

## 総括研究報告書

### 1. 研究開発課題名：

チロシンキナーゼ阻害薬による慢性骨髄性白血病の治癒を目指した研究

### 2. 研究開発代表者： 松村 到 (近畿大学医学部 血液・膠原病内科)

### 3. 研究開発の成果

慢性期の慢性骨髄性白血病(CML)の治療成績はチロシンキナーゼ阻害薬(TKI)により画期的に改善し、CML患者は平均余命を全うすることが可能となった。一方、CML患者の多くは浮腫、下痢などのTKIの副作用に耐えつつ治療を継続している。また、高額なTKIの継続は、経済的にも大きな負担となっている。TKIは*in vitro*でCML幹細胞を死滅させないことからTKI治療は一生涯にわたって継続する必要があるとされてきた。しかし、臨床的には、イマチニブで分子遺伝学的完全寛解(CMR; 高感度のRQ-PCR法を用いても病因遺伝子であるBCR-ABLのmRNAを検出できない状態)を2年以上維持すると、イマチニブ中止後も約40%でCMRが長期間維持される(Lancet Oncol 11:1029, 2013)。

本研究ではCML212試験(CMR試験とSTOP試験から構成される)とSTIM213試験を実施し、イマチニブ、ニロチニブ、ダサチニブのどのTKIがCMLを最も高率に治癒させるのか、どのような症例が治癒するかは明らかにすることを目的とする。また、CML細胞の全エクソン解析、ディープシーケンシングによる遺伝子変異解析、CML幹細胞の解析、抗腫瘍免疫能の解析などを実施し、これらの結果と臨床試験の結果と統合することによって、CML治癒に向けた治療戦略の確立やCML治癒を目指した新規治療薬の開発を目指している。

日本成人白血病治療協同研究グループ(JALSG)においてCML212試験とSTIM213試験を実施中である。CML212 CMR試験は、初発CML患者450例を対象として、治癒の前提となるCMRの達成率を第二世代TKIのニロチニブとダサチニブで比較する前方視的無作為化試験である。平成24年5月より症例登録を開始し、平成28年1月に患者登録を完了した。また、CML212 CMR試験に登録され、TKI治療によってCMRを達成し、2年間以上維持した症例で内服中のニロチニブまたはダサチニブを休薬し、無治療寛解(TFR)率を比較するCML212 STOP試験(2つの第2相試験:ニロチニブSTOP試験、ダサチニブSTOP試験)のプロトコールを作成し、JALSGのプロトコール委員会にて審査中である。

STIM213試験はイマチニブでCMRを2年以上維持した症例でイマチニブを中止し、TFR率、TFRに関わる因子を検討する試験である。平成25年10月より平成26年6月までに目標登録症例数62例の登録を完了し、現在、TKIの休薬期間に入っている。

これらの試験において患者サンプルを収集し、CML細胞の全エクソン解析を実施した。その結果、184遺伝子に190の体細胞変異を同定し、30個についてディープシーケンシング法で変異を確認した。

また、TKIの治療効果が不十分な症例のCML細胞を用いて骨髄性腫瘍において高頻度に認められる54遺伝子のディープシーケンシングを行い、いくつかの遺伝子変異を同定した。

CML細胞のTKI耐性獲得の原因として、BCR-ABL<sup>Ins35bp</sup>などのBCR-ABLスプライシング変異体が注目されており、高感度長鎖PCRと次世代シーケンサーを組み合わせることでBCR-ABLと、遺伝子変異全て網羅的に同時に定量測定する系を確立した。この系を用いてTKI治療中の微小残存病変に占めるBCR-ABL、BCR-ABL<sup>Ins35bp</sup>、点突然変異の比率測定を開始した。

CML幹細胞を用いたGSEA (gene set enrichment analysis)の結果、CML幹細胞において多能性・細胞周期に関わる遺伝子群がアベラントに活性化していることを明らかにした。これらの中からCML幹細胞活性のバイオマーカーとなり得る分子を見出した。さらに、残存CML幹細胞に対する新規薬剤候補を見出した。