

201119070A

厚生労働科学研究費補助金  
がん臨床研究事業

成人難治性白血病における  
バイオマーカーに基づく層別化治療法の確立

平成23年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 直江 知樹  
(名古屋大学大学院医学系研究科)

平成24年(2012)年 3月

厚生労働科学研究費補助金  
(がん臨床研究事業)

平成 23 年度 総括・分担研究報告書

## 《目次》

I. 研究組織	1
II. 総括研究報告書	
成人難治性白血病におけるバイオマーカーに基づく層別化治療法の確立	3
研究代表者 直江知樹	
III. 分担研究報告書	
1. 再発・難治性急性骨髄性白血病	9
薄井 紀子	
2. 急性前骨髄球性白血病に対する治癒を目指した層別化治療戦略の確立	11
大西 一功	
3. 急性リンパ性白血病の標準的治療法の確立に関する研究	14
竹内 仁	
4. 前向きコホートスタディ	18
臼杵 憲祐	
5. 施設監査・施設審査	25
小林 幸夫	
6. 骨髄異形成症候群の研究ならびにデータセンターの運営	30
宮崎 泰司	
7. 生物統計	33
熱田 由子	
8. 第二世代TKIによるCML治療	36
松村 到	
IV. 研究成果の刊行に関する一覧表	41
V. 研究成果の刊行物・別刷	45

# I. 研 究 組 織

【成人難治性白血病におけるバイオマーカーに基づく層別化治療法の確立】 平成23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	薄井 紀子	東京慈恵会医科大学医学部 准教授
	大西 一功	浜松医科大学医学部附属病院腫瘍センター 教授
	竹内 仁	日本大学医学部 教授
	臼杵 憲祐	東京医療保健大学（NTT東日本関東病院）臨床教授
	小林 幸夫	国立がん研究センター中央病院 外来医長
	宮崎 泰司	長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 教授
	熱田 由子	名古屋大学大学院医学系研究科 寄附講座講師
	松村 到	近畿大学医学部 教授

## Ⅱ. 総 括 研 究 報 告 書

厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究）  
総括研究報告書

「成人難治性白血病におけるバイオマーカーに基づく層別化治療法の確立」  
研究代表者 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

本研究では、成人白血病に対して新たな分子診断による治療層別化を行い、化学療法、分子標的療法、同種造血幹細胞移植を含んだ新しい標準的治療法の確立を行うこと、ならびに白血病における包括的な前向き登録を実施し、我が国の白血病に関する診断と治療・アウトカムに関する実態を明らかにすることを目的とした。AMLに対する観察研究AML209試験では目的症例数1500例のすでに半数が登録された。また再発・難治AML に対する、抗CD33モノクローナル抗体薬-gemtuzumab ozogamicin(GO)と化学療法との併用療法の第I相試験について、GOの安全性と有効性を発表した。成人APLに対するAPL204試験については353例が既に登録され、現在追跡期間中である。成人未治療APLに対する次期プロトコール、ハイリスクMDSに対するアザシチジンによる臨床試験のプロトコール、初発慢性期のCMLに対するニロチニブとダサチニブのランダム化比較試験は、いずれも2012年6月からの登録開始を予定している。ALL202の登録が2010年中に終了し、安全性や副作用に関してはその一部を発表した。BCR-ABL陽性成人急性リンパ性白血病(Ph+ALL)を対象としたimatinib併用化学療法による第II相臨床試験については69例の登録があり試験登録を終了した。次期ALL臨床試験を3つ計画した。参加施設に新たに発生する全AML、高リスクMDS症例を対象とした生存に関する観察研究(前向きコホートスタディー) JALSG-CS-07は昨年で3329例の登録を終了し、全AML、全MDS、全CMML症例を対象とした5年生存率に関する観察研究(JALSG-CS-11)が新たにスタートした

研究分担者氏名・所属研究機関名及び所属研究機関における所属

薄井紀子・東京慈恵会医科大学 准教授  
大西一功・浜松医科大学附属病院 教授  
竹内 仁・日本大学医学部 教授  
臼杵憲祐・NTT東日本関東病院 部長  
小林幸夫・国立がん研究センター 外来医長  
宮崎泰司・長崎大学医歯薬学総合研究科 教授  
熱田由子・名古屋大学大学院医学系研究科講師  
松村 到・近畿大学医学部 教授

(大西班長)においては、急性白血病を層別化し、強度を強めた化学療法、チロシンキナーゼ阻害剤TXIの併用、HSCTなどを使い分けることで治療成績の向上を図ってきた。最近新たな分子異常も続々見いだされており、バイオマーカーに基づく分子層別と新たな分子標的治療薬(第二世代ABL チロシンキナーゼ阻害薬、DNAメチル化酵素阻害薬など)を用いた併用療法の開発も求められている。

A. 研究目的

本研究では、成人白血病に対して新たな分子診断による治療層別化を行い、化学療法、分子標的療法、同種造血幹細胞移植(HSCT)を含んだ新しい標準的治療法の確立を目的とする。また白血病における包括的な前向き登録も実施し、我が国の白血病に関する診断と治療・アウトカムに関する疫学研究を同時に行う。これらの実施に当たっては、高い症例集積能力を有するJALSG(日本成人白血病治療共同研究グループ)の全面的な協力を得る。

急性白血病においては生物学的に不均一であり、これまでの「白血病班」

B. 研究方法

実施に当たっては、高い症例集積能力を有するJALSG(日本成人白血病治療共同研究グループ)の全面的な協力を得て下記の検討を行った。

観察研究AML209-GS(UMIN-CTR:000003432)、第II相試験AML209-FLT3-SCT(UMIN-CTR:00003433)、第IV相試験CBF-AML209-KIT(UMIN-CTR:000003434)の登録を継続・推進した。目標症例数に到達した第II相試験ALL202-U(UMIN-CTR:00000064)、第III相試験ALL202-O(UMIN-CTR:00000063)、第II相試験Ph-ALL208-IMA(UMIN-CTR:000001226)については予後観察と臨床情報の収集・固定化を実施した。APLに対する第III相試験APL204(UMIN-CTR:000000154)は新規登録を終了し、維持療法の割り付けを継

続した。第III相試験CML207 (UMIN-CTR:000000823) ランダム化第II相試験CML210R (UMIN-CTR:000003616) の登録を継続した。JALSG参加施設における全ての初診AMLとMDS、CMMLを登録し5年間追跡するコホート研究 (CS-07) は目標症例数に到達したため、臨床経過の観察と情報収集を継続した。

#### (倫理面への配慮)

本研究に関係する全ての研究者はヘルシンキ宣言 (2008年ソウル修正)、臨床研究に関する倫理指針 (平成20年厚生労働省) 疫学研究に関する倫理指針 (文部科学省・厚生労働省平成20年改正) およびヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針 (文部科学省・厚生労働省・経済産業省:平成20年12月改正) に従って本研究を実施する。またすべての臨床研究は、各機関での倫理委員会あるいはそれに準ずる委員会での審査され、承認を受けた後に登録を開始し、同時にUMIN臨床研究登録システムに登録をする。患者の臨床情報の収集、臨床検体の採取にあたってはインフォームドコンセントにおいて「利用目的」を明示し被験者の同意を得た後に実施する。また個人情報・検体に関しては個人が特定されないよう、連結可能匿名化を行い、一部のゲノム研究においては必要があれば連結不可能匿名化を行って、これを実施する。

#### C. 研究結果

AML209GS試験の登録は順調に推移しており、H23年度末で既に目的症例数1500の半数の登録を終えた。前向きに行った遺伝子検査症例数も同等数であり、残余検体については白血病ゲノム研究への同意を得て、検体保存センターで保管されている。AML209-FLT3-SCT、CBF-AML209-KITについても更なる登録促進を行っている。

ALL202-U、ALL202-O、Ph-ALL208-IMA、APL204、CML207、CS-07試験は目標症例数に到達したため、新規登録を終了し、臨床情報の収集・固定化と解析を開始することができた。次年度以降に解析結果が明らかになることが期待される。また、新規に疫学研究CS-11試験を開始した。

新たな試験の開始はハイリスクMDS、初発慢性期CML、APLで計画通り進められており、いずれもH24年度半ばでの登録開始が予定されている。

#### D. 考察

近年では染色体のみでなく、遺伝子異常に於いて治療の前向き層別化が進んでおり、APLについてはPML-RARAキメラ遺伝子を、Ph+ALL

に関してはBCR-ABLキメラ遺伝子をチェックし、それぞれATRAやImatinibなど分子標的治療併用が治療成績の向上に寄与してきた。今回のAML209では登録全症例でのキメラ遺伝子並びにFLT3遺伝子について前向きに検査し、CBF-AMLは高用量AraCを使用する地固め治療に、FLT3/ITDを有するAMLは同種移植へ割り振るという二段の試験を進めている。これらのデータは将来のFLT3阻害剤の臨床使用が可能となった際に有力な基盤データとなるであろう。

最近、とりわけ染色体正常AMLにおいては、FLT3のみならずCEBPA、NPM1、さらにはDNMT3A、TET 2、IDH1/2などが予後に影響を及ぼしうるとの報告や、アンスラサイクリン増量のメリットを享受しうる亜群が分子学的に同定されてきている (NEJM2012)。今回の前向き検体保存はこのような背景のもと、網羅的な遺伝子探索やそれら遺伝子異常の臨床的意義をあきらかにするという点で、大きな成果であるし、さらに将来のバイバンクの基礎として活用されるであろう。また参加施設に新たに発生する全AML、高リスクMDS症例を対象とした生存に関する観察研究は、はじめて詳細な我が国における白血病治療の実態をあきらかにしたという意味で大きな意義を有する。GO併用化学療法ではSWOGからの報告以来、その有効性・安全性に疑問が持たれ、米国ではGOの市場撤退が報道されたが、昨年のASHではフランスから全く逆の報告がなされた。JALSGでは慎重にその併用の安全性をみるP-1試験を終了し、その成果を報告した。今後は欧米の動向などみつつ、我が国での臨床開発へ向けた次のステップに取り組みたい。

#### E. 結論

本研究では、JALSGの協力を得て数多くの臨床研究を行うと共に、最先端の白血病遺伝子研究の礎となる検体収集を行った。またこれまで前向き研究の対象とならなかった高齢者白血病を中心とした治療実態を明らかにすることができた。

#### F. 健康危険情報

該当無し。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Sugimoto T, Tomita A, Abe A, Iriyama C, Kiyoi H, Naoe T. Chimeric antisense RNA derived from chromosomal translocation modulates target gene expression. **Haemato**



logica. 2012. (in press)

Mizuno H, Nakayama T, Miyata Y, Saito S, Nishiwaki S, Nakao N, Takeshita K, Naoe T. Mast cells promote the growth of Hodgkin's lymphoma cell tumor by modifying the tumor microenvironment that can be perturbed by bortezomib. **Leukemia**. 2012 Mar 20. (in press)

Minami Y, Abe A, Minami M, Kitamura K, Hiraga J, Mizuno S, Yamamoto K, Sawa M, Inagaki Y, Miyamura K, Naoe T. Retention of CD34(+) CML stem/progenitor cells during imatinib treatment and rapid decline after treatment with second-generation BCR-ABL inhibitors. **Leukemia**. 2012 Mar 19. (in press)

Iriyama C, Tomita A, Hoshino H, Adachi-S hirahata M, Furukawa-Hibi Y, Yamada K, Kiyoi H, Naoe T. Using peripheral blood circulating DNAs to detect CpG global methylation status and genetic mutations in patients with myelodysplastic syndrome. **Biochem Biophys Res Commun**. 2012;419:662-9.

Ohnishi K, Nakaseko C, Takeuchi J, Fujisawa S, Nagai T, Yamazaki H, Tauchi T, Imai K, Mori N, Yagasaki F, Maeda Y, Usui N, Miyazaki Y, Miyamura K, Kiyoi H, Ohtake S, Naoe T. Long-term outcome of imatinib therapy, with assessment of its dosage and blood levels, for chronic myelogenous leukemia. **Int J Hematol**. 2012 Feb 23. (in press)

Nishiwaki S, Nakayama T, Murata M, Nishida T, Sugimoto K, Saito S, Kato T, Mizuno H, Imahashi N, Seto A, Ozawa Y, Goto T, Koyama D, Yokohata E, Kubota N, Kamoshita S, Miyamura K, Matsumoto K, Ito M, Naoe T. Dexamethasone palmitate successfully attenuates hemophagocytic syndrome after allogeneic stem cell transplantation: macrophage-targeted steroid therapy. **Int J Hematol**. 2012 Feb 15. (in press)

Tokunaga T, Shimada K, Yamamoto K, Chihara D, Ichihashi T, Oshima R, Tanimoto M,

Iwasaki T, Isoda A, Sakai A, Kobayashi H, Kitamura K, Matsue K, Taniwaki M, Tamashima S, Saburi Y, Masunari T, Naoe T, Nakamura S, Kinoshita T. Retrospective analysis of prognostic factors for angioimmunoblastic T-cell lymphoma: a multicenter cooperative study in Japan. **Blood**. 2012;119:2837-43.

Hama A, Muramatsu H, Makishima H, Sugimoto Y, Szpurka H, Jasek M, O'Keefe C, Takahashi Y, Sakaguchi H, Doisaki S, Shimada A, Watanabe N, Kato K, Kiyoi H, Naoe T, Kojima S, Maciejewski JP. Molecular lesions in childhood and adult acute megakaryoblastic leukaemia. **Br J Haematol**. 2012;156:316-325.

Kimura H, Ito Y, Kanabec S, Goth K, Takahashi Y, Kojima S, Naoe T, Esaki S, Kikura A, Sawada A, Kawa K, Ohshima K, Nakamura S. Epstein-Barr virus (EBV)-associated T/NK lymphoproliferative diseases in non-immunocompromised hosts: prospective analysis of 108 cases. **Blood**. 2012;119:673-686.

Tomita A, Shirasugi Y, Ito T, Tsurumi H, Naoe T. Extravascular hemolytic attack after eculizumab therapy for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. **Ann Hematol**. 2011 Nov 15. (in press)

Yoshida M, Tamura K, Imamura M, Niitsu Y, Sasaki T, Urabe A, Ohyashiki K, Naoe T, Kanamaru A, Tanimoto M, Masaoka T. Efficacy and safety of micafungin as an empirical antifungal therapy for suspected fungal infection in neutropenic patients with hematological disorders. **Ann Hematol**. 2012;91:449-457.

Goto E, Tomita A, Hayakawa F, Atsumi A, Kiyoi H, Naoe T. Missense mutations in PML-RARA critical for the lack of responsiveness to arsenic trioxide treatment. **Blood**. 2011;118:1600-1609.

Usui N, Takeshita A, Nakaseko C, Dobashi N, Fujita H, Kiyoi H, Kobayashi Y, Sakura T, Yahagi Y, Shigeno K, Ohwada C, Miy

azaki Y, Ohtake S, Miyawaki S, Naoe T, Ohnishi K; Japan Adult Leukemia Study Group. Phase I trial of gemtuzumab ozogamicin in intensive combination chemotherapy for relapsed or refractory adult acute myeloid leukemia (AML): Japan Adult Leukemia Study Group (JALSG)-AML206 study. **Cancer Sci.** 2011;102:1358-1365.

Sakai K, Ishikawa Y, Mori Y, Kobayashi M, Iriyama C, Ozawa Y, Suzuki T, Minami Y, Ishikawa K, Kaneda N, Naoe T, Kiyoi H. A novel insertion mutation of K294RGG within BCR-ABL kinase domain confers imatinib resistance: sequential analysis of the clonal evolution in a patient with chronic myeloid leukemia in blast crisis. **Int J Hematol.** 2011;93:237-242.

Ishikawa Y, Kiyoi H, Naoe T. Prevalence and clinical characteristics of N-terminally truncated WT1 expression in acute myeloid leukemia. **Leuk Res.** 2011;35:685-688.

Ono T, Miyawaki S, Kimura F, Kanamori H, Ohtake S, Kitamura K, Fujita H, Sugiura I, Usuki K, Emi N, Tamaki S, Aoyama Y, Kaya H, Naoe T, Tadokoro K, Yamaguchi T, Ohno R, Ohnishi K; Japan Adult Leukemia Study Group. BCR-ABL1 mutations in patients with imatinib-resistant Philadelphia chromosome-positive leukemia by use of the PCR-Invader assay. **Leuk Res.** 2011;35:598-603.

Kurahashi S, Hayakawa F, Miyata Y, Yasuda T, Minami Y, Tsuzuki S, Abe A, Naoe T. PAX5-PML acts as a dual dominant-negative form of both PAX5 and PML. **Oncogene.** 2011;30:1822-1830.

Yoshida M, Akiyama N, Fujita H, Miura K, Miyatake J, Handa H, Kito K, Takahashi M, Shigeno K, Kanda Y, Hatsumi N, Ohtake S, Sakamaki H, Ohnishi K, Miyawaki S, Ohno R, Naoe T. Analysis of bacteremia/fungemia and pneumonia accompanying acute myelogenous leukemia from 1987 to 2001 in the Japan Adult Leukemia Study Group. **Int J Hematol.** 2011;93:66-73.

Miyawaki S, Ohtake S, Fujisawa S, Kiyoi H, Shinagawa K, Usui N, Sakura T, Miyamura K, Nakaseko C, Miyazaki Y, Fujieda A, Nagai T, Yamane T, Taniwaki M, Takahashi M, Yagasaki F, Kimura Y, Asou N, Sakamaki H, Handa H, Honda S, Ohnishi K, Naoe T, Ohno R. A randomized comparison of 4 courses of standard-dose multiagent chemotherapy versus 3 courses of high-dose cytarabine alone in postremission therapy for acute myeloid leukemia in adults: the JALSG AML201 Study. **Blood.** 2011;117:2366-2372.

## 2. 学会発表

Kato T, Naoe T, et al. Correlation of Serum IL-6 Level with Exhaustion of Cytomegalovirus-specific T Cells After Hematopoietic Stem Cell Transplantation. The American Society of Hematology 53th Annual Meeting. Dec 2011, San Diego USA.

Kato T, Naoe T, et al. Leukemia Escape From HLA-Specific T Lymphocyte Pressure in a Recipient of HLA One Locus-Mismatched Bone Marrow Transplantation. The American Society of Hematology 53th Annual Meeting. Dec 2011, San Diego USA.

Ishikawa Y, Naoe T, et al. Clathrin Assembly Protein CALM Is Necessary for Leukemia Cell Proliferation and Erythroid Development Via Regulating Transferrin Receptor Endocytosis. The American Society of Hematology 53th Annual Meeting. Dec 2011, San Diego USA.

Hayakawa F, Naoe T, et al. A Novel STAT3 Inhibitor OPB-31121 Induces Tumor-Specific Growth Inhibition in a Wide Range of Hematopoietic Malignancies without Growth Suppression of Normal Hematopoietic Cells. The American Society of Hematology 53th Annual Meeting. Dec 2011, San Diego USA.

Tokunaga T, Naoe T, et al. CD20 Protein Immunohistochemistry-Positive/Flow Cytometry-Negative Diffuse Large B-Cell Lymphoma- Analyses of the Molecular Mechanisms and Rituximab Effectiveness.

The American Society of Hematology 53th Annual Meeting. Dec 2011, San Diego USA.

Fujita H, Naoe T, et al. Role of Hematopoietic Stem Cell Transplantation As Salvage Treatment of Acute Promyelocytic Leukemia Initially Treated with All-Trans-Retinoic Acid: A Retrospective Analysis of the Japan Adult Leukemia Study Group (JALSG) APL97 Study. The American Society of Hematology 53th Annual Meeting. Dec 2011, San Diego USA.

Kihara R, Naoe T, et al. DNMT3A and IDH1/2 Mutations Are Stable During the Progression of Acute Myeloid Leukemia. The American Society of Hematology 53th Annual Meeting. Dec 2011, San Diego USA.

Takeshita A, Naoe T, et al. Efficacy of Gemtuzumab Ozogamicin (GO) Monotherapy on Relapsed/Refractory Acute Promyelocytic Leukemia (APL). The American Society of Hematology 53th Annual Meeting. Dec 2011, San Diego USA.

Katsumi A, Naoe T, et al. RhoH Downregulates Rac Through RhoGAP Family Protein. The American Society of Hematology 53th Annual Meeting. Dec 2011, San Diego USA.

Minami Y, Naoe T, et al. Retention of Slow-Cycling CD34+ cells During Imatinib Treatment and Rapid Decline After 2nd ABL-TKI Treatment in Ph+ Leukemia Cells. The American Society of Hematology 53th Annual Meeting. Dec 2011, San Diego USA.

Minami Y, Naoe T, et al. Treatment with the PI3K/mTOR Inhibitor, NVP-BEZ235, Overcomes Resistance to Imatinib in Quiescent or T315I-Mutated Ph+ Leukemia Cells. The American Society of Hematology 53th Annual Meeting. Dec 2011, San Diego USA.

Ono T, Naoe T, et al. Clinical Features and

Prognostic Impact of CD56 Expression in Acute Promyelocytic Leukemia: Long Term Follow up Data From the Japan Adult Leukemia Study Group (JALSG) APL97. The American Society of Hematology 53th Annual Meeting. Dec 2011, San Diego USA.

Yasuda T, Naoe T, et al. B Cell Receptor-ERK1/2 Signal Cancels PAX5-Dependent Repression of BLIMP1 Probably Through PAX5 Phosphorylation: A Mechanism of Antigen-Trigging Plasma Cell Differentiation. The American Society of Hematology 53th Annual Meeting. Dec 2011, San Diego USA.

Yamamoto K, Naoe T, et al. Deregulated Activity of AML1/RUNX1 Cooperates with BCR-ABL to immortalize Hematopoietic Progenitor Cells and Induces Blast Crisis-Like Disease of Chronic Myelogenous Leukemia in Mice. The American Society of Hematology 53th Annual Meeting. Dec 2011, San Diego USA.

Iriyama C, Naoe T, et al. Clinical Significance of Genetic Mutations of CD79B, CARD11, MYD88, and EZH2 Genes in Diffuse Large B-Cell Lymphoma Patients. The American Society of Hematology 53th Annual Meeting. Dec 2011, San Diego USA.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得  
該当なし。
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

厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）

分担研究報告書

成人難治性白血病におけるバイオマーカーに基づく層別化治療法の確立

（再発・難治性急性骨髄性白血病）

研究分担者 薄井 紀子 東京慈恵会医科大学医学部内科学講座（腫瘍・血液）准教授

研究要旨成人急性骨髄性白血病(AML)の再発・治療抵抗性患者に対して、既存の AML 寛解導入療法の cytarabine(A)に idarubicin(I)あるいは daunorubicin(D)の併用療法と、新規分子標的薬の gemtuzumab・ozogamicin(G)を加えた IAG 療法 および DAG 療法の安全性を検討した。19 人(IAG9 人、DAG10 人)が登録され、I, D, G の用量を増加し、DLT の発現を検討した。Grade 3/4 の血液毒性は全例で認められたが、IAG 療法では、I12mg/m<sup>2</sup>-D1-3+A 100mg/m<sup>2</sup>-D1-7+G3mg/m<sup>2</sup>-D4 の併用が、DAG 療法では D50mg/m<sup>2</sup> D1-5+A 100mg/m<sup>2</sup>-D1-7+G3mg/m<sup>2</sup>-D4 の併用が、安全に施行可能であった。この併用療法の有効性を第 2 相試験で確認する必要がある。

A. 研究目的

成人急性骨髄性白血病(AML)の治療成績の向上を目的に、初回再発および治療抵抗性成人 AML に対して、AML 表面に表出される CD33 抗原を標的とする gemtuzumab・ozogamicin(GO:G)併用-再寛解導入療法の有効性と安全性を検討した。

B. 研究方法

JALSG 参加の 6 施設で、IAG 療法(4 施設)と DAG 療法(3 施設)の第 I 相試験を施行。A の用量は 100mg/m<sup>2</sup>D1-7 に固定し、IAG 療法では、I は 10mg/m<sup>2</sup> より 12 mg/m<sup>2</sup>に、G は 3mg/m<sup>2</sup>から 5mg/m<sup>2</sup> D1-3 までのレベル 1 から 3 へ、I と G の用量を増加、DAG 療法では、D を 50mg/m<sup>2</sup> D1-3(3 日間)から D1-5(5 日間)、G を 3mg/m<sup>2</sup> (D 投与の翌日)から 5mg/m<sup>2</sup> (D6)までレベル 1-4 への増量法を設定した。

Endpoint は、副作用と DLT の発現の有無を主要評価項目とし、完全寛解率を副次的評価項目とした。

有効性の評価は、International Working Group の推奨に準拠し、副作用の評価は NCICTCAE ver3.0 を用いた。

（倫理面への配慮）

本研究では、JALSG プロトコール審査委員会で承認

され、各施設の倫理委員会の承認を得たプロトコールに則り、患者の安全を第一に考慮し、GCP, 厚生労働省臨床研究倫理指針、ヘルシンキ宣言に則り行われた。本研究の安全性の評価は、効果安全性評価委員会により適宜行われた。

C. 研究結果

研究全体で 19 人(IAG 9 人、DAG10 人)が登録され、各レベル 3 人ずつで DLT を検討した。いずれの治療法も、Grade 3/4 の血液毒性を認めた。IAG 療法ではレベル 3 の I12mg/m<sup>2</sup> D1-3 +A 100mg/m<sup>2</sup> D1-7+G 5mg/m<sup>2</sup> D4 で 3 人中 3 人に DLT(FN, Infection, PLT 回復の遷延)が発現し、I+A に G 3mg/m<sup>2</sup>(D4)が推奨用量と判断された。DAG では、G 5mg/m<sup>2</sup> D6 の併用は毒性が高いとされ、D 50mg/m<sup>2</sup> D1-5 +A 7mg/m<sup>2</sup> D1-7+G 3mg/m<sup>2</sup>(D6)を推奨用量と判断した。G で懸念された VOD/SOS の発現は皆無であった。19 人中 9 人が CR、1 人が CRp を得た為、奏効率は 52.6%となった。

D. 考察

GO 単独療法の用量を 1/3 に減じた 3 mg/m<sup>2</sup>-GO を含む IDR+Ara-C あるいは高用量 DNR+Ara-C 療法は、再発・治療抵抗性 AML に対して安全に施行可能である。英国 MRC は、初発 AML に対して GO を含む DNR+Ara-C

療法が予後良好染色体を有するサブタイプで有意に高い有効性を報告している。米国の第3相試験ではG0の優位性が否定され、FDAの認可を取り下げる処置がなされた。しかし、フランスよりG0を含む寛解導入療法の優位性が2011年12月の米国血液学会で報告され、G0を含む併用化学療法はAMLの治療成績を向上する可能性が示唆されている。本研究では、日本人においてもG0を含む寛解導入療法の安全性と推奨用量が示され、第2相試験で有効性が得られる可能性が示され、再発・治療抵抗性AMLの優れた治療法になり得ると考えられた。

#### E. 結論

再発・治療抵抗性成人AMLに対して、IDR+Ara-CあるいはDNR+Ara-Cに3mg/m<sup>2</sup> G0の併用療法は、安全に施行できる。推奨用量による第2相試験を施行しその有用性を検証する必要がある。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Usui N, Takeshita A, Nakaseko C, et al. Phase I trial of gemtuzumab ozogamicin in intensive combination chemotherapy for relapsed or refractory adult acute myeloid leukemia (AML): Japan Adult Leukemia Study Group (JALSG)-AML206 study. Cancer Sci. 2011;102:1358-65.

##### 2. 学会発表

2011年度は無し。

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 無し
2. 実用新案登録 無し
3. その他 無し

## 急性前骨髄球性白血病に対する治癒を目指した層別化治療戦略の確立

研究分担者 大西 一功 浜松医科大学医学部附属病院腫瘍センター 教授

### 研究要旨

平成23年度は、16歳以上65歳未満の未治療急性前骨髄球性白血病(APL)の寛解例に対して、寛解導入療法として全トランス・レチノイン酸(ATRA)と化学療法による層別化療法を行った後、地固め療法として亜ヒ酸、ゲムツズマブ・オゾガマイシンを用いた治療を行い、これを、地固め療法が化学療法で施行された過去のJALSG APLプロトコルのhistorical dataとの比較を行う第II相臨床試験 APL212 を策定した。3年無イベント生存を主要評価項目とし、治癒を目指した層別化治療戦略の確立を目的とする。

### A. 研究目的

- 1) 急性前骨髄球性白血病に対する亜ヒ酸とゲムツズマブ・オゾガマイシンを用いた寛解後治療-第II相臨床試験- JALSG APL212  
急性前骨髄球性白血病(APL)では完全寛解(CR)率、全生存率(OS) はかなり満足できるレベルに到達したが、無イベント生存率(EFS)や無病生存率(DFS)は60-70%程度であり、寛解後療法を中心に改善が必要である。しかし、化学療法の強化は治療成績悪化の可能性があるため、寛解後治療として、APLに対して特異性の高く毒性が軽度と考えられる亜ヒ酸、ゲムツズマブ・オゾガマイシンおよびタミバロテンを使用し、再発率と化学療法関連有害事象を減らすことにより、予後を向上できるか否かを検討する。
- 2) APL212 登録症例の検体を用い、日本人のAPL 症例におけるゲノムワイドな網羅的な分子異常解析を行い、APL の発症、進展、治療反応性、治療薬剤に起因する副作用発症に関与する分子機構を解明する。

### B. 研究方法

- 1) APL212 試験
1. 研究デザイン

多施設共同の中央登録による前方向の第II相臨床研究。EFSを主要評価項目とする前方向的試験。

#### 2. 対象

- ・未治療のPML-RARA陽性のAPL(FAB:M3あるいはM3v)。
- ・年齢は16歳以上65歳未満。
- ・Performance status (ECOGの基準): 0-2
- ・十分な心、肺、肝、腎機能を有すること。
- ・APLであることを告知され、本プロトコルによる治療法に関し、文書により同意が得られた症例。

#### 3. 治療法

初発未治療 APL に対して、寛解導入療法として層別化療法を導入し、全トランス・レチノイン酸(ATRA)と化学療法を行う。その後の地固め療法は単アームとし、ダウノルビシン(DNR)とシタラビン(AraC)の併用療法1コースに加え、分子標的療法として、亜ヒ酸単剤2コース、ゲムツズマブ・オゾガマイシン単剤1コースを行う。維持療法はATRA耐性APLにも有用なタミバロテンを採用する。

#### 4. エンドポイント

- 1) 主要評価項目
  - ・3年無イベント生存率 (EFS)

## 2) 副次的評価項目

- ・完全寛解 (CR)率、無病生存率(DFS)、全生存率(OS) 、5年EFS
- ・有害事象発現頻度
- ・PML-RAR、FLT3などの遺伝子、付加的染色体、CD56、凝固線溶関連因子の予後への影響

## 5. 登録予定症例数と予定登録期間

222例、症例登録期間は2012年4月より4年間

## 6. 付随研究

本研究では検体保存を行い、PML-RARA 亜型をはじめとする網羅的遺伝子解析と APL212 の予後解析をあわせて行う。方法は、成人 APL 患者初診時検体より抽出されたDNAおよびRNAを用いて、APLの発症と病態に関与する既知の遺伝子変異を網羅的に解析するとともに、初診時と正常細胞の比較による網羅的なゲノムワイドな分子異常の同定を行う。あわせて、分子異常と治療反応性、治療薬剤に起因する副作用発症などの臨床病態との相関関係を解析する。

### (倫理面への配慮)

上記のプロトコールは、ヘルシンキ宣言の精神に基づいて実施する。実施にあたっては各施設の規約に基づいて倫理委員会での承認を得た上で実施する。登録に先立って、担当医は患者本人に施設の倫理委員会承認が得られた説明文書を患者本人に渡し、内容を口頭で詳しく説明し、文書による同意を得る。被験者の臨床情報の収集に当たっては、連結可能匿名化を行い、収集された臨床情報の取り扱い「臨床研究に関する倫理指針」および「ヒトゲノム・遺伝子に関する倫理指針」の定めるところにより行う。

## C. 研究結果

平成23年度はAPL212プロトコールを策定した。

## D. 考察

APLではCR率、OSは改善されたが、EFSやDFSは70%程度であり、寛解後療法をさらに改善させる必要がある。しかし、JALSGによる前試験

APL97でも観察されたように、これ以上の化学療法の強化は治療成績をむしろ悪化させる可能性がある。その中で、米国Intergroup study C9710は初発APLに亜ヒ酸を地固め療法として使用し3年EFS 80%、DFS 90%を報告し、亜ヒ酸を含んだ、多くの臨床研究が進行中である。一方、その後開発されたゲムツズマブ・オゾガマイシンはCD33発現量が多く、多剤耐性P糖蛋白の発現量が少ないAPLには有用と考えられ、再発例で有用な成績が報告されている。日本で行われた臨床試験でも再発例において長期生存も得られている。また、タミバロテンは連用しても血中濃度が低下せず、ATRAより高い分化誘導能を保有しており再発APLでも60%のCRを得ている。即ち、本試験では寛解後治療として、APLに対し特異性の高い治療法である亜ヒ酸、ゲムツズマブ・オゾガマイシンとタミバロテンを使用し、再発率を低下させ、さらに化学療法関連有害事象を減らすことにより、予後の向上を図る事ができるか否かを検討する。一方でAPLに特異性の高い治療薬が短期間に開発されてきている現状から、新しい治療方法の有効性を短期間に検討する必要性に迫られている。そのためには、JALSGの現状を鑑み、十分な症例数登録に長期間を要する第Ⅲ相試験に固執せず、これらの薬剤を効率よく使用したsingle armの第Ⅱ相試験で、国際レベルからみても、現在考え得る最高水準の治療成績を求めることは重要と考える。

一方、SNP array法や次世代シーケンサーなどのゲノムワイドの網羅的な遺伝子変異解析を可能とする技術が進歩し、全世界的にAPLをはじめとしたAMLの発症や病態に関与する遺伝子変異の解析が急速に進められている。このような状況において、同一プロトコールで治療された多数例での日本人APL症例におけるゲノムワイドの遺伝子変異解析と臨床病態との関連性を評価した研究は未だ行われていない。また、日本人APLにおける遺伝子変異と臨床像との相関関係に関する解析結果は、必ずしも欧米人における結果と同一ではないことが、これまでのJALSG臨



床試験登録症例における解析から明らかにされている。さらに、これまでの研究では次世代シーケンサーなどを用いたゲノム解析が十分に行われている訳ではない。以上より、本試験は分子標的療法が最も進んだ白血病であるAPLに対し、今後の治療方向性を考えていく上で有意義であると考えられる。

#### E. 結論

平成23年度はAPL212プロトコルを策定し、平成24年度より登録および検体の保存を開始する。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1) 論文発表

1. Ono T, Takeshita A, Iwanaga M, Asou N, Naoe T, et al. Impact of additional chromosomal abnormalities in patients with acute promyelocytic leukemia: 10-year results of the Japan Adult Leukemia Study Group APL97 study. *Haematologica* 96:174-6, 2011.

##### 2) 学会発表

1. Ono T, Takeshita A, Asou N, Ohnishi K, Naoe T, et al. Clinical features and prognostic impact of CD56 expression in acute promyelocytic leukemia: Long term follow up data from the Japan Adult Leukemia Study Group (JALSG) APL97. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)*, Nov 2011; 118: 3608. San Diego.

2. Fujita H, Asou N, Ohnishi K, Naoe T. et al. Role of hem 亜ヒ酸 poietic stem cell transplantation as salvage treatment of acute promyelocytic leukemia initially treated with all-trans-retinoic acid: A retrospective analysis of the Japan Adult Leukemia Study Group (JALSG) APL97 Study. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)*, Nov 2011; 118: 2036. San Diego.

3. Takeshita A, Ono T, Naoe T, et al. Efficacy of Gemtuzumab Ozogamicin (GO) monotherapy on relapsed/refractory acute promyelocytic leukemia

(APL). *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)*, Nov 2011; 118: 1532. San Diego.

4. Ono T, Takeshita A, Asou N, Naoe T, et al. Clinical impact of CD56 expression in the treatment of acute promyelocytic leukemia (APL): Results from the Japan Adult Leukemia Study Group APL97. 日本血液学会総会 2011年10月14日、名古屋

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）  
分担研究報告書

急性リンパ性白血病の標準的治療法の確立に関する研究

研究分担者 竹内 仁 日本大学医学部 教授

研究要旨

成人急性リンパ性白血病に対する化学療法を改善する目的で、小児と共通の治療法である ALL 202-U 試験を若年成人を対象に行った。PSL の先行投与に続き L-ASP を寛解導入から頻回に行い、寛解後療法でも大量 ( $3\text{g}/\text{m}^2$ ) MTX と L-ASP を充分使用した。2002 年 9 月～2009 年 10 月まで 136 例が登録され評価可能な 134 例の完全寛解率は 94% (126/134) であり、ALL97 での完全寛解率 84% に比し有意に優れていた ( $p < 0.01$ )。また、寛解導入療法期間中の死亡は 3 例 (2.2%) であり、ALL97 での 10 例 (9.6%) より低率であった。若年成人の T-ALL を対象として、小児と共通の JALSG T-ALL-211-U 試験を計画し、プロトコール審査中である。また、L-ASP を多用する小児様プロトコール ALL212 試験も計画し、コンセプトは JALSG プロトコール委員会を通過した。

A. 研究目的

急性リンパ性白血病 (ALL) の治療成績向上のため、強力化学療法が試みられてきたが、成人の成績は寛解率 90%、長期生存率 30-40% が限界である。一方、小児では、寛解率が 90% 以上、長期生存率も 80% に達しようとしており、小児と成人との差は、L-アスパラギナーゼ (L-ASP) やメソトレキサート (MTX) などの非骨髄抑制薬剤の量の違いであると指摘されている。そこで、小児と同じ ALL202-U 試験、JALSG T-ALL-211-U 試験を若年成人に対して試み、その安全性と有効性を検証する。また、L-ASP を増量した治療法を計画し (ALL 212 試験)、その安全性と有効性を検証しようとする。

さらに、今後の新しい ALL 治療の構築のために、本邦における 15 歳以上の未治療 ALL を全例登録し、その予後を把握する前向き研究を計画する。

B. 研究方法

1. ALL202-U 試験

15歳以上25歳未満のPh陰性成人ALL未治療症例を対象とした。JALSG (小児白血病研究会) との共通

プロトコールで治療するが、一週間のプレドニン (PSL) 先行投与 (day 1のMTX髄注も含む) の反応性による層別化治療は行わず、1アームでの治療とした。寛解導入療法はビンクリスチン (VCR)、ピラルビシン (THP-ADR)、シクロフォスファミド (CPM)、デキサメタゾン (DEX) の4剤で開始し、day 8から L-ASP  $6,000\text{ KU}/\text{m}^2$  を8回投与する。地固め療法では、CPM、THP-ADRにシタラビン (Ara-C)、6メルカプトプリン (6MP) を加え、次の聖域治療 (sanctuary therapy) では、大量 ( $3\text{g}/\text{m}^2$ ) MTXを用いた。その後再寛解導入療法と再地固め療法を行い、2年間の維持療法とした。中枢神経系 (CNS) への治療は、初診時CNS病変陽性であれば $12\text{Gy}$ の頭蓋放射線照射を行い、陰性の場合は化学療法剤の髄注を第64週まで行った。

2. JALSG T-ALL-211-U 試験

15歳以上25歳未満のT-ALL未治療症例を対象にJPLSG (日本小児白血病リンパ腫研究グループ) との共通プロトコールを作成し、PSL の治療反応性による層別化を行うとともに、小児と若年成人との間

に有害事象割合や治療成績を比較し、差が見られた場合はその原因を検討する。

### 3. ALL212 試験

Philadelphia 染色体陰性 ALL (Ph- ALL) を B-、T-および Burkitt-ALL に分類し、それぞれに最適な治療を計画した。B-ALL では、L-ASP を多用する小児様プロトコールとし、T-ALL に対しては、寛解導入療法では L-ASP を増量し、地固め療法でネララビンを組み込んだ治療とし、Burkitt-ALL には、リツキシマブ併用の HyperCVAD 療法とした。

### 4. ALL CS-12 試験

15歳以上のすべての未治療 ALL 患者を登録し、(1) ALL 患者の5年生存率 (2) ALL 患者の生存率に対する造血幹細胞移植の影響 (3) 造血幹細胞移植を受けた ALL 患者の生存率に対する移植時期、前処置の影響 (4) 国内 ALL の年齢、性別、病型スペクトラム (5) 既知の予後因子による全症例層別化可能性の確認 (6) 化学療法の実施状況 (7) 化学療法による寛解持続期間をエンドポイントとする、前向き臨床観察研究である。

(倫理面への配慮)

ALL CS-12 試験以外の登録は、患者本人に対して説明を行い、同意を文書で取得してからとした。また、ALL CS-12 試験は、JALSG のプロトコール審査委員会で承認され、研究施設の参加はそれぞれの研究施設での倫理委員会または IRB の承認が必要である。

## C. 研究結果

### 1. ALL202-U 試験

2002年9月～2009年10月までに136例が登録され、男性77例(56%)、女性59例(44%)で、年齢中央値は19歳。

評価可能な134例のうち、寛解導入療法後に完全寛解となったのは121例、非完全寛解10例、早期死亡3例であった。非完全寛解症例10例のうち、地固め療法1コース後に完全寛解となったのは5例、

非完全寛解3例、プロトコール離脱2例であった。完全寛解率は94%(126/134)であり、ALL97での完全寛解率84%に比し有意に優れていた( $p < 0.01$ )。また、寛解導入療法期間中の死亡は3例(2.2%)であり、ALL97での10例(9.6%)より低率であった。

寛解導入期間の非血液毒性では、肝機能障害の頻度が最も高かったが、Grade1-2と軽度である症例が大半であった。重篤な有害事象(Grade3-4)としては発熱性好中球減少が58例(43.9%)と最も多く、DICが18例(13.6%)、敗血症が17例(12.9%)に見られた。L-ASPの副作用として危惧される肺炎は9例(6.8%)に見られ、うち2例がGrade4であった。

地固め療法期間、維持療法期間中の重篤な有害事象では、発熱性好中球減少が最も多く、特に地固め療法(41.7%)および再地固め療法(63.3%)時に多く見られた。その他、AST/ALT上昇、敗血症の頻度が高く、維持療法時の有害事象としてはAST/ALT上昇(21.5%)が最も多かった。

同一プロトコールである小児症例対象の ALL-02 HR 試験と比較した。発熱性好中球減少は、治療期間のすべての時期において小児(JALSG ALL-02 HR)とAYA年代(JALSG ALL202-U)で同等であった。AYA年代の再寛解導入治療において、小児と比較し肺炎(Grade3-4)が有意に多かった(5.8% vs 0.9%,  $p < 0.05$ )が、その他有害事象の頻度はほぼ同等であった。

### 2. JALSG T-ALL-211-U 試験

JPLSG では、JALSG T-ALL-211-U 試験と同じプロトコール(JPLSG T-11)が、2011年12月から開始されている。JALSG では、現在プロトコール審査委員会で検討中である。

### 3. ALL212 試験

コンセプトはJALSGプロトコール審査委員会を通過し、本プロトコールを審査委員会へ提出予定である。

### 4. ALL CS-12 試験

2012年2月に承認され、4月から症例登録開始予

定である。

#### D. 考察

ALL202-U の中間解析結果から、若年成人での小児プロトコールによる完全寛解率は、成人プロトコールを凌駕する可能性があり、また寛解導入中の死亡率は低いので、今後の長期成績の結果にもよるが、有用な治療法と考えられる。

一方、若年成人でも膀胱炎の比率が小児例より高く、より詳細な解析が必要と考えられる。

#### E. 結論

若年成人 ALL に行った小児プロトコール (ALL202-U 試験) は、寛解導入療法の成績は良好で、死亡率も低かった。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Kurosawa S, Yamaguchi T, Miyawaki S, Uchida N, Kanamori H, Usuki K, Yamashita T, Watanabe M, Yakushiji K, Yano S, Nawa Y, Taguchi J, Takeuchi J, Tomiyama J, Nakamura Y, Miura I, Kanda Y, Takaue Y, Fukuda T. : A Markov decision analysis of allogeneic hematopoietic cell transplantation versus chemotherapy in patients with acute myeloid leukemia in first remission. *Blood* 2011;117(7):2113-2120.
- 2) Kako S, Morita S, Sakamaki H, Ogawa H, Fukuda T, Takahashi S, Kanamori H, Onizuka M, Iwato K, Suzuki R, Atsuta Y, Kyo T, Sakura T, Jinnai I, Takeuchi J, Miyazaki Y, Miyawaki S, Ohnishi K, Naoe T, Kanda Y. : A decision analysis of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in adult patients with Philadelphia chromosome-negative acute lymphoblastic

leukemia in first remission who have an HLA-matched sibling donor. *Leukemia* 2011;25:259-265.

- 3) Kurosawa S, Yamaguchi T, Uchida N, Miyawaki S, Usuki K, Watanabe M, Yamashita T, Kanamori H, Tomiyama J, Nawa Y, Yano S, Takeuchi J, Yakushiji K, Sano F, Uoshima N, Yano T, Nannya Y, Moriuchi Y, Miura I, Takaue Y, Fukuda T. : Comparison of allogeneic hematopoietic cell transplantation and chemotherapy in elderly patients with non-M3 acute myeloid leukemia in first complete remission. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2011;17(3):401-411.
  - 4) Uenogawa K, Hatta Y, Arima N, Hayakawa S, Sawada U, Aizawa S, Yamamoto T, Takeuchi J: Azacitidine induces demethylation of p16INK4a and inhibits growth in adult T-cell leukemia/lymphoma. *Int J Mol Med.* 2011 Nov;28(5):835-839.
  - 5) Yanada M, Kurosawa S, Yamaguchi T, Yamashita T, Moriuchi Y, Ago H, Takeuchi J, Nakamae H, Taguchi J, Sakura T, Takamatsu Y, Waki F, Yokoyama H, Watanabe M, Emi N, Fukuda T. : Prognosis of acute myeloid leukemia harboring monosomal karyotype in patients treated with or without allogeneic hematopoietic cell transplantation after achieving complete remission. *Haematologica.* 2011 Dec 16. [Epub ahead of print]
- ##### 2. 学会発表
- 1) 竹内 仁 : 成人 ALL 患者の第一寛解期の造血幹細胞移植はハイリスク症例に限定すべ