

氏名・(本籍)	野口 晋佐 (北海道)
専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	医博甲第 989 号
学位授与の日付	平成 31 年 3 月 21 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科・専攻	医学系研究科医学専攻
学位論文題名	Switching to nilotinib is associated with deeper molecular responses in chronic myeloid leukemia chronic phase with major molecular responses to imatinib: STAT1 trial in Japan.(イマニチブで分子遺伝的大寛解に到達した慢性期慢性骨髄性白血病においてニロチニブへの切り替えはより深い分子遺伝的大寛解に関連する)
論文審査委員	(主査) 柴田 浩行 教授 (副査) 後藤 明輝 教授 廣川 誠 教授

## 学位論文内容要旨

論文題目  
(論文題目の和訳)

Switching to nilotinib is associated with deeper molecular responses in chronic myeloid leukemia chronic phase with major molecular responses to imatinib: STAT1 trial in Japan

(和訳：イマチニブで分子遺伝学的大寛解に到達した慢性慢性骨髄性白血病においてニロチニブへの切り替えはより深い分子遺伝学大寛解に関連する：STAT1 trial)

申請者氏名 野口 晋佐

### 研究目的

ニロチニブ(NIL)は初発慢性慢性骨髄性白血病(CML-CP)患者を対象としたイマチニブ(IM)との比較試験である ENESTnd 試験(Evaluating Nilotinib Efficacy and Safety in Clinical Trials-Newly Diagnosed Patients)で主要評価項目である12ヶ月時点の分子遺伝学的大寛解(major molecular response; MMR,  $BCR-ABL1^{15} \leq 0.1\%$  on International Scale)に関して有効性を示した第二世代チロシンキナーゼ阻害薬である。

さらに ENESTcmr 試験(Evaluating Nilotinib Efficacy and Safety in Clinical Trials-Complete Molecular Response)ではIM継続群とNIL切り替えた群では切り替え群で深い分子遺伝学的大寛解(deep molecular response; DMR,  $BCR-ABL1^{15} \leq 0.01\%$ の割合が有意に多かった。

最近無治療寛解(treatment free remission; TFR)がCMLの治療目標として提唱されている。実際、複数の前向き研究において、DMRを達成して少なくとも2年間DMRを維持している一部患者ではIM療法を安全に中止できている。しかしIM単剤療法ではTFRの必要条件であるDMRを達成するのに不十分であり、NILに切り替えることによってDMR症例数を増やす可能性がある。

本研究の目的はMMRに到達したCML-CP患者に対するIMからNIL切り替え後の安全性と有効性を検討するものである。

### 研究方法

本研究のCML-CP患者の適格基準は16歳以上でPS 0~2で、重度の臓器障害がないことである。移行期、急性転化期の患者、T315I変異を有する患者、同種造血幹細胞移植を受けた患者は除外した。適格患者にはNILを600mg/日で2年間投与した。

STAT1試験の主要及び副次評価項目はそれぞれNIL開始後24ヶ月及び12ヶ月のMR<sup>4.5</sup>であった。有害事象はCTCAE v4.03に従って評価した。

研究開始時及びその後3ヶ月ごとに $BCR-ABL1^{15}$  RQ-PCRにより分子遺伝学的効果MRを評価した。 $BCR-ABL1^{15}$  RQ-PCRはMolecular MD One-Step qRT-PCR BCR-ABLキットを用いて行った。BCR-ABL1増幅を検証するためにABL1を内部コントロールとして使用した。

MMRは国際スケール( $BCR-ABL1^{15} \leq 0.1\%$ )に従ってBCR-ABL1転写物の3-log減少として定義され、MR<sup>4.5</sup>は4.5-log減少と定義した。検体が適切であると判断するためには少なくとも10万個のコントロール遺伝子(ABL1)が必要であった。

探索的評価項目としてNILトラフ濃度を高速液体クロマトグラフィを用いて測定した。CYP3A5\*3、ABCB1、ABCG2 421C>A、UGT1A1\*6、UGT1A1\*27、UGT1A1\*28のジェノタイピングをPCR-RFLP法によって行った。UGT1A9(I399C/T)はPCRダイレクトシーケンス法によるジェノタイピングを行った。

免疫表現型検査はFACS Calibur、CellQuestソフトウェアを用いてCD8+T細胞、NK細胞、T-LGL、NK-LGLを解析した。NK細胞はアイソレーションキットを用いて分離した。またサイトカインはIFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、TGF- $\beta$ 1、IL-2、IL-10、IL-17の6種類を解析した。末梢血はNIL投与1ヶ月後に採取した。サイトカインはELISA法によって解析した。細胞溶解活性はNK感受性K562細胞を用いて<sup>51</sup>Cr リリースアッセイを行うことによって決定した。

統計解析はSPSS統計ソフトウェアを用いて行った。

### 研究成績

2011年7月から2012年12月の間にIM治療を受けた患者を募集した。80人のCML-CP患者について適格性を調べ4人が除外され、76人が治療を開始した。この集団は安全性解析対象症例として定義された。76人のうち74人が最大の解析対象症例であった。安全性解析対象症例の年齢中央値は55.0歳、IM治療期間の中央値は69.0ヶ月、IM用量の中央値は400mg/日であった。全ての患者が研究開始時MMRであり、研究開始前のMMR到達までの中央値は20.4ヶ月であった。

NILは2年間、1日2回(600mg/日)投与した。76人のうち10人が治療を中止した。中止の最も多かった理由は副作用であった。実際投与されたNIL用量の中央値は600mg/日であった。

$BCR-ABL1^{15}$ の平均値は2年間で約0.5log低下した。2年以内に累積MR<sup>4.5</sup>達成率は増加し、63.5%(47人/74人)の患者がMR<sup>4.5</sup>を達成した。到達までの中央期間は18.2ヶ月であった。開始後24ヶ月時点のMR<sup>4.5</sup>率は44.6%であり主要評価項目が達成された。副次評価項目(12ヶ月MR<sup>4.5</sup>)は27.0%であった。

単変量解析において24ヶ月MR<sup>4.5</sup>を達成するための予後因子としてIM内服期間、MMR到達までの時間、ABCG2 421C/A+A/Aの頻度、NK細胞数が抽出されたが、多変量解析においてABCG2 421C/AのAアレルのみがMR<sup>4.5</sup>達成に関して独立した予後予測バイオマーカーであった。

本研究での死亡例はなく、進行期に病期増悪もなかった。有害事象(全Grade)は43例(56.6%)で報告され、Grade 3/4は17.5%であったが、新たな予期せぬ副作用はなかった。

### 結論

本研究ではIMからNILへの切り替えにより安全に半数近い症例をMR<sup>4.5</sup>へ導けることが示された。ABCG2遺伝子多型解析でAアレルを持つことがMR<sup>4.5</sup>達成のための独立した予後因子として示された。また安全性の面においてもNILの認容性が確認された。IMからNILへの切り替え、2年間のNILによる地固め療法はMR<sup>4.5</sup>を達成するための有効な治療戦略であり、その後のMR<sup>4.5</sup>を維持することでよりの多くのCML-CP患者に将来のTFRをもたらす可能性がある。

## 学位（博士—甲）論文審査結果の要旨

主 査：柴田 浩行

申請者：野口 晋佐

論文題名：Switching to nilotinib is associated with deeper molecular responses in chronic myeloid leukemia chronic phase with major molecular responses to imatinib: STAT1 trial in Japan (イマチニブで分子遺伝学的大寛解に到達した慢性期慢性骨髄性白血病においてニロチニブへの切り替えはより深い分子遺伝学大寛解に関連する：STAT1 trial)

## 要旨

現在の慢性期慢性骨髄性白血病（CML）の治療目標は無治療寛解(treatment free remission; TFR)を目指すことである。このためには、「深い分子遺伝学的大寛解(deep molecular response; DMR, *BCR-ABL1* IS $\leq$ 0.01%)」を達成することが重要である。このために ABL 阻害活性が、より強力な第二世代チロシキナーゼ阻害剤ニロチニブの有効性を多施設共同前向き Phase 2 試験で検証した。第一世代イマチニブを 2 年間継続することで DMR に達成すると予測される閾値割合を 10% とし、ニロチニブに切り替えて 2 年間継続することで得られる DMR 到達率を 23% と仮定し、本研究で有効性主要評価項目の DMR 到達率を解析したところ 44.6%[90% CI (34.7–54.8%)]の患者が DMR(MR<sup>4.5</sup>)を達成した。有意差をもって本治療方法の有効性が証明された。さらに多変量解析においてニロチニブの薬剤トランスポーターである BCRP をコードする *ABCG2* 421C/A の A アレルが MR<sup>4.5</sup> 達成に関して独立した予後予測バイオマーカーであることを証明した。

## 1) 斬新さ

医師主導試験臨床試験はベットサイドから生まれた新しい仮説を証明するための極めて重要な方法であるが、多くの困難を伴う。医学統計を駆使した研究計画立案、希少疾患ゆえの多施設の協力要請と計画通りの試験遂行の監視、データ収集と解析など多大な労力などである。これを大学院生として主導したことは研究に対する並々ならぬ熱意がなければ、これを実施できない。さらに分子医学的な治療効果予測マーカーについて付随研究を行い、候補バイオマカ

ーを見出したことは単なる臨床研究に留まらない先進性を包含していることは斬新性の点で高く評価される。

## 2) 重要性

CML の TFR を得るためにイマチニブをニロチニブに切り替えて 2 年間継続することで約半数近い患者で DMR 達成が得られたことは、治療期間の短期化と、より多くの患者さんに TFR をもたらすことが期待される点で極めて有用な研究である。TFR は患者の社会復帰や医療経済的にも注目されており、本研究成果はその基盤となる重要な研究である。さらに排泄型薬剤トランスポーターの遺伝子が治療効果に関して独立した予後予測バイオマーカーであることを証明されたことは、治療効果の予測だけでなく、薬剤トランスポーターに対する阻害剤の開発によるニロチニブの効果増強といったケミカルモデュレーションの可能性を示唆し、重要な知見であると言える。

## 3) 研究方法の正確性

本研究は医師主導多施設共同前向き Phase 2 試験である。患者数が必ずしも多くない CML においてはランダム化比較試験が馴染まないが、ヒストリカルコントロールをもとにして症例数の設定を行い、計画された人数で仮説を統計的に証明した。データセンターによるモニタリングや監査なども行い、特定臨床研究法の施行前であるにも関わらず、臨床研究の質が担保されている。また、予後因子解析については患者背景の多様性を薬物学的要因と共に ABC 薬物トランスポーターの一塩基多型の一つが独立した要因であることを多変量解析で統計学的有意性をもって抽出した。

## 4) 表現の明瞭さ

分子遺伝学的大寛解に到達した CML に対して第二世代チロシキナーゼ阻害剤ニロチニブへの切り替えの有効性と安全性について多施設共同前向き Phase 2 試験で検証するための、研究目的、方法、結果、考察について簡潔、明瞭、正確に記載されている。

以上述べたように、本論文は学位を授与するに十分値する研究と判断された。