

201438073A

厚生労働科学研究委託費
革新的がん医療実用化研究事業
(H26-革新的がん一般-074)

高齢者多発性骨髄腫患者に対する至適な分子標的療法の確立と治療効果および
有害事象を予測するバイオマーカーの探索的研究

平成26年度 委託業務成果報告書

研究代表者 丸山 大

平成27(2015)年3月

本報告書は、厚生労働省の革新的がん医療実用化研究事業による委託業務として、独立行政法人国立がん研究センターが実施した平成 26 年度「高齢者多発性骨髄腫患者に対する至適な分子標的療法の確立と治療効果および有害事象を予測するバイオマーカーの探索的研究」の成果を取りまとめたものです。

厚生労働科学研究委託費

革新的がん医療実用化研究事業

(H26-革新的がん-一般-074)

高齢者多発性骨髄腫患者に対する至適な分子標的療法の確立と治療効果および

有害事象を予測するバイオマーカーの探索的研究

平成 26 年度 委託業務成果報告書

研究代表者 丸山 大

平成 27 (2015) 年 3 月

目 次

I. 委託業務成果報告（総括）

高齢者多発性骨髄腫患者に対する至適な分子標的療法の確立と治療効果および有害事象を予測するバイオマーカーの探索的研究

国立がん研究センター中央病院 丸山 大…………… 1

II. 委託業務成果報告（業務項目）

1. 公立大学法人名古屋市長立大学 飯田 真介…………… 9

2. 公立大学法人名古屋市長立大学 李 政樹…………… 14

3. 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 吉満 誠…………… 18

4. 四国がんセンター 吉田 功…………… 20

5. 埼玉医科大学総合医療センター 得平 道英…………… 23

6. 東北大学大学院 福原 規子…………… 24

7. 千葉県がんセンター 辻村 秀樹…………… 26

8. 福井大学医学部 岸 慎治…………… 28

9. 資料 JCOG1105プロトコール…………… 30

10. 資料 メモランダム…………… 132

III. 学会等発表実績…………… 147

IV. 研究成果の刊行物・別刷…………… 163

I. 委託業務成果報告（総括）

厚生労働省科学研究委託費（革新的がん医療実用化研究事業）
委託業務成果報告（総括）

高齢者多発性骨髄腫患者に対する至適な分子標的療法の確立と治療効果および有害事象を予測するバイオマーカーの探索的研究

業務主任者 丸山 大（独立行政法人 国立がん研究センター中央病院）

研究要旨：本研究の主な研究課題は以下である。

- ① 高齢者および自家移植を希望しない若年の未治療症候性骨髄腫患者に対する melphalan+prednisolone+bortezomib (MPB) 療法の至適投与スケジュールを選択するためのランダム化第II相試験をJapan Clinical Oncology Group (JCOG) リンパ腫グループで実施し (JCOG1105試験)、将来の第III相試験で評価するMPB療法の至適レジメンを選択する。また、染色体転座病型の効果予測因子としての意義を検討し、将来の層別化治療の可能性を探索する。
- ② JCOGバイオバンクに保存された血液検体を用いて効果と毒性を予測するバイオマーカーを探索する。

上記①の JCOG1105 試験は平成 25 年 7 月 12 日から登録が開始された。主要評価項目は完全奏効割合であり、予定登録数は 90 人、予定登録期間は 2 年半である。平成 27 年 2 月 10 日までに 41 人（予定登録数の 46%）が登録されている。日本人における modified MPB 療法の有効性データが存在しないため、有効性の担保を目的とした中間解析が予定されている。平成 26 年 12 月 26 日に CRF レビューを行い、有効性の確認を行った。その結果、両群とも当初に設定された 7 人以上での奏効が確認されたため、中間解析時も登録が継続されることが決定された。これまでに有害事象の通常報告が 2 件発生している。1 件はボルテゾミブに起因すると考えられる肺臓炎であり回復した。もう 1 件はニューモシスチス肺炎が疑われる呼吸不全による死亡である。いずれも JCOG 効果・安全性評価委員会による審査を受け、いずれも適切な対応かつ予期される有害事象と判定された。同時に JCOG リンパ腫グループ内にメーリングリストおよび班会議での周知・検討・対策を講じた。

上記②は、MPB 療法の臨床効果と毒性（末梢神経障害と肺障害）を予測するバイオマーカー検索のための附随研究であり、JCOG1105 登録患者を対象として JCOG バイオバンクプロジェクトに同意を得た患者から末梢血を採取し、保存した試料を用いた解析を予定しており、現在は附随研究実施計画書を作成中である。

A. 研究目的

高齢者もしくは自家移植を希望しない若年の未治療症候性骨髄腫患者に対する標準治療は長らくメルファラン+プレドニゾン併用 (MP) 療法であった。MP療法にボルテゾミブ (Bor) やサリドマイドを併用したMPB療法やMPT療法はMP療法との比較試験によって、それぞれがMP療法に替わる標準治療となった。日本でも2011年9月にMPB療法が承認され

たが、原法通りの週2回のBor投与では主に神経毒性や血液毒性により治療完遂割合は3割に過ぎず、投与方法の至適化が必要とされた。

欧州では第1コースだけ週2回でBorを投与して初期治療強度を維持し、第2コース以降は週1回投与とするPETHEMA-MPB変法や、全コース週1回投与で5週毎に繰り返すGIMEMA-MPB変法がみなし標準治療として用いられている。しかしながら、これらのMPB療法変法

はランダム化比較試験で検討されてはおらず、毒性は軽くなっているもののその有効性が十分であるか否かは不明である。また、特に日本人での至適なMPB療法は未確立である。

MPB療法の高い効果を維持しつつ耐容可能な投与法の検討のため、PETHEMA-MPB変法と、JCOGで研究者らが新たに考案した、全コース週1回でBorを投与し4週毎に繰り返すJCOG-MPB療法とのランダム化第II相試験（JCOG1105）を、完全奏効割合をprimary endpointとして実施し、より至適なレジメンを選択する。その後、選択したレジメンを試験治療として、企業治験が進行中のMPT療法、あるいは欧州でMPT療法との比較試験が行われたレナリドミド+デキサメサゾン併用（Ld）療法との第III相比較試験を実施して、本試験対象患者に対する標準治療を確立する。

腫瘍細胞の染色体に t(4;14)や t(14;16)を有する患者は予後不良とされるが、MPB療法を行った場合にもこれらの転座が予後因子や予測因子であるかどうかは明らかでなく、将来、第III相試験の結果に基づいて治療選択を行う時点までにそれを明らかにしておく必要がある。そのため、染色体転座病型別の治療効果を本試験のsecondary endpointとして解析する。また、本試験の附随研究としてJCOG バイオバンクに保存される検体を用いて、末梢血単核球由来のDNAのGenome-wide association study (GWAS) および血漿中のmiRNAの網羅的発現解析と脂質代謝産物の網羅的なメタボローム解析を行い、治療効果・予後・有害事象発現の有無と照合して、将来の個別化治療に有用なバイオマーカーを探索する。

B. 研究方法

- ① 高齢者または移植拒否若年者の未治療症候性骨髄腫患者に対するMPB導入療法のランダム化第II相試験（JCOG1105）

〈研究形式〉多施設共同ランダム化第II相試験（患者登録中）。

Primary endpoint：完全奏効（CR）割合、Se

condary endpoints：治療完遂割合、有害事象発生割合、全奏効割合、全生存期間、無増悪生存期間（PFS）、染色体病型別の治療効果

〈対象〉20歳以上79歳以下の移植適応のない未治療症候性骨髄腫患者、測定可能病変あり、P S：0-2、試験参加について本人の文書による同意、の全てを満たす。

〈治療内容〉

A群（modified PETHEMA-MPB）：メルファラン 9mg/m² 内服day 1～4、プレドニゾン 60mg/m² 内服day 1～4。1コース目は、ボルテゾミブ 1.3mg/m² 静注Day 1,4,8,11,22,25,29,32（6週間）、2～9コース目は、day 1,8,15,22（5週間毎）

B群（JCOG-MPB）：メルファラン 7mg/m² 内服day 1～4、プレドニゾン 60mg/m² 内服day 1～4、ボルテゾミブ 1.3mg/m² 静注day 1,8,15（4週間毎）で計9コース

〈患者登録とランダム割付〉中央登録方式をとり、割付調整因子に、施設、年齢（65歳以上か未満か）、International Staging System（I、II期かIII期か）を用いる。

〈予定登録数と登録期間〉治療成績の低い群のCR割合を20%と仮定、良好な群のCR割合が10%以上上回る時に、真にCR割合が高い群を正しく選択する確率が85%以上となるようにSimonの選択デザインを用いると1群あたり41人となる。不適格例を見込み片群45人、両群で90人。登録期間：平成25年7月から2年6ヶ月。追跡期間：登録完了後3年。総研究期間：5年6ヶ月。

〈投与方法選択の判断規準〉両群の毒性に差がなければ、CR割合が高い治療群を選択する。

〈中間解析〉日本人におけるmodified MPB療法の有効性データが存在しないため、両群ともに20人が登録された時点で有効性の担保を目的とした中間解析を行う。全奏効割合の閾値を35%とし、奏効患者が各群20人中7人未満の場合、その群への登録中止を検討する。両群なら試験への登録中止を検討する。中間解析結果が判明するまで、原則として登録を停止する。た

だし、中間解析時まで両群とも7人以上の奏効が確認されたら、中間解析時にも登録を中止せず、そのまま登録を継続する。

〈治療前の染色体転座病型評価〉抗CD138抗体で純化した形質細胞を用いた*CCND1*, *FGFR3*, *c-MAF* mRNA発現定量検査を外部委託で行う。

② 多発性骨髄腫に対するMPB療法の効果と末梢神経障害、間質性肺炎の発症を予測するバイオマーカー研究 (JCOG1105附随研究)

〈対象〉JCOG1105に登録された患者のうち、JCOGバイオバンクへの同意が得られた患者。

〈方法〉JCOG1105参加施設で上記対象患者から採取され、JCOGバイオバンクに保存された末梢血単核球から抽出したDNAおよび血漿を用いて以下の解析を行う。これらの解析で得られたデータを、JCOG1105で得られた臨床情報、すなわち治療効果・予後・重篤な有害事象 (特に末梢神経障害と肺障害) 発現の有無と照合し、それらを予測しうるバイオマーカーを探索する。

・末梢血単核球DNA : Genomic DNAを抽出し、約250万SNPを含むGWASを行う。必要に応じて次世代シーケンシング法による全エクソン解析、全ゲノム解析を追加し、個々の患者におけるSNPデータを抽出する。

・末梢血血漿 : 血漿中miRNAを解析対象とした網羅的発現解析を行う。また血漿中の脂質代謝産物の網羅的なメタボローム解析を実施する。

〈予定例数と研究期間〉JCOG1105の予定登録数は90人であり、このうちJCOGバイオバンクへの同意が得られ研究②で解析可能となる例数は50-70例程度を見込んでいる。研究②は平成27年度もバイオバンクへの検体集積を継続する。附随研究実施計画書を作成し、研究①の主たる解析後に解析を実施する。

〈研究体制・実施施設〉

上記の研究①②ともJCOGリンパ腫グループ参加49施設で実施する。①におけるデータ解

析はJCOGデータセンターで行う。②における解析は名古屋市立大学、国立衛生研究所、名古屋大学および京都大学で行う。

(倫理面への配慮)

参加患者の安全性確保については、適格規準やプロトコール治療の中止変更規準を厳しく設けており、さらに、半年に一度の定期モニタリングにより治療実施状況・毒性の発現状況等を確認すると共に臨床試験に参加する各医療機関へのフィードバックを行っていることから、試験参加による不利益は最小化される。

なお、Emanuelらの研究倫理7要件への対応は以下のとおり。

- (1) **Social/Scientific Value** : 医療の進歩に貢献し得る研究課題のみを採択し実施する。
- (2) **Scientific Validity** : 広く正しいと認められた科学的原則に基づいて研究を実施する。すなわち適切な研究デザイン・データマネジメント・統計解析を行うことにより正しい結論を導く。施設からの提出データの正確性は施設訪問監査で確認される。また、解析に用いた症例報告書、データセットおよび解析プログラムは半永久的にJCOGデータセンターに保管される。これらにより研究の質及び透明性を確保する。
- (3) **Fair Subject Selection** : 被験者選択は公正に行う。適切な患者選択規準を設け、登録時および登録後に適格性の確認を行い不適格例の登録の最小化を図る。適格性は中央モニタリングで検討される。
- (4) **Favorable Risk-Benefit Ratio** : 被験者のリスクを最小化し、被験者や社会のベネフィットを最大化し、リスクとベネフィットのバランスを適正に保つよう研究を計画し、中央モニタリングにより継続的に適正化を図る。
- (5) **Independent Review** : 研究実施計画書のIRB承認が得られた施設のみから患者登録を行う。
- (6) **Informed Consent** : 被験者に、十分な情報を提示し、適切な理解に基づいて、自発的同意を得る。同意のプロセ

スの適正性は施設訪問監査で確認される。

- (7) **Respect for Potential and Enrolled Subjects** : 被験者スクリーニングの段階から被験者候補に対して、および登録患者に対して、人権およびプライバシーの保護に最大限努める。

本研究で行われる染色体転座関連遺伝子発現検査については、腫瘍細胞特異的に発現している3種類(*CCND1*, *FGFR3*, *c-MYC*)の mRNA 発現の有無を委託検査で実施するものであり、慢性骨髄性白血病の診断目的で行われる BCR-ABL mRNA 発現検査と同様に胚胎変異とは全く関連の無い検査であるため三省庁の定める「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」の適応にはならない。説明・同意文書において本研究への参加同意とともに、治療前の骨髄検体を用いた染色体転座関連遺伝子発現検査についても別途同意を取得する。

附随研究であるゲノムバイオマーカーの探索研究は、胚細胞レベルでの遺伝子解析を含んでいる。「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に従い、検体提供施設では遺伝子倫理審査承認を受けたバンキングに関する説明・同意文書を用いて患者から書面による同意を得て JCOG バイオバンクへ血液検体を送付する。JCOG バイオバンクにおいて、個人情報管理者によって JCOG 登録番号から連結可能匿名化を行った検体とデータセンターから収集し匿名化検体番号に連結させた臨床情報を付随研究事務局に送付し検体解析施設へ送付するため、解析担当者は患者個人を特定できない。附随研究計画書は、JCOG プロトコル審査委員会での承認を経て、研究事務局、解析担当施設、国立がん研究センターでの倫理審査委員会での承認を得る。

C. 研究結果

平成 27 年 2 月 10 日までに予定登録数の 46% である 41 人が登録された。平成 26 年 12 月 26 日 (35 人登録時点) に CRF レビューを行い、その時点で有効性評価が可能であった患者において有効性の確認を行った。その結果、両群

とも当初に設定された 7 人以上での奏効が確認されたため、中間解析時も登録が中断されず、継続されることが決定された。本決定は、ただちに JCOG リンパ腫グループ内にメーリングリストおよびグループ班会議で報告・周知を行った。

研究②に関わる JCOG バイオバンクへの参加は、平成 27 年 2 月 10 日までに 49 施設中 40 施設で IRB 承認が得られている。また、JCOG1105 へ登録された 41 人中、33 人 (80.5%) でバイオバンクに試料がバンキングされている。現在は附随研究実施計画書を作成中である。

D. 考察

平成 27 年 2 月 10 日 (登録開始から 19 か月) の時点で、41 人 (予定数の 46%) が登録された。当初の予定登録ペースは 3 人/月であるが、現時点では 2.16 人/月と予定登録ペースをやや下回っている。JCOG リンパ腫グループの班会議やメーリングリストでの登録促進活動を続けてゆく必要がある。進捗ペースが改善しない場合には、各施設における本試験適格患者数の把握や不適格理由の確認に関する施設調査を実施することを予定している。また、プロトコル逸脱の最小化、効果判定の適正化を図るための CRF レビューによる問題点の抽出と対応策の検討、およびグループ内での周知を継続していく必要がある。さらに有害事象の適切な報告と周知および検討と対策を今後も継続していく。

附随研究については、可及的速やかに実施計画書を作成し、JCOG プロトコル審査委員会での承認を得る。その後、事務局施設である名古屋市立大学、国立がん研究センター、そして解析施設である千葉大学、金沢大学、国立衛生研究所での遺伝子倫理審査委員会承認を得て解析を実施できるように準備を行う。

E. 結論

日本における移植非適応の未治療症候性骨

髄腫患者では、末梢神経障害や骨髄毒性を主な理由としてMPB療法の完遂率が低く、治療効果を十分に引き出せない可能性が報告されている。したがってMPB療法の至適投与法の確立を目指したJCOG1105試験の意義は大きい。その後は、新たな試験治療と本試験で選択したMPB療法とのランダム化第III相比較試験を実施する予定である。またMPB療法を実施した患者において染色体転座病型が治療効果予測因子や予後因子になるのか否かについての検討は将来の層別化治療の可能性についての重要な示唆を与える結果となることが期待される。加えてMPB療法の臨床効果のみならず重篤な毒性である間質性肺疾患や末梢神経障害の発症を予測しうるバイオマーカーの同定が出来れば、将来の個別化医療の可能性を考える上で参考になるものと考えられる。本附随研究では探索的研究となるが、次なる第III相試験において検証することを予定している。

以上のように、本研究は本対象患者の標準治療確立と今後につながる新たな知見創出に貢献しうる重要な研究である。今後も本体研究であるJCOG1105への更なる患者登録推進および継続的なバイオバンク試料保存推進を行っていく。

F. 健康危険情報

これまでに有害事象の通常報告が2件発生している。1件はボルテゾミブに起因すると考えられる肺臓炎（grade 2）であり支持療法によって回復した。もう1件はニューモシスチス肺炎が疑われる呼吸不全による死亡である（肺臓炎 grade 5）。いずれもJCOG 効果・安全性評価委員会による審査を受け、予期される有害事象、適切な臨床的対応、研究継続可、およびプロトコール改訂不要と判定された。同時にJCOG リンパ腫グループ内にメーリングリストおよび班会議での周知・検討・対策（肺臓炎 grade 2：早期診断の重要性の周知、早期のステロイド介入の推奨など。肺臓炎 grade 5：早期診断および対応の重要性の周知、ニューモン

シス肺炎の予防期間推奨に関するメモランダム発効など）を講じた。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Suzuki K, Ogura M, Abe Y, Suzuki T, Tobinai K, Ando K, Taniwaki M, Maruyama D, Kojima M, Kuroda J, Achira M, Iizuka K: Phase 1 study of siltuximab, an anti-IL-6 monoclonal antibody, in relapsed/refractory multiple myeloma. *Int J Hematol*; in press.
- 2) Makita S, Maruyama D: Second primary malignancies after the treatment of multiple myeloma. *Nihon Rinsho*. 2015; 73: 162-6.
- 3) Narita T, Inagaki A, Kobayashi T, Kuroda Y, Fukushima T, Nezu M, Fuchida S, Sakai H, Sekiguchi N, Sugiura I, Maeda Y, Takamatsu H, Tsukamoto N, Maruyama D, Kubota Y, Kojima M, Sunami K, Ono T, Ri M, Tobinai K, Iida S: t(14;16)-positive multiple myeloma shows negativity for CD56 expression and unfavorable outcome even in the era of novel drugs. *Blood Cancer J* 2015; in press.
- 4) Tatsuno M, Maeshima AM, Kim SW, Maruyama D, Taniguchi H, Miyamoto K, Fukuhara S, Kobayashi Y, Tobinai K, Kushima R: Intrafollicular classical Hodgkin lymphoma mimicking nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma: a report of two cases. *Pathol Int*. 2014; 64: 613-7.
- 5) Maeshima AM, Taniguchi H, Tanioka, Kitahara H, Miyamoto KI, Fukuhara

- S, Munakata W, Suzuki T, Maruyama D, Kobayashi Y, Tobinai K, Kushima R: Clinicopathological characteristics of follicular lymphoma with peripheral blood involvement. *Leuk Lymphoma*. 2014; 14: 1-5.
- 6) Kamiyama Y, Kobayashi Y, Fukuhara S, Morikawa N, Munakata W, Miyagi Maeshima A, Maruyama D, Kim SW, Watanabe T, Terauchi T, Muramatsu Y, Tobinai K: Incidental detection of malignant lymphoma in subjects in a cancer surveillance programme. *Br J Haematol*. 2014, in press.
- 7) Maruyama D: Treatment strategy of gray zone lymphomas. *Rinsho Ketsueki*. 2014; 55: 1912.
- 8) Maeshima AM, Taniguchi H, Miyamoto K, Fukuhara S, Munakata W, Maruyama D, Kim SW, Kobayashi Y, Tobinai K, Kushima R: Prognostic significance of immunophenotypes and a nodular pattern in primary mediastinal large B-cell lymphoma. *Pathol Int*. 2014; 64: 382-7.
- 9) Ogura M, Tobinai K, Hatake K, Ishizawa K, Uike N, Uchida T, Suzuki T, Aoki T, Watanabe T, Maruyama D, Yokoyama M, Takubo T, Kagehara H, Matsushima T: Phase I/II study of brentuximab vedotin in Japanese patients with relapsed or refractory CD30-positive Hodgkin's lymphoma or systemic anaplastic large-cell lymphoma. *Cancer Sci*. 2014; 105: 840-6.
2. 学会発表
- 1) Narita T, Inagaki A, Kobayashi T, Kuroda Y, Fukushima T, Nezu M, Fuchida S, Sakai H, Sekiguchi N, Sugiura I, Maeda Y, Takamatsu H, Tsukamoto N, Maruyama D, Kubota Y, Kojima M, Sunami K, Ono T, Ri M, Tobinai K, Iida S: t(14;16)-positive multiple myeloma shows negativity for CD56 expression and unfavorable outcome even in the era of novel drugs. Poster Presentation, 56th Annual Meeting, American Society of Hematology, San Francisco, 2014.
- 2) Yuda S, Maruyama D, Maeshima AM, Makita S, Kitahara H, Miyamoto K, Fukuhara S, Munakata W, Suzuki T, Kobayashi Y, Tajima K, Taniguchi H, Tobinai K: Influence of the watch and wait strategy on the clinical outcome in patients with follicular lymphoma in the rituximab era. Poster Presentation, 56th Annual Meeting, American Society of Hematology, San Francisco, 2014.
- 3) Saito H, Maruyama D, Maeshima AM, Makita S, Kitahara H, Miyamoto K, Fukuhara S, Munakata W, Suzuki T, Kobayashi Y, Taniguchi H, Tobinai K: Prolonged lymphocytopenia after bendamustine with or without rituximab treatment in patients with relapsed or refractory indolent B-cell and mantle cell lymphoma. Poster Presentation, 56th Annual Meeting, American Society of Hematology, San Francisco, 2014.
- 4) Kawajiri A, Maruyama D, Maeshima AM, Makita S, Kitahara H, Miyamoto K, Fukuhara S, Suzuki T, Munakata

W, Kobayashi Y, Tajima K, Itami J, Taniguchi H, Tobinai K: The impact of concurrent expression of MYC and BCL2 on outcomes of localized primary gastric diffuse large B-cell lymphoma undergoing rituximab-containing chemotherapy with or without radiotherapy. Poster Presentation, 56th Annual Meeting, American Society of Hematology, San Francisco, 2014.

- 5) Maruyama D, Ueno T, Tokunaga T, Nagai H, Usami T, Tobinai K, Ueda R: Early oral care potentially ameliorates mucositis by pralatrexate: preliminary results in the Japanese phase I/II study for relapsed/refractory PTCL. 7th Annual T-cell Lymphoma Forum, San Francisco, 2015.
- 6) Kamiyama Y, Maruyama D, Maeshima AM, Kitahara H, Yamazaki N, Makita S, Fukuhara S, Munakata W, Suzuki T, Kobayashi Y, Tobinai K: Clinicopathologic features of primary cutaneous anaplastic large cell lymphoma (CD30⁺-ALCL) with extracutaneous progression: long-term follow-up results. 7th Annual T-cell Lymphoma Forum, San Francisco, 2015.
- 7) Kitahara H, Maruyama D, Maeshima AM, Makita S, Miyamoto K, Fukuhara S, Munakata W, Suzuki T, Kobayashi Y, Tajima K, Terauchi T, Kurihara H, Taniguchi H, Tobinai K: A retrospective analysis of 88 patients with peripheral T-cell lymphoma (PTCL) who underwent CHOP/CHOP-like chemotherapy. 7th Annual T-cell Lymphoma Forum, San Francisco, 2015.

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む)

1. 特許取得
特になし。
2. 実用新案登録
特になし。
3. その他
特になし。

II. 委託業務成果報告（業務項目）

厚生労働省科学研究委託費（革新的がん医療実用化研究事業）
委託業務成果報告（業務項目）

高齢者多発性骨髄腫患者に対する至適な分子標的療法の確立と治療効果および有害事象を予測するバイオマーカーの探索的研究

担当責任者 飯田 真介 公立大学法人名古屋市立大学

研究要旨：移植非適応骨髄腫患者に対する標準治療である melphalan+prednisolone+bortezomib(MPB)療法の日本人患者における至適投与法を決定することを目的に、日本臨床腫瘍研究グループ(Japan Clinical Oncology Group: JCOG)にて「高齢者または移植拒否若年者の未治療症候性骨髄腫患者に対する MPB 療法のランダム化第 II 相試験」を平成 25 年 7 月 12 日から実施している。プライマリーエンドポイントは完全奏効割合であり、予定登録数は 2 年半で 90 名である。平成 27 年 1 月末までに 39 名が登録されている。自施設においては平成 25 年度に 4 名を登録、平成 26 年度は平成 27 年 1 月末までに、計 3 名を登録しプロトコル治療を実施中である。プロトコル治療終了後に完全奏効に至った 1 名で呼吸不全（ニューモシスティス肺炎疑い）による死亡例を認めた。急送報告および参加施設へ周知後、効果安全性評価委員会による審査を受けた。既登録患者全てからバイオバンキングのご同意を得て JCOG バイオバンクに検体を登録した。MPB 療法の臨床効果と重篤な毒性（末梢神経障害と肺障害）を予測するバイオマーカー探索のための附随遺伝子研究の組織を構築し研究計画書を作成している。

A. 研究目的

高齢者および幹細胞移植を希望しない未治療症候性骨髄腫に対する melphalan+prednisolone+bortezomib(MPB)療法の至適投与スケジュールを選択するためのランダム化第 II 相試験を Japan Clinical Oncology Group(JCOG)リンパ腫グループで実施し(JCOG1105 試験)、将来の第 III 相試験で評価する MPB 療法の至適レジメンを選択する。また、染色体転座病型の効果予測因子としての意義を検討し、将来の層別化治療の可能性を探索する。また JCOG バイオバンクに保存された血液検体を用いて効果と毒性を予測するバイオマーカーを探索する。

B. 研究方法

① 高齢者または移植拒否若年者の未治療症候性骨髄腫患者に対する MPB 導入療法のランダム化第 II 相試験 (JCOG1105)

【研究形式】多施設共同ランダム化第 II

相試験（患者登録中）。

Primary endpoint: 完全奏効 (CR) 割合、
Secondary endpoints: 治療完遂割合、有害事象発生割合、全奏効割合、全生存期間、無増悪生存期間 (PFS)、染色体病型別の治療効果

【対象】20 歳以上 79 歳以下の移植適応のない未治療症候性骨髄腫患者、測定可能病変あり、PS: 0-2、試験参加について本人の文書による同意、の全てを満たす。

【治療内容】

A群 (modified PETHEMA-MPB) : メルファラン 9mg/m² 内服 day 1~4、プレドニゾロン 60mg/m² 内服 day 1~4。1 コース目は、ボルテゾミブ 1.3mg/m² 静注 Day 1, 4, 8, 11, 22, 25, 29, 32 (6 週間)、2~9 コース目は、day 1, 8, 15, 22 (5 週間毎)

B群 (JCOG-MPB) : メルファラン 7mg/m² 内服 day 1~4、プレドニゾロン 60mg/m² 内服 day 1~4、ボルテゾミブ 1.3mg/m² 静注 day 1, 8, 15 (4 週間毎) で計 9 コース

【患者登録とランダム割付】中央登録方式をとり、割付調整因子に、施設、年齢

(65歳以上か未満か)、International Staging System (I, II期かIII期か)を用いる。

【予定登録数と登録期間】治療成績の低い群のCR割合を20%と仮定、良好な群のCR割合が10%以上上回る時に、真にCR割合が高い群を正しく選択する確率が85%以上となるようにSimonの選択デザインを用いると1群あたり41人となる。不適格例を見込み片群45人、両群で90人。

登録期間：平成25年7月から2年6ヶ月。

【投与方法の判断規準】両群の毒性に差がなければ、CR割合が高い治療群を選択する。

【治療前の染色体転座病型評価】抗CD138抗体で純化した形質細胞を用いた *CCND1*, *FGFR3*, *c-MAF* mRNA発現定量検査を外注検査で行う。

② 多発性骨髄腫に対するMPB療法の効果と末梢神経障害、間質性肺炎の発症を予測するバイオマーカー研究 (JCOG1105附随研究)

【対象】JCOG1105 に登録された患者のうち、JCOG バイオバンクへの同意が得られた患者。

【方法】JCOG1105 参加施設で上記対象患者から採取され、JCOG バイオバンクに保存された末梢血単核球から抽出したDNA および血漿を用いて以下の解析を行う。これらの解析で得られたデータを、JCOG1105 で得られた臨床情報、すなわち治療効果・予後・重篤な有害事象（特に末梢神経障害と肺障害）発現の有無と照合し、それらを予測しうるバイオマーカーを探索する。

・末梢血単核球DNA: Genomic DNA を抽出し、約250万SNPを含むGWASを行う。必要に応じて次世代シーケンシング法による全エクソン解析、全ゲノム解析を追加し、個々の患者におけるSNPデータを抽出する。

・末梢血血漿：血漿中miRNAを解析対象とした網羅的発現解析を行う。また血漿中の脂質代謝産物の網羅的なメタボローム解析を実施する。

【予定例数と研究期間】JCOG1105の予定登録数は90人であり、このうちJCOG バイオバンクへの同意が得られ本附随研究で解析可能となる例数は50-70例程度を見込んでいる。研究②は研究①に登録され、JCOG バイオバンクに保存された血液検体を用いて、研究①の主たる解析後、平成28年度内

の解析実施を目標とする。

(倫理面への配慮)

参加患者の安全性確保については、適格規準やプロトコール治療の中止変更規準を厳しく設けており、さらに、半年に一度の定期モニタリングにより治療実施状況・毒性の発現状況等を確認すると共に臨床試験に参加する各医療機関へのフィードバックを行っていることから、試験参加による不利益は最小化される。さらにEmanuelらの研究倫理7要件に基づき、①医療の進歩に貢献し得る研究課題のみを実施、②科学的根拠に基づいた研究を実施、③適切な患者選択規準の設定、④被験者リスクの最小化と被験者や社会のベネフィットの最大化、⑤IRB承認の得られた施設のみでの患者登録、⑥自発的同意に基づくインフォームドコンセント、⑦人権およびプライバシーの保護に最大限努める。これらは中央モニタリングおよび施設訪問監査により継続的に確認される。

本研究で行われる染色体転座関連遺伝子発現検査については、腫瘍細胞特異的に発現している3種類(*CCND1*, *FGFR3*, *c-MAF*)のmRNA発現の有無を委託検査で実施するものであり、胚細胞変異とは全く関連の無い検査であるため三省庁の定める「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」の適応にはならない。説明・同意文書において本研究への参加同意とともに、治療前の骨髄検体を用いた染色体転座関連遺伝子発現検査についても同意を取得する。

附随研究であるゲノムバイオマーカーの探索研究は、胚細胞レベルでの遺伝子解析を含んでいる。「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に従い、検体提供施設では遺伝子倫理審査承認を受けたバンキングに関する説明・同意文書を用いて患者から書面による同意を得てJCOG バイオバンクへ血液検体を送付する。JCOG バイオバンクにおいて、個人情報管理者によってJCOG登録番号から連結可能匿名化を行った検体とデータ

センターから収集し匿名化検体番号に連結させた臨床情報を付随研究事務局に送付し検体解析施設へ送付するため、解析担当者は患者個人を特定できない。附随研究計画書は、JCOG プロトコール審査委員会での承認を経て、研究事務局、解析担当施設、国立がん研究センターでの倫理審査委員会での承認を得る。

C. 研究結果

JCOG1105 試験には、平成 27 年 1 月末(登録開始から 18 ヶ月)までに予定登録数の 43%である 39 人が登録された。名古屋市立大学病院では、平成 25 年度に 4 名の登録を行っていたが、平成 27 年 1 月末までに 3 名の登録を行った。5 月、10 月、11 月に各 1 名ずつ登録し、A 群に 2 名、B 群に 1 名がランダム化された。平成 27 年 1 月末現在、それぞれ 7 コース目、4 コース目、そして 2 コース目のプロトコール治療を実施している。また平成 25 年度に登録し B 群に割り当てられプロトコール治療 9 コースを完遂し完全奏効(CR)の効果をえた 1 名の患者において、プロトコール治療終了後約 3 ヶ月弱の時点で肺炎による呼吸不全を合併し死亡に至った。 β -D-グルカンは治療経過を通して陰性であったが、喀痰 PCR にてニューモシスティス肺炎(PCP)の可能性が示唆された。急送報告を行うとともに全参加施設へ周知し注意喚起を行った上で効果安全性評価委員会による審査に提出した。プロトコール治療との因果関係は否定できず possible:治療関連死と判断した。効果安全性評価委員会での審査を経て平成 26 年度第 2 回の JCOG リンパ腫グループの班会議にて症例提示し、PCP ではなかった可能性があるものの治療終了後も約 6 ヶ月間は ST 合剤あるいは pentamidine 吸入などの PCP 予防措置を行うこと、ST 合剤を中止する際には可能な限り CD4 陽性 T 細胞数が

200/mm³以上に回復していることを確認することが合意され、メモランダムとして全参加施設に周知された。

JCOG1105 試験に参加予定の 46 施設中で JCOG バイオバンクへの参加に関する遺伝子倫理審査委員会での承認が得られているのは 39 施設であり、平成 26 年 12 月 1 日時点での JCOG バイオバンクへの検体登録例は本体試験へ登録された 35 名中 25 名 (71.4%)であった。また名古屋市立大学病院においては登録した全 7 名の患者より JCOG バイオバンクへの検体保管に同意をいただき検体の登録と搬送を行った。

附随遺伝子研究である「多発性骨髄腫患者に対する MPB 療法の効果と末梢神経障害、間質性肺疾患の発症を予測するバイオマーカーの探索」研究については、患者末梢血単核細胞から抽出した DNA を用いての genome-wide association study (GWAS) および次世代シーケンサーを用いた多型変異詳細情報の解析、血漿中 miRNA の網羅的発現解析、そして血漿を用いた脂質代謝産物のメタボローム解析を実施することとなった。解析施設の組織化と検体搬送手順を検討した上で、附随遺伝子研究計画書の作成に取りかかった。平成 27 年春を目処に JCOG プロトコール審査委員会への提出を予定している。

D. 考察

JCOG1105 試験の進捗については、予定よりもやや遅れていると言わざるを得ない。JCOG リンパ腫グループの班会議やメーリングリストでの登録促進活動を続けてゆく必要がある。進捗ペースが現在の 1.5 倍へと改善しない場合には、各施設における本試験適格患者数の把握や不適格理由の確認に関する施設調査を実施することを予定している。名古屋市立大学病院においても関連施設への本試験の周知

と患者紹介の依頼などを行い、登録促進に向けて積極的に取り組んでゆく。さらにプロトコル逸脱が最小限となるように施設の検討会でも周知してゆく。附随遺伝子研究については、解析実施項目と解析施設の決定を行ったため、平成 27 年度には可及的速やかに研究計画書を作成し JCOG プロトコル審査委員会での承認を得る。その後、事務局施設である名古屋市立大学、国立がん研究センター、そして解析施設である千葉大学、金沢大学、国立衛生研究所での遺伝子倫理審査委員会での承認を得て解析を実施できるように準備を行う。

E. 結論

我が国の移植非適応の未治療症候性骨髄腫患者においては MPB 療法の完遂率が低く、治療効果を十分に引き出せない可能性が報告されている。したがって MPB 療法の至適投与法の確立を目指した JCOG1105 試験の意義は非常に大きい。その後は、新たな試験治療と本試験で選択した MPB 療法とのランダム化第 III 相試験を実施する予定である。また MPB 療法を実施した患者において染色体転座病型が治療効果予測因子や予後因子になるのか否かについての検討は将来の層別化治療の可能性についての重要な示唆を与える結果となることが期待される。加えて MPB 療法の臨床効果のみならず重篤な毒性である間質性肺疾患や末梢神経障害の発症を予測しうるバイオマーカーの同定が出来れば、将来の個別化医療の可能性を考える上で参考になるものと考えられる。本試験では探索的研究となるが、次なる第 III 相試験において検証することを予定している。このように本研究は大変重要な試験であり、何よりも進捗の促進に取り組むことが最重要課題である。

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Zwick C, Held G, Auth M, Bernal-Mizrachi L, Roback JD, Sunay S, Iida S, Kuroda Y, Sakai A, Ziepert M, Ueda R, Pfreundschuh M, Preuss K-D. Over one third of African-American MGUS and multiple myeloma patients are carriers of hyperphosphorylated paratarg-7, an autosomal-dominantly inherited risk factor for MGUS/MM. *Int J Cancer* 2014; 135: 934-938.

2) Miki H, Nakamura S, Oda A, Amachi R, Watanabe K, Hanson D, Teramachi J, Hiasa M, Yagi H, Sogabe K, Takahashi M, Maruhashi T, Uda K, Harada T, Fujii S, Nakano A, Kagawa K, Ri M, Iida S, Ozaki S, Matsumoto T, Abe M. Induction of endoplasmic reticulum stress by bortezomib sensitizes myeloma cells to DR5-mediated cell death. *Int J Myeloma* 2015; 5(1): 1-7.

3) Chinen Y, Kuroda J, Shimura Y, Nagoshi H, Kiyota M, Yamamoto-Sugitani M, Mizutani S, Sakamoto M, Ri M, Kawata E, Kobayashi T, Matsumoto Y, Horiike S, Iida S, Taniwaki M. 3-phosphoinositide-dependent protein kinase 1 (PDPK1) is a crucial cell signaling mediator in multiple myeloma. *Cancer Res* 2014; 74: 7418-7429.

4) Takamatsu H, Honda S, Miyamoto T, Yokoyama K, Hagiwara S, Ito T, Tomita N, Iida S, Iwasaki T, Sakamaki H, Suzuki R, Sunami K. Changing trends in prognostic factors for patients with multiple myeloma during the immunomodulator drug/proteasome inhibitor era. *Cancer Sci* 2014; Epub ahead of print on Dec 22.

5) Wada N, Kawano Y, Fujiwara S, Kikukawa Y, Okuno Y, Tasaki M, Ueda M, Ando Y, Yoshinaga K, Ri M, Iida S, Nakashima T, Shiotsu Y, Mitsuya H, Hata H. Shikonin, dually functions as a proteasome inhibitor and a necroptosis inducer in multiple myeloma cells. *Int J Oncol* 2015; 46: 963-972.

6) Sagawa M, Tabayashi T, Kimura Y,

Tomikawa T, Nemoto T, Watanabe R, Tokuhira M, Ri M, Hashimoto Y, Iida S, Kizaki M. TM-233, a novel analog of ACA, induces cell death in myeloma cells by inhibiting both JAK/STAT and proteasome activities. *Cancer Sci* 2015; Epub ahead of print on Jan 23.

7) Narita T, Inagaki A, Kobayashi T, Kuroda Y, Fukushima T, Nezu M, Fuchida S, Sakai H, Sekiguchi N, Sugiura I, Maeda Y, Takamatsu H, Tsukamoto N, Maruyama D, Kubota Y, Kojima M, Sunami K, Ono T, Ri M, Tobinai K, Iida S. t(14;16)-positive multiple myeloma shows negativity for CD56 expression and unfavorable outcome even in the era of novel drugs. *Blood Cancer J* 2015; in press.

8) 飯田真介、李政樹 多発性骨髄腫におけるプロテアソーム阻害剤に対する感受性の決定因子とボルテゾミブに対する獲得耐性克服戦略 *臨床血液* 2014; 55:304-310.

2. 学会発表

1) Narita T, Ri M, Masaki A, Mori F, Ito A, Kusumoto S, Ishida T, Komatsu H, Niimi A, Iida S. Endoplasmic reticulum stress-related gene expression can predict response to bortezomib in myeloma. Abstract #3159, 19th. Congress of European Hematology Association, Jun 13, 2014, Milan, Italy (Poster Session)

2) Narita T, Inagaki A, Kobayashi T, Kuroda Y, Fukushima T, Nezu M, Fuchida S, Sakai H, Sekiguchi N, Sugiura I, Maeda Y, Takamatsu H, Tsukamoto N, Maruyama D, Kubota Y, Kojima M, Sunami K, Ono T, Ri M, Tobinai K, Iida S. t(14;16)-positive multiple myeloma shows negativity for CD56 expression and unfavorable outcome even in the era of novel drugs. Abstract #3349, 56th. Annual Meeting of American Society of Hematology, Dec 7, 2014, San Francisco,

USA (Poster Session)

3) Muta T, Iida S, Matsue K, Sunami K, Isoda J, Harada N, Saburi Y, Okamura S, Kumagae K, Watanabe J, Kuroda J, Aoki K, Ogawa R, Miyamoto T, Akashi K, Takamatsu Y. Predictive significance of serum beta2-microglobulin levels and M-protein velocity for symptomatic progression of smoldering multiple myeloma. Abstract #3379, 56th. Annual Meeting of American Society of Hematology, Dec 6, 2014, San Francisco, USA (Poster Session)

(発表誌名 巻号・頁・発行年等も記入)

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

高齢者多発性骨髄腫患者に対する至適な分子標的療法の確立と治療効果および有害事象を予測するバイオマーカーの探索的研究

担当責任者 李 政樹 公立大学法人名古屋市立大学

研究要旨：移植非適応骨髄腫患者に対する標準治療である melphalan+prednisolone+bortezomib(MPB)療法の日本人患者における至適投与法を決定することを目的に、日本臨床腫瘍研究グループ(Japan Clinical Oncology Group: JCOG)にて「高齢者または移植拒否若年者の未治療症候性骨髄腫患者に対す MPB 療法のランダム化第 II 相試験」を平成 25 年 7 月 12 日から実施している。本試験の附随研究の進捗状況としては、既登録患者全てからバイオバンキングのご同意を得て JCOG バイオバンクに検体を登録している。MPB 療法の臨床効果と重篤な毒性（末梢神経障害と肺障害）を予測するバイオマーカー探索のための附随遺伝子研究の組織を構築し研究計画書を作成している。また、附随研究実施施設との間で、検体の採取・保存・解析方法について意見交換を行い、検体の測定解析方法に関して調整を行っている。さらに、附随研究の予備的研究として、自施設の BD 療法および MPB 療法を受けた患者さんの、血清のメタボローム解析および miRNA 解析を後方的に実施して、優位なバイオマーカー候補を探索しており、附随研究の検体の測定・解析時の基盤的なデータを確立すること目標としている。

A. 研究目的

高齢者および幹細胞移植を希望しない未治療症候性骨髄腫に対する melphalan+prednisolone+bortezomib(MPB)療法の至適投与スケジュールを選択するためのランダム化第 II 相試験を Japan Clinical Oncology Group (JCOG) リンパ腫グループで実施し (JCOG1105 試験) ているが、本試験の附随研究として、JCOG バイオバンクに保存された血液検体を用いて、治療効果と毒性を予測するバイオマーカーを探索する。

B. 研究方法

①多発性骨髄腫に対する MPB 療法の効果と末梢神経障害、間質性肺炎の発症を予測するバイオマーカー研究(JCOG1105附随研究) JCOG1105 に登録された患者のうち、JCOG バイオバンクへの同意が得られた患者を対象とし、対象患者から採取され、JCOG バイオバンクに保存された末梢血単核球から抽出したDNA および血漿を用いて以下の解析

を行う。これらの解析で得られたデータを、JCOG1105 で得られた臨床情報、すなわち治療効果・予後・重篤な有害事象（特に末梢神経障害と肺障害）発現の有無と照合し、それらを予測するバイオマーカーを探索する。検体の測定項目としては、以下の項目を予定している。

・末梢血単核球DNA: Genomic DNA を抽出し、約250 万SNP を含むGWASを行う。必要に応じて次世代シーケンス法による全エクソン解析、全ゲノム解析を追加し、個々の患者におけるSNP データを抽出する。

さらには、Genomic DNAからHLA解析を行い、主に重篤な有害事象と強い関連性を有する特定のHLAアレルを同定する。

・末梢血血漿：血漿中miRNA を解析対象とした網羅的発現解析を行う。具体的には約500-1000個のmiRNAを同定できるPCRアレイシステムを使用する。また血漿中の脂質代謝産物の網羅的なメタボローム解析を実施する。

JCOG1105 の予定登録数は90 人であり、このうちJCOG バイオバンクへの同意が得られ本附随研究で解析可能となる例数は50 -70 例程度を見込んでいる。附随研究は本試験に登録され、JCOG バイオバンクに保存された血液検体を用いて、本試験の主たる解析後、平成28年度内の解析実施を目標とする。

②名古屋市立大学病院でのボルテゾミブ含有レジメンによる治療を受けた骨髄腫患者の治療前血清検体の解析

前述のJCOG1105の附随研究の予備試験として、自施設（名古屋市立大学）で、ベルケイド含有レジメンである、ボルテゾミブ+デキサメサゾン療法(BD療法)およびMPB療法を受けた骨髄腫患者さんの、治療前に採取された血清を用いて、メタボローム解析および次世代シーケンス方式によるmiRNA解析を後方的に実施している。（倫理面への配慮）

附随研究であるゲノムバイオマーカーの探索研究は、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に従い、検体提供施設では遺伝子倫理審査承認を受けたバンキングに関する説明・同意文書を用いて患者から書面による同意を得て JCOG バイオバンクへ血液検体を送付する。JCOG バイオバンクにおいて、個人情報管理者によって JCOG 登録番号から連結可能匿名化を行った検体とデータセンターから収集し匿名化検体番号に連結させた臨床情報を付随研究事務局に送付し検体解析施設へ送付するため、解析担当者は患者個人を特定できない。附随研究計画書は、JCOG プロトコール審査委員会での承認を経て、研究事務局、解析担当施設、国立がん研究センターでの倫理審査委員会での承認を得る。

また、予備的研究である自施設での骨髄腫患者さんの検体の解析では、患者由来の腫瘍細胞、末梢血単核球、血清などのヒト検体を用いる研究において、ヘルシンキ宣言を遵守し、大学の倫理審査委員会または遺伝子倫理審査委員会

での研究承認（承認番号 175-2 等）を得て実施している。患者様には、専用の説明・同意文書を用いて研究目的や研究参加による利益と不利益を十分に説明し、自由意志で参加いただける旨をお伝えした上で、署名による同意を得てから検体採取を実施し、解析を行っている。

C. 研究結果

①JCOG1105 附随研究

JCOG1105 試験に参加予定の 46 施設中で JCOG バイオバンクへの参加に関する遺伝子倫理審査委員会での承認が得られているのは 39 施設であり、平成 26 年 12 月 1 日時点での JCOG バイオバンクへの検体登録例は本体試験へ登録された 35 名中 25 名（71.4%）であった。また名古屋市立大学病院においては登録した全7名の患者より JCOG バイオバンクへの検体保管に同意をいただき検体の登録と搬送を行った。

附随遺伝子研究である「多発性骨髄腫患者に対するMPB療法の効果と末梢神経障害、間質性肺疾患の発症を予測するバイオマーカーの探索」研究については、検体測定実施施設と協議のうえ、検体の採取方法の確認（治療までであること、早朝空腹時であること、など）、および検体の測定方法（質の高いDNA抽出法の確認、必要な検体量の確認、測定キットの確認など）を数回のmeetingで打ち合わせを行い、方法論を確立している。解析施設の組織化と検体搬送手順を検討した上で、附随遺伝子研究計画書の作成に取りかかった。平成 27 年春を目処に JCOG プロトコール審査委員会への提出を予定している。

②自施設での予備的研究

附随研究の測定実施施設の一つである、国立衛生研との共同研究にて、BD療法を受けた骨髄腫患者さんの治療前血清の脂質メタボローム解析を、27 検体で実施した。その結果、治療の最良効果に関連するバイオマーカー候補として、BD療法の非感受性症例