

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 独立行政法人国立病院機構名古屋医療センター 院長

研究要旨

AMLに対する観察研究AML209試験では目的症例数1500例を上回る1547例が登録された。また再発・難治AML に対するgemtuzumab ozogamicin(GO)と化学療法との併用療法のプロトコールを作成した。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年より登録を開始し合計233例登録された。。新たに成人ALLを細胞表現系、Ph染色体の有無、年齢のアルゴリズムに基づき層別化したPh(-)B-ALL213、Ph(+)ALL213、T-ALL213試験を開始した。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3329例の登録を得て終了し、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）を継続して実施中である。

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 教授
大西一功・浜松医科大学附属病院 教授
白杵憲祐・東京医療保健大学 臨床教授
小林幸夫・国立がん研究センター 外来医長
清井 仁・名古屋大学大学院医学系研究科 准教授
熱田由子・名古屋大学大学院医学系研究科 招聘教員
伊藤良和・東京医科大学医学部 准教授
松村 到・近畿大学医学部 教授
今井陽俊・札幌北榆病院 内科部長

A. 研究目的

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」（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の併用、同種造血幹細胞移植（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。

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、分子標的治療、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。

B. 研究方法

観察研究AML209-GS(UMIN-CTR:000003432)、第 相試験AML209-FLT3-SCT(UMIN-CTR:000003433)、第 相試験CBF-AML209KIT(UMIN-CTR:000003434)、第 相試験APL212(UMIN-CTR:000008470)、APL212G(UMIN-CTR:000008471)、第 相試験CML212(UMIN-CTR:000007909)、MDS212(UMIN-CTR:000009633)、コホート研究CS-11(UMIN-CTR: 000008371)とALL-CS-12(UMIN-CTR:000007653) の症例登録を継続・推進するとともに、平成25年7月から、新たに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、小児プロトコールを参考にしたフィラデルフィア染色体（Ph）陰性ALLを対象としてALL213試験を開始した。細胞表面マーカー検査とキメラ遺伝子スクリーニング検査を用いて診断し、Ph陰性ALLをB-、T-、Burkitt-ALLに分類して、それぞれに最適な治療を計画した。なお、25歳未満のT-ALLは、JPLSG（小児白血病研究会）と共同研究とした。また、Ph陽性ALLにおいては第二世代のチロシンキナーゼ阻害剤であるダサチニブ併用化学療法の有効性と安全性を検証するPh+ALL213試験の3つを開始した。

目標症例数に到達した第 相試験ALL202-U(UMIN-CTR:C00000064)、第 相試験ALL202-O(UMIN-CTR:C00000064)、第 相試験Ph-ALL208-IMA(UMIN-CTR:000001226)、第 相試験CML207(UMIN-CTR:000000823)は新規登録を終了し、臨床経過の観察と情報収集を継続するとともに、ALL202-Uについては解析を開始した。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、新規登録を終了し、経過観察を継続するとともに、第 相試験APL204(UMIN-CTR:C000000154)は臨床情報の固定化と解析を行った。

(倫理面への配慮)

研究の遂行にあたっては、厚生労働省による臨床研究、疫学研究、ゲノム研究などそれぞれ該当する倫理指針を順守した。臨床情報・検体の収集では連結可能匿名化により個人情報の保護に留意した。すべての臨床試験は研究実施計画書・同意説明書・同意書等を策定し、各施設の倫理審査委員会の承認を得た上でスタートした。また臨床試験への患者登録には十分な説明と文書による同意を必須とした。参加施設で新たに診断された対象疾患患者を連続的に登録し予後を調査する疫学研究(CS-11およびALL-CS12)については、診断・治療に関する介入や試験のための試料採取はなく、個人が同定されうる情報を収集しない。これについては参加施設の倫理審査委員会の承認と施設の長の許可のみで症例登録を行った。また、すべての臨床研究の概要ならびに参加施設名は適宜JALSGホームページで公開している(<http://www.jalsg.jp/index.html>)。

C. 研究結果

(1) JALSG全参加施設を対象とした成人白血病の疫学研究の実施

「参加施設に新たに発生する全AML(急性骨髄性白血病)、全MDS(骨髄異形成症候群)、全CMML(慢性骨髄単球性白血病)症例を対象とした5年生存率に関する観察研究」JALSG-CS-11の登録を行っている。これまでに、2808例が登録された。目標症例数は4980である。また「研究参加施設に新たに発生する全ての成人ALL症例を対象とした5年生存率に関する前向き臨床観察研究」ALL-CS-12が2012年4月に開始され、データセンターから定期モニタリングレポートが報告された。平成25年10月31日現在で、症例は202例登録された。目標症例数は733である。

(2) すでに登録の終了した臨床試験成績の解析

APL(急性前骨髄球性白血病)症例の分子寛解例を対象としたATRA(オールトランスレチノイン酸)と新規レチノイドのAm80の維持量を無作為に比較するAPL204試験の解析を行い、344例中93.9%のCR(完全寛解)が得られ、5年生存率は87.5%であった。無再発生存率はAm80群90.9%、ATRA群83.2%と差を認めなかったが、初診時WBC高値群で有意にAm80群が優れていた(*J Clin Oncol* 2014 in press)。また未治療BCR-ABL陰性若年ALLに対する小児化学療法のパ-II試験 ALL202-Uでは139例のCR率は94%であり、ALL97試験の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4例(2.9%)であり、ALL97試験の11.5%より低率であった。5年無病生存率および5年全生存率は、それぞれ69%、79%とALL97試験の52%、64%より有意に良好であった(論文投稿中)。

(3) 登録中の臨床試験ならびに新たな試験の立案・計画

AMLにおいて新たなバイオマーカー探索を行う後方視的および前方視的試験を実施した。JALSG-AML201登録症例197例において、網羅的遺伝子変異解析を実施し、8種類の遺伝子変異状態により、成人AML症例の寛解導入率、全生存率、無病生存率を3群に層別化可能であることを明らかにした。AMLにおける「染色体・遺伝子変異が成人AMLの予後に及ぼす影響に関する観察研究」(AML209-GS)、「成人core binding factor AMLに対するシタラピン大量療法のKIT遺伝子型別反応性を評価する臨床第IV相試験」(CBF-AML209-KIT)、「FLT3/ITD変異陽性成人AMLを対象とした同種造血幹細胞移植療法の有効性と安全性に関する臨床第II相試験」(AML209-FLT3-SCT)は目標症例数がそれぞれ1500、200、60のところ、これまでに1433例、174例、35例の登録を得た。

未治療APLにおいては、地固め療法として亜砒酸、ゲムツズマブ・オゾガマイシンを用いた3年無イベント生存を主要評価項目とする治療を行い、過去のJALSG成績と比較する第II相臨床試験の登録を継続し、81例が登録された。また高齢者(65歳以上)に対しては、地固め療法として亜砒酸を用いた治療を行い、地固め療法が化学療法で施行された過去のJALSG成績と比較する第II相臨床試験の登録を継続し、27例が登録された。

CML(慢性骨髄性白血病)については「初発慢性期の成人CMLに対するニロチニブとダサチニブの分子遺伝学的完全寛解達成率の多施設共同前方視的ランダム化比較試験」CML212を平成24年5月より開始し、目標450例中237例が登録されている。また、40例の類粘膜DNAと初発時のCML細胞を用い

て探索的エンドポイントであるCML細胞における全エクソン解析を京都大学の小川誠司教授の研究室で実施中である。

また、遺伝子解析のための検体収集も実施した。ABLキナーゼ阻害剤薬剤中止試験についてはCML-D R1の患者登録が進まないため一旦中断し、既にComplete Molecular Remission (CMR) を達成しているCML患者を対象とする新たな試験を立案中である。

MDSに対するアザシチジン臨床試験MDS212のプロトコールが策定され、患者登録が開始し46例登録された。

再発・難治性AML、高齢者白血病、急性ALLについては、治療戦略を検討し、コンセプト立案・作成を行った。

平成25年7月からALL213試験の施設登録および症例登録が開始された。平成25年11月30日現在で、Ph(-)B-ALL213試験の登録施設は47施設、登録症例は12例、T-ALL211-0試験の登録施設は44施設、登録症例は1例、T-ALL211-U試験の登録施設は35施設、登録症例は2例、Burkitt-ALL213試験の登録施設は43施設、登録症例は0例であった。

平成25年11月からPh+ALL213試験の施設登録および症例登録が開始された。平成25年11月30日現在で、Ph+ALL213試験の登録施設は6施設、登録症例は0例であった。

平成24年4月からALL-CS-12試験の施設登録および症例登録が開始された。データセンターから定期モニタリングレポートが報告された。平成25年10月31日現在で、ALL-CS-12試験の登録施設は99施設、登録症例は198例であった。

D. 考察

ALLに対しては、細胞表現系、Ph染色体、年齢に基づく層別化を行ったうえで、小児プロトコールや第二世代のチロシンキナーゼ阻害剤であるダサチニブの導入などによる治療成績の向上と安全性を評価するALL213試験を開始した。現在ALLではトランスクリプトーム解析も行われており、次期研究事業ではそれらを取り込んでいくことも期待される。

AML209GS、AML209-FLT3-SCT、CBF-AML209-KIT試験の登録は順調に推移しており、CBF-AML209-KIT試験については次年度に中間解析を予定している。新規に開始した、APL212、APL212G、CML212、MDS212試験においても施設IRBの承認は順調に得られており、更なる登録促進を行って

いる。

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。

計画された臨床試験の登録は順調に経過し、ALL202-U試験、APL204試験については新規治療戦略の有用性が示された。

ALL213試験、Ph+ALL213試験およびALL-CS-12試験が開始され、順調に施設登録、症例登録がなされている。今後、予後不良と考えられている成人ALLの治療法の改善が期待される。さらに問題点が明らかにされることにより今後の治療法開発に繋がると考えられる。、当初計画の通りに研究の進捗が認められている。

F. 健康危険情報

該当無し。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Naoe T, Kiyoi H. Genen mutations of acute myeloid leukemia in the genome era. **Int J Hematol**. 2013 Feb;97(2):165-74
2. Kako S, Morita S, Sakamaki H, Iida H, Kurokawa M, Miyamura K, Kanamori H, Hara M, Kobayashi N, Morishima Y, Kawa K, Kyo T, Sakura T, Jinnai I, Takeuchi J, Miyazaki Y, Miyawaki S, Ohnishi K, Naoe T, Kanda Y. The role of HLA-matched unrelated transplantation in adult patients with Ph chromosome-negative ALL in first remission. A decision analysis. **Bone Marrow Transplant**. 2013 Aug;48(8):1077-83.
3. Yanada M, Tsuzuki M, Fujita H, Fujimaki K, Fujisawa S, Sunami K, Taniwaki M, Ohwada A, Tsuboi K, Maeda A, Takeshita A, Ohtake S, Miyazaki Y, Atsuta Y, Kobayashi Y, Naoe T, Emi N. Phase 2 study of arsenic trioxide followed by autologous hematopoietic cell transplantation for relapsed acute promyelocytic leukemia. **Blood**. 2013 Apr 18;121(16):3095-102.
4. Tomita A, Kiyoi H, Naoe T. Mechanisms of action and resistance to all-trans retinoic acid (ATRA) and arsenic trioxide (As₂O₃) in acute promyelocytic leukemia. **Int J Hematol**. 2013 Jun; 97(6):717-25.
5. Yanada M, Ohtake S, Miyawaki S, Sakamaki H, Sakura T, Maeda T, Miyamura K, Asou N, Oh I, Miyatake J, Kanbayashi H, Takeuchi J,

- Takahashi M, Dobashi N, Kiyoi H, Miyazaki Y, Emi N, Kobayashi Y, Ohno R, Naoe T; for the Japan Adult Leukemia Study Group. The demarcation between younger and older acute myeloid leukemia patients: A pooled analysis of 3 prospective studies. **Cancer**. 2013 Jun 24. doi: 10.1002/cncr.28212. [Epub ahead of print]
6. Iriyama N, Hatta Y, Takeuchi J, Ogawa Y, Ohtake S, Sakura T, Mitani K, Ishida F, Takahashi M, Maeda T, Izumi T, Sakamaki H, Miyawaki S, Honda S, Miyazaki Y, Taki T, Taniwaki M, Naoe T. CD56 expression is an independent prognostic factor for relapse in acute myeloid leukemia with t(8;21). **Leuk Res**. 2013 Sep;37(9):1021-6.
 7. Fujita H, Asou N, Iwanaga M, Hyo R, Nomura S, Kiyoi H, Okada M, Inaguma Y, Matsuda M, Yamauchi T, Ohtake S, Izumi T, Nakaseko C, Ishigatsubo Y, Shinagawa K, Takeshita A, Miyazaki Y, Ohnishi K, Miyawaki S, Naoe T; The Japan Adult Leukemia Study Group. Role of hematopoietic stem cell transplantation for relapsed acute promyelocytic leukemia: a retrospective analysis of JALSG-APL97. **Cancer Sci**. 2013 Jul 10. doi: 10.1111/cas.12230.
 8. Ono T, Takeshita A, Kishimoto Y, Kiyoi H, Okada M, Yamauchi T, Emi N, Horikawa K, Matsuda M, Shinagawa K, Monma F, Ohtake S, Nakaseko C, Takahashi M, Kimura Y, Iwanaga M, Asou N, Naoe T; The Japan Adult Leukemia Study Group. CD56 expression is an unfavorable prognostic factor for acute promyelocytic leukemia with higher initial white blood cell counts. **Cancer Sci**. 2014 Jan;105(1):97-104.
 9. Iriyama N, Asou N, Miyazaki Y, Yamaguchi S, Sato S, Sakura T, Maeda T, Handa H, Takahashi M, Ohtake S, Hatta Y, Sakamaki H, Honda S, Taki T, Taniwaki M, Miyawaki S, Ohnishi K, Kobayashi Y, Naoe T. Normal karyotype acute myeloid leukemia with the CD7+ CD15+ CD34+ HLA-DR + immunophenotype is a clinically distinct entity with a favorable outcome. **Ann Hematol**. 2014 Jan 19.
 10. Kihara R, Nagata Y, Kiyoi H, Kato T, Yamamoto E, Suzuki K, Chen F, Asou N, Ohtake S, Miyawaki S, Miyazaki Y, Sakura T, Ozawa Y, Usui N, Kanamori H, Kiguchi T, Imai K, Uike N, Kimura F, Kitamura K, Nakaseko C, Onizuka M, Takeshita A, Ishida F, Suzushima H, Kato Y, Miwa H, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Ogawa S, Naoe T. Comprehensive analysis of genetic alterations and their prognostic impacts in adult acute myeloid leukemia patients. **Leukemia**. 2014 Feb 3.
 11. Shinagawa K, Yanada M, Sakura T, Ueda Y, Sawa M, Miyatake J, Dobashi N, Kojima M, Hatta Y, Emi N, Tamaki S, Gomyo H, Yamazaki E, Fujimaki K, Asou N, Matsuo K, Ohtake S, Miyazaki Y, Ohnishi K, Kobayashi Y, Naoe T, for the Japan Adult Leukemia Study Group ; Tamibarotene as Maintenance Therapy for Acute Promyelocytic Leukemia: Results from a Randomized Controlled Trial. **J Clin Oncol** 2014 (in press)
2. 学会発表
 1. 直江知樹 「AMLにおけるゲノム・臨床情報の統合」第11回日本臨床腫瘍学会学術集会シンポジウム（仙台市）2013年8月
 2. 直江知樹 「白血病ゲノム研究の臨床への応用」第72回日本癌学会学術集会モーニングレクチャー（横浜市）2013年10月
 3. 木原里香、鈴木弘太郎、陳昉里、清井仁、直江知樹 他「急性骨髄性白血病の病勢進行におけるクローン多様性および進化」第75回日本血液学会学術集会（札幌市）2013年10月
 4. 陳昉里、中谷俊幸、木原里香、清井仁、直江知樹 「正常及び変異FLT3共発現細胞の細胞増殖及びFLT3阻害剤効果に対するFLの抑制効果」第75回日本血液学会学術集会（札幌市）2013年10月
 5. Nobuaki Fukushima, Yosuke Minami, Fumihiko Hayakawa, Hitoshi Kiyoi, Anil Sadarangani, PhD3*, Catriona HM Jamieson, Tomoki Naoe. Treatment with Hedgehog inhibitor, PF-04449913, attenuates leukemia-initiation potential in acute myeloid leukemia cells. The 55th Annual Meeting American Society of Hematology (New Orleans, USA) 2013年12月
 6. Ryo Hanajiri, Makoto Murata, Kyoko Sugimoto, Miho Murase, Haruhiko Ohashi, Tatsunori Goto, Keisuke Watanabe, Nobuhiko Imahashi, Seitaro Terakura, Tetsuya Nishida, Tomoki Naoe. Cold Blood Allograft Rejection Mediated By Coordinated Donor-Specific Cellular and Humoral Immune Processes. The 55th Annual Meeting American

Society of Hematology (New Orleans,USA)
2013年12月

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。