

慢性骨髄性白血病における国際標準法による BCR-ABL1 の定量評価と治療戦略

Quantitative evaluation and treatment strategy based on *BCR-ABL1* transcripts on the international scale in chronic myeloid leukemia

わた なべ なお き たか く とも いく
 渡 邊 直 紀 : 高 久 智 生
 Naoki WATANABE Tomoiku TAKAKU

定量評価と治療戦略について概説していきたい。

はじめに

慢性骨髄性白血病 (chronic myeloid leukemia ; CML) は著明な白血球増加や血小板増加を特徴とする腫瘍性疾患である。9 番染色体と 22 番染色体各長腕の転座により 22 番染色体上の BCR と 9 番染色体上の ABL 各遺伝子領域が融合し、Philadelphia (Ph) 染色体と呼ばれる t(9;22)(q34;q11) が多能性造血幹細胞に形成される。キメラ遺伝子 *BCR-ABL1* の産物である融合タンパク BCR-ABL は、恒常的に活性化されたチロシンキナーゼであり白血病細胞の増殖に関与する¹⁾。CML の治療は第一世代チロシンキナーゼ阻害剤 (tyrosine kinase inhibitor ; TKI) であるイマチニブの登場以降、病気進行はほぼ回避され、予後は著しく改善した。その後、イマチニブ治療に抵抗性・不耐容の CML に対する治療薬として第二世代 TKI であるニロチニブ、ダサチニブ、ボスチニブが開発された。さらに、第二世代 TKI に抵抗性の T315I 変異に有効な第三世代のボナチニブも承認されており、現在 5 種類の TKI が CML 治療薬として承認されている。TKI 治療効果のモニタリングには European LeukemiaNet (ELN) の基準が広く用いられており、判定には末梢血の定量的逆転写ポリメラーゼ連鎖反応 (reverse transcription polymerase chain reaction ; RT-PCR) で測定した *BCR-ABL1* 遺伝子レベルの、*ABL* あるいは対象となる遺伝子レベルに対する比を国際標準法 (international scale ; IS) で補正した IS% と表される数値が用いられている。本稿では、IS による BCR-ABL1 の

I. IS による BCR-ABL1 の定量評価

1. CML-CP における BCR-ABL1 の定量評価

IS による BCR-ABL1 の定量検査はその信頼性や感度、再現性、迅速性から CML 治療効果のモニタリングにおいて最も標準的な評価法である。その他の定量評価法として、以前はより高感度である nested PCR が用いられていたが、検査の簡便さや迅速性において欠点があった。このほか、さらなる感度向上を目指して新規に開発された手法としてデジタル PCR や DNA-PCR などが挙げられるが、いまだ広く普及しておらず現時点では研究ツールとしてのみ用いられている²⁾。

慢性期 (chronic phase ; CP) CML 治療においては、少なくとも分子遺伝学的大奏効 (major molecular response ; MMR) を得ることが重要であり、定量 RT-PCR 検査は ELN や NCCN など海外の CML 治療ガイドラインでも必須とされている。National Institutes of Health (NIH) コンセンサス会議でも基準値の国際標準化を目的として、施設間における計測値のばらつきを補正することが可能な IS が提案されており、わが国では 2015 年 4 月から保険診療で可能となった。

2. 遺伝子検査の pitfall

遺伝子検査は高感度な検査法であるが、染色体検査に比べて解析領域が狭いため、切断点が通常と

異っている場合は検出できないことがある。骨髄染色体検査で Ph 陽性あるいは蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション (fluorescence *in situ* hybridization ; FISH) 法で *BCR-ABL1* 融合遺伝子陽性であるにも関わらず、*BCR-ABL1*^{IS} の定量 RT-PCR 検査で *BCR-ABL1* が検出できない場合には、*BCR* の切断点が通常と異なっている可能性があるためダイレクトシーケンシング法などで確認する必要がある。*BCR* の切断点は exon12 ~ 16 の Major 領域に集中しているものの、CML では他にもさまざまな融合遺伝子のパターンが報告されている³⁻⁵⁾。そして、Major *BCR-ABL1* の転写産物である融合 mRNA としては b2a2、b3a2、b2a3、b3a3 などが報告されている⁶⁾。

II. CML-CP の治療戦略

1. CML 治療効果のモニタリング

日本血液学会のガイドライン (造血器腫瘍診療ガイドライン 2018 年版補訂版) では初発 CML-CP に対する一次治療薬はイマチニブ、ニロチニブ、ダサチニブのいずれでも良いとされている (図 1)⁷⁾。さ

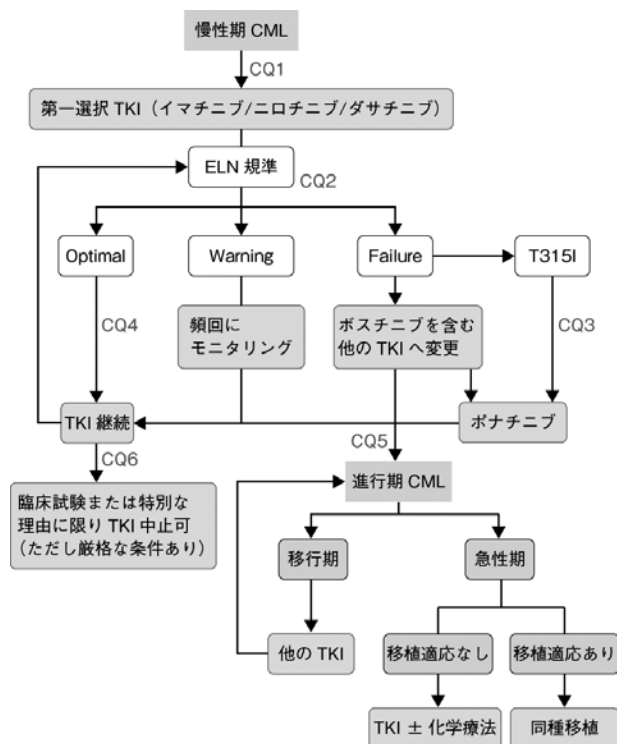


図 1 CML-CP の治療アルゴリズム

(日本血液学会 造血器腫瘍診療ガイドライン 2018 年版補訂版)
(文献7)より転載)

らに、3 剤目の第二世代 TKI であるボスチニブも MMR、CCyR の達成率においてイマチニブに勝ることが示されており⁸⁾、国内でも 2020 年 6 月に初発 CML の一次治療薬として承認された。

治療効果判定には ELN の基準が広く用いられており、少なくとも治療開始 3 か月、6 か月、12 か月の時点で評価することが勧められている。ELN2013 では血液学的奏効 (hematologic response : HR)、細胞遺伝学的奏効 (cytogenetic response : CyR)、分子遺伝学的奏効 (molecular response : MR) の 3 つのレベルで判定されていたが (表 1, 2)⁷⁾、ELN2020 では MR のみで判定されるようになった (表 3)⁹⁾。また、治療開始 3 か月で *BCR-ABL1*^{IS} >10% が確認された場合、従来は warning と判定されたが、その後 1 ~ 2 か月以内に再度 *BCR-ABL1*^{IS} >10% が認められた場合には Failure の判定に改訂された。また、イマチニブおよびダサチニブいずれにおいても、治療開始 3 か月の *BCR-ABL1*^{IS} の減少速度はその後の治療効果と相関する事が報告されており¹⁰⁻¹²⁾、近年では治療開始早期での MR が重要視されている。そして、1st line TKI に抵抗性あるいは不耐容を示した場合は別の TKI への切り替えを検討する必要があるが、まずは服薬状況や TKI の血中濃度を低下させる併用薬剤を確認する事が重要である。*BCR-ABL1*^{IS} の著しい増加や ELN 基準で Failure の場合には骨髄検査で病期と付加的染色体異常の有無を確認し、*BCR-ABL1* 点突然変異の検索 (保険適用外) についても検討する。

2. CML の無治療寛解

TKI 開発前の CML の治療目標は急性転化期への移行を阻止することであったが、2000 年以降はより多くの症例で長期間持続する深い分子遺伝学的奏効 (deep molecular response : DMR) が達成できるようになったため、現在の目標は長期間の無治療寛解 (Treatment free remission ; TFR) を得ることに変わりつつある。既報のイマチニブ中止試験 (STIM 試験) では、イマチニブにより少なくとも 2 年間の DMR を得た症例の約 40% が長期の TFR を維持している事が報告されている¹³⁾。一方で、イマチニブ中止後に DMR を喪失した場合は、TKI の再開により全ての症例で再び DMR が達成されている。ELN 2020 や NCCN ガイドライン Version2. 2021 では、

臨床試験以外でTKIを中止する場合の必要条件と、中止後の定期的モニタリングについて示されているが(表4)^{9,14)}、年単位のDMR期間や定期的かつ頻回のBCR-ABL^{IS}の評価が必要である。特に、TKI

中止後6か月以内に再発例の80%以上が集中することから、少なくともこの期間は毎月のモニタリングが必須である。

表1 CMLに対する治療効果の判定規準

血液学的奏功(Hematologic Response: HR)		血液・骨髄検査所見および臨床所見
慢性期CML	完全 (complete) HR: CHR	1. WBC<10,000/ μ L 2. PLT<450,000/ μ L 3. 末梢血液中で芽球も前骨髄球もなし 4. 末梢血液中の骨髄球+後骨髄球=0% 5. 好塩基球<5% 6. 脾臓および肝臓の腫大なく、髄外病変なし
進行期CML (移行期+急性期)	完全 (complete) HR: CHR	1. WBC \leq 施設基準値の上限 2. 好中球数 \geq 1,000/ μ L 3. PLT \geq 100,000/ μ L 4. 末梢血液中で芽球も前骨髄球もなし 5. 骨髄中の芽球 \leq 5% 6. 末梢血液中の骨髄球+後骨髄球<5% 7. 好塩基球<20% 8. 脾臓および肝臓の腫大なく、髄外病変なし
	白血病の所見なし No Evidence of Leukemia (NEL)	1. WBC \leq 施設基準値の上限 2. 末梢血液中で芽球も前骨髄球もなし 3. 骨髄中の芽球 \leq 5% 4. 末梢血液中の骨髄球+後骨髄球<5% 5. 好塩基球<20% 6. 脾臓および肝臓の腫大なく、髄外病変なし
細胞遺伝学的奏功 (Cytogenetic Response: CyR)	骨髄有核細胞中のPh染色体(BCR-ABL1)陽性率	
細胞遺伝学的大(major)奏効: MCyR	0~35%	
細胞遺伝学的完全(complete)奏効: CCyR	0%	
細胞遺伝学的部分(partial)奏効: PCyR	1~35%	
細胞遺伝学的小(minor)奏効: Minor CyR	36~65%	
細胞遺伝学的微小(minimum)奏効: Mini CyR	66~95%	
細胞遺伝学的非(none)奏効: No CyR	>95%	
分子遺伝学的奏効(Molecular Response: MR)	BCR-ABL1 ^{IS} *2遺伝子レベル(RT-PCR法)	
分子遺伝学的大(major)奏効: MMR	BCR-ABL1 ^{IS} *2 \leq 0.1%	
分子遺伝学的に深い(deep)奏効: DMR*1 MR ^{4.0} MR ^{4.5} MR ^{5.0}	BCR-ABL1 ^{IS} \leq 0.01% BCR-ABL1 ^{IS} \leq 0.0032% BCR-ABL1 ^{IS} \leq 0.001%	

*1 以前に用いられていたELN2009では分子遺伝学的完全 (complete) 奏功 (CMR) と定義された奏功レベル

*2 BCR-ABL1^{IS}: 国際指標で補正された値

(文献7)より転載)

表2 CMLに対する1st lineのTKI治療の効果 (European LeukemiaNet 2013年版)

評価時点	効果		
	至適奏功 Optimal	要注意 Warning	不成功 Failure
治療前 (ベースライン)	指摘なし	高リスク またはCCA/Ph+, major route	指摘なし
3か月	BCR-ABL1 ^{IS} \leq 10% またはPh+ \leq 35%	BCR-ABL1 ^{IS} >10% またはPh+36~95%	CHRに未到達 またはPh+>95%
6か月	BCR-ABL1 ^{IS} <1% またはPh+0%	BCR-ABL1 ^{IS} >1~10% またはPh+1~35%	BCR-ABL1 ^{IS} >10% またはPh+>35%
12か月	BCR-ABL1 ^{IS} \leq 0.1%	BCR-ABL1 ^{IS} >0.1~1%	BCR-ABL1 ^{IS} >1% またはPh+>0%
その後、どの時点でも	BCR-ABL1 ^{IS} \leq 0.1%	CCA/Ph- (-7または7q-)	CHRの喪失、CCyRの喪失、確定したMMR喪失*、ABL1変異、CCA/Ph+

MMRはBCR-ABL1^{IS} \leq 0.1%でありMR^{3.0}あるいはそれ以上の効果

*連続した2回のMMR喪失 (BCR-ABL1^{IS}>0.1%) で、そのうち1つはBCR-ABL1^{IS} \geq 1%

CCA/Ph+: Ph染色体の付加的染色体異常

CCA/Ph-: Ph染色体以外の付加的染色体異常

(文献7)より転載)

表3 CMLに対する1st lineのTKI治療の効果 (European LeukemiaNet 2020年版)

判定時期	効果		
	Optimal	Warning	Failure
治療前	指摘なし	高リスク付加的染色体異常 または高リスクELTSスコア	指摘なし
3か月	$BCR-ABL1^{IS} \leq 10\%$	$BCR-ABL1^{IS} > 10\%$	$BCR-ABL1^{IS} > 10\%$ (1~3か月以内)
6か月	$BCR-ABL1^{IS} < 1\%$	$BCR-ABL1^{IS} > 1 \sim 10\%$	$BCR-ABL1^{IS} > 10\%$
12か月	$BCR-ABL1^{IS} \leq 0.1\%$	$BCR-ABL1^{IS} > 0.1 \sim 1\%$	$BCR-ABL1^{IS} > 1\%$
その後どの時点でも (治療中)	$BCR-ABL1^{IS} \leq 0.1\%$	$BCR-ABL1^{IS} > 0.1 \sim 1\%$ またはMMR喪失	$BCR-ABL1^{IS} > 1\%$ 、抵抗性変異 または高リスク付加的染色体異常

高リスク付加的染色体異常: +8, +Ph, i(17q), +19, -7/7q-, 11q23, 3q26.2異常、複雑型染色体異常 (文献9)を基に作成)

表4 ELN2020 または NCCN ガイドライン (Version2. 2021) におけるTKI中止の条件

	Mandatory
ELN2020	<ul style="list-style-type: none"> ・初発のCML-CP ・論理的コミュニケーションが可能で意欲のある患者 ・IS-PCR検査が可能で迅速に結果が判明する ・TKI中止後の頻回のモニタリングに同意している (最初の6カ月は毎月、6~12カ月は2か月毎、それ以降は3か月毎)
	<p>Minimal</p> <ul style="list-style-type: none"> ・一次治療または不耐容だけが理由でTKIを変更した二次治療 ・BCR-ABL1が典型的なe13a2またはe14a2の転写産物 ・治療期間 (第一世代TKI>5年、第二世代TKI>4年) ・DMR (MR^{4.0}以上) 期間>2年 ・Failure判定を受けたことがない
	<p>Optimal</p> <ul style="list-style-type: none"> ・TKIの治療期間>5年 ・DMR (MR^{4.0}) 期間>3年 ・DMR (MR^{4.5}) 期間>2年
NCCNガイドライン	<ul style="list-style-type: none"> ・18歳以上である ・CML-CPである (AP/BPの既往がない) ・TKIの治療期間>3年 ・定量可能なBCR-ABL1が検出されている ・MR^{4.0}>2年 (それぞれ3か月以上の期間を空けた4回以上の検査で確認されている) ・検出感度がMR4.5以上で2週間以内に結果が得られる信頼性の高い定量RT-PCR検査が利用できる ・TKI治療中止後にMMRが持続している患者では分子遺伝学的モニタリングを最初の6か月間は毎月、7~12か月は2か月毎、それ以降は4か月毎に無期限に行う ・MMR喪失後にTKIを再開する患者ではMMR喪失から4週間以内に速やかにTKIを再開して分子遺伝学的モニタリングをMMRが再確立されるまで毎月行い、その後は3か月毎に無期限に行うことが推奨される。TKIの再開から3か月時点でMMRが達成されなかった患者ではBCR-ABL1キナーゼドメインの遺伝子変異検査をすべきであり1回の分子遺伝学的モニタリングをさらに6か月継続すべきである

(文献9, 14)を基に作成)

おわりに

ISによるBCR-ABL1の定量評価は、現在ではCML治療効果のモニタリング法として標準的とされており、本邦でも広く用いられるようになった。さらに、国際標準法が導入されたことにより治療効果における国際比較が可能であり、臨床の現場で正確度の高い安定した検査データが利用可能となった。今後は、TFRを最終的な目標とした新たな治療戦略の立案が可能になることが期待されている。

文 献

- 1) Arber DA, et al. Introduction and overview of the classification of myeloid neoplasms. Swerdlow SH, et al. eds. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, Lyon, IARC; 2017: pp16-27.
- 2) Shanmuganathan N, Hughes TP. Molecular monitoring in CML: how deep? How often? How should it influence therapy? Blood. 2018; 132(20): 2125-2133.
- 3) Melo JV. The diversity of BCR-ABL fusion proteins and their relationship to leukemia phenotype. Blood. 1996; 88(7): 2375-2384.

- 4) Jinawath N, Norris-Kirby A, Smith BD, et al. A rare e14a3 (b3a3) BCR-ABL fusion transcript in chronic myeloid leukemia: diagnostic challenges in clinical laboratory practice. *J Mol Diagn.* 2009; **11**(4): 359-363.
- 5) Verma D, Kantarjian HM, Jones D, et al. Chronic myeloid leukemia (CML) with P190 BCR-ABL: analysis of characteristics, outcomes, and prognostic significance. *Blood.* 2009; **114**(11): 2232-2235.
- 6) Burmeister T, Reinhardt R. A multiplex PCR for improved detection of typical and atypical BCR-ABL fusion transcripts. *Leuk Res.* 2008; **32**(4): 579-585.
- 7) 日本血液学会、造血器腫瘍診療ガイドライン2018年版補訂版
http://www.jshem.or.jp/gui-hemali/1_4.html#soron
 (2021/4/21引用)
- 8) Cortes JE, Gambacorti-Passerini C, Deininger MW, et al. Bosutinib Versus Imatinib for Newly Diagnosed Chronic Myeloid Leukemia: Results From the Randomized BFORE Trial. *J Clin Oncol.* 2018; **36**(3): 231-237.
- 9) Hochhaus A, Baccarani M, et al. European LeukemiaNet 2020 recommendations for treating chronic myeloid leukemia. *Leukemia.* 2020; **34**: 966-984.
 ([http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/.](http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/))
- 10) Hanfstein B, Shlyakhto V, Lauseker M, et al. Velocity of early BCR-ABL transcript elimination as an optimized predictor of outcome in chronic myeloid leukemia (CML) patients in chronic phase on treatment with imatinib. *Leukemia.* 2014; **28**(10): 1988-1992.
- 11) Branford S, Yeung DT, Parker WT, et al. Prognosis for patients with CML and >10% BCR-ABL1 after 3 months of imatinib depends on the rate of BCR-ABL1 decline. *Blood.* 2014; **124**(4): 511-518.
- 12) Takaku T, Iriyama N, Mitsumori T, et al. Clinical efficacy and safety of first-line dasatinib therapy and the relevance of velocity of BCR-ABL1 transcript decline for achievement of molecular responses in newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia: report from the Juntendo Yamanashi Cooperative Study Group. *Oncology.* 2018; **94**(2): 85-91.
- 13) Etienne G, Guilhot J, Rea D, et al. Long-Term Follow-Up of the French Stop Imatinib (STIM1) Study in Patients With Chronic Myeloid Leukemia. *J Clin Oncol.* 2017; **35**(3): 298-305.
- 14) Michael W. Deninger, Neil P. Shah, et al. Chronic Myeloid Leukemia, Version 2. 2021. 2020; **18**(10): 1385-1415.