

あるいは、順番に症例の記録データとの突き合わせを行ったが、委員の慣れもあり、すべての1時間半以内には終了した。紙カルテの方が、施設の担当者の手を借りずにできるので、効率的であった。

#### 【倫理委員会対応状況】

各施設では、いずれも、AML201以降、すなわち最近7年間は、プロトコールは倫理委員会の承諾を得ることとされていた。しかしながら1施設では、委員の引き継ぎ時に引き渡されておらず、書類の確認が出来なかった。

一昨年までの監査で複数の施設で指摘されていたのは個人情報の扱いについて匿名連結不可能化を要求されることであったが、昨年のゲノム倫理指針の改正により、指摘施設は少なくなり、2施設でのみ匿名連結化の操作がされていた。問題とされやすい遺伝子情報の取り扱いも遺伝子と遺伝病との混同がなく、承認は速やかであった施設が大部分であった。

#### 【症例監査結果】

##### 1. 診療録、説明同意書の保管

説明同意書の確認できなかった症例が2施設で見つかった。カルテにはプロトコール症例との記載がされており、説明がされた証拠はあるのであるが、保管されていなかった。複数症例であったので系統的な逸脱と判断し、改善報告書を要求した。AML209では、初発時の検体が遺伝子解析に使用することを目的に採取されるが骨髄であっても末梢血であっても、日常診療に用いる検体とは別に採取される。もちろん、そのためだけに骨髄穿刺、末梢血採取がされるわけではなく、その負担は最小にとどめられてはいるが、説明文書の保管が確認されないことは重大である。

同意なしに、通常の検査を装って骨髄採取、採血がされたことを否定できなくなるためこの施設は改善計画を提出してもらった。

検体同意日の確認できない同意書が2施設の1例で見つかったが、系統的なものではなかった。

匿名化を要求されていた3施設があったが、匿名化対応表は保管されており、正しくカルテ照合ができた。

##### 2. エンドポイントに関する記載

症例の登録前の治療開始が1例で発見された。診断日、治療開始日は入院当日であることがわかり、説明を記した記載がカルテには残っており、当日、行われた形跡がある。また、同意取得日で記載されている日付の日には治療の説明はなく、前日の説明であったことが容易にわかった。

この場合は、外形的には登録前の治療開始日の登録であることには変わりなく、試験の質を担保できなくなる。すなわち、登録日が生存、無再発生存率の開始日なので影響する。

別の施設の症例で、CML207、標準的な用量に対する、積極的増量群に割り付けされていた症例で、増量前の段階で、有害事象のために注しされていたが、その後、他の薬剤に移行していたにも関わらず、その記載がなく、そのまま、増量群としてCRFが記載されていた。意図的な事象ではなかったが、明らかにエンドポイントに関する。

AML209、CS11ではEFS、OASがそれぞれ主たる観察項目である。診断日、再発日、生存あるいは死亡確認日が重要であるが、各施設により、記載が不正確な部分を確認されている。

診断日に関しては不正確になる要因は少ないが、それでも、骨髄穿刺を行った日を記載するのか、結果がわかった日を記載するかで数日のずれが生じ得る。事実、今回の監査でも骨髄を鏡検した日に診断されたとして、登録された施設があった。当日に診断すれば、このような例はなかったはずであるが、グループ内でコンセンサスを得ておく必要がある。

再発日は、すべての施設で骨髄施行日となっていた。

再発有無を確認する骨髄検査は、当日直ちに鏡検

され、再発有無が確認されているものと考えられる。

施設が患者および病院の都合で移動することは十分あり得ることであるが、今年度も昨年度のCS07 コホート研究に引き続きCS11 のコホート研究での症例監査の結果、複数施設で経過観察のために他施設へ移動している複数症例があり、入力データに反映されていなかったり、カルテ記載がなかったりした。CS07, 11 は予後を移植の有無と合わせて追跡することが目的の前向き試験なので、結果の精度に影響を及ぼす。転院日が最終予後追跡日とならないように、以上2点は、各施設に重大事象として改善を促した。

APL204 で、登録前の治療開始が1施設の複数例で発見された。診断日、治療開始日は入院当日であることがわかり、当日、説明を記した記載がカルテには残っていた。直ちに治療を開始、その後1週間後に登録されていたものである。この場合は、登録前の治療開始例の登録であることには変わりなく、試験の質を担保できなくなる。すなわち、登録日が生存、無再発生存率の開始日なので影響する。しかも、初期に死亡例となると、登録された亡くなり、治療成績を上げる方に働く。

### 3. CRF の記載

治療方法、量、回数は正確に記載されており、また、各症例の検査結果の数字は、ほぼ一致しており、完全には一致しなかったものはほとんどなかった。

今までの計81施設の結果で、1. 数字の誤記載（白血球数と好中球数との誤り、速報値と、最終値との違い）。2. いくつかの定義が明らかでない数字を記載するようになっている（診断確定日、白血球回復日）。3. カテゴリー化された数字を記載する場合の基準が明確でない（リゾチーム値の低値、高値）4. 治療適格性が監査される項目と一致していない(p02の適格性がCRFに反映されておらず、監査で確認できない)。5. CRFの形

式不備（移植後の再発と再発期の移植とが区別できないことおよび、自由記載欄がなく、臨床的には妥当な判断が不明）。6. 定義が明らかでない数字の記載として単位の記載のないFDP値。7. 登録システムの改善が必要な点（一方の報告書で誤入力を取り消されていなかった点）。8. 薬剤の使用量を報告するところで/m<sup>2</sup>と/Bと混合しやすいことが判明していたが、これらの治療中の数字の記載を要求しなかったこともあり、誤記は殆ど見られなくなった。

CRFにある記載のうちカルテでは確認できない数字は、多くはないが、PS記載、転帰確認日はそれぞれ、10施設、2施設で見つかった。すなわち今回の監査を行った11施設中、全症例でPSの数字そのものが記載確認出来たのは1施設だけであり、PS記載がされていないことが判明した。

#### 【プロトコール委員会などへの対応】

カルテにPSの記載がない例が多いこと、コホートスタディでは、予後追跡が施設によって、不十分となっている実態を現行のコホート研究事務局に伝えた。他施設への症例移動の際の手続きを再度アナウンスした。

#### 【新規参加施設への対応、施設調査】

3年間で17施設の新規希望があり、16施設が承認され、1施設が手続き中である。

各施設の活動度を確認し、参加動機付けとするために、施設毎に登録総例数を公表することを行った。症例数が著しく少ない施設をそのまま留まらせるか否かは、講習会の参加状況などで確認し、あまりに、活動度が低い施設は、取消しをすることも考えている。

現行の登録症例が多い施設の監査を行う方法では、活動度が低い施設の実態が分からない。何らかの方法でそのような施設を取り上げ、実情を把握する必要がある。

#### D. 考察

監査を行うことにより、CRF 記載の実態を調べることができ、よりよい CRF 作成をすることに反映させることが可能であった。年間の経費、時間的負担の概略が理解できた。慣れと人員の拡充により、時間、費用を大幅に低減させることが可能であった。関東、関西、名古屋地区の監査施設が多かったため各地区の監査委員に依存する部分が多かった。メンバーの入れ替わりもあるため、そのため、この地区の監査委員が増強された。基幹施設同士の距離は以外と遠く、四国の4施設では2施設しか近接しておらず、いずれも東京の委員が、監査を行っており航空路しか利用できない施設が多かった。そこで交通の便の良い、空港に近い施設の委員を増やした。

#### E. 結論

監査を行うことにより、CRF 記載の実態を調べることができ、よりよい CRF 作成をすることに反映させることが可能であった。年間の経費、時間的負担の概略が理解できた。慣れと人員の拡充により、時間、費用を大幅に低減させることが可能であった。

プライマリーエンドポイントにも関連してくる生死確認に関してルールを作成して施設内外での移動に際して、記載を徹底する必要がある。

臨床試験の質の保証を行うために JALSG 参加施設に対する施設監査を実施した。現在までのところ、各施設でプロトコールが遵守されており、記載上もおおむね許容範囲の誤記にとどまっている。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Iriyama N, Kobayashi Y, et al. Normal karyotype acute myeloid leukemia with the CD 7+ CD15+ CD34+ HLA-DR+ immunophenotype is a clinically distinct entity with a favorable outcome. *Ann Hematol*. 2014. (Epub ahead of print)

- 2) Tamura S, Kobayashi Y, et al. Epstein-Barr virus-associated enteropathy as a complication of infectious mononucleosis mimicking peripheral T-cell lymphoma. *Intern Med*. 2013; 52(17):1971-1975.
- 3) Maeshima, A.M, Kobayashi Y, et al. Prognostic implications of histologic grade and intensity of Bcl-2 expression in follicular lymphomas undergoing rituximab-containing therapy. *Hum Pathol*. 2013;44:2529-2535.
- 4) Abe S, Kobayashi Y, et al. A retrospective study of 5-year outcomes of radiotherapy for gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma refractory to Helicobacter pylori eradication therapy. *JPN J Clin Oncol*. 2013; 43:917-922.
- 5) Yanada M, Kobayashi Y, et al; Japan Adult Leukemia Study Group. The demarcation between younger and older acute myeloid leukemia patients: A pooled analysis of 3 prospective studies. *Cancer*. 2013;119(18): 3326-3333.
- 6) Maeshima AM, Kobayashi Y, et al. Clinicopathological prognostic indicators in 107 patients with diffuse large B-cell lymphoma transformed from follicular lymphoma. *Cancer Sci*. 2013;104:952-957.
- 7) Ando M, Kobayashi Y, et al. A20 (TNFAIP3) deletion in Epstein-Barr virus-associated lymphoproliferative disorders/lymphomas. *PLoS One*. 2013;8(2):e56741.
- 8) Hiramoto N, Kobayashi Y, et al. Ewing sarcoma arising after treatment of diffuse large B-cell lymphoma. *Jpn J Clin Oncol*. 2013; 43(4):417-421.
- 9) Yanada M, Kobayashi Y, et al. Phase 2 study of arsenic trioxide followed by autologous hematopoietic cell transplantation for relapsed acute promyelocytic leukemia. *Blood*. 2013; 121(16):3095-3102.
- 10) Maeshima AM, Kobayashi Y, et al. Follow-up data of 10 patients with B-cell non-Hodgkin lymphoma with a CD20-negative phenotypic change after rituximab-containing therapy. *Am J Surg Pathol*. 2013;37(4):563-570.
- 11) Ogura M, Kobayashi Y, et al. Phase I study of

- obinutuzumab (GA101) in Japanese patients with relapsed or refractory B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Cancer Sci.* 2012;104(1):105-110.
- 12) Yamaguchi M, Kobayashi Y, et al. Concurrent chemoradiotherapy for localized nasal natural killer/T-cell lymphoma: an updated analysis of the Japan Clinical Oncology Group Study JCOG0211. *J Clin Oncol.* 2012;30(32):4044-4046.
  - 13) Nomoto J, Kobayashi Y, et al. Deletion of the TNFAIP3/A20 gene detected by FICTION analysis in classical Hodgkin lymphoma. *BMC Cancer.* 2012;12:457.
  - 14) Munakata W, Kobayashi Y, et al. Carcinoma of donor origin after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation. *Am J Surg Pathol.* 2012;36(9):1376-1384.
  - 15) Oki Y, Kobayashi Y, et al. Phase I/II study of decitabine in patients with myelodysplastic syndrome: A multi-center study in Japan. *Cancer Sci.* 2012;103(10):1839-1847.
  - 16) Maeshima AM, Kobayashi Y, et al. Bcl-2, Bcl-6, and the International Prognostic Index are prognostic indicators in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab-containing chemotherapy. *Cancer Sci.* 2012;103(10):1898-1904.
  - 17) Ogura M, Kobayashi Y, et al. Phase II study of ABV (doxorubicin with increased dose, bleomycin and vinblastine) therapy in newly diagnosed advanced-stage Hodgkin lymphoma: Japan Clinical Oncology Group study (JCOG 9705). *Leuk Lymphoma.* 2012; 54(1):46-52.
  - 18) Usuki K, Kobayashi Y, et al. Efficacy and safety of nilotinib in Japanese patients with imatinib-resistant or -intolerant Ph+ CML or relapsed/ refractory Ph+ ALL: a 36-month analysis of a phase I and II study. *Int J Hematol.* 2012;95(4):409-419.
  - 19) Miyazaki K, Kobayashi Y, et al. CD5-positive diffuse large B-cell lymphoma: a retrospective study in 337 patients treated by chemotherapy with or without rituximab. *Annals Oncol.* 2011;22:1601-1607.
  - 20) Fukuhara S, Kobayashi Y, et al. Bulky disease has an impact on outcomes in primary diffuse large B-cell lymphoma of the breast: a retrospective analysis at a single institution. *Eur J Haematol.* 2011;87(5):434-440.
  - 21) Uchida T, Kobayashi Y, et al. Phase I and II study of azacitidine in Japanese patients with myelodysplastic syndromes. *Cancer Sci* 2011;102(9):1680-1686.
  - 22) Usui N, Kobayashi Y, 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; 102:1358-1365.
  - 23) Kobayashi Y, et al. Lack of non-hematological cross intolerance of dasatinib to imatinib in imatinib-intolerant patients with Philadelphia chromosome positive chronic myeloid leukemia or acute lymphatic leukemia: a retrospective safety analysis. *Int J Hematol.* 2011;93:745-749.
  - 24) Yamada K, Kobayashi Y, et al. Follicular lymphoma with marked monocytoid or plasmacytoid differentiation and tiny or indistinct follicles: a case study of four patients. *Leuk Lymphoma.* 2011;52:804-813.
  - 25) Ohmachi K, Kobayashi Y, et al. On behalf of the members of the Lymphoma Study Group of the Japan Clinical Oncology Group (JCOG-LSG). Phase III trial of CHOP-21 versus CHOP-14 for aggressive non-Hodgkin's lymphoma: final results of the Japan Clinical Oncology Group Study, JCOG 9809. *Annals Oncol.* 2011;22:1382-1391.
  - 26) Kobayashi Y. Molecular target therapy in hematological malignancy: front-runners and prototypes of small molecule and antibody therapy. *Jpn J Clin Oncol.* 2011;41(2):157-64.
  - 27) Tobinai K, Kobayashi Y, et al. Phase I study of LY2469298, an Fc-engineered humanized anti-CD20 antibody, in patients with relapsed or refractory follicular lymphoma. *Cancer Sci.* 2011;102(2):432-438.

2. 学会発表

G. 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

該当なし

3. その他

該当なし

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

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  
急性骨髄性白血病臨床試験

分担研究者 清井 仁 名古屋大学大学院医学系研究科 血液・腫瘍内科学 准教授

研究要旨

急性骨髄性白血病（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。この結果を検証するために「染色体・遺伝子変異が成人急性骨髄性白血病の予後に及ぼす影響に関する観察研究AML209-GS」試験を実施し、1433例の検体と臨床情報の集積を行った。分子病態に基づく個別化治療の有効性を評価する目的で、「成人core binding factor急性骨髄性白血病に対するシタラビン大量療法のKIT遺伝子型別反応性を評価する臨床第IV相試験CBF-AML209-KIT」試験および「FLT3/ITD変異陽性成人急性骨髄性白血病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」試験を実施し、それぞれ174例、35例の症例登録を得た。

A. 研究目的

急性骨髄性白血病（AML）は化学療法の進歩と同種造血幹細胞移植療法の導入により治癒可能な疾患となったが、5年生存率は40%前後に留まっている。これまでに多くの予後予測因子が提案されてきた。中でも染色体核型に基づく予後層別化システムは臨床的に汎用されてきた。しかし、臨床的にも生物学的にも多様な疾患であるAMLにおいては従来の層別化システムのみでは十分な予後予測に繋がらず、新たな層別化システムの確立が求められている。特に、AMLにおいて認められる異常分子を標的とした分子標的治療薬の開発が精力的に進められている現状では、分子病態に基づく予後層別化システムの構築と個別化治療法の確立が急務である。本研究では同一の臨床試験に登録されたAML症例の分子病態を網羅的に解析することにより、予後層別化可能な分子病態を後方視的に明らかにし、その結果を大規模コホートにより前方視的に実証すること、また、分子層別化に基づく個別化治療の有効性と安全性を臨床試験によって検証することを目的とした。

B. 研究方法

JALSG（日本成人白血病治療共同研究グループ）AML201試験に登録された197症例において、染色体核型、51種類の遺伝子における変異、11種類のキメラ遺伝子異常の有無を検索し、寛解導入率、長期予後に関係する分子異常を同定するとともに、分子層別化システムの確立を行った。

後方視的に構築された分子層別化システムを前方視的かつ大規模コホートで検証するために、分子疫学研究である、「染色体・遺伝子変異が成人急性骨髄性白血病の予後に及ぼす影響に関する観察研究AML209-GS」試験を実施した。本試験では、16歳以上65歳未満の成人未治療AML症例を対象とし、治療前白血病細胞において11種類のキメラ遺伝子とFLT3/ITD遺伝子変異検索を行い、残余検体をJALSG検体保存センターに連結可能匿名化の上保存し、網羅的遺伝子変異解析を実施した。

染色体転座 t(8;21)あるいは inv(16)(p13.1q22) / t(16;16)を有するAML（CBF白血病）において、KIT遺伝子変異の有無による治療反応性の違いを解析するため、AML209GS登録症例のうち、キメラ遺伝子検査によりCBF-AMLと同等された患者を対象に「成人core binding factor急性骨髄性白血病に対するシタラビン大量療法のKIT遺伝子型別反応性を評価する臨床第IV相試験CBF-AML209-KIT」試験を実施した。またAMLの予後不良因子であることが明らかなFLT3/ITD変異陽性症例において、第一寛解期での積極的な同種造血幹細胞移植療法の有用性と安全性を検証するために、AML209GS登録症例のうち、FLT3/ITD変異陽性で50歳未満の患者を対象に「FLT3/ITD変異陽性成人急性骨髄性白血病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」試験を行った。

(倫理面への配慮)

AML201 試験登録症例における網羅的遺伝子変異解析にあたっては、ゲノム指針に準拠し、関係施設の倫理委員会での承認と連結不可能匿名化を行った上で実施した。AML209GS、CBF-AML209-KIT、AML209-FLT3-SCT 試験は、各参加施設の規約に基づいて倫理委員会での承認を得て、厚生労働省の臨床研究・疫学研究の倫理指針、およびゲノム指針に従って実施されている。臨床情報および検体の収集・保存においては、患者の同意を文書で得て、連結可能匿名化により個人情報の保護を行っている。また、臨床研究の概要ならびに参加施設名は 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

AML201試験登録症例197例において網羅的遺伝子変異解析を行い、44種類の遺伝子に変異を認めることを明らかにした。このうち、*RUNX1-RUNX1T1*または*CBFB-MYH11*キメラ遺伝子を有するCBF-AML、*NPM1*遺伝子変異、*CEBPA-D*変異が寛解達成に対する良好因子であり、*TP53*遺伝子変異が不良因子として抽出され、多変量解析の結果、*NPM1*遺伝子変異を有しないことおよび*TP53*遺伝子変異が独立した不良因子であることを明らかにした(表1)。

Fisher's exact test

Mutations	CR rate (%)		P value
	Positive	Negative	
<i>NPM1</i>	97	78	0.0041
<i>CEBPA D-Mt.</i>	100	80	0.0273
<i>KIT</i>	96	79	0.0326
<i>RUNX1-RUNX1T1</i> or <i>CBFB-MYH11</i>	91	78	0.0409
<i>TP53</i>	14	84	0.0002

Multivariate analysis

Mutations	HR (95% CI)	P value
Wild- <i>NPM1</i>	96.206 (2.247-411.9)	<0.0001
<i>TP53</i> mutation	22.222 (1.597-333.3)	0.0172

表1.寛解導入率に影響を与える遺伝子変異

また、全生存率に対しては、*FLT3-ITD*、*DNMT3A*、*TP53*、*MLL-PTD*、*RUNX1*遺伝子変異とCBF-AMLでないことが予後不良因子として抽出され、多変量解析の結果、*TP53*、*MLL-PTD*、*RUNX1*遺伝子変異とCBF-AMLでないことが独立した予後不良因子として同定された(表2)。

Univariate analysis

Mutations	HR (95% CI)	P value
<i>TP53</i>	15.167 (6.555-35.094)	<0.0001
<i>MLL-PTD</i>	3.782 (1.948-7.346)	<0.0001
Non CBF	2.786 (1.608-4.831)	0.0003
<i>RUNX1</i>	2.301 (1.278-4.146)	0.0055
<i>FLT3-ITD</i>	1.805 (2.247-4.119)	0.0135
<i>DNMT3A</i>	1.696 (1.055-2.725)	0.0291

Multivariate analysis

Mutations	HR (95% CI)	P value
<i>TP53</i>	14.803 (6.259-35.009)	<0.0001
<i>MLL-PTD</i>	2.853 (1.4017-5.810)	0.0039
Non CBF	2.353 (1.342-4.132)	0.0028
<i>RUNX1</i>	1.965 (1.054-3.663)	0.0336

表2. 全生存率に対して予後不良の遺伝子変異

これら遺伝子変異解析結果をもとに、予後層別化システムの構築を行い、8種類の遺伝子変異の状態によりAMLの全生存率を3群に層別化可能であることを明らかにした(図1 A, B)。更にこの層別化システムにおいて、無病生存率、寛解導入率も層別化可能であることを明らかにした(図1 C, D)。

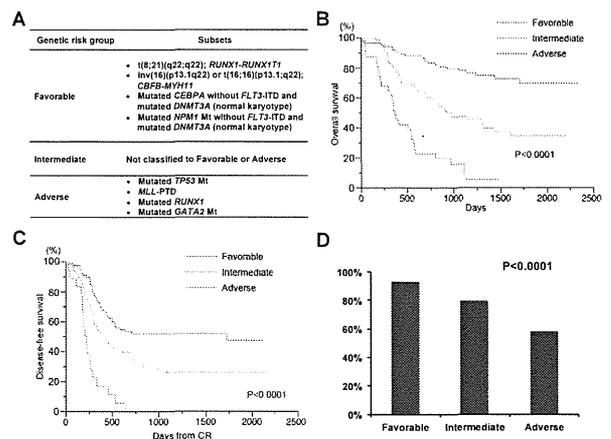


図1.分子病態に基づく予後層別化システム

AML209GS試験は順調に登録が行われた。2014年1月末現在で145施設において倫理委員会の承認と施設登録が行われ、1439例の症例登録があった。登録症例において初診時白血病細胞を用いて11種類のキメラ遺伝子スクリーニング検査とFLT3/ITD遺伝子変異検索を行い、残余検体の中央保管を行った(図2)。目標症例数(1500例)まで登録を継続し、遺伝子変異解析を順次施行するとともに、AML201試験の結果を検証中である。

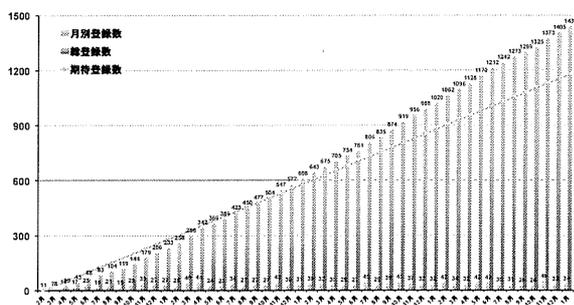


図2. AML209GS試験の登録状況

CBF-AML209-KIT試験では174例の登録が得られ、KIT遺伝子変異解析を実施した。プロトコールに規定されている中間解析を実施するために臨床データの固定化を実施中である。AML209-FLT3-SCT試験には35例の登録が得られ、目標症例数の達成に向けて登録継続中である。

#### D. 考察

AML201試験登録症例における網羅的遺伝子変異解析により、日本人成人AML症例における分子病態に基づく予後層別化システムを構築した。AMLの発症・進展に関与する多くの分子異常が同定されてきているが、個々の分子異常のみならず、それらを複合的に評価することにより、治療反応性、長期予後を予測する層別化システムを構築することが求められている。本研究により、8種類の遺伝子編の状態によりAMLの予後を層別化することが可能であることが示されたが、今後更に大規模かつ前方向視的なコホートにより検証することが必要である。そのための1500例を対象としたAML209GS試験は登録予定期間を約7ヶ月先行して症例登録と検体保存が施行され、極めて順調に実施されている。本試験登録症例における分子病態の解析と臨床情報との統合解析の結果は、更に精細な予後層別化システムの構築に大きく寄与するものと期待される。また、分子病態に基づく個別化治療の検証試験も順調に進行しており、本邦における個別化療法の有用性と安全性を評価する初めての成果が期待できる。

#### E. 結論

日本人成人AML症例における分子病態に基づく予後層別化システムを構築した。この結果を更に詳細に検証するための前向き分子疫学研究AML209GS試験ならびに分子層別化システムに基づく個別化治療を検証するCBF-AML209-KIT試験、AML209-FLT3-SCT試験を実施し、順調な症例登録を得た。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. 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. doi: 10.1038/leu.2014.55. [Epub ahead of print].
2. 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. Expression of CD56 is an unfavorable prognostic factor for acute promyelocytic leukemia with higher initial white blood cell counts. **Cancer Sci**. 2014; 105: 97-104.
3. Tokunaga T, Tomita A, Sugimoto K, Shimada K, Iriyama C, Hirose T, Shirahata-Adachi M, Suzuki Y, Mizuno H, Kiyoi H, Asano N, Nakamura S, Kinoshita T, Naoe T. De novo diffuse large B-cell lymphoma with a CD20 immunohistochemistry-positive and flow cytometry-negative phenotype: Molecular mechanisms and correlation with rituximab sensitivity. **Cancer Sci**. 2014; 105: 35-43.
4. Yasuda T, Ueno T, Fukumura K, Yamato A, Ando M, Yamaguchi H, Soda M, Kawazu M, Sai E, Yamashita Y, Murata M, Kiyoi H, Naoe T, Mano H. Leukemic evolution of donor-derived cells harboring IDH2 and DNMT3A mutations after allogeneic stem cell transplantation. **Leukemia**. 2013 Sep 26. doi: 10.1038/leu.2013.278. [Epub ahead of print]
5. 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; 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; 104: 1339-45.

6. 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; Japan Adult Leukemia Study Group. The demarcation between younger and older acute myeloid leukemia patients: a pooled analysis of 3 prospective studies. **Cancer**. 2013; 119: 3326-33.
7. Tomita A, Kiyoi H, Naoe T. Mechanisms of action and resistance to all-trans retinoic acid (ATRA) and arsenic trioxide (As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) in acute promyelocytic leukemia. **Int J Hematol**. 2013; 97: 717-25.
8. Kiyoi H. Guest editorial: efficacy of and resistance to molecularly targeted therapy for myeloid malignancies. **Int J Hematol**. 2013; 97: 681-2.
9. Niimi K, Kiyoi H, Ishikawa Y, Hayakawa F, Kurahashi S, Kihara R, Tomita A and Naoe T. GATA2 zinc finger 2 mutation found in acute myeloid leukemia impairs myeloid differentiation. **Leukemia Research Reports** 2013; 2: 21-25.
10. Ando K, Tsushima H, Matsuo E, Horio K, Tominaga-Sato S, Imanishi D, Imaizumi Y, Iwanaga M, Itonaga H, Yoshida S, Hata T, Moriuchi R, Kiyoi H, Nimer S, Mano H, Naoe T, Tomonaga M, Miyazaki Y. Mutations in the nucleolar phosphoprotein, nucleophosmin, promote the expression of the oncogenic transcription factor MEF/ELF4 in leukemia cells and potentiates transformation. **J Biol Chem**. 2013; 288: 9457-67.
11. Naoe T, Kiyoi H. Gene mutations of acute myeloid leukemia in the genome era. **Int J Hematol**. 2013; 97:165-74.
12. Ono T, Takeshita A, Kishimoto Y, Kiyoi H, Okada M, Yamauchi T, Tsuzuki M, Horikawa K, Matsuda M, Shinagawa K, Monma F, Ohtake S, Nakaseko C, Takahashi M, Kimura Y, Iwanaga M, Asou N, Naoe T. Long-term outcome and prognostic factors of elderly patients with acute promyelocytic leukemia. **Cancer Sci**. 2012; 103:1974-1978.
13. Doisaki S, Muramatsu H, Shimada A, Takahashi Y, Mori-Ezaki M, Sato M, Kawaguchi H, Kinoshita A, Sotomatsu M, Hayashi Y, Furukawa-Hibi Y, Yamada K, Hoshino H, Kiyoi H, Yoshida N, Sakaguchi H, Narita A, Wang X, Ismael O, Xu Y, Nishio N, Tanaka M, Hama A, Koike K, Kojima S. Somatic mosaicism for oncogenic NRAS mutations in juvenile myelomonocytic leukemia. **Blood**. 2012; 120: 1485-8.
14. Wakita A, Ohtake S, Takada S, Yagasaki F, Komatsu H, Miyazaki Y, Kubo K, Kimura Y, Takeshita A, Adachi Y, Kiyoi H, Yamaguchi T, Yoshida M, Ohnishi K, Miyawaki S, Naoe T, Ueda R, Ohno R. Randomized comparison of fixed-schedule versus response-oriented individualized induction therapy and use of ubenimex during and after consolidation therapy for elderly patients with acute myeloid leukemia: the JALSG GML200 Study. **Int J Hematol**. 2012; 96: 84-93.
15. Shimada K, Tomita A, Minami Y, Abe A, Hind CK, Kiyoi H, Cragg MS, Naoe T. CML cells expressing the TEL/MDS1/EV11 fusion are resistant to imatinib-induced apoptosis through inhibition of BAD, but are resensitized with ABT-737. **Exp Hematol**. 2012; 40: 724-737.
16. Sugimoto T, Tomita A, Abe A, Iriyama C, Kiyoi H, Naoe T. Chimeric antisense RNA derived from chromosomal translocation modulates target gene expression. **Haematologica**. 2012; 97: 1278-80.
17. Iriyama C, Tomita A, Hoshino H, Shirahata 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.
18. 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. **Cancer Sci**. 2012; 103:1071-8.
19. Kajiguchi T, Katsumi A, Tanizaki R, Kiyoi H, Naoe T. Y654 of  $\beta$ -catenin is essential for FLT3/ITD-related tyrosine phosphorylation and nuclear localization of  $\beta$ -catenin *Eur J Haematol*. 2012; 88: 314-20.
20. 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.
21. Katsumi A, Nishida T, Murata M, Terakura S, Shimada K, Saito S, Kobayashi M, Kodaira A,

- Shibata S, Oda I, Yagi T, Kiyoi H, Matsushita T, Kojima T, Naoe T. Virus-associated hemophagocytic syndrome caused by pandemic swine-origin influenza A (H1N1) in a patient after unrelated bone marrow transplantation. **J Clin Exp Hematop** 2011; 51: 63-65.
22. Goto E, Tomita A, Hayakawa F, Atsumi A, Kiyoi H, Naoe T. Missense mutations in PML-RARA are critical for the lack of responsiveness to arsenic trioxide treatment. **Blood** 2011; 118: 1600-1609.
23. Usui N, Takeshita A, Nakaseko C, Dobashi N, Fujita H, Kiyoi H, Kobayashi Y, Sakura T, Yahagi Y, Shigeno K, Ohwada C, Miyazaki 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.
24. Kuwatsuka Y, Minami M, Minami Y, Sugimoto K, Hayakawa F, Miyata Y, Abe A, Goff DJ, Kiyoi H, Naoe T. The mTOR inhibitor, everolimus (RAD001), overcomes resistance to imatinib in quiescent Ph-positive acute lymphoblastic leukemia cells. **Blood Cancer J.** 2011; 1: e17.
25. 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.
26. 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.
2. 学会発表
1. Kihara R, Kiyoi H and Naoe T. DNMT3A and IDH1/2 Mutations Are Stable During the Progression of Acute Myeloid Leukemia. American Society of Hematology 53rd Annual Meeting. 2011.12.11. San Diego Convention Center (San Diego, USA).
2. 清井 仁. 急性骨髄性白血病における分子病態に基づく予後層別化と個別化治療. 第 49 回日本癌治療学会総会 (招待講演) 2011.10.27. 名古屋国際会議場 (愛知県)
3. 清井 仁. AML 病態研究の進展と最近の治療エビデンス. 第 73 回日本血液学会学術総会 (招待講演) 2011.10.16. 名古屋国際会議場 (愛知県)
4. Kihara R, Kiyoi H and Naoe T. *DNMT3A* and *IDH1/2* mutations are stable during the progression of acute myeloid leukemia. 第 73 回日本血液学会学術総会 2011.10.15. 名古屋国際会議場 (愛知県)
5. Kihara R, Kiyoi H and Naoe T. *DNMT3A* and *IDH1/2* mutations are stable during the progression of acute myeloid leukemia. The XXV Symposium of the International Association for Comparative Research on Leukemia and Related Diseases. 2011.9.15. 東京大学弥生会館 (東京都)
6. Hitoshi Kiyoi. AML study in JALSG. The Korean Society of Hematology KSH and JALSG joint symposium (招待講演) 2011.5.26. Asan Medical Center (Seoul, Korea)
7. 清井 仁. 白血病治療の現状と将来 第 50 回日本癌治療学会学術集会 (招待講演) 2012 年 10 月 パシフィコ横浜 (横浜)
8. 清井 仁. 急性骨髄性白血病における分子標的治療薬の開発 第 54 回日本小児血液・がん学会 (招待講演) 2012 年 12 月 パシフィコ横浜 (横浜)
9. Tomohiko Taki, Hee-Je Kim, Hitoshi Kiyoi, Tomoki Naoe et al. Incidence and Clinical Features of Core Binding Factor Acute Myeloid Leukemia: A Collaborative Study of the Japan Adult Leukemia Study Group and the Korean Society of Hematology The American Society of Hematology 54th Annual Meeting. Dec 2012, Atlanta USA.
10. Rika Kihara, Hitoshi Kiyoi, Tomoki Naoe et al. Allogeneic Stem Cell Transplantation at the Primary Induction Failure or after the 1st Relapse Dose not Conquer Poor Prognosis of AML with FLT3-ITD. 第 3 回日本血液学会国際シンポジウム 2012 年 5 月 川越プリンスホテル (川崎市)
11. 木原里香、清井 仁、直江知樹他 ELN 分子層別化システムに基づいた JALSG AML201 登録患者の予後 第 71 回日本癌学会学術総会 2012 年 9 月 ロイトン札幌 (札幌)
12. 木原里香、清井 仁、直江知樹他 Evaluation of the ELN genetic risk classification in AML patients registered to

JALSG AML201 study 第 74 回日本血液学会  
学術集会 2012 年 10 月 国立京都国際会館  
(京都)

13. 福島庸晃、南陽介、早川文彦、清井仁、直江知樹 Efficacy and biomarker analyses of treatment with the Hedgehog inhibitor, PF-04449913, in AML cells 第 74 回日本血液学会学術集会 2012 年 10 月 国立京都国際会館 (京都)
14. 鈴木弘太郎、清井仁、直江知樹他 「再発時に骨髄性細胞形質を呈した成人急性リンパ性白血病症例における分子病態の検討」第 11 回日本臨床腫瘍学会学術集会 (仙台市) 2013 年 8 月
15. Hitoshi Kiyoi. Prognostic impacts and clonal heterogeneity of recurrently identified mutations in AML. XXVI Symposium International Association for Comparative Research on Leukemia and Related Diseases. TORINO, LINGOTTO CONFERENCE CENTER, SEPTEMBER 11-14, 2013. (招待講演)
16. 木原里香、清井仁 「IDH2 変異は必ずしも急性骨髄性白血病発生の初期イベントではない」第 72 回日本癌学会学術総会 (横浜市) 2013 年 10 月
17. 木原里香、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
18. 鈴木弘太郎、清井仁 「再発時に骨髄性細胞形質を呈した成人急性リンパ性白血病症例における分子病態の検討」第 75 回日本血液学会学術集会 (札幌市) 2013 年 10 月
19. 加藤貴大、清井仁、直江知樹他 「Prevalence and characteristics of CEBPA double mutations on same allele in AML」第 75 回日本血液学会学術集会 (札幌市) 2013 年 10 月
20. 陳昉里、清井仁、直江知樹他 「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

G. 知的財産権の出願・登録状況

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。

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  
生物統計

研究分担者：熱田 由子（名古屋大学大学院医学系研究科・招聘教員）

### 研究要旨

臨床試験計画においては臨床医学のみではなく臨床試験方法論やデータ管理学などの知識が必要である。これは、臨床試験計画チームに専門家が必要であるのみならず、臨床試験を計画する臨床家が臨床試験方法論などに関して必要十分の知識をもつことが必要である。試験デザインやその背景となる統計学的事項に関して、臨床家が理解しにくい点などを整理し、教育的説明などを行うことにより、計画される臨床試験の質の向上のみならず、臨床試験計画時におけるプロセスをより合理化していくことができると考えられる。臨床試験のデータの質管理が厳しく問われるようになってきており、その質管理を効率性を踏まえて検討した。また、研究活動をより広い視点でとらえた場合に、本邦内で存在する別の研究組織との連携がスムーズにいくことも重要である。

#### A. 研究目的

臨床試験の立案から、プロトコルを固定し、実際の登録が始まるまでには、年単位での時間がかかることが多い。臨床試験の計画チーム内で十分な議論の時間を要すること、定義や治療内容の詳細にわたるプロトコルを作り上げるまでの膨大な作業量に要する時間なども理由に挙げられる。しかし、より重要な要素として、試験デザインを含むプロトコル骨子（プロトコルコンセプト）が固定するまでに時間がかかることが多く、対象・介入内容・評価内容・および試験デザインの臨床試験骨子自体が二転三転することによって、より時間がかかることがしばしば見られる。

臨床試験計画においては臨床医学のみではなく臨床試験方法論やデータ管理学などの知識が必要である。臨床試験計画チームに専門家が必要だけでなく、臨床試験を計画する臨床家が臨床試験方法論などに関して必要十分の知識をもつこと

が必要である。臨床家とのスムーズな議論により、より適切なデザインおよび最終解析の計画を担当すること、および臨床家が特に理解しておくべき事柄に関して整理し、臨床家の観点から説明を行う方法を研究することを本研究の目的とした。いくつかの試験計画に統計担当者として参加すると同時に、2011年度は第三相試験の最終解析を踏まえた上で、デザインに関して、特に非劣性試験で設定される $\delta$ 値に関して、2012年度は白血病の治療方針に欠かせない造血幹細胞移植研究組織との連携に関して、2013年度は中央モニタリングにおける質と効率性に関しての検討および解説を行った。

#### B. 研究方法

臨床試験計画において、科学的に理解するためには、 $\alpha$ エラー、 $\beta$ エラー、および統計学的検出力（1- $\beta$ ）に関する理解が必要である。さらに基礎的

事項としてランダム化の手法や、最終解析の際に実施する検定についても理解しておく必要がある。これらの基礎知識を踏まえた上で、非劣勢試験での計画方法および最終解析の方法を解説した。

(2011年度)

白血病の治療方針に欠かせない造血幹細胞移植研究組織との連携に関しても検討した。(2012年度)臨床試験の品質管理していくために、モニタリングは重要な役割を担う。監査が研究/データ管理部門とは独立した第3者が行う品質保証的役割を担うのに対して、モニタリングはデータセンター/研究グループが中心になり実施する品質管理である。この、特に中央モニタリング(データセンター内で実施するモニタリング)に関してその質と効率性に関する検討を行った。(2013年度)

## C. 研究結果

### C-1. 第三相試験における最終解析を踏まえた計画方法および非劣性試験での $\delta$ の設定に関する検討

#### 1. 科学的な対象数の設定

科学的に妥当である対象数の決定のために、症例数の算定が試験計画の際になされ、その算定根拠とともに試験計画書に明記される。予定症例数は科学的に妥当であることはもちろんのこと、現実的である必要がある。 $\alpha$ エラー、 $\beta$ エラー、および統計学的検出力(1- $\beta$ )に関する理解が必要であるが、臨床家には、何度聞いてもなじみにくい用語であると聞く。そこで、200例(標準治療100例、B試験治療100例)の模擬データを作成し解説した。割り付けから24カ月の時点で標準治療群の全生存率77%、試験治療群の全生存率は87%でB治療群により10%の改善が認められているが、ログランク検定結果は $P=0.06$ と有意差を認めなかった。研究者が、試験治療が24カ月の生存率として10%の改善があった場合には、新規治療は有用だというclinical questionを持っていたとすると、実際に求めていた差があったにも関わらず、

優位性を証明できなかったということとなる。この模擬データをコピーペーストすることにより単純に二倍にした400例のデータセットで解析した場合、当然生存曲線は全くかさなり、200例の場合と同じ24カ月での生存率が得られるが、検定結果は $P=0.008$ となり、結論が変わる。200例の場合の統計学的検出力は54%であり、これを80%にあげるためには392例が必要となる。200例の場合、真に10%の差があった場合でも、これを検出できる確率が約1/2ということであり、200例の患者の協力と多額の資金を用いて行う臨床試験として、その科学性に大きな問題があったことがわかる。

#### 2. デルタ値に関して

デルタとは、「臨床的に許容される差(clinical accepted difference)」と説明されており、臨床的に無視できる治療効果の違いを医学的に試験計画の中に設定する。我々の領域では-10(-5)から-15%のデルタ値が用いられることが多いが、上記表現が用いられていることにより「デルタ」が治療効果の点推定値の差として許容される数値であると誤解されていることが多い。

治療奏効割合の模擬データを治療効果の差および症例数を変更して幾通りか作成し、シミュレーションを行い、提示した。デルタが-15%で有る場合においても一群が100例で200例の対象の場合は、試験治療効果と標準治療効果の差が-5%(試験治療群の奏効45例、標準治療群の奏効50例)であった場合は、治療効果の差の95%信頼区間は-19%から9%となり、その下限が-15%を下回るため、非劣性を証明できない、ということを示した。ちなみに、この場合同じ奏効割合で症例数を倍に増やすと信頼区間の幅が狭くなることにより治療効果の差の点推定値は-5%で変わらないが、95%信頼区間は-14.8%から5%となり、その下限が-15%を下回らないため非劣性を証明できる。

### C-2. 白血病の治療方針に欠かせない造血幹細胞移植研究組織との連携に関する検討

日本造血細胞移植学会の中に、2010年末にテーマごとの23のワーキンググループ(WG)が設置された。2013年12月までに、178の登録研究が承認・遂行され、143件の学会発表がなされており、このうち27件が論文公表された。23のWGの中で、成人急性骨髄性白血病WG、成人急性リンパ性白血病WG、成人慢性骨髄性白血病WG、成人骨髄異形成症候群WGは、本研究班遂行臨床試験・観察研究と重複しうるテーマで研究活動が行われていること、また造血幹細胞移植に関するデータベースがすでに存在していることから、連携することにより、効率的にデータ収集や研究活動が行われることが確認された。

### C-3.中央モニタリングの質と効率性に関する検討

#### 1. 患者・調査票集積状況の管理

患者登録および調査票提出状況の管理およびレビューを実施する。患者登録に関しては、患者登録ペースと予測ペースを比較し、予測ペースに比べて集積スピードが遅い場合には、その理由の調査・検討を実施する。施設別登録件数の集計などが効果ある場合がある。これらの状況をふまえ、研究者が登録キャンペーンを積極的に実施する必要がある。調査票が予定通り集積されているかの注意深い確認も重要である。施設別調査票提出状況、あるいは調査票督促回数の集計なども管理に効果的である。

#### 2. 対象の確認

臨床試験においては、適格基準・除外基準で厳格に規定された対象において、介入の安全性・効果を検証する。そのため、対象の確認は重要な質管理のひとつである。中央モニタリング時には、誤登録、重複登録のチェック、登録時の背景因子集計、治療前調査票データを用いて適格性の再確認を実施する。プロトコル・調査票からチェックリストを作成し、リストに従った登録全症例の確認を行う。チェック項目数と登録症例数によるが、通常の方法で行いつつ行う場合には約2週間の作業時間を見積もることが多い。5%未満で

あることが多いが、登録後不適格判明症例がここで確認される。

#### 3. 安全性情報(毒性情報)の確認

調査票で収集した治療関連毒性情報の集計を実施する。調査票毒性情報の入力、問い合わせとクリーニングが順調に出来ていればスムーズに実施できる。このほかに、有害事象報告例のまとめ、すなわち有害事象報告と研究代表者・効果安全性評価委員とのやりとり記録の整理、を実施する。有害事象は1例1例事象が起こった際に審議、判断がなされるが、まとめて確認を行うというステップも重要である。他に、プロトコル中止例のまとめを実施する。

#### 4. プロトコル逸脱の確認

治療介入、あるいは検査(評価、効果判定における)でのプロトコルで規定された治療方法や検査方法、日程と調査票報告情報を比べた上で、逸脱の確認を実施する。治療介入の確認では、体表面積計算、薬剤投与量、薬剤投与スケジュールの確認を実施する。この確認には多大な労力が必要となる。これまでの経験では、極端なデータは問い合わせにより誤記載であったものが多く、臨床的妥当な逸脱、あるいは逸脱ではなく、違反とレビューされたものは極めてまれであった。検査(評価、効果判定)の確認では、評価項目の確認とチェックリストの作成時には医師が関与することが多くの場合必要となる。評価方法が複雑なものは、調査票の主治医による効果判定とレビュー結果が異なることも認められ、最終解析前には必須である。

#### D. 考察

試験デザインやその背景となる統計学的事項に関して、臨床家が理解しにくい点などを整理し、教育的説明などを行うことにより、計画される臨床試験の質の向上のみならず、臨床試験計画時におけるプロセスをより合理化していくことができると考えられる。

多くの場合、臨床試験参加医師にとって、データセンターはうるさい存在となる。しかし、臨床試験のデータの質管理が厳しく問われるようになってきており、その質管理の重要性を具体的な方法と効率性を踏まえて解説することにより、サイト側での質の向上を図っていくことも可能である。

#### E. 結論

試験デザインやその背景となる統計学的事項、あるいは質の高いデータ管理の方法や重要性に関して、臨床家が理解しにくい点などを整理し、教育的説明などを行うことにより、臨床試験計画時におけるプロセスをより合理化し、研究の質を上げていくことが重要である。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Atsuta Y, Suzuki R, Yamashita T, Fukuda T, Miyamura K, Taniguchi S, Iida H, Uchida T, Ikegame K, Takahashi S, Kato K, Kawa K, Nagamura-Inoue T, Morishima Y, Sakamaki H. and Kodera Y.: Continuing increased risk of oral/esophageal cancer after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in adults in association with chronic graft-versus-host disease. *Ann Oncol* 2014 (in press)
2. 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 ;121(16):3095-102.
3. Atsuta Y, Kanda J, Takanashi M, Morishima Y, Taniguchi S, Takahashi S, Ogawa H, Ohashi K, Ohno Y, Onishi Y, Aotsuka N, Nagamura-Inoue T, Kato K, Kanda Y. Different effects of HLA disparity on transplant outcomes after single-unit cord blood transplantation between pediatric and adult patients with leukemia. *Haematologica*. 2013 ;98(5):814-22.
4. Mizuno H, Sawa M, Yanada M, Shirahata M, Watanabe M, Kato T, Nagai H, Ozawa Y, Morishita T, Tsuzuki M, Goto E, Tsujimura A, Suzuki R, Atsuta Y, Emi N, Naoe T. Micafungin for empirical antifungal therapy in patients with febrile neutropenia: multicenter phase 2 study. *Int J Hematol*. 2013 ;98(2):231-6
5. Kai S, Wake A, Okada M, Kurata M, Atsuta Y, Ishikawa J, Nakamae H, Aotsuka N, Kasai M, Misawa M, Taniguchi S, Kato S. Double-Unit Cord Blood Transplantation after Myeloablative Conditioning for Patients with Hematologic Malignancies: A Multicenter Phase II Study in Japan. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2013;19(5):812-9.
6. Yasuda T, Suzuki R, Ishikawa Y, Terakura S, Inamoto Y, Yanada M, Nagai H, Ozawa Y, Ozeki K, Atsuta Y, Emi N, Naoe T. Randomized controlled trial comparing ciprofloxacin and cefepime in febrile neutropenic patients with hematological malignancies. *Int J Infect Dis*. 2013;17(6):e385-90.
7. Kuwatsuka Y, Kohno A, Terakura S, Saito S, Shimada K, Yasuda T, Inamoto Y, Miyamura K, Sawa M, Murata M,

- Karasuno T, Taniguchi S, Nagafuji K, Atsuta Y, Suzuki R, Fukumoto M, Naoe T, Morishita Y; the Nagoya Blood and Marrow Transplantation Group. Phase II study of dose-modified busulfan by real-time targeting in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for myeloid malignancy. *Cancer Sci.* 2012;103(9):1688-1694.
8. Atsuta Y., Morishima Y., Suzuki R., Nagamura-Inoue T., Taniguchi S., Takahashi S., Kai S., Sakamaki H., Kouzai Y., Kobayashi N., Fukuda T., Azuma H., Takanashi M., Mori T., Tsuchida M., Kawase T., Kawa K., Koderu Y. and Kato S. for the Japan Marrow Donor Program and the Japan Cord Blood Bank Network: Comparison of unrelated cord blood transplantation and HLA mismatched unrelated bone marrow transplantation for adults with leukemia. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2012;18:780-787.
  9. Ishiyama K, Takami A, Kanda Y, Nakao S, Hidaka M, Maeda T, Naoe T, Taniguchi S, Kawa K, Nagamura T, Tabuchi K, Atsuta Y, Sakamaki H. Prognostic factors for acute myeloid leukemia patients with t(6;9)(p23;q34) who underwent an allogeneic hematopoietic stem cell transplant. *Leukemia.* 2012;26:1416-9.
  10. Terakura S, Atsuta Y, Sawa M, Ohashi H, Kato T, Nishiwaki S, Imahashi N, Yasuda T, Murata M, Miyamura K, Suzuki R, Naoe T, Ito T, Morishita Y; for the Nagoya Blood and Marrow Transplantation Group. A prospective dose-finding trial using a modified continual reassessment method for optimization of fludarabine plus melphalan conditioning for marrow transplantation from unrelated donors in patients with hematopoietic malignancies. *Ann Oncol.* 2011;22:1865-71.
  11. Mizuta S, Matsuo K, Yagasaki F, Yujiri T, Hatta Y, Kimura Y, Ueda Y, Kanamori H, Usui N, Akiyama H, Miyazaki Y, Ohtake S, Atsuta Y, Sakamaki H, Kawa K, Morishima Y, Ohnishi K, Naoe T, Ohno R. Pre-transplant imatinib-based therapy improves the outcome of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for BCR-ABL-positive acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia.* 2011;25:41-7.
  12. 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;25:259-65.
- G. 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  
「該当なし」
  3. その他  
「該当なし」

厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）  
分担者 平成 23～25 年度総合研究報告書

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  
高齢者急性骨髄性白血病における標準的治療法の確立

研究分担者 伊藤 良和（東京医科大学医学部 准教授）

研究要旨

急性骨髄性白血病(acute myeloid leukemia: AML)の予後は、高齢者で極めて不良であり治療成績向上が急がれる。生存率改善のためには、寛解導入療法と寛解後療法のいずれも改善する必要がある。欧米で見解の分かれる gemtuzumab ozogamicin (GO)併用化学療法的安全性を、本邦でも明確にするために GML208 試験を行った。次期高齢者試験の準備としてアンケート調査を行い、また進行中の試験データを活用した AML に対する薬剤使用の実態把握を試みた。

A. 研究目的

成人の急性骨髄性白血病(AML)に対する治療は、多剤併用化学療法が一般的である。約 40 年をかけて様々な研究が行われたが、治療成績は十分に向上していない。その中でも、高齢者は非高齢成人に比べ予後が一層不良で、長期生存は 10～25%程度とされ、新しい治療法の開発が望まれる。欧米における最近の研究では、既存の抗腫瘍薬増量、新規治療薬による初期治療や地固め療法が検討されたが、十分な成績改善に至っていない。単独の方法による予後改善は難しく、複数の試みを積み重ねていく必要がある。AML の治療は、寛解導入療法と寛解後療法からなるが、いずれの段階でも改善が求められる。

まず寛解導入療法では、抗腫瘍薬による多剤化学療法と分子標的治療薬 gemtuzumab ozogamicin (GO)の併用療法による成績の改善が期待される。しかし欧米の複数の研究結果で見解が分かれており、本邦独自の検討が必要である。そこで、GO と多剤化学療法の併用療法で、安全性と有効性を評価する臨床第 I 相試験として Japan Adult Leukemia Study Group (JALSG) GML208 試験を行った。

次に、再発の抑制のために、寛解後療法の成績を改善することが求められる。そこで、DNA 脱メチル化薬を組み込んだ

治療を検討した。DNA 脱メチル化薬は骨髄異形成症候群の治療薬として知られているが、AML に対しても一定の効果が報告されている。欧州では既に寛解後療法として第 III 相試験が行われたが、その成果はまだ発表されていない。本邦の高齢者治療の現状を改善するためには、この薬剤を組み込んだ治療の開発が必要と考えられ、検討と立案を行った。

B. 研究方法

GML208 試験

65 歳以上 80 歳未満の AML に対して行われた GML200 試験では、enocitabine (BH-AC)と daunorubicin (DNR)の併用化学療法に関して検討した。本試験ではこの方法に GO を併用する用量探索試験を行った。主要評価項目は、用量制限毒性(dose limiting toxicity; DLT)による最大耐容量 (maximum tolerated dose; MTD) の推定と推奨投与量 (recommended dose; RD)の決定とした。

レジメン

BH-AC 200 mg/m<sup>2</sup> div day 1-8  
DNR 30 mg/m<sup>2</sup> div day 1-3  
GO 1.5~5 mg/m<sup>2</sup> div day 4  
化学療法 1 コースで評価し、GO 投与量を設定した。  
用量 level 1 GO 1.5 mg/m<sup>2</sup>  
用量 level 2 GO 3 mg/m<sup>2</sup>  
用量 level 3 GO 5 mg/m<sup>2</sup>

後に level 3 はプロトコールを変更し削除した。

- 1) 3 名中 DLT 0 名なら増量、  
3 名中 1-2 名なら 3 名追加(計 6 名)、  
3 名なら中止
- 2) 追加の 3 名で DLT 1-2 名なら増量、  
3 名なら中止

#### 次期 GML 試験の準備

高齢者の問題点は低い生存率である。GML200 試験の 4 年全生存率は 17~18% であった。この中で寛解後 1 年以内の再発が低い生存率の原因と考えられる。よって、寛解後療法の改善による再発防止策も高齢者の課題と言える。再発に至る原因を検討すると、初期治療強度の減弱、有害事象による治療継続困難、高齢者に対する造血幹細胞移植(SCT)が標準的でないことが挙げられる。したがって成績改善には、初期治療強度を保つこと、SCT に代わる再発防止策の開発が必要である。

まず治療の強度について検討した。加齢に伴う薬物の忍容性低下を懸念し、強度を減弱した化学療法を本邦では用いることが多い。一方海外の研究で高用量 DNR の効果が検討され 65 歳以上では高い生存率が得られなかった。日本人の平均寿命は比較的長いことも考慮すると、これまでの用量よりは多く高用量とは言えない量、すなわち非高齢成人に近い用量への増量がより深い寛解につながる可能性がある。そこで、寛解導入時および地固め療法時の治療強度を GML200 試験より増加することを立案した。

次に、薬剤の種類の違いについて検討した。GML200 試験では BH-AC を用いているが、非高齢成人では、Ara-C が標準である。しかし、高齢者における Ara-C の優越性は不明であり、JALSG 参加施設にアンケートを実施し実態を調査した。

次に、高齢者の再発防止策についても検討した。非高齢成人では寛解後同種 SCT が用いられることが多い。高齢者に対する同種 SCT の現状について、アンケート調査を行い、同種 SCT の適用年齢上限について尋ねた。

SCT 以外の再発防止策についても検討を行った。DNA 脱メチル化薬である

azacitidine (AZA)を、地固め療法後の維持療法に用いることで、再発を遅らせることができるかどうかを検討した。また AZA の AML に対する使用実態を調査する目的で、現在進行中の JALSG CS-11 試験で集積中のデータから、エンドポイントに影響しない範囲で AZA の使用状況を調査することを決定した。

さらに将来の第 III 相試験に用いる試験治療の候補としてどの方法が適切であるかを模索するために、ランダム化第 II 相試験の是非を検討した。治療として、治療強度の増加と AZA の維持療法を考慮している。

倫理面への配慮として GML208 試験では以下の点に留意した。

#### ① 患者の保護

ヘルシンキ宣言の精神に基づき、厚生労働省の臨床研究の倫理指針、疫学研究所の倫理指針にも則り行われた。

#### ② 説明と同意

登録前に、患者本人に施設の倫理委員会あるいは IRB で承認された説明文書を患者に渡し説明した。翌日以降に、患者の理解を確認し、研究参加を依頼した。

#### ③ プライバシーの保護と患者識別

患者の同定や照会は、登録番号、年齢、性別、施設匿名化番号を用いて行われた。

#### ④ 施設の倫理審査委員会の承認

研究参加に際し、実施計画書および説明文書の施設倫理審査委員会または IRB(機関審査委員会)での承認を前提とした。

#### ⑤ プロトコール変更

本研究立案以降、2009 年 12 月に米国で行われた SWOG S0106 試験の成果が発表された。未治療 AML の寛解導入療法で DNR + Ara-C への GO 6mg/m<sup>2</sup> の併用効果、及び、Ara-C 大量療法による地固め療法後の本剤の追加効果が検討された。寛解導入期に治療との関連性を否定できない致死性有害事象発現率は、本剤併用群で有意に高いという結果であった。これに基づき、米国では本剤の承認が製造・販売会社により自主的に取下げられた。GML208 試験の継続にあたって、SWOG S0106 試験では GO 6mg/m<sup>2</sup> で致

死的毒性が多かったことを考慮し、level 2 (3mg/m<sup>2</sup>)までで終了と変更した。

以後に検討・立案中の研究でも倫理面への配慮は同様である。また、有効性と安全性の検討に加え、健康保険診療としての適否も検討する必要がある。計画の段階で JALSG における独自のプロトコル審査を行う。各施設における倫理審査も実施前に必須とし、承認を得た上で所定の手続を行う。

### C. 研究結果

#### GML208 試験

Level 1 の 3 例では、好中球最低値は 0~16/ $\mu$ l (すべて grade 4)、grade 2 への回復は 22~36 日、血小板最低値は 0.5~1.8 $\times$ 10<sup>4</sup>/ $\mu$ l (すべて grade 4)、grade 2 への回復は 22~30 日、血小板輸血は 50~80 単位、赤血球輸血は 8~16 単位を必要とした。Grade 3 の有害事象として全例に感染症があったが、DLT 相当の毒性はみられなかった。Level 2 (3 例) では、好中球最低値 0~67/ $\mu$ l (すべて grade 4) grade 2 までの回復は 22~35 日、血小板最低値は 1.3~1.6 $\times$ 10<sup>4</sup>/ $\mu$ l (すべて grade 4)、grade 2 への回復はそれぞれ 27、29、未回復であり、血小板輸血は 60~110 単位、赤血球輸血は 4~8 単位であった。Grade 3 の有害事象として、感染症 3 例、食欲不振 1 例がみられた。DLT に相当する毒性はなく、改訂プロトコルに基づき試験を終了した。GO の RD は 3mg/m<sup>2</sup> とした。

なお、全 6 例中 3 例において完全寛解を得た。

#### 次期 GML 試験の準備

次に、JALSG 参加施設のアンケート調査では、寛解導入療法で約 35%、地固め療法で約 58%の施設で、非高齢成人に近い強度の化学療法が行われていた。これより、用量増量 (非高齢成人に近い用量) がより深い寛解につながる可能性がある」と結論づけた。薬剤の種類の違いについては、Ara-C 使用施設が BH-AC 使用施設より多かった(79% vs 12%)。使用実態を反映した治療計画が望ましいことから、非高齢成人と同様に Ara-C を用いた治療が良いと思われ、登録推進につながると

結論した。高齢者の再発防止策については、同種 SCT の適用年齢上限を 65 歳としている施設が約 61%であった。したがって、SCT を含んだプロトコルは時期尚早と結論づけた。

一方、AML に対して保険外使用となる AZA を、先のアンケート調査で 60%以上の施設が使用経験ありとしていた。今進行中の CS-11 試験の解析による実態把握が期待される。そして AZA による維持療法の計画は意義あるものと考えた。

### D. 考察

海外では、GO と化学療法併用の研究が複数行われ、多くは GO 3 mg/m<sup>2</sup>を用いているが、SWOG S0106 試験では GO 6mg/m<sup>2</sup> が化学療法と併用された。GML208 試験計画当初の level 3 (GO 5mg/m<sup>2</sup>) はこれに近い用量であり、SWOG S0106 試験で有意に毒性が高いことが示された後では、level 3 の施行を中止すべきと判断しプロトコルを変更した。

その後、ALFA-0701 試験では、50~70 歳の新規 AML に、標準的な化学療法群と寛解導入療法の day 1,4,7 と地固め療法の day 1 に GO 3mg/m<sup>2</sup>を併用する群の無作為化する第 III 相試験を行い、2年 EFS、OS とも GO 併用群が優れていたとされた。一方、MRC AML15 試験では、51~84 歳の 1115 例 (98.2%は 60 歳以上) に対して、化学療法治療群に day 1 に GO 3 mg/m<sup>2</sup>を加える GO 併用群を比較した。3 年累積再発率は GO 併用群で低く、3 年生存率は GO 併用群で高かったと報告された。このように、GO 併用化学療法に関しては、一定の見解を得られていない。GML208 試験を本邦で行った意義は大きく、今後の GO 研究の進展が望まれる。

一方他の治療方法の研究として、化学療法の増量と維持療法の工夫は、いずれも既存の化学療法の成績を上回る可能性がある。どちらか一方を試験治療群として、既存の化学療法との比較をする第 III 相試験は時期尚早と考えられ、これら 2 つの治療群によるランダム化第 II 相試験により、将来の第 III 相試験における試験治療群決定に貢献すると思われた。

## E. 結論

高齢者 AML は予後不良であり、生存率を改善する治療法の開発は急務である。しかし、単独の方法による予後改善は困難であり、複数の方法を研究する必要がある。問題解決のためには、多くの検討と努力が必要である。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

Ito Y, Wakita A, Takada S, Mihara M, Gotoh M, Ohyashiki K, Ohtake S, Miyawaki S, Ohnishi K, Naoe T: Phase 1 trial of gemtuzumab ozogamicin in combination with enocitabine and daunorubicin for elderly patients with relapsed or refractory acute myeloid leukemia: Japan Adult Leukemia Study Group (JALSG)-GML208 study. *Int J Hematol* 2012; 96: 485-91.

伊藤良和：高齢者急性骨髄性白血病治療としての gemtuzumab ozogamicin 併用化学療法 臨床血液（印刷中）

### 2. 学会発表

Ito Y, Wakita A, Takada S, Mihara M, Gotoh M, Ohyashiki K, Ohtake S, Miyawaki S, Ohnishi K, Naoe T, for the Japan Adult Leukemia Study Group: Gemtuzumab ozogamicin as a phase I trial in combination with daunorubicin plus enocitabine for elderly patients with relapsed or refractory acute myeloid leukemia: Japan Adult Leukemia Study Group (JALSG)-GML208 study 第 74 回日本血液学会学術集会（2012/10/21、京都）臨床血液 2012; 53: 1176.

Ito Y: GO combined chemotherapy for elderly adults with AML (Symposium 10: Elderly AML). 第 75 回日本血液学会学術集会（2013/10/13、札幌）臨床血液 2013; 54(9): 1030.

## G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし。