

## Japan Study Group for Cell Therapy and Transplantation (JSCT)

高齢者骨髄性悪性疾患に対する G-CSF 併用 cytarabine とリン酸フルダラビン、静注ブスルファンによる移植前治療を用いた臍帯血移植の安全性と有効性の検討

- JSCT FB13 CB -

### 多施設共同研究実施計画概要書

研究代表者：九州大学医学部 病態修復内科

赤司 浩一

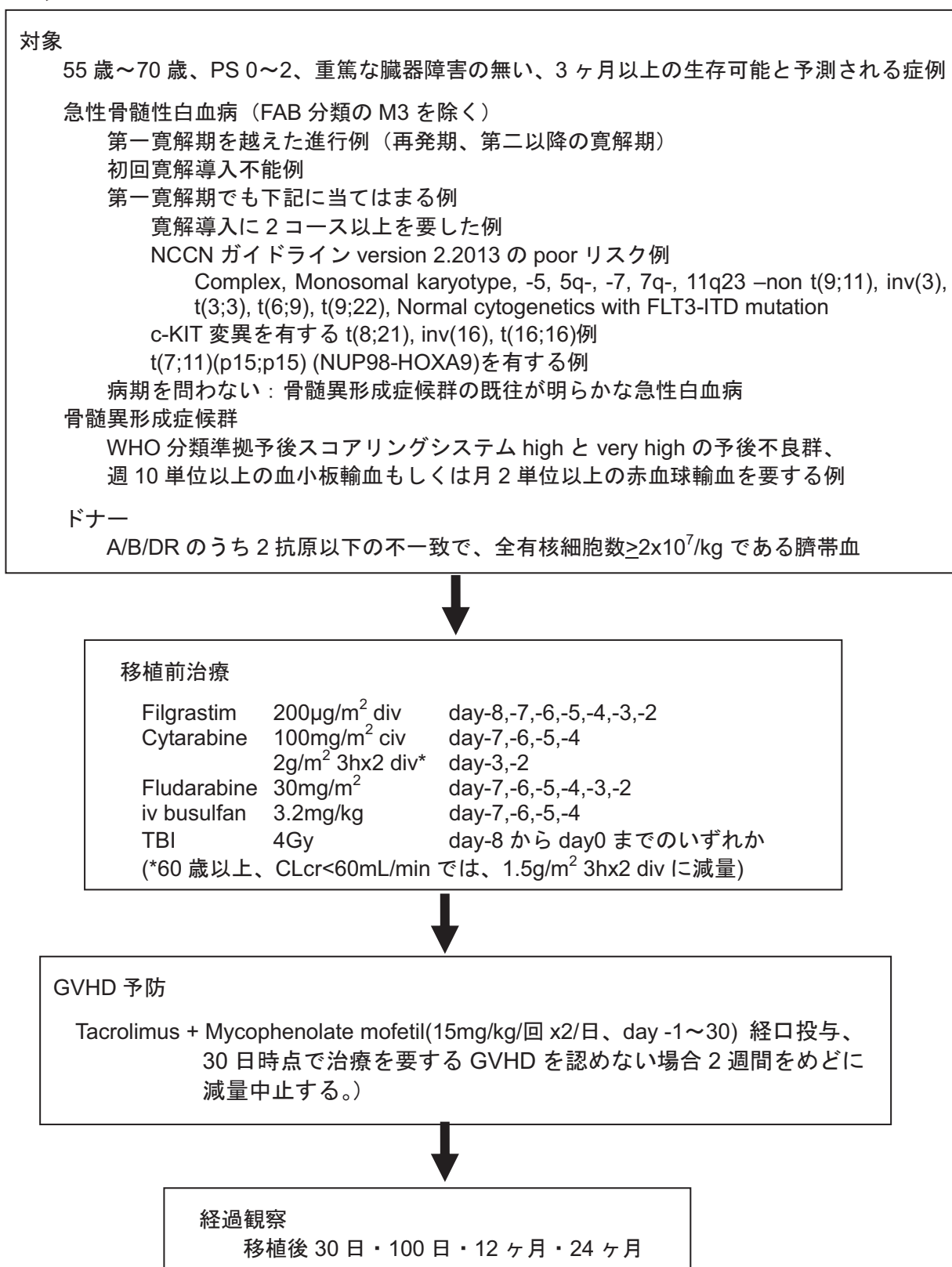
研究責任者：国家公務員共済組合連合会 虎の門病院 血液内科

内田 直之

2013年4月27日 第2版

# 1. 概要

## 1.1. シェーマ



## 1.2. 目的

55 歳以上 70 歳以下の急性骨髄性白血病、骨髄異形成症候群に対し、リン酸フルダラビン 180mg/m<sup>2</sup>、静注ブスルファン 12.8mg/kg、シタラビンと G-CSF による移植前治療を用いた臍帯血移植の安全性と有効性を多施設で検討する。

## 1.3. 選択基準

### 1.3.1. 適格基準

- 急性骨髄性白血病あるいは骨髄異形成症候群に罹患しており、以下(a)、(b)のいずれかの条件を満たす患者。
  - 急性骨髄性白血病 (FAB 分類の M3 を除く)
    - 第一寛解期を越えた進行例 (再発期、第二以降の寛解期)
    - 初回寛解導入不能例
    - 第一寛解期でも下記に当てはまる例  
寛解導入に 2 コース以上を要した例  
NCCN ガイドライン version 2.2013 の poor リスク例  
([http://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/pdf/aml.pdf](http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/aml.pdf))  
Complex ( $\geq 3$  clonal chromosomal abnormalities),  
Monosomal karyotype (定義: 2 つ以上の常染色体モノソミーか、1 つの常染色体モノソミーに構造異常を伴う), -5, 5q-, -7, 7q-, 11q23 -non t(9;11), inv(3), t(3;3), t(6;9), t(9;22), Normal cytogenetics with FLT3-ITD mutation  
c-KIT 変異を有する t(8;21), inv(16), t(16;16)例  
t(7;11)(p15;p15) (NUP98-HOXA9)を有する例
  - 骨髄異形成症候群
    - WHO 分類準拠予後スコアリングシステム high と very high の予後不良群、
    - 週 10 単位以上の血小板輸血もしくは月 2 単位以上の赤血球輸血を要する例
- 年齢が 55 歳以上 70 歳以下の患者。
- A/B/DR のうち 2 抗原以下の不一致で、全有核細胞数 $\geq 2 \times 10^7$ /kg が得られる臍帯血。
- Performance status (ECOG)が 0-2 の患者。
- 重篤な臓器障害のない症例。  
T.Bil $< 2.0$ mg/dl、AST・ALT が正常値上限の 3 倍以下、CCr  $\geq 30$ ml/分、心駆出率 $> 50\%$ 、SpO<sub>2</sub> $> 95\%$ 。
- 本研究内容につき説明の上で患者本人から文書による同意が得られている患者。
- 少なくとも 3 ヶ月以上の生存が可能と予測される患者。

### 1.3.2. 除外基準

- HIV 抗体が陽性である。
- 過去 4 ヶ月以内に gemtuzumab ozogamicin (Mylotarg®) の投与歴を有する。
- 活動性の重複癌を有する。
- コントロール不良な精神疾患を有する。
- 活動性の感染症を有する。
- 造血幹細胞移植の既往を有する。
- 移植前治療開始前 30 日以内に化学療法を実施している。(ただし芽球数のコントロールの目的で使用する hydroxyurea、cytarabine、少量の抗がん剤の髄腔内投与は含めない)。
- 治療計画で使用が予定されている薬剤に対して過敏症の既往を有する。
- その他担当医によって研究登録が不適切と判断される。

## 1.4. プロトコール治療計画

### 1.4.1. 移植前治療

Day		-8	-7	-6	-5	-4	-3	-2	-1	0
Filgrastim (カ <sup>ラ</sup> ン <sup>®</sup> )	200 $\mu$ g/m <sup>2</sup> div	○	○	○	○	○	○	○		
Cytarabine (キ <sup>サ</sup> イ <sup>ト</sup> <sup>®</sup> )	100mg/m <sup>2</sup> civ 2g/m <sup>2</sup> 3hx2 div*		○	○	○	○				
Fludarabine (フル <sup>ダ</sup> ラ <sup>ビ</sup> <sup>®</sup> )	30mg/m <sup>2</sup>		○	○	○	○	○	○		
iv busulfan (ブ <sup>ス</sup> ル <sup>フ</sup> エ <sup>キ</sup> <sup>ス</sup> <sup>®</sup> )	3.2mg/kg		○	○	○	○				
TBI	4Gy	← この期間のいずれかの日に →								
移植										◎

\*60 歳以上、CLcr<60mL/min では、1.5g/m<sup>2</sup> 3hx2 div に減量する。

### 1.4.2. GVHD 予防

Tacrolimus (プロ<sup>グ</sup>ラ<sup>フ</sup><sup>®</sup>) +  
Mycophenolate mofetil (セル<sup>セ</sup>プ<sup>ト</sup><sup>®</sup>) (15mg/kg/回 x2/日、day -1~30)、経口投与  
30 日時点で治療を要する GVHD を認めない場合 2 週間をめぐりに減量中止する。

### 1.4.3. G-CSF

G-CSF は day5 より好中球生着まで投与を行う。G-CSF 製剤は Filgrastim(グラ<sup>ン</sup><sup>®</sup>)を保険  
適応にもとづいて使用する。

## 1.5. 目標症例数と登録期間・研究期間

目標症例数：29 名

登録期間：3 年間（2013 年 5 月 1 日～2016 年 4 月 30 日）

研究期間：5 年間（2013 年 5 月 1 日～2018 年 4 月 30 日）

## 1.6. 主要評価項目

移植後 1 年時点での無イベント割合

## 1.7. 副次評価項目

1. 移植後 100 日までの生着達成割合
2. 移植後 100 日・1 年・2 年以内の非再発死亡割合
3. 移植後 100 日・1 年・2 年までの再発割合
4. 移植後 2 年の無イベント割合
5. 移植後 1 年・2 年までの全生存割合
6. 前治療開始日から移植後 100 日までの grade 3 以上の有害事象の発現状況
7. 移植後 1 年以内の感染症発症割合
8. 移植後 1 年・2 年までの急性・慢性 GVHD の発症割合・重症度
9. 並行実施中の JSCT-FB13 PB/BM 登録症例との、移植幹細胞源別の上記評価項目のサブ  
グループ解析

## 1.8. UMIN 臨床試験登録

UMIN 試験 ID：UMIN000010698

登録試験名：高齢者骨髄性悪性疾患に対する G-CSF 併用 cytarabine とリン酸フルダラビン、静  
注ブスルファンによる移植前治療を用いた臍帯血移植の安全性と有効性の検討

## 2. 背景と研究計画の根拠

### 2.1. 対象

#### 2.1.1. 対象疾患

急性骨髄性白血病は、骨髄系異常細胞がクローナルに増加する疾患である。罹患率は人口 10 万人当たり年間 3.7 人とされている<sup>1,2</sup>。発症年齢中央値は 67 歳で、30 歳未満であれば人口 10 万人当たり 1 人未満であるが、75 歳以上では 17 人に達し、高齢者ほど発症率が上昇する。

急性骨髄性白血病は、初発時の染色体異常のパターンで、予後良好群、中間群、不良群に分類される<sup>3</sup>。予後良好群では 55% の 5 年全生存率が得られているが、一方、予後不良群では 11% と極めて不良であり、若年者であれば第一寛解期から積極的に同種移植が選択されている。予後中間群では 5 年無病生存率 38% であり、化学療法のみ、自家末梢血幹細胞移植併用超大量化学療法、同種造血幹細胞移植の間で有意な差は認められていない。最近中間群に分類される正常核型の白血病が、FLT3、NPM1 遺伝子などの異常によってさらに層別化できることが報告されている<sup>4</sup>。第一寛解期を超えた進行例では、FAB 分類の M3 や、第一寛解期が長期間続いた例を除いて、同種移植が選択される<sup>5</sup>。

骨髄異形成症候群は、造血幹細胞の異常による疾患と考えられ、分化能を保持した異常造血幹細胞が増殖し、無効造血による血球減少や、未熟な芽球の増加（骨髄・末梢血中で 20% 未満）で特徴付けられる。高齢者に多い疾患で、罹患率は年間 10 万人に 3.5-4 人とされるが、70 歳以上では 15-50 人に増加する<sup>1</sup>。WHO 分類によると、血球減少による症状が主体となる RA、RARS、RCMD、RCMD-RS、5q-症候群と、さらに芽球の増加を認める RAEB-I、-II が含まれる。骨髄中の芽球割合は 20% 未満であり、それ以上であれば急性骨髄性白血病に分類される。2007 年に WHO 分類に準拠した予後予測スコア（WHO classification-based prognostic scoring system : WPSS）が提唱された。これは、WHO 分類、染色体核型、輸血依存性によって判定され、スコアが 3-4 点の high と 5-6 点の very high では生存期間中央値がそれぞれ 26 ヶ月、9 ヶ月と極めて不良である<sup>6</sup>。芽球が少なく血球減少が主体であれば、分化誘導剤、サイトカイン、免疫抑制剤などの治療が試みられるが<sup>7,8</sup>、奏効率は限られている。貧血・血小板減少への最も確実な方法は赤血球・血小板の輸血であるが、長期に及ぶ輸血はヘモクロマトーシスによる臓器障害や、抗 HLA 抗体などによる輸血不応状態を招きうる。RAEB-II や MDS から進展した AML など芽球が多いものに対しては、少量～通常量の化学療法が試みられる場合もあり、41-55% の寛解率が報告されているが、治癒は困難でありほぼ全例再発することが知られている<sup>9-11</sup>。

#### 2.1.2. 対象集団選択の根拠

予後不良群や再発した AML、MDS の WPSS スコアが high や very high、もしくは高度の輸血依存例では、若年患者であれば、同種造血幹細胞移植が実施されている。しかしながら、高齢者においては併存疾患の存在（comorbidity）や年齢による臓器機能低下があり、治療関連毒性が高くなるために、conventional な前治療の実施は困難で、その適応は限られていた<sup>12,13</sup>。近年、骨髄非破壊的移植前治療を用いた同種移植が広くなされるようになり、これによって高齢者や臓器障害などで骨髄破壊的移植前治療が行えなかった患者さんに対しても、同種移植が可能となってきた。

AML/MDS に対する造血幹細胞移植の成績は様々である。多くはプリン誘導体のフルダラビン（Flu）に、ブスルファンやメルファラン、全身放射線照射を組み合わせた移植前治療を用い、30-50% 程度の生存率と報告されている<sup>14-17</sup>。しかしながら、イスラエルのグループは、移植前治療の強度を減弱すると治療関連死亡（TRM）は減少するが再発率が高まることを報告しており、同種免疫反応のみが抗腫瘍効果を担う訳ではなく、移植前治療の強度の適正化が必要であることが示唆されている<sup>15</sup>。また、EBMT のグループも移植前治療の強度を減弱させることにより TRM は減少するものの、再発率が高まることにより全生存率に差が認められないことを報告している<sup>18</sup>。高齢者においては、治療の強度を上げることによる TRM は、若年者よりもかなり多くなることが予測され、その至適な移植前処置はいまだ確立していない。

ブスルファンは、血中濃度が効果発現と毒性に強く相関することが知られている<sup>19</sup>。経口製

剤を用いた場合、血中濃度を測定し AUC 900-1500 $\mu\text{mol min/l}$  の範囲が致死毒性を防ぎ、有効であることが報告されている<sup>20-23</sup>。静注ブスルファン製剤(ivBu)は、経口と比べて compliance の問題がなく、血中濃度も比較的均一であり、忍容性に勝る<sup>24-26</sup>。アメリカ MD アンダーソンがん研究所は 19-66 歳の患者を対象に ivBu 520mg/m<sup>2</sup> と Flu による移植前治療で、1 年 TRM が 3%、1 年全生存率が 65%と報告している<sup>27</sup>。カナダのグループも ivBu 12.8mg/kg を含む移植前治療を行い、45 歳を超える患者群でも低リスク患者では 5 年非再発死亡が 6%、5 年全生存率が 83%、高リスク患者ではそれぞれ 27%と 37%であったと報告している<sup>28</sup>。このように、欧米では高齢者を含む集団に骨髄破壊的容量の ivBu を含む移植前治療を実施し、TRM が低く抑えられ、良好な成績が得られる可能性を示している。

一方、国内においては、薬剤開発試験の対象者最高齢は 53 歳であったため<sup>24</sup>、ivBu の高齢者への投与の安全性の検討を目的とした JSCT 研究会による多施設共同臨床研究「高齢者造血器疾患に対するリン酸フルダラビンと静注ブスルファンによる移植前治療を用いた造血幹細胞移植の安全性と有効性の検討 (JSCT-FB09)」が行われた。これによると、臍帯血移植患者 16 名中 13 名で好中球回復を達成し、移植後 1 年の全生存率・無病生存率はそれぞれ 69%、63%と良好であった。また、付随研究として実施された「高齢者造血器疾患に対するリン酸フルダラビンと静注ブスルファンによる移植前治療を用いた造血幹細胞移植におけるブスルファンの血中濃度測定 (FB09-TDM)」によると、55 歳以上の高齢者でも若年者と遜色ない体内動態を示すことが示された<sup>29</sup>。引き続き実施された JSCT 研究会による「高齢者造血器疾患に対するリン酸フルダラビンと静注ブスルファンによる移植前治療を用いた臍帯血移植の有効性の検討 (JSCT-FB10-CB)」の中間解析では、42 名中 38 名で好中球回復を達成し、期待無イベント割合が 45%、閾値無イベント割合が 30%の設定で移植後 1 年の無イベント生存率は 43%と良好であった。しかしながら、累積再発率は FB09 では 24.5%、FB10-CB では 32%と依然高く、骨髄破壊的な静注ブスルファンでも腫瘍細胞のコントロールは不十分と考えられた。以上の FB09、FB10 試験の結果から、高齢者の難治性 AML・MDS に対して、fludarabine 180mg/m<sup>2</sup> + intravenous busulfan 12.8mg/kg +/- TBI が実施可能であること、及びさらに再発を抑制する方を追加する必要性が示された。

## 2.2. 対象疾患に対する標準治療

55 歳以上の難治性急性骨髄性白血病や骨髄異形成症候群に対する治療方法は確立していない。全身状態や臓器予備能が保たれている場合は、同種造血幹細胞移植が様々な移植前治療、GVHD 予防法を用いて成されている<sup>30-32</sup>。また、少量～通常量の抗がん剤治療から、輸血などの支持療法のみで経過を見られる場合もある<sup>10,33</sup>。

## 2.3. 治療計画の設定根拠

G-CSFを用いて、白血病細胞の化学療法感受性を高める試みは、複数の報告があるが、その効果は controversial である<sup>34-38</sup>。最近のヨーロッパのグループからの報告によると、初発の AML 患者の寛解導入療法に G-CSF 使用群 (456 名) と非使用群 (461 名) とに無作為割り付けして比較したところ、高用量の cytarabine を用いた患者群では有意に G-CSF 併用群で全生存率、無病生存率が良好であった<sup>39</sup>。また、石川らによると、ヒト白血病細胞を移植したキメラマウスにおいて、G-CSF の前治療 (priming) を行うことで、骨髄中の白血病幹細胞集団に対する cytarabine の効果を増強させることが示され、G-CSF の in vivo における priming 効果が科学的に裏付けられた<sup>40</sup>。さらに、fludarabine と Ara-C、G-CSF を組み合わせた FLAG レジメンは再発および難反応性急性骨髄性白血病に対する化学療法として、有効と報告されている。Fludarabine による Ara-C の活性代謝物質である ara-CTP の細胞内濃度を上昇させ、相乗効果が期待されている<sup>41</sup>。虎の門病院で fludarabine 180mg/m<sup>2</sup> + intravenous busulfan 12.8mg/kg + TBI に大量 cytarabine を併用した移植前治療を実施した 55-70 歳の AML、MDS の 21 名の患者の後方視的解析によると、移植後 100 日までの累積非再発死亡率は 9.5% と低く抑えられ、本治療法の認容性が示されている {未発表データ}。

以上のことから、抗腫瘍効果の増強を期待し、fludarabine + ivBu 12.8mg/kg に G-CSF 併用 Ara-C 療法を加え、高齢患者に対する安全性・有効性を検討することとした。65 歳までの比較的高齢者を含む患者に対する G-CSF 併用 Ara-C 療法の安全性は、PBSCT-AML protocol によって証明されている<sup>42</sup>。

## 2.4. 研究デザイン

本研究は、一群の患者群を追跡した有効性を検討するシングル・アーム研究である。

### 2.4.1. エンドポイント設定根拠

高齢者 AML/MDS の同種造血幹細胞移植成績は、移植前治療の適正化によって改善すると想定し、JSCT-FB09、JSCT-FB10 の結果を踏まえて G-CSF 併用 Ara-C 療法を、fludarabine + ivBu 12.8mg/kg に加えることの、高齢患者に対する安全性・有効性の評価を主目的とすることとした。

主要評価項目は、移植後 1 年時点での無イベント割合 とした。イベントの発生は移植後 1 年に集中することから、移植後 1 年でイベントを発生していない場合に成功とした。なお、下記をイベントと定義し、診断もしくは判断した日をイベント発生日とする。

- ① 生着不全
- ② 原疾患の血液学的再発
- ③ プロトコール以外の治療介入（化学療法、DLI）
- ④ 全ての理由による死亡

副次評価項目として、本治療法の有効性の指標として、移植後 100 日までの生着達成割合、移植後 100 日・1 年・2 年以内の非再発死亡割合、移植後 100 日・1 年・2 年までの再発割合、移植後 2 年の無イベント割合、移植後 1 年・2 年までの全生存割合、安全性の指標として、前治療開始日から移植後 100 日までの grade 3 以上の有害事象の発現状況、移植後 1 年以内の感染症発症割合、移植後 1 年・2 年までの急性・慢性 GVHD の発症割合・重症度を設定した。また、並行実施中の JSCT-FB13 PB/BM 登録症例との、移植幹細胞源別の上記評価項目のサブグループ解析を行うこととした。

### 2.4.2. 臨床仮説と登録症例数設定根拠

JSCT-FB09 の結果によると、16 名中 13 名で好中球回復を達成し、移植後 1 年の全生存率・無病生存率はそれぞれ 69%、63%であった<sup>29</sup>。虎の門病院で 2007 年 2 月～2010 年 3 月に Flu180mg/m<sup>2</sup>+ivBu6.4-12.8mg/kg+TBI or Mel を用いて臍帯血移植を行った 21-72 歳(中央値 59 歳)の症例 62 人の解析によると、48 名で好中球が回復し、累積好中球回復率は 77.4%、移植後 100 日と 2 年時点での非再発死亡率はそれぞれ 23.4%と 28.6%であった。2 年全生存率と無病生存率はそれぞれ 46.8%、32.1%であった（論文投稿中）。FB09 および虎の門病院の若年者を含めた報告を考慮し、閾値無イベント割合を 30%、期待無イベント割合を 50%に設定した。観察無イベント割合が閾値無イベント割合を越えなければ第三相試験に進むことはできないと判断する。期待無イベント割合を 50%として、有意水準  $\alpha=0.1$ 、検出力  $1-\beta=0.8$  を達成するための、必要症例数は 26 例となる。10%程度の脱落を考慮して、目標症例数を 29 例とする。

### 2.4.3. 患者集積見込み

JSCT-FB10 では 2010 年 9 月より症例登録を開始し、2013 年 1 月までの 2 年半で 55 例の臍帯血症例が登録された。本プロトコールでも同程度の症例登録があると想定すると、3 年間で 40 例程度の症例が集積可能と考えられる。そこで、目標症例数 29 例で、症例登録期間は 3 年間（2013 年 5 月 1 日～2016 年 4 月 30 日）とする。

## 2.5. 研究参加に伴って予想される利益と危険（不利益）の要約

### 2.5.1. 予想される利益

本研究で使用する移植前治療は、骨髄破壊の用量の busulfan を含む治療に G-CSF 併用 cytarabine を追加することで抗腫瘍効果が増強して再発率が低下することが期待される。研究参加患者の研究期間中の薬剤費を含む診療費はすべて患者の保険により支払われるため、日常診療に比して、患者が本研究に参加することで得られる特別な診療上、経済上の利益はない。ただし、移植前治療の G-CSF、GVHD 予防薬のセルセプトに関する費用は、JSCT 研究会の研究費によって支払われる。また、移植前後に実施を予定している保険収載されていない、抗

HLA 抗体検査、キメリズム検査は同研究会研究費によって支払われる。

#### 2.5.2. 予想される危険と不利益

本研究で使用する移植前治療は骨髄破壊的用量の busulfan を含む治療に G-CSF 併用 cytarabine が追加されており、従来行われてきた高齢者に対するミニ移植に比べ、治療関連毒性および TRM が増加する可能性がある。これらの有害事象のリスクや不利益を最小化するために、「5. 患者選択規準」、「7.4. 併用療法・支持療法」等がグループ内で慎重に検討されている。重篤な有害事象や予期されない有害事象が生じた場合には関連する諸規定に従って慎重に検討・審査され、必要な対策が講じられる体制が取られている。

#### 2.6. 本研究の意義

高齢者 AML/MDS に対する至適な移植前治療は未だ確立していない。G-CSF 併用 Ara-C 療法のリン酸フルダラビン  $180\text{mg}/\text{m}^2$  と静注ブスルファン  $12.8\text{mg}/\text{kg}$  という骨髄破壊的な移植前治療の高齢患者に対する有効性が明らかになれば、この年齢層の AML/MDS に対する同種移植療法の至適な移植前治療の一つとしてとして本レジメンを位置づけることができる。



### 3. 研究組織

#### 3.1. 研究代表者

九州大学医学部 病態修復内科学  
e-mail : akashi@med.kyushu-u.ac.jp

赤司 浩一

#### 3.2. 研究責任者

国家公務員共済組合連合会虎の門病院 血液内科  
e-mail : nuchida@toranomom.gr.jp

内田 直之

#### 3.3. プロトコール作成委員

北海道大学病院 血液内科  
北海道大学病院 血液内科  
秋田大学医学部附属病院 輸血部  
群馬県済生会前橋病院 白血病治療センター  
国家公務員共済組合連合会 虎の門病院 血液内科  
岐阜市民病院 血液内科  
大阪市立大学医学部附属病院 血液内科・造血細胞移植科  
兵庫県立がんセンター 血液内科  
岡山大学医学部歯学部附属病院 血液・腫瘍内科  
松山赤十字病院 内科  
九州大学病院 血液・腫瘍内科  
国家公務員共済組合連合会 浜の町病院 血液内科  
国立病院機構 熊本医療センター 血液内科

豊嶋 崇徳  
杉田 純一  
藤島 直仁  
佐倉 徹  
谷口 修一  
笠原 千嗣  
中前 博久  
村山 徹  
前田 嘉信  
藤崎 智明  
宮本 敏浩  
衛藤 徹也  
日高 道弘

#### 3.4. 生物統計担当

九州大学病院 ARO 次世代医療センター

岸本 淳司

#### 3.5. 効果安全性評価委員

藤沢市民病院 血液内科  
市立札幌病院 血液内科  
神戸大学医学部附属病院 腫瘍・血液内科

藤巻 克通  
山本 聡  
薬師神 公和

#### 3.6. 研究事務局

国家公務員共済組合連合会 虎の門病院 血液内科  
〒105-8470 東京都港区虎ノ門 2-2-2  
TEL : 03-3588-1111 FAX : 03-5114-5691  
内田 直之 e-mail : nuchida@toranomom.gr.jp

#### 3.7. データセンター

JSCT-FB13 データセンター  
〒104-0028 中央区八重洲 2-10-7  
TEL : 03-6225-2025、FAX : 0800-800-4855 又は 03-6225-2026  
e-mail : jsct-office@umin.ac.jp

#### 3.8. 研究支援組織

財団法人 地域医学研究基金

#### 4. 参考文献

1. Deschler B, Lubbert M. Acute myeloid leukemia: epidemiology and etiology. *Cancer*. 2006;107:2099-2107.
2. Ries LAG, Melbert D, Krapcho M, et al. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2004. Bethesda, MD; 2007.
3. Slovak ML, Kopecky KJ, Cassileth PA, et al. Karyotypic analysis predicts outcome of preremission and postremission therapy in adult acute myeloid leukemia: a Southwest Oncology Group/Eastern Cooperative Oncology Group Study. *Blood*. 2000;96:4075-4083.
4. Mrozek K, Marcucci G, Paschka P, Whitman SP, Bloomfield CD. Clinical relevance of mutations and gene-expression changes in adult acute myeloid leukemia with normal cytogenetics: are we ready for a prognostically prioritized molecular classification? *Blood*. 2007;109:431-448.
5. Gale RP, Horowitz MM, Rees JK, et al. Chemotherapy versus transplants for acute myelogenous leukemia in second remission. *Leukemia*. 1996;10:13-19.
6. Malcovati L, Germing U, Kuendgen A, et al. Time-dependent prognostic scoring system for predicting survival and leukemic evolution in myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol*. 2007;25:3503-3510.
7. Pinto A, Zagonel V. 5-Aza-2'-deoxycytidine (Decitabine) and 5-azacytidine in the treatment of acute myeloid leukemias and myelodysplastic syndromes: past, present and future trends. *Leukemia*. 1993;7 Suppl 1:51-60.
8. Shimamoto T, Tohyama K, Okamoto T, et al. Cyclosporin A therapy for patients with myelodysplastic syndrome: multicenter pilot studies in Japan. *Leuk Res*. 2003;27:783-788.
9. Wattel E, De Botton S, Luc Lai J, et al. Long-term follow-up of de novo myelodysplastic syndromes treated with intensive chemotherapy: incidence of long-term survivors and outcome of partial responders. *Br J Haematol*. 1997;98:983-991.
10. Estey EH. How I treat older patients with AML. *Blood*. 2000;96:1670-1673.
11. Kantarjian H, Beran M, Cortes J, et al. Long-term follow-up results of the combination of topotecan and cytarabine and other intensive chemotherapy regimens in myelodysplastic syndrome. *Cancer*. 2006;106:1099-1109.
12. Appelbaum FR. What is the impact of hematopoietic cell transplantation (HCT) for older adults with acute myeloid leukemia (AML)? *Best Pract Res Clin Haematol*. 2008;21:667-675.
13. Wallen H, Gooley TA, Deeg HJ, et al. Ablative allogeneic hematopoietic cell transplantation in adults 60 years of age and older. *J Clin Oncol*. 2005;23:3439-3446.
14. de Lima M, Anagnostopoulos A, Munsell M, et al. Nonablative versus reduced-intensity conditioning regimens in the treatment of acute myeloid leukemia and high-risk myelodysplastic syndrome: dose is relevant for long-term disease control after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*. 2004;104:865-872.
15. Shimoni A, Hardan I, Shem-Tov N, et al. Allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation in AML and MDS using myeloablative versus reduced-intensity conditioning: the role of dose intensity. *Leukemia*. 2006;20:322-328.
16. Ho AY, Pagliuca A, Kenyon M, et al. Reduced-intensity allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia with multilineage dysplasia using fludarabine, busulphan, and alemtuzumab (FBC) conditioning. *Blood*. 2004;104:1616-1623.
17. Kroger N, Bornhauser M, Ehninger G, et al. Allogeneic stem cell transplantation after a fludarabine/busulfan-based reduced-intensity conditioning in patients with myelodysplastic syndrome or secondary acute myeloid leukemia. *Ann Hematol*. 2003;82:336-342.
18. Lim Z, Brand R, Martino R, et al. Allogeneic Hematopoietic Stem-Cell Transplantation for Patients 50 Years or Older With Myelodysplastic Syndromes or Secondary Acute Myeloid Leukemia. *J Clin Oncol*. 2010;28:405-411.
19. Ciurea SO, Andersson BS. Busulfan in hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2009;15:523-536.
20. Dix SP, Wingard JR, Mullins RE, et al. Association of busulfan area under the curve with veno-occlusive disease following BMT. *Bone Marrow Transplant*. 1996;17:225-230.
21. Slattery JT, Sanders JE, Buckner CD, et al. Graft-rejection and toxicity following bone marrow transplantation in relation to busulfan pharmacokinetics. *Bone Marrow Transplant*. 1995;16:31-42.
22. Grochow LB. Busulfan disposition: the role of therapeutic monitoring in bone marrow transplantation induction regimens. *Semin Oncol*. 1993;20:18-25; quiz 26.
23. Andersson BS, Thall PF, Madden T, et al. Busulfan systemic exposure relative to regimen-related toxicity and acute graft-versus-host disease: defining a therapeutic window for i.v. BuCy2 in chronic myelogenous leukemia. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2002;8:477-485.

24. Takama H, Tanaka H, Nakashima D, Ueda R, Takaue Y. Population pharmacokinetics of intravenous busulfan in patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2006;37:345-351.
25. Ryu SG, Lee JH, Choi SJ, et al. Randomized comparison of four-times-daily versus once-daily intravenous busulfan in conditioning therapy for hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2007;13:1095-1105.
26. Bartelink IH, Bredius RG, Ververs TT, et al. Once-daily intravenous busulfan with therapeutic drug monitoring compared to conventional oral busulfan improves survival and engraftment in children undergoing allogeneic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2008;14:88-98.
27. de Lima M, Couriel D, Thall PF, et al. Once-daily intravenous busulfan and fludarabine: clinical and pharmacokinetic results of a myeloablative, reduced-toxicity conditioning regimen for allogeneic stem cell transplantation in AML and MDS. *Blood.* 2004;104:857-864.
28. Russell JA, Duan Q, Chaudhry MA, et al. Transplantation from matched siblings using once-daily intravenous busulfan/fludarabine with thymoglobulin: a myeloablative regimen with low nonrelapse mortality in all but older patients with high-risk disease. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2008;14:888-895.
29. Uchida N, Hidaka M, Sakura T, et al. "Prospective Multicenter Phase II Study of Myeloablative Conditioning Consisted of Intravenous Busulfan and Fludarabine +/- Total Body Irradiation for Older Patients (55 Years and Older): Interim Analysis of the JSCT FB09 Study" 16th Congress of APBMT (Sydney, Australia)
30. Bertz H, Potthoff K, Finke J. Allogeneic stem-cell transplantation from related and unrelated donors in older patients with myeloid leukemia. *J Clin Oncol.* 2003;21:1480-1484.
31. Valcarcel D, Martino R, Caballero D, et al. Sustained remissions of high-risk acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome after reduced-intensity conditioning allogeneic hematopoietic transplantation: chronic graft-versus-host disease is the strongest factor improving survival. *J Clin Oncol.* 2008;26:577-584.
32. Estey E, de Lima M, Tibes R, et al. Prospective feasibility analysis of reduced-intensity conditioning (RIC) regimens for hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) in elderly patients with acute myeloid leukemia (AML) and high-risk myelodysplastic syndrome (MDS). *Blood.* 2007;109:1395-1400.
33. Hiddemann W, Kern W, Schoch C, et al. Management of acute myeloid leukemia in elderly patients. *J Clin Oncol.* 1999;17:3569-3576.
34. Ossenkoppele GJ, van der Holt B, Verhoef GE, et al. A randomized study of granulocyte colony-stimulating factor applied during and after chemotherapy in patients with poor risk myelodysplastic syndromes: a report from the HOVON Cooperative Group. Dutch-Belgian Hemato-Oncology Cooperative Group. *Leukemia.* 1999;13(8):1207-1213.
35. Ohno R, Naoe T, Kanamaru A, et al. A doubleblind controlled study of granulocyte colony-stimulating factor started two days before induction chemotherapy in refractory acute myeloid leukemia: Kohseisho Leukemia Study Group. *Blood.* 1994;83(8):2086-2092.
36. Estey EH, Thall PF, Pierce S, et al. Randomized phase II study of fludarabine + cytosine arabinoside + idarubicin +/- all-trans retinoic acid +/- granulocyte colony-stimulating factor in poor prognosis newly diagnosed acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome. *Blood.* 1999; 93(8):2478-2484.
37. Lowenberg B, van Putten W, Theobald M, et al. Effect of priming with granulocyte colony-stimulating factor on the outcome of chemotherapy for acute myeloid leukemia. *N Engl J Med.* 2003;349(8):743-752.
38. Pabst T, Vellenga E, van Putten W, et al. Favorable effect of priming with granulocyte colony-stimulating factor in remission induction of acute myeloid leukemia restricted to dose escalation of cytarabine. *Blood.* 2012;119(23):5367-5373.
39. Pabst T, Vellenga E, van Putten W, et al. Favorable effect of priming with granulocyte colony-stimulating factor in remission induction of acute myeloid leukemia restricted to dose escalation of cytarabine. *Blood.* 2012;119(23):5367-5373
40. Saito, Ishikawa, et al. Induction of cell cycle entry eliminates human leukemia stem cells in a mouse model of AML. *Nat Biotech* 2010.28(3):275-80.
41. Ossenkoppele GJ, Graveland WJ, Sonneveld P, et al, for the Dutch-Belgian Hemato-Oncology Cooperative Group (HOVON). The value of fludarabine in addition to ARA-C and G-CSF in the treatment of patients with high-risk myelodysplastic syndromes and AML in elderly patients. *Blood.* 2004;103:2908-2913.
42. Kawano F, Kiyokawa T, et al. An Early Phase II Study of Autologous Peripheral Blood Stem Cell Transplantation for Acute Myelogenous Leukemia in First Remission. *Jpn J Clin Hematol* 40(10):1051-1057, 1999.