

## 総括研究報告書

課題番号：27-4

課題名：小児稀少難治性白血病/リンパ腫に対する新規治療法の開発に関する研究

主任研究者名 富澤 大輔

(所属施設) 国立研究開発法人国立成育医療研究センター

(所属・職名) 小児がんセンター 血液腫瘍科・医長

(研究成果の要約) 本研究では、小児の稀少難治性白血病/リンパ腫の新規治療法の開発をめざす。乳児の *MLL* 遺伝子再構成陽性急性リンパ性白血病 (乳児 *MLL-r ALL*) に対して、将来的な国際共同第 III 相臨床試験の実施を視野に入れ、国内で脱メチル化薬アザシチジンを追加した多剤併用化学療法の実行性を検証する第 I 相臨床試験 (AZA-*MLL*-P15) を計画し、開始した。これとは別に、フィラデルフィア様 (Ph-like) *ALL* に対して、再発例を対象にチロシンキナーゼ阻害薬ダサチニブの単剤パイロット臨床試験 (D-APPLE) を遂行した。その他の小児稀少難治性白血病/リンパ腫についても病態解析を行い、*RARA* 陰性急性前骨髄球性白血病 (*APL*) の新規キメラ遺伝子を同定してその機能解析を行い国際学会で報告し、急性骨髄性白血病と *ALL* を同一患者に発症したダウン症例についても症例の収集・解析を行い、論文報告した。

## 1. 研究目的

本研究では、小児の稀少難治性白血病/リンパ腫、特に乳児 *MLL* 遺伝子再構成陽性急性リンパ性白血病 (*MLL-r ALL*) およびフィラデルフィア様 (Ph-like) *ALL* に対する早期相臨床試験を計画・実施し、これらの疾患の予後の改善を図る。さらに、*RARA* 陰性急性前骨髄球性白血病 (*APL*) 等、他の小児稀少難治性白血病/リンパ腫についても病態の解析を行う。

## 2. 研究組織

研究者	所属施設
富澤 大輔*	国立成育医療研究センター
大隅 朋生	国立成育医療研究センター
清河 信敬	国立成育医療研究センター

## 3. 研究成果

本研究では、以下の三本の柱を立て、各々について研究を実施した。

(1) 乳児 *MLL-r ALL* の新規治療法の開発  
乳児 *MLL-r ALL* は小児 *ALL* の約 5% を占

めるが、従来の多剤併用化学療法および造血幹細胞移植を組み合わせた治療による無イベント生存率 (EFS) は 40% 程度にとどまり、小児 *ALL* における最も難治性の病型のひとつである。近年、*MLL* 遺伝子の再構成により誘導される下流のエピゲノム制御異常が白血病発症に大きく関わることが明らかにされ、脱メチル化薬やヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) 阻害薬などのエピジェネティクス修飾薬の有効性が、*in vitro* または *in vivo* の系で確認されている。そこで、本研究では乳児 *MLL-r ALL* を対象に、標準的化学療法 (Interfant 化学療法レジメン) に脱メチル化薬アザシチジン (ビダーザ®、日本新薬) を追加した多剤併用化学療法の開発を目指している。平成 34-35 年頃に、日・米・欧による国際共同第 III 相臨床試験 (アザシチジン追加多剤併用化学療法と標準的多剤併用化学療法とのランダム化比較試験) を開始することを目標として、第 III 相の試験アームであるアザシ

チジン追加多剤併用化学療法の安全性の検証を目的とした、本邦での第 I 相パイロット試験を計画した。平成 27、28 年度は試験計画立案、医薬品医療機器総合機構 (PMDA) への相談、実施計画書および関連文書の作成、倫理審査委員会への審査申請、その他試験開始に向けての準備に費やし、平成 29 年度からの試験開始を目指した。

(イ) 今年度は本研究の 3 年目であった。平成 27 年度は、本研究者間での会議を経て、試験骨子案を完成させ、それに基づいて、平成 27 年 11 月 9 日に PMDA (東京) にて薬事戦略相談事前面談を行うなどして、医師主導治験の骨子を固めるにいたった。試験薬ビダーザ®の製造販売を行っている日本新薬株式会社とも医師主導治験実施にあたっての協力体制および協力範囲について協議を行っていたが、最終的に協力が困難であるとの回答が平成 28 年 6 月 1 日にあった。そのため、本試験を医師主導治験として実施することを断念し、先進医療 B 下での実施を検討することとした。9 月 6 日に厚生労働省医政局研究開発振興課にて事前相談を行った [富澤大輔 (国立成育医療研究センター)、宮村能子 (大阪大学)]。その結果、本試験を通常の自主研究として実施し (試験薬アザシチジンは本研究費で購入)、それに引き続く国際共同第 III 相試験の一部を先進医療として実施することが決定した。

本試験の具体的な立案作業は名古屋医療センター臨床研究センターの支援を受けて進め、当センター、名古屋医療センター、大阪大学とのテレビ会議を重ねるなどして、平成 29 年 7 月 8 日に臨床試験実施計画書を完成させた。「再発の乳児期発症 MLL 遺伝子再構成陽性急性リンパ性白血病に対するアザシチジンの第 I 相試験 (AZA-MLL-P16)」は平成 29 年 9 月 11 日に当センター倫理審査委員会で試験計画の承認を得て (受付番号 1535)、平成 29 年 10 月 1 日より試験開始となった (UMIN000029275)。

(ロ) 乳児 MLL-r ALL は国内での新規発症数が 20~25 例と希少疾患であることから、本治療法の有効性を検証する目的で、最終的には日本 (日本小児がん研究グループ: JCCG)・米国 (北米小児がん研究グループ: COG)・欧州 (Interfant グループ) の三つの臨床研究グループによる

国際共同第 III 相臨床試験の実施を目指している。平成 29 年 10 月 10 日~17 日に出張を行った第 49 回国際小児がん学会

(米国、ワシントン D. C.) で COG および Interfant グループの担当者と合同会議を行い、各々のグループの進捗状況についての報告、国際共同臨床試験に関する意見交換等を行った。また、2018 年 2 月 1 日~3 日に出張を行った日本造血細胞移植学会 (札幌) にて 2 月 1 日に JCCG 乳児白血病委員会の宮村能子委員長 (大阪大学) と会議を行い、今後の研究の進め方、研究資金獲得について協議を行った。

(ハ) AZA-MLL-P16 試験において、アザシチジン追加多剤併用化学療法の臨床効果を判定する方法のひとつとして、フローサイトメトリーの 10 カラー解析によって簡便に微小残存白血病 (MRD) を検出する系を用いる他、病型診断のために MLL-AF4, MLL-AF9, MLL-ENL 等のキメラ遺伝子解析を行うが、この確立を清河信敬 (国立成育医療研究センター) が担当した。国立成育医療研究センターで治療を受けている乳児 MLL-r ALL の症例を対象に検討を行い、その有用性を確認した。

## (2) Ph-like ALL の新規治療法の開発

Ph-like ALL とは、t(9;22)(q34;q11.2) 染色体転座、すなわちフィラデルフィア (Ph) 染色体が陽性の ALL と類似の遺伝子発現プロファイルを有するにも関わらず、Ph 染色体が陰性の ALL のことである。Ph-like ALL も小児 ALL の約 5% を占め、その EFS は 50% 程度と予後不良である。近年、次世代シーケンサーを用いた全 RNA 解析により、Ph-like ALL の半数近くにおいて *ABL1* や *PDGFRB*、*JAK2* といったチロシンキナーゼが関与するキメラ遺伝子を有するものが含まれることが明らかになった。Ph 陽性 ALL では、Ph 染色体の結果生じる BCR-ABL1 転写産物を阻害するチロシンキナーゼ阻害薬 (TKI) の導入により、その予後が劇的に改善しつつあるが、Ph-like ALL においても同様に、TKI が有効であることが期待されている。本研究では、Ph-like ALL 再発例を対象に、TKI ダサチニブ (スプリセル®、ブリストル・マイヤーズ) の単剤試験「*ABL1/PDGFRB* 再構成陽性の Ph-like ALL 再発/治療抵抗例に対するダサチニブ投与の安全性・有効性についてのパイロット試験: D-APPLE [主任研究者: 大隅朋生 (国立成育医療

研究センター) ]」を遂行した。

(イ) D-APPLE 試験は国立成育医療研究センターの倫理審査委員会承認を受け(受付番号 859)、試験が開始されている。試験の遂行は国立成育医療研究センターの大隅朋生を中心に行われた。これまで 3 例に対してスクリーニングが行われ、1 例の試験登録があり、試験治療を終えた。

(ロ) Ph-like ALL のキメラ遺伝子同定のためのマルチプレックス PCR 法によるスクリーニング法の確立を清河信敬(国立成育医療研究センター)が担当した。D-APPLE 登録症例において検証され、本スクリーニング法が有用であることが確認された。

### (3) その他

#### (ア) RARA 陰性 APL の分子遺伝学的解析

急性前骨髄球性白血病 (APL) は形態学的に FAB 分類の M3 に分類され、多くの場合  $t(15;17)(q22;q21.1)/PML-RARA$  が陽性である。APL の稀な亜型として、*NPM-RARA*、*NuMA-RARA*、*PLZF-RARA*、*STAT5b-RARA* 等の陽性例があるが、いずれも RARA 遺伝子関連のキメラを形成する。治療的には全トランスレチノイン酸 (ATRA) による分化誘導療法が奏功するが、*PLZF-RARA* や *STAT5b-RARA* 陽性例は ATRA の感受性が低い。近年、形態学的には APL だが RARA 関連遺伝子変異が陰性である RARA 陰性 APL の存在が知られるようになったが、その分子遺伝学的背景は明らかになっていない。加藤元博、大隅朋生、清河信敬、富澤大輔(いずれも国立成育医療研究センター)のチームは、RARA 陰性 APL 自験例の解析を行い、全ゲノム解析の手法を用いて白血病のキメラ遺伝子 *TBL1XR1-RARB* を同定した。同様の症例 5 例中 3 例で本キメラ遺伝子が同定され、1 例で転座相手不明の *RARB* 関連異常が同定された。機能解析の結果と合わせて、本成果を平成 29 年 12 月 9 日に第 59 回米国血液学会(米国、アトランタ)にて発表した。現在、論文投稿中である。

(イ) 急性骨髄性白血病 (AML) の既往を有するダウン症児に発症した ALL の病態解析

ダウン症児は一般小児と比較して白血病発症リスクが高いことが知られているが、AML と ALL の両方に罹患することは極めてまれであり、これまで論文報告もほとんどない。このような症例について、

国内 4 施設の 4 症例を同定し、データを収集し、解析を行った。その成果について、第 58 回日本小児血液・がん学会(平成 28 年 12 月 17 日、東京)にて発表し、さらに論文報告を行った。

→ Tomizawa D, et al. Acute lymphoblastic leukemia in Down syndrome patients with a previous history of acute myeloid leukemia. *Pediatr Blood Cancer* 2017

(ウ) FISH 法にて検出できない ABL 関連 Ph-like ALL の解析

ABL 関連遺伝子異常を有する ALL は Ph-like ALL に含まれるが、現在は FISH 法を用いたスクリーニング検査による同定法が一般的である。しかし、当センター自験例で ABL の FISH 検査が陰性であったものの、SNP アレイ解析によって *NUP214-ABL1* キメラ遺伝子が同定された。*NUP214* も *ABL1* も 9q34 領域に位置しているため、FISH 検査にて同定できなかったものと考えられ、今後の ABL 関連異常 ALL のスクリーニング検査をどのように行っていくべきか検討する必要があると考えられた。本解析を行った加藤元博、大隅朋生、清河信敬らのチームは、本成果について第 58 回日本小児血液・がん学会(平成 28 年 12 月 15 日東京)にて発表を行い、論文報告も行った。

→ Tsujimoto SI, et al. A Cryptic *NUP214-ABL1* Fusion in B-cell Precursor Acute Lymphoblastic Leukemia. *J Pediatr Hematol Oncol* 2017 (Epub ahead of print)

#### (エ) 難治性リンパ腫の症例解析

primary mediastinal large B-cell lymphoma は小児では稀な病型の非ホジキンリンパ腫であり、予後不良とされている。しかし、小児での臨床像や予後は不明な点も多く、今回本邦の 17 症例について解析を行い、大隅朋生が論文報告を行った。

→ Osumi T, et al. Primary mediastinal large B-cell lymphoma in Japanese children and adolescents. *Int J Hematol* 2017, 105: 440- 444.

## 4. 研究内容の倫理面への配慮

本研究で行われる臨床試験は、

- (1) ヘルシンキ宣言に則り、患者の利益を最優先に考えて実施する。
- (2) 施設倫理委員会の承認を得て実施す

る。

- (3) 患者及び患者家族に対して治療開始時に統一した治療研究の説明文を用いて文書による同意を得る。同意説明文では、検査の内容、治療の内容、急性毒性、晩期毒性を含めた副作用について年齢に応じた説明を行う。さらに、疾患の特徴、治療内容、治療経過についてさらに理解を深めてもらうために資料を作成配布し、Web上でもそれらの情報入手を可能とする。
- (4) 個人情報保護を厳重に行い、臨床試験の効果と安全性について第三者の監視のもとに実施する。研究目的の検体保存および解析は、研究目的と保存期間を明らかにした上で、他の目的には使用しないこと、プライバシーを保護すること、研究機関を過ぎれば検体を破棄することについて文書で説明し、文書による同意を得て実施する。検体および臨床データは、個人情報を匿名化して取り扱う。