

(平成 23 年度研究報告書)

23-A-23 難治性白血病に対する標準的治療法の確立に関する研究

独立行政法人国立がん研究センター・中央病院血液腫瘍科・外来医長 小林 幸夫

研究の分類・属性

内科系

研究の概要

白血病治療でエビデンスを創る臨床研究を遂行できるよう基盤整備を行なう。そのためには倫理性のある臨床研究を科学的に施行することが必要であるが、科学的とは研究の結果導かれる成績に客観性があり、統計学的にみても十分信頼されうる質を備えていることを意味する。そのためには十分数の症例を事前登録し、かつプロトコールに書かれた通りの治療を施行しなければならない。十分な症例を集めるためには、国内で 180 施設の白血病を治療している施設を集め、全国的な多施設共同研究をサポートする。

研究経費

19,350 千円

研究班の組織

| | | |
|-------|-----------------------------------|---------------------------------------|
| 小林 幸夫 | 血液腫瘍科・造血幹細胞移植科・外来医長 | 統括、データ管理、施設監査、検体検査 |
| 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 | JALSG 検体保存・付随研究 |
| 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 | JALSG 運営 |
| 宮崎 泰司 | 長崎大学大学院医歯薬学総合研究 科血液内科学研究分野・教授 | JALSG データマネジメント、白血病中央診断と白血病に関するコホート研究 |

| | | |
|-------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| 大竹 茂樹 | 金沢大学医薬保健研究域保健学 系・教授 | JALSG データ管理プログラムの作成とデータマネジ メント |
| 麻生 範雄 | 熊本大学大学院生命科学研究部血 液内科学分野・ 准教授 | JALSG 検体蒐集・付随研究 |
| 前川 平 | 京都大学医学部附属病院・輸血細胞 治療部・教授 | 慢性白血病治療薬の開発 |
| 北林 一生 | 国立がん研究センター研究所・造血 器腫瘍研究分野・分野長 | 急性白血病治療薬の開発 |
| 宮脇 修一 | 東京都立大塚病院・医長 | プロトコール審査 |

研究の目的と到達目標及び実績要点

全期間

(目的と到達目標) :

本研究は、成人白血病に対する標準療法を確立するために多施設共同研究機関である成人白血病治療研究グループ (JALSG) を維持し、日本における成人白血病の唯一の治療研究組織の基盤を整備する。分子異常による疾患の層別化を行い、新規分子標的薬導入による分子基盤に基づいた新たな標準療法の確立を目的とする。日本人のデータによる分子病態に基づいた予後・予測因子を確立することも層別化治療の実現のためには重要である。

白血病では染色体異常に加え細胞の増殖・生存能を亢進する遺伝子変異の複合が数多く存在し、予後と関連している。そこで特に予後不良とされる **KIT** 遺伝子と **FLT3** 遺伝子変異を取り上げ、急性骨髄性白血病(AML) のうち **CBF** 白血病では **KIT** 遺伝子変異の有無による大量化学療法、その他は **FLT3** 遺伝子変異の有無による造血幹細胞移植の成績を比較し、特定の分子異常を呈する白血病に対する強化した治療法の有用性を検討する。検体バンクシステムを構築し、急性骨髄性白血病で約 80 の遺伝子変異の有無を解析する。臨床試験参加時に DNA 保存、RNA 保存を行い、将来必要な検討事項が生じた場合の試料に資させて頂くことの同意を得られるようにする (包括同意)。これらの情報は後方視的に検討され、治療結果と対比される。

Ph 陽性白血病ではイマチニブ耐性症例に対し第 2 世代チロシンキナーゼ阻害薬が使用可能となった。そこで イマチニブ耐性慢性骨髄性白血病では、**ABL** 遺伝子変異解析に基づくランダム化第 2 相試験を実施する。一方、分子寛解症例に対しては、イマチニブ中止の安全性を検討する間歇投与試験を継続する。これは長期治療が不可欠とされる症例に対する医療経済的側面からも重要な試験である。

初発 **Ph** 陽性急性リンパ性白血病 (ALL) に対しては第 2 世代のダサチニブ併用化学療法の有用性を検討するための新規プロトコールを策定する。**Ph** 陰性 ALL に対しては小児に近い強化した治療プロトコールを計画する。再発・難治性 AML、高齢者 AML に対してはゲムツズマブ・オゾガマイシン併用化学療法の第 II 相試験を実施する。

発生率が 10 万人あたり 5 人程度の白血病の臨床研究では多施設共同研究が不可欠であり、本研究では全国 197 病院からなる高い症例集積能力のある JALSG の登録症例を増加させ、質を担保する。以上、分子病態に基づく層別化治療により、日本人データによる質の高いエビデンスを期待する事を目標とする。

第 1 年次

(到達目標)

1. プロトコールの作成

- ・フィラデルフィア染色体陰性急性リンパ性白血病を対象とする第Ⅱ相試験を策定する
- ・初発骨髄異形成症候群対象に対する第Ⅲ相試験を策定する。
- ・初診 ALL 症例を対象とした調査研究のコンセプトを固める。
- ・初発慢性骨髄性白血病対象の第3相試験のプロトコールを策定する。
- ・初発前骨髄球性白血病を対象とする第Ⅱ相プロトコールを策定する。

2. プロトコール治療の遂行

- ・急性リンパ性白血病を対象とする ALL202 研究の継続。(登録数 502 例)
- ・APL204 研究(登録数 353 例)、CS-07 研究。(登録数 3270 例)の継続
- ・以上の試験のデータ固定作業を開始する。

3. データマネジメント、事務局運営、施設監査

- ・Database の管理。
- ・Web application の開発と運用、データマネジメント。
- ・CML202 についてデータを整理し、統計解析と論文作成。
- ・年度末までに10施設程度の施設監査を予定。

(年次評価時点の実績要点)

1. プロトコールの作成

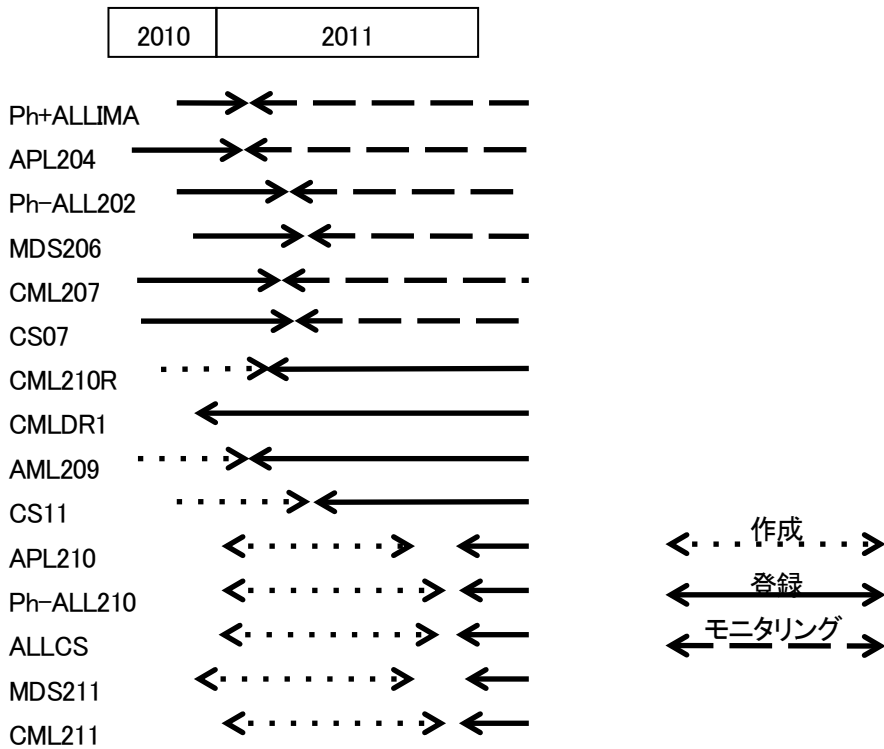
- ・フィラデルフィア染色体陰性急性リンパ性白血病を対象とする Ph(-)ALL210 のコンセプトが第一次案として決定。
- ・骨髄異形成症候群対象の MDS211 コンセプトが第一次案として決定。
- ・ALL 症例を対象の調査研究 ALL-CS のコンセプトが第一次案として決定。
- ・ALL-CS と MDS211 はその再審査 (peer review)。
- ・未治療慢性骨髄性白血病対象の CML211 の本プロトコール審査。
- ・前骨髄球性白血病を対象とする APL211 の本プロトコールの審査。

2. プロトコール治療の遂行

- ・急性リンパ性白血病を対象とする ALL202 研究。(登録数 502 例)
- ・APL204 研究(登録数 353 例)、CS-07 研究。(登録数 3270 例)
- ・データ固定作業を開始。

3. データマネジメント、事務局運営、施設監査

- ・Database の管理。
- ・Web application の開発と運用、データマネジメント。
- ・CML202 についてデータを整理し、統計解析と論文作成。
- ・年度末までに10施設程度の施設監査した。



4. 検体バンク

2011年10月末で登録患者は585例の検体保存。

研究成果と考察

第1年次評価時点

1. プロトコールの作成、および2. その治療の遂行

フィラデルフィア染色体陰性急性リンパ性白血病を対象とする Ph(-)ALL210、骨髄異形成症候群対象の MDS211、ALL 症例を対象の調査研究 ALL-CS のコンセプトが第一次案として決定された。ALL-CS と MDS211 はその再審査 (peer review) がされた。未治療慢性骨髄性白血病対象の CML211 の本プロトコール、前骨髄球性白血病を対象とする APL211 の本プロトコールの審査がされ、固定された。

急性リンパ性白血病を対象とする ALL202 研究 (登録数 502 例)、APL204 研究 (登録数 353 例)、CS-07 研究 (登録数 3270 例) の登録で予定数に達したので登録を終了した。データを固定する作業を開始した。

2. データマネージメント、事務局運営、施設監査

Database の管理、web application の開発と運用を行い、データマネージメントを行った。既に終了した CML202 についてデータを整理し、統計解析と論文作成した。

3. 検体バンク

JALSG AML209GS 研究登録症例の 525 例、Ph+ALL208IMA 研究登録例 60 例である。前者の検体を用いて、CEBPA 遺伝子異常の解析を施行中で、今後予後との関係を解析する予定である。さらに、白血病の遺伝子異常の網羅的な解析を行う付随研究システムを確立し、AML の遺伝子異常と予後との関係を明らかにして難治性白血病の予後改善を目指す。

昨年に登録がスタートした AML209 試験では、染色体異常および AML 関連遺伝子変異を網羅的に解析し、残余検体は今後の遺伝子解析のため保存されることになっている。登録期間は 2010 年 2 月から 2015 年 1 月までであり、目標数は 1500 例である。

また昨今の AML ゲノム研究の急速な進展に対応すべく、すでに研究の終了した AML201 試験に登録された検体

をレトロスペクティブに解析するため、237例を対象に白血病関連遺伝子約100についてエクソンシーケンスを行う大規模遺伝子変異解析が、各施設の倫理委員会の承認の元、スタートしている。これら以外にも、ALL202研究での mRNA 残余検体について、ゲノム研究への同意と倫理委員会への研究申請について準備を進めている。

4. 共同研究へつなげる研究

急性骨髄性白血病におけるがん幹細胞では M-CSF 受容体が強く発現することを明らかにしている。がん幹細胞に対する分子標的薬開発を目指して、M-CSF 受容体に対する阻害剤 Ki20228 および M-CSF 受容体に対する中和抗体を急性骨髄性白血病モデルマウスに投与したところ、Ki20228 投与により、コントロール群に比較して発症が顕著に遅れることが示された。中和抗体による優位な効果は見られなかった。

CML 幹細胞では低酸素と言う骨髄の特殊な分子環境（ニッチ）に潜んで休止期（G0）にあり、薬剤耐性を示し、再発の原因として残存する。通常の抗がん剤は低酸素状態で活性が低下するが、我々は放線菌から分離された Rakicidin A が低酸素状態選択的に抗白血病活性を示すことを明らかにし、低酸素条件下で生存する幹細胞を標的とした治療法開発の可能性を示した(Cancer Sci 2011)。

倫理面への配慮

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う。収集された臨床情報の取り扱いには個人情報に準じて行う。「臨床研究に関する倫理指針（平成20年改正）」および「ヒトゲノム・遺伝子解析研究における倫理指針（平成20年改正）」の定めるところにより、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る。目的外利用および第三者への提供を行わない。漏えいの防止等の安全管理を徹底する。臨床情報により得られた研究成果を発表する際には、個人が特定できる内容が含まれないことに特に注意する。これらの臨床情報の管理に関して具体的な取り扱い規程を作成して公表する。

本研究に関連する、本研究期間中の主な発表論文等

（雑誌論文）

●小林幸夫

1. 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.
2. Uchida T, Kobayashi Y, Ohnishi K, et al. Phase I and II study of azacitidine in Japanese patients with myelodysplastic syndromes. *Cancer Sci* 2011;102(9):1680-1686.
3. Usui N, Kobayashi Y, Miyazaki Y, Ohtake S, Miyawaki S, Naoe T, Ohnishi K, 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.
4. Kobayashi Y, Miyawaki S, 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.

●直江知樹

1. Kimura H, Naoe T, et al. Epstein-Barr virus (EBV)-associated T/NK lymphoproliferative diseases in non-immunocompromised hosts: prospective analysis of 108 cases. *Blood.* 2011 Nov 16.(in press)
2. Tomita A, Naoe T, et al. Extravascular hemolytic attack after eculizumab therapy for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Ann Hematol.* 2011 Nov 15. (in press)
3. Yoshida M, Naoe T, et al. Efficacy and safety of micafungin as an empirical antifungal therapy for suspected fungal infection in neutropenic patients with hematological disorders. *Ann Hematol.* 2011 Sep 6.

4. Ishiyama K, Naoe T, et al. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for acute myeloid leukemia with t(6;9)(p23;q34) dramatically improves the patient prognosis: a matched-pair analysis. *Leukemia*. 2011 Aug 26.(in press)
5. Katsumi A, Naoe T, et al. 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.
6. Goto E, Naoe T, et al. Missense mutations in PML-RARA critical for the lack of responsiveness to arsenic trioxide treatment. *Blood*. 2011 ;118:1600-1609.
7. Sakai K, Naoe T, et al. 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.
8. Ishikawa Y, Naoe T, et al. Prevalence and clinical characteristics of N-terminally truncated WT1 expression in acute myeloid leukemia. *Leuk Res*. 2011;35:685-688.
9. Ono T, Miyawaki S, Ohtake S, Naoe T, 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.
10. Kurahashi S, Naoe T et al. PAX5-PML acts as a dual dominant-negative form of both PAX5 and PML. *Oncogene*. 2011;30:1822-1830.

●大西一功

1. Nakamura S, Ohnishi K, et al. Small GTPase RAB45-mediated p38 activation in apoptosis of chronic myeloid leukemia progenitor cells. *Carcinogenesis*. 2011;32(12):1758-72.
2. Nakamura S, Ohnishi K, et al. JmjC-domain containing histone demethylase 1B-mediated p15(Ink4b) suppression promotes the proliferation of leukemic progenitor cells through modulation of cell cycle progression in acute myeloid leukemia. *Mol Carcinog*. 2011 Nov 15. (Epub ahead of print)
3. Nakamura S, Ohnishi K, et al. Down-regulation of Thanatos-associated protein 11 by BCR-ABL promotes CML cell proliferation through c-Myc expression. *Int J Cancer*. 2011 Mar 11. (Epub ahead of print)
4. Nakamae H, Ohnishi K, et al. Nilotinib as frontline therapy for patients with newly diagnosed Ph+ chronic myeloid leukemia in chronic phase: results from the Japanese subgroup of ENESTnd. *Int J Hematol*. 2011;93(5):624-32.
5. Tauchi T, Ohnishi K, et al. Seven-year follow-up of patients receiving imatinib for the treatment of newly diagnosed chronic myelogenous leukemia by the TARGET system. *Leuk Res*. 2011;35(5):585-590.

●宮崎泰司

1. Fukushima T, Miyazaki Y, et al. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for ATL with central nervous system involvement: The Nagasaki Transplant Group experience. *Int J Hematol*. 2011;94(4):390-394.
2. Tominaga-Sato S, Miyazaki Y, et al. Expression of myeloperoxidase and gene mutations in AML patients with normal karyotype: double CEBPA mutations are associated with high percentage of MPO positivity in leukemic blasts. *Int J Hematol*. 2011;94(1):81-89.

3. Hasegawa H, Miyazaki Y, et al. Aberrant overexpression of membrane-associated mucin contributes to tumor progression in adult T-cell leukemia/lymphoma cells. *Leuk Lymphoma*. 2011;52(6):1108-1117.
4. Sasaki D, Miyazaki Y, et al. Overexpression of enhancer of zeste homolog 2 with trimethylation of lysine 27 on histone H3 in adult T-cell leukemia/lymphoma as a target for epigenetic therapy. *Haematologica*. 2011;96(5):712-719.
5. Hasegawa H, Miyazaki Y, et al. LBH589, a deacetylase inhibitor, induces apoptosis in adult T-cell leukemia/lymphoma cells via activation of a novel RAIDD-caspase-2 pathway. *Leukemia*. 2011;25(4):575-587.

●大竹茂樹

1. Espinoza JL, Ohtake S, et al. A single nucleotide polymorphism of IL-17 gene in the recipient is associated with acute GVHD after HLA-matched unrelated BMT. *Bone Marrow Transplant*. 2011;46(11):1455-63.
2. Katagiri T, Ohtake S, et al. Frequent loss of HLA alleles associated with copy number-neutral 6pLOH in acquired aplastic anemia. *Blood*. 2011 Sep 30. (Epub ahead of print)
3. Matsushita T, Ohtake S, et al. Qualitative near-infrared vascular imaging system with tuned aperture computed tomography. *J Biomed Opt*. 2011;16(7):076004.

●麻生範雄

1. Enomoto Y, Asou N, et al. Eμ/miR-125b transgenic mice develop lethal B-cell malignancies. *Leukemia*. 2011 (in press)

●前川平

1. Yamamoto-Sugitani M, Maekawa T, et al. Galectin-3 induced by leukemia microenvironment promotes drug resistance and bone marrow lodgment in chronic myelogenous leukemia. *Proc. Natl. Acad. Sci*. 2011 (in press)
2. Tanaka R, Maekawa T, et al. Rapid automated detection of ABL kinase domain mutations in imatinib-resistant patients. *Cancer Letter*. 2011. (in press)
3. Nagao R, Maekawa T, et al. Growth inhibition of imatinib-resistant CML cells with the T315I mutation and hypoxia-adaptation by AV65— a novel Wnt/β-catenin signaling inhibitor. *Cancer Letter*. 2011. (in press).
4. Takeuchi M, Maekawa T, et al. Dual BCR-ABL/LYN tyrosine kinase inhibitor, INNO-406. *Drug of the Future*. 2011. (in press).
5. Yao H, Maekawa T, et al. Targeting the Wnt/β-catenin signaling pathway in human cancers. *Expert Opin Ther Targets*, 15(7):873-887, 2011. (Review)
6. Tauchi T, Maekawa T, et al. Combined effects of novel heat shock protein 90 inhibitor NVP-AUY922 and nilotinib in a random mutagenesis screen. *Oncogene*. 2011;30(24):2789-2797.
7. Kitawaki T, Maekawa T, et al. A phase I/IIa clinical trial of immunotherapy for elderly patients with acute myeloid leukemia using dendritic cells copulsed with WT1 peptide and zoledronate. *Brit J Haematol*. 2011;153(6):796-799.
8. Kitawaki T, Maekawa T, et al. Cross-priming of CD8(+) T cells pulsed with autologous apoptotic leukemic cells in immunotherapy for elderly patients with acute myeloid leukemia. *Exp Hematol*. 2011;39(4):424-433.e2.
9. Takeuchi M, Maekawa T, et al. Rakicidin A effectively induces apoptosis in hypoxia adapted Bcr-Abl positive leukemic cells. *Cancer Sci*. 2011;102(3):591-596.

10. Kawata E, Maekawa T, et al. RNA interference against polo-like kinase-1 in advanced non-small cell lung cancers. *J Clin Bioinforma.* 2011;1(1):6.

11. Sakai K, Maekawa T, et al. Galectin-9 ameliorates acute graft-versus-host disease through the induction of T-cell apoptosis. *Eur J Immunol.* 2011;41(1):67-75..

●北林一生

1. Ozeki C, Kitabayashi I, et al. Cancer susceptibility polymorphism of p53 at codon 72 affects phosphorylation and degradation of p53 protein. *J Biol Chem.* 2011;286:18251-18260.

2. Yokoyama A, Kitabayashi I, et al. Cleary ML. Proteolytically cleaved MLL subunits are susceptible to distinct degradation pathways. *J Cell Sci.* 2011;124:2208-2219.

3. Shima Y, Kitabayashi I. Deregulated transcription factors in leukemia. *Int J Hematol.* 2011;94:134-141.

4. Mishima Y, Kitabayashi I, et al. The Hbo1-Brd1/Brpf2 complex is responsible for global acetylation of H3K14 and required for fetal liver erythropoiesis. *Blood.* 2011;118:2443-2453.

●宮脇修一

1. Yoshida K, Miyawaki S, et al. Frequent pathway mutations of splicing machinery in myelodysplasia. *Nature.* 2011; 478(7367):64-69.

2. Tsuboi K, Miyawaki S, et al. A Phase I study to assess the safety, pharmacokinetics and efficacy of barasertib (AZD1152), an Aurora B kinase inhibitor, in Japanese patients with advanced acute myeloid leukemia. *Leuk Res.* 2011;35(10):1384-1389.