの知見を同一治療プロトコール登録例の検体を用いて検証し、予後予測因子としての意義を確立する。また、検体収集システムの確立、整備を進めることにより質の高い臨床研究

の推進をサポートする。

D. 健康危険情報

該当無し。

E. 研究発表

1. 論文発表

1. Yamada Y, Ito K, Watanabe Y, Nosaka K, Horikawa K, Hidaka M, Kawano F, Sasaki Y, Mitsuya H, Asou N. Allogeneic bone marrow transplantation after l-asparaginase-induced pancreatitis in a patient with acute lymphoblastic leukemia. **Leuk Res** 2008;32:1944-1946.
2. Tatetsu H, Matsuno F, Takatsu N, Miyake H, Hoshino K, Nosaka K, Horikawa K, Hata H, Mitsuya H and Asou N. Treatment of therapy-related acute myeloid leukemia occurring in elderly non-Hodgkin lymphoma patients with low-dose cytarabine, aclarubicin and granulocyte colony-stimulating factor. **Leuk Res** 2009;33:197-200.
3. Jo A, Tsukimoto I, Ishii E, Asou N, Mitani S, Shimada A, Takashi Igarashi T, Hayashi Y and Ichikawa H. Age-associated difference in gene expression of pediatric acute myelomonocytic lineage leukemia (FAB M4 and M5 subtypes) and its correlation with prognosis. **Br J Haematol** 2009;144:917-929.
4. Nanri T, Iwanaga E, Fujie S, Yamada Y, Horikawa K, Mitsuya H and Asou N. Micafungin-induced immune hemolysis attacks. **Int J Hematol** 2009 (in press)
5. Iwanaga E, Nanri T, Matsuno N, Kawakita T, Mitsuya H, and Asou N. A JAK2-V617F activating mutation in addition to KIT and FLT3 mutations is associated with clinical outcome in patients with t(8;21)(q22;q22) acute myeloid leukemia. **Haematologica** 2009 (in press)

2. 学会発表

1. 和田奈緒子、鈴島仁、山崎浩、江藤健一郎、釘宮倫子、下村泰三、西村慎太郎、堀川健太郎、津田弘之、満屋裕明、麻生範雄 ハイリスク骨髄異形成症候群に対する少量cytarabine, aclarubicinおよびG-CSF (CAG) 療法 第70回日本血液学会総会 2008年10月10日～10月12日 京都
2. 山口俊一朗、南里知子、宮家宏定、堀川健太郎、麻生範雄、満屋裕明 T-ALLの寛解

導入中に顕在化したCharcot-Marie-Tooth病 第70回日本血液学会総会 2008年10月10日～10月12日 京都

3. 石原園子、本田由美、原田奈穂子、野坂生郷、松野文彦、堀川健太郎、麻生範雄、満屋裕明、猪俣裕紀洋、猪山賢一 亜型分類困難な monomorphic post-transplant lymphoproliferative disorder 第70回日本血液学会総会 2008年10月10日～10月12日 京都
4. 野坂 生郷、南里 知子、江良 択実、松野 文彦、立津 央、中村 美紀、麻生範雄満屋 裕明 当科で経験したEBウイルス感染症によるリンパ増殖性疾患の4例 第70回日本血液学会総会 2008年10月10日～10月12日 京都
5. 鈴島仁、和田奈緒子、山崎浩、津田弘之、江藤健一郎、西村慎太郎、下村泰三、釘宮倫子、堀川健太郎、満屋裕明、麻生範雄 高齢者急性骨髄性白血病に対する少量cytarabine, aclarubicinおよびG-CSF (CAG) 療法 第70回日本血液学会総会 2008年10月10日～10月12日 京都
6. 岩永栄作、南里知子、河北敏郎、松野直史、満屋裕明、麻生範雄 急性骨髄性白血病におけるFLT3、CEBPA、NPM1、WT1遺伝子変異 第70回日本血液学会総会 2008年10月10日～10月12日 京都
7. 小野孝明、竹下明裕、岸本裕司、清井仁、岡田昌也、河合泰一、都築基弘、松田光弘、品川克至、小林透、大竹茂樹、西村美樹、高橋正知、矢ヶ崎史治、大西一功、木村之彦、岩永正子、麻生範雄、直江知樹、大野竜三 急性前骨髄球性白血病における付加染色体異常の意義—JALSG APL97解析 第70回日本血液学会総会 2008年10月10日～10月12日 京都
8. 南里知子、麻生範雄、岸本裕司、清井仁、岡田昌也、河合泰一、都築基弘、松田光弘、品川克至、小林透、大竹茂樹、西村美樹、高橋正知、矢ヶ崎史治、竹下明裕、木村之彦、岩永正子、直江知樹、大野竜三 急性前骨髄球性白血病におけるRA症候群 (JALSG APL97研究) 第70回日本血液学会総会 2008年10月10日～10月12日 京都
9. Miyawaki S, Ohtake S, Fujisawa S, Kiyoi H, Shinagawa K, Usui N, Miyamura K, Nishimura M, Miyazaki Y, Nishii K, Nagai T, Yamane T, Taniwaki M, Takahashi M, Yagasaki F, Kimura Y, Asou N, Honda S, Ohnishi K, Naoe T, and Ohno R. Long-Term Follow-up of the

- Randomized JALSG AML 201 Study Comparing High Dose Ara-C Therapy with Conventional Consolidation Therapy in Adult Acute Myeloid Leukemia (AML). 50th ASH Annual Meeting Dec 6-9 2008, Blood 2008;112: 56.
10. Sakamaki H, Miyawaki S, Ohtake S, Emi N, Yagasaki F, Mitani K, Matsuda S, Kishimoto Y, Miyazaki Y, Asou N, Takahashi M, Ogawa Y, Honda S, and Ohno R. Allogeneic Stem Cell Transplantation (Allo-SCT) in Adults with Acute Myelogenous Leukemia (AML). Final Analysis of JALSG AML97 Study. 50th ASH Annual Meeting Dec 6-9 2008, Blood 2008;112: 135.
 11. Ohtake S, Miyawaki S, Fujita H, Kiyoi H, Shinagawa K, Usui N, Miyamura K, Nishimura M, Miyazaki Y, Nishii K, Nagai T, Yamane T, Taniwaki M, Takahashi M, Yagasaki F, Kimura Y, Asou N, Honda S, Ohnishi K, Naoe T, and Ohno R. Updated Results of JALSG AML201 Study Comparing Intensified Daunorubicin with Idarubicin in Patients with De Novo Acute Myeloid Leukemia: Effect of Hematopoietic Stem Cell Transplantation. 50th ASH Annual Meeting Dec 6-9 2008, Blood 2008;112:757.

F. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得
該当無し。
2. 実用新案登録
該当無し。
3. その他
該当無し。

「提案研究の審査と遺伝子解析」

分担研究者 清井 仁 名古屋大学 医学部附属病院 難治感染症部 講師

研究要旨

白血病の病態に関与する分子群の遺伝子変異、発現変化を臨床的データとの関連性を考慮しつつ網羅的に解析し、白血病の分子病態に基づく細分化から最適な治療法の選択と治療成績の向上を目的として、本年度は成人急性骨髄性白血病(AML)における遺伝子変異の解析を網羅的に行い、現在、AMLの病型分類に用いられているWHO分類の分子基盤に基づく詳細な層別化を試みた。今回の解析では、AMLのWHO分類別に存在する遺伝子異常に特徴があり、それぞれが異なる遺伝子異常にて予後の層別化が可能である事が判明した。成人AMLでは染色体異常、形態異常に加え遺伝子異常解析の網羅的解析を行う事により、分子基盤に基づいた更なる層別化が可能である事を明らかにした。これら遺伝子変異解析結果については、本研究事業で集積される検体の基礎データとして重要である。

A. 研究目的

急性骨髄性白血病(AML)のWHO分類では、一部の染色体転座を含む発症基盤に基づく層別化が行われているが、AMLの病態発症には、細胞の増殖、生存に関与する遺伝子の異常(class I 遺伝子異常)と分化、自己複製に関与する遺伝子の異常(class II 遺伝子異常)が共に獲得されることが必要とされている。AMLの治療法層別化を行う上では、AMLを分子基盤に基づいて詳細に層別化を行うことが重要であると考えられる。本研究では、AMLにおける遺伝子変異の解析を網羅的に行い、WHO分類別にみた分子病態の特徴を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

WHO 分類に基づき診断および分類され、日本成人白血病研究グループ(JALSG) のAML治療プロトコルに準じて行われた成人AML150例を対象に *FLT3*, *NPM1*, *CEBPA*, *cKIT*, *N-RAS*, *TP53*, *AML1*, *MLL*-partial tandem duplication(PTD) 遺伝子変異の解析を行い、後方視的に WHO 分類別にそれら遺伝子変異と臨床病態の関係について検討し解析を行った。

C. 研究結果

AML全体での遺伝子変異は*FLT3*遺伝子変異が約24%、次いで*NPM1*遺伝子変異が約20%、*CEBPA*遺伝子変異が約11%と高頻度に認められた。WHO分類別にみると、Recurrent Genetic Abnormalities(RGA)群では*FLT3*、*cKIT*遺伝子変異が見ら

れる一方で、*NPM1*、*CEBPA*遺伝子変異は認められず、またNot Otherwise categorized(NOC)群及びMultilineage Dysplasia(MLD)群では様々な遺伝子変異の存在が認められ、中でも*TP53*遺伝子変異はMLD群において有意に高頻度に認められた。このようにWHO分類別に存在する遺伝子異常に特徴が認められることが明らかになった。これらの遺伝子異常に基づきWHO分類の更なる細分化を試みた。

まず、recurrent genetic abnormalities群での遺伝子変異について検討したところ、t(8;21)、inv(16)を有するcore binding factor (CBF)白血病では、*FLT3*遺伝子変異に加え、*cKIT*遺伝子変異が認められ、*FLT3*、もしくは*cKIT*いずれかの遺伝子変異有する症例は予後良好とされるCBF白血病の中でも明らかに不良な無病生存率を示し、予後不良であることが示された。(図1)

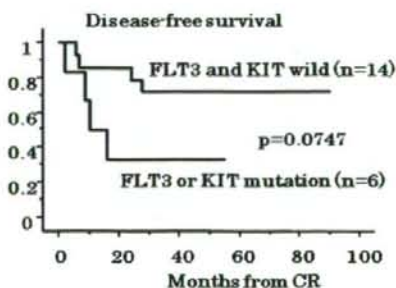


図1.C

BF-AML患者における、*FLT3*遺伝子もしくは*cKIT*遺伝子変異を有する群と有しない群での無病生存率 (DFS) 曲線