

厚生科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）
分担研究報告書

造血幹細胞移植後の perforin 陽性リンパ球の動態

分担研究者 小島 勢二 名古屋大学 小児科・成長発達医学 教授

研究要旨

造血細胞移植後の 11 例について末梢血各リンパ球分画における細胞内 perforin の発現を経時的に測定したところ、ウイルス感染症や慢性 GVHD の罹患時に発現の増加が観察された。ウイルス感染細胞の除去や慢性 GVHD にみられる細胞障害メカニズムとして perforin/granzyme 系の関与が示唆された。

<p>A. 研究目的 急性あるいは慢性 GVHD における細胞障害メカニズムや移植後のウイルス感染細胞の除去に perforin/granzyme 系が関与しているかを明らかにする。</p> <p>B. 研究方法 対象は当科で同種移植を移行した 11 例の小児である。疾患は再生不良性貧血 6 例、慢性骨髄性白血病 2 例、急性白血病 2 例、ランゲルハンスヒスチオサイトーシス 1 例である。幹細胞ソースは 9 例が骨髄、2 例が臍帯血で、移植ドナーの 8 例は非血縁者、3 例は HLA 一致血縁者であった。フローサイトメトリーを用いて経時的に CD4, CD8, CD56 リンパ球における細胞内 perforin の発現を測定した。検体の採取にあたっては、患者およびその家族からの同意を得ておこなった。</p> <p>C. 研究結果</p> <ol style="list-style-type: none">健康人においては CD4 リンパ球における perforin の発現はみられず、CD8, CD56 リンパ球においては年齢とともに perforin 発現率が高くなった。すべての症例において移植後早期から CD8 リンパ球の perforin 発現率の増加がみられた。EBV の再活性化がみられた症例において、perforin 陽性 CD4, CD8 リンパ球の増加がみられた。慢性 GVHD 発症時に 5 例中 3 例で perforin 陽性 CD4, CD8 リンパ球の増加を認めた。	<p>5. 考案 perforin/ granzyme 系は、Fas/Fas-ligand TNFα/TNF-αR 系とともに重要な細胞障害メカニズムである。これまでのマウスによる実験では、造血細胞移植後の GVHD に perforin の関与が報告されているが、ヒトについて不明である。今回一部の患者ではあるが、ウイルス感染症や慢性 GVHD の罹患時に perforin 陽性リンパ球の増加がみられたことから、ウイルス感染細胞の除去や慢性 GVHD の病態に perforin/granzyme 系が関与している可能性が示唆された。</p> <p>6. 結論 造血細胞移植後の perforin 陽性リンパ球のモニタリングは慢性 GVHD の病態の解明に有用と考えられた。</p> <p>7. 研究発表</p> <ol style="list-style-type: none">論文発表 Yoshimi A, et al. Epstein-Barr virus specific T-cell cytotoxicity is mediated through the perforin pathway in patients with lymphoproliferative disorders after allogeneic bone marrow transplantation. Br J Haematol 2002/Mar;116:710-5.学会発表 吉見礼美他. 造血幹細胞移植後の perforin 陽性リンパ球の動態、第 43 回日本臨床血液学会総会、2001 年 11 月 13 日、神戸。知的所有権の取得状況<ul style="list-style-type: none">● 特許取得—なし● 実用新案登録—なし● その他—なし
---	---

厚生科学研究補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）
「造血細胞の自己修復能力、再生能力を利用した治療法の開発と普及に関する研究班」
分担研究報告書

非血縁者間の同種末梢血幹細胞移植実施のための基盤整備

分担研究者	原田実根	九州大学大学院医学研究院病態修復内科
	権藤久司	九州大学医学部第一内科講師
	下田和哉	// 助手
	長藤宏治	// 助手
	宮本敏浩	// 助手

研究要旨：非血縁者間同種末梢血幹細胞移植（PBSCT）実施のための基盤整備を目的として、同種骨髄移植（BMT）と同種 PBSCT の前方視的無作為化比較試験（第Ⅲ相臨床試験）を計画した。対象は同種造血幹細胞移植が適応とされる成人白血病症例で、ドナーは HLA 一致同胞とし、主たる評価項目は time-to-event 解析による無病生存期間及び全生存期間、副次的評価項目は急性及び慢性 GVHD の頻度と重症度、移植後 100 日以内の全死亡および非再発期死亡とする。本研究によって、同種 BMT に比べて同種 PBSCT の有利な点、不利な点が明らかになり、非血縁ドナー同種 PBSCT 実施に向けた基盤データの集積が期待される

A. 研究目的

造血幹細胞移植は造血幹細胞の採取源やドナーの違いによって多様化しているが、日本骨髄バンクを介する非血縁ドナー骨髄移植（unrelated donor bone marrow transplantation, UD-BMT）は、白血病などの造血器腫瘍に対する治療法として既に確立されている従来の血縁ドナー骨髄移植（related donor BMT, RD-BMT）と同程度の長期生存率が得られ、治癒的治療法として確立されつつある。一方、自己末梢血幹細胞移植（peripheral blood stem cell transplantation, PBSCT）は、従来の自家骨髄移植に比べて、1) 移植後の好中球や血小板の生着が極めて速やかである、2) 造血幹細胞採取に全身麻酔を必要としない、など有利な点が指摘され、ほぼ 100% 自家骨髄移植にとって替わっている。この有利な点を考慮して、同種 PBSCT も積極的な臨床応用が行われ、同種 BMT の代替法として急速に普及しており、期待できる成績が得られつつある。そこで、次に検

討すべきものとして、非血縁ドナーからの PBSCT が最重要課題として考えられ、既に欧米では臨床応用が開始されている。したがって、同種 BMT と同種 PBSCT を比較検討し、それぞれ有利な点、不利な点を明らかにし、それぞれの適応を明確にしていく必要がある。この比較検討によってエビデンスを得るためには、前方視的無作為化比較臨床試験（第Ⅲ相臨床研究）が不可欠である。また、同種 BMT 及び同種 PBSCT の成績を向上させるための検討もさらに必要である。

B 研究方法

同種 BMT と同種 PBSCT の臨床第Ⅲ相非盲検無作為割付比較試験

1. 目的：同種造血幹細胞移植を受ける患者及びドナーを対象に無病生存率、全生存率、急性 GVHD 及び慢性 GVHD の頻度と重症度を主要評価項目として、同種造血幹細胞移植が適応とされる成人白血

病症例を対象に HLA 一致同胞をドナーとする同種 BMT と同種 PBSCT の有効性と安全性を比較する。

2. 被験者：HLA 一致血縁者間同種造血幹細胞移植のドナーおよびレシピエント。レシピエントの選択基準は、1) 同種 BMT が適応になる急性骨髄性白血病、急性リンパ性白血病、慢性骨髄性白血病の患者で病期は問わない、2) 年齢が 15 歳以上かつ 50 歳以下で移植の支障となる臓器障害がない、3) 年齢が 10 歳以上かつ 66 歳未満の HLA 一致同胞ドナーの選択基準は、1) HLA 一致の同胞、2) 年齢 10 歳以上 66 歳未満の者、3) ドナー又は代諾者が骨髄採取または G-CSF 投与後のアフエレーシスのいずれかに無作為に割り付けられることに文書による同意が得られていること、4) 全身麻酔下の骨髄採取および G-CSF 後のアフエレーシスを施行することに支障となる障害を有さないこと、である。

3. 被験者の登録と無作為化の方法：中央割付方式による無作為化（ランダム化）を行い、原疾患の再発や治療関連死に与える影響を考慮し、原疾患の再発リスクおよび年齢を層とした層別化を行う。

4. 治療計画：ドナー及びレシピエントの両者から同意を得た後、登録被験者は骨髄移植群(BMT 群)または末梢血幹細胞移植群(PBSCT 群)に無作為に割り付ける。移植前治療としては BU/CY もしくは CY/TBI レジメンを用いることを原則とする。その他の治療法を用いる場合には引用可能な論文として公表されている、骨髄破壊的治療を行うこととする。

1) PBSCT 群：ドナーに G-CSF を $10 \mu\text{s}/\text{kg}$ もしくは $400 \mu\text{s}/\text{m}^2$ を 1 日 1 回あるいは 2 回に分割して連続 4-6 日間皮下投与し、4-6 日目に 1-2 日間末梢血幹細胞をアフエレーシスで採取し、レシピエントに輸注する。移植に必要な CD34 陽性細胞数はレシピエント体重

当たり $2 \times 10^6/\text{kg}$ 以上を目標とする。

2) BMT 群：ドナーから全身麻酔下に骨髄穿刺を行い骨髄液を採取し、レシピエントに輸注する。移植に必要な有核細胞数はレシピエント体重当たり $2 \times 10^8/\text{kg}$ 以上を目標とする。

移植後の免疫抑制は cyclosporine + 短期 methotrexate の統一したレジメンで実施する。

5. 評価項目

1) 主たる評価項目：time-to-event 解析による無病生存期間（leukemia-free survival）及び全生存期間（overall survival）

2) 副次的評価項目：①急性 GVHD の頻度と重症度、②慢性 GVHD の頻度と重症度、③移植後 100 日以内の全死亡（day 100 mortality）及び非再発期死亡（treatment-related mortality）

6. 目標症例数：以下の設定根拠により登録期間 2 年間で 1 群 170 例、全 340 例を目標とし、最終症例の登録後 2 年間の追跡観察を行うこととする。尚、以下の設定根拠に用いた変数の不確実性と、研究全体の安全性、倫理性を考慮し、200 症例目が 6 ヶ月の観察を終了した時点で中間解析を実施する。この時、両群の overall survival に差がないとする帰無仮説を検定し、これが棄却された場合、本研究の症例登録は中止とする。

7. 研究実施期間：2 年間。最終登録症例の移植後 100 日間が経過した時点で副次的評価項目に関する最終解析を行う。最終症例登録後 2 年間の追跡評価を行い、主たる評価項目についての最終解析を行う。

C. 研究結果

「成人白血病に対する HLA 一致同胞ドナーからの同種 BMT と同種 PBSCT の臨床第 III 相非盲検無作為割付比較試験（phase III ; confirmatory study）」の試験実施計画書の策定をほぼ終了し、症例報告書（CRF）もほぼ完成する。本試験計画に

先立って国内 58 施設を対象にアンケートを実施した。その結果、本試験に参加可能施設のうち、2000 年度に 5 例以上白血病患者に対して同種造血幹細胞移植を実施している施設において、2000 年度に白血病患者に対して施行された HLA 一致同胞からの同種 BMT は 20 施設、225 例であり、同種 PBSCT については 15 施設、111 例であった。これら 336 例の移植例のうち、ドナー及び患者が適格基準を満たし、なおかつランダム化に関する同意が得られる率を 50% と予想すると、年間 160-170 例の登録が見込まれる。したがって、登録期間を 2 年間とすると、2 年間で 320-340 例程度の症例報告が期待される。

シアトルで実施された多数例の無作為化比較試験 (Bensinger WI, et al. N Engl J Med 344:175-181,2001)、白血病患者の 2 年生存期待率は同種 PBSCT 群 66% に対し、同種骨髄移植では 54% (hazard ratio 1.61; confidence interval 0.98-2.63) であり、無病生存 (DFS) はそれぞれ 65% 対 45% (hazard ratio 1.67; confidence interval 1.05-2.63) であった。これらの結果から本試験では time-to-event analysis において two-tailed $\alpha=0.05$ 、 $\beta=0.2$ として hazard ratio = 1.6-1.7 の差を検出できる症例数を設定することとした。本邦における HLA 一致同胞間の同種骨髄移植による 2 年生存率を 60% と仮定すると、hazard ratio = 1.6-1.7 となる同種末梢血幹細胞移植の 2 年生存率は 72.7-74.0% に相当する。また、同様に同種骨髄移植群の 2 年無病生存割合が 50% とすると、同種末梢血幹細胞移植群では 64.8-66.5% に相当する。これらの推定から、症例登録期間を 2 年間とし、最終症例の登録後 2 年間観察を行うと、必要症例数は全生存で 1 群 131-161 例、DFS で 106-132 例と計算される。実際には、これらの推定値に脱落症例や解析不能例を 10% 程度上乘せした症例数が必要とされる。そこで、本試験計画書では、主たる評価項目には time-to-event 解析による無病生存期間および全生存期間、

副次的評価項目は急性 GVHD と慢性 GVHD の頻度と重要度及び移植後 100 日以内の全死亡及び移植に関連した非再発死亡とすることにした。目標症例数は登録期間 2 年で 1 群 170 例、全 340 例を目標と設定した。

D. 考察

同種 PBSCT は、2000 年 4 月の保険適用以来急速に普及し、1 ヶ月で 50-60 例、1 年で 600 例以上に実施され、2002 年 3 月までに 1,300 例以上に実施されるものと予想されている。一方、UD-BMT も既に 3,000 例以上に実施され、その成績も血縁ドナー BMT と遜色無いことが明らかにされており、白血病に対する有力な治療法と位置づけられている。このように、同種 BMT (1 年間 400-500 例) よりも同種 PBSCT がより多く実施されているが、同種 PBSCT が同種 BMT に比べて、有利な点、不利な点はまだ充分明らかにされていない。したがって、同種 BMT と同種 PBSCT の prospective randomized study は極めて重要な意義を有し、その成績は非血縁ドナー PBSCT を実行可能にするためにも不可欠な判断根拠となりうる。

これまで欧米で行われた同種 BMT と同種 PBSCT の無作為化比較試験では、同種 PBSCT における速やかな生着については一致した結果が得られているが、急性及び慢性 GVHD の頻度や重症度については一致した成績は得られていない。欧米の成績を日本のケースに当てはめる場合、生着のスピードは遺伝的、生理学的に人種的差の影響を受けにくいと考えられ、このことを否定する報告はない。一方、同種免疫反応である GVHD の頻度や重症度には人種的差の影響があることは明白であり、欧米人で得られたデータの外挿可能性は低い。特に急性 GVHD の頻度については海外データにおいても結論が出たとは言い難く、適切な対象を置き、よく管理された臨床試験がわが国においても必要である。また、移植片拒絶、移植細胞数の影響、造血能・免疫能の長期維持、小児患者における有用性、費用

対効果など同種PBSCTに関してはまだ充分明らかにはされていない。

E. 結論

本研究は、造血幹細胞領域では本邦における最大規模の臨床試験のひとつであり、この領域における臨床研究体制の確立につながり、さらにアジア地域における幹細胞ソース選択のための科学的エビデンス作りとなる。そして、非血縁ドナーからの同種PBSCT実施に向けた基礎データが蓄積される。

F. 健康危険情報

同種末梢血幹細胞ドナーに関わる有害事象につき海外情報をも含めた文献学的検討を行った結果、海外において少なくとも8例の死亡事例が存在することが明らかになった。ドナーはいずれも有病者であり、肉親を救うためドナーになったものと思われ、同種造血細胞移植ドナーは健常者でなければならないという原則を逸脱したものであった。わが国で行われた同種PBSCTのためのドナー登録では、2000年4月から2001年3月までの間に登録された約1,300人のドナーには生命予後に関わるような有害事象は報告されていない。欧米における死亡例については、2001年2月に、日本造血細胞移植学会から全国約1,200の同種末梢血幹細胞移植実施施設（含実施予定施設）に緊急安全情報として通知された。日本骨髄移植バンクを介する非血縁者間骨髄移植においては、全身麻酔下での骨髄採取を受けるボランティアドナーの安全性確保が十分考慮され、定期的な安全基準の見直しやドナーのフォローアップ体制が整備されている。同種末梢血幹細胞移植のための末梢血幹細胞の動員・採取を受ける健常人ドナーは比較的高用量のG-CSF投与や大量の血液体外循環によるアフェレーシスが必要であり、安全確保のために日本造血細胞移植学会と日本輸血学会により示されているガイドラインを遵守する。臨床試験の実施に当たっては、研究班のプロトコルを各施設倫理委員会で承認

を受けた後、患者、ドナーに文書で同意を得た上で実施する。

1. 研究発表 論文発表

1. Segawa Y, Ueoka H, Kiura K, Kamei H, Tabata M, Sakae K, Kawahara S, Eguchi S, Harada M for the Okayama Lung Cancer Study Group : A phase II study of cisplatin and 5-fluorouracil with concurrent hyperfractionated thoracic radiation for locally advanced non-small-cell lung cancer : a preliminary report from the Okayama Lung Cancer Study Group. *Br J Cancer* 82:104-111,2000
2. Iwasaki H, Shimoda K, Okamura S, Otsuka T, Nagafuji K, Harada N, Ohno Y, Miyamoto T, Akashi K, Harada M, Niho Y : Production of soluble granulocyte colony stimulating factor receptors from myelomonocytic leukemia. *J Immunol* 163:6907-6911,1999
3. Ueoka T, Hiraki A, Fujimoto N, Kunisada K, Hiraki Y, Sakae K, Hiraki S, Harada M : Successful treatment of brain metastasis developing after prophylactic cranial irradiation in patients with small-cell lung cancer by low-dose whole brain irradiation plus intra-arterial infusion of cisplatin. *Cancer Research, Therapy & Control* 10:227-233,1999
4. Mimoto J, Kiura K, Matsuo K, Yoshino T, Takata I, Ueoka H, Kataoka M, Harada M : (-)-Epigallocatechin gallate can prevent cisplatin-induced lung tumorigenesis in A/J mice. *Carcinogenesis* 21:915-919,2000
5. Kaji Y, Ikeda K, Ikeda T, Kawakami K, Sasaki K, Shindo M, Hatake K, Harada M, Motoyoshi K, Mori S, Takahara J : IL-4, but not vitamin D3 induces monoblastic cell line UG3 to differentiate into multilobulated

- giant cells on osteoclast lineage. *J Cell Physiol* 182:214-221,2000
6. Bessho A, Tabata M, Kiura K, Takata I, Nagata T, Fujimoto N, Kunisada K, Ueoka H, Harada M : Detection of occult tumor cells in peripheral blood from patients with small cell lung cancer by reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *Anticancer Res* 20:1149-1154,2000
 7. Nawa Y, Teshima T, Sunami K, Hiramatsu Y, Maeda Y, Yano T, Shinagawa K, Ishimaru F, Omoto E, Harada M : G-CSF reduces IFN- γ and IL-4 production by T cells after allogeneic stimulation by indirectly modulating monocyte function. *Bone Marrow Transplant* 25:1041-1046,2000
 8. Yano T, Katayama Y, Sunami K, Ishimaru F, Shinagawa K, Ikeda K, Omoto E, Niiya K, Harada M : Granulocyte colony-stimulating factor and lineage independent modulation of VLA-4 expression on circulating CD34⁺ cells. *Int J Hematol* 71:328-333,2000
 9. Nakase K, Ishimaru F, Aritahl N, Dansako H, Matsuo K, Fujii K, Sezaki N, Nakayama H, Yano T, Fukuda S, Imajoh K, Takeuchi M, Miyata A, Hara M, Yasukawa M, Takahashi I, Taguchi H, Matsue K, Nakao S, Niho Y, Takenaka K, Shinagawa K, Ikeda K, Niiya K, Harada M : Dominant negative isoform of the Ikaros gene in patients with adult B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Res* 60:4062-4065,2000
 10. Takenaka K, Harada M, Fujisaki T, Nagafuji K, Mizuno S, Miyamoto T, Otsuka T, Gondo H, Okamura T, Niho Y : Human thymic epithelial cells maintain long-term survival of clonogenic myeloid and erythroid progenitor cells in vitro. *Br J Haematol* 110:1-9,2000
 11. Akashi K, Eto T, Shibuya T, Shimoda K, Harada M, Niho Y : Aclarubicin induces differentiation of leukemic progenitors in myelodyst plastic syndrome cooperating with granulocyte colony-stimulating factor. *Leuk Res* 24:243-248,2000
 12. Nakayama H, Ishimaru F, Katayama Y, Nakase K, Sezaki N, Takenaka K, Shinagawa K, Ikeda K, Niiya K, Harada M : Ikaros expression in human hematopoietic lineages. *Exp Hematol* 28:1232-1238,2000
 13. Matsuo K, Hamajima N, Morishima Y, Harada M : Hospital Capacity and post-transplant survival after allogeneic bone marrow transplantation: analysis of data from the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. *Bone Marrow Transplant* 26:1061-1067,2000
 14. Takenaka K, Shinagawa K, Sunami K, Fujii N, Hiramatsu Y, Maeda Y, Nawa Y, Katayama Y, Teshima T, Ishimaru F, Kiura K, Ikeda K, Harada M : Allogeneic peripheral blood stem cell transplantation in 23 adult patients with hematologic malignancies: A single-center experience. *Int J Hematol* 72:362-370,2000
 15. Noguchi T, Ikeda K, Yamamoto K, Yoshida I, Ashiba A, Tsuchiyama J, Shinagawa K, Yoshino T, Takata M, Harada M : Antisense oligodeoxynucleotides to latent membrane protein 1 induce growth inhibition, apoptosis and Bcl-2 suppression in Epstein-Barr virus (EBV)-positive natural killer cell lymphoma cells. *Br J Hematol* 114:84-92, 2001
 16. Ueoka H, Tanimoto M, Kiura K, Tabata M, Takigawa N, Segawa Y, Takata I, Eguchi K, Okimoto N,

- Harita S, Kamei H, Shibayama T, Watanabe Y, Hiraki S, Harada M : Fractionated administration of irinotecan and cisplatin for treatment of non-small-cell lung cancer : a phase II study of Okayama Lung Cancer Study Group Br J Cancer 85:9-13, 2001
17. Sunami K, Teshima T, Nawa Y, Hiramatsu Y, Maeda Y, Takenaka K, Shinagawa K, Ishimaru F, Ikeda K, Niiya K, Harada M : Administration of granulocyte colony-stimulating factor induces hyporesponsiveness to lipopoly saccharide and impairs antigen-presenting function of peripheral blood monocytes. Exp Hematol 29:1117-1124, 2001
18. Hiraki A, Ikeda K, Yoshino T, Kaneshige T, Kiura K, Kunisada T, Fujiwara K, Tanimoto M, Harada M : Tumor-specific cytotoxic T lymphocyte responses against chondrosarcoma with HLA haplotype loss restricted by the remaining HLA class allele Bioch Biophys Res Comm 286:786-791, 2001
19. Honda K, Takenaka K, Shinagawa K, Ishimaru F, Ikeda K, Niiya K, Harada M : Synergistic effects of pegylated recombinant human megakaryocyte growth and development factor and granulocyte colony-stimulating factor on mobilization of hematopoietic progenitor and stem cells with long-term repopulating ability into peripheral blood in mice. Bone Marrow Transplant 28:329-334, 2001
20. Uno M, Tsutiyama J, Moriwaki K, Noguchi T, Mizoguchi K, Ogino T, Yoshino S, Okada S, Harada M : In vitro induction of apoptosis for nasal angiocentric NK cell lymphomaderived cell line, NK-YS by etoposide and cyclosporine A. Br J Haematol 113:1009-1014, 2001
21. Mannami T, Yoshino T, Oshima K, Takase S, Kondo E, Ohara N, Nakagawa H, Ohtsuki H, Harada M, Akagi H : Clinical, histopathological and immunogenetic analysis of ocular adnexal lymphoproliferative disorders : characterization of malt lymphoma and reactive lymphoid hyperplasia. Mod Pathol 14 : 641-649, 2001
22. Shimoda K, Tsutui H, Aoki K, Kato K, Matsuda T, Numata A, Takase K, Yamamoto T, Mukina H, Hoshino T, Asano Y, Gondo H, Okamura T, Okamura S, Nakayama K, Nakanishi K, Niho Y, Harada M : Partial impairment of IL-12 and IL-18 signaling in Tyk2-deficient mice. Blood 99:2094-2099, 2002
23. Katayama Y, Miyamoto K, Takenaka K, Imajyo K, Shinagawa K, Harada M : Chromosome analysis after ex vivo expansion of CD34⁺ Cells from human cord blood. Cancer GenetCytogen 125:161-162, 2001
2. 学会発表
- 1) 森 慎一郎、原田実根 : 同種 PBSCT の現況 : 骨髄移植との比較も含めて. 第43回日本臨床血液学会 2001年11月
- 2) 亀崎健次郎、大野裕樹、稲葉頌一、高瀬 謙、青木健一、加藤光次、沼田晃彦、下田和哉、権藤久司、岡村 孝、原田実根 : 難治性血液悪性疾患に対する CD34 陽性同種末梢血幹細胞移植の検討 第43回日本臨床血液学会 2001年11月
- 3) 青木健一、下田和哉、加藤光次、沼田晃彦、高瀬 謙、亀崎健次郎、浅野嘉延、権藤久司、岡村 孝、原田実根 : IL-12, IL-18 シグナル伝達における tyk2 の機能. 第43回日本臨床血液学会 2001年11月

- 4) 沼田晃彦、下田和哉、加藤光次、青木健一、西山宇一、高瀬 謙、亀崎健次郎、浅野嘉延、権藤久司、岡村 孝、原田実根：Tyk2 の造血サイトカインシグナル伝達に果たす役割 第 43 回日本臨床血液学会 2001 年 11 月
- 5) 今村理恵、小林慎治、加藤光次、青木健一、飯野忠史、下田和哉、権藤久司、岡村 孝、原田実根：自己末梢血幹細胞移植併用大量化学療法後に多関節炎を発症した非ホジキンリンパ腫 第 43 回日本臨床血液学会 2001 年 11 月
- 6) 権藤久司、原田実根：ヒトにおける同種造血幹細胞移植の現状と問題点 第 24 回日本造血細胞移植学会 2001 年 12 月

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし

同種骨髄並びに末梢血幹細胞ドナーの安全性の比較に関する研究 (中間報告)

(財) 骨髄移植推進財団末梢血幹細胞移植検討
開始判断に関する小委員会
実施方法に関する小委員会

日本造血細胞移植学会同種 PBSCT 小委員会

厚生科学研究ヒトゲノム・再生医療等研究事業
「造血細胞移植の自己修復能力、再生能力を
利用した治療法の開発と普及に関する研究」班

同種末梢血幹細胞移植を非血縁者間移植に応用するための基盤整備に関する研究の一環として、日本造血細胞移植学会から貸与された血縁者同種末梢血幹細胞ドナーの安全性に関する全国登録データと、骨髄移植推進財団から貸与された非血縁者ボランティアドナーのそれとを比較した。対象は、末梢血幹細胞ドナーにおいては、平成 12 年度に血縁患者のため末梢血幹細胞を提供した 683 名の内、非血縁ボランティアドナーの年齢基準 20 歳から 50 歳内にある 287 名であり、骨髄ドナーにおいては同時期に骨髄移植推進財団を介して骨髄提供をされたボランティアドナー 869 名である。報告書中に記載されているごとき項目についてそれぞれの手技における有害事象の実数と頻度とを比較した。同じ造血幹細胞を得るための両手技の特徴が大きく隔たっているので安全性の比較はなかなか困難であったが、有意差は無いというのが中間的な結論であった。現在対象を 13 年度採取例にまで拡大し検討を継続中である。

(附：研究担当者名)

(財) 骨髄移植推進財団末梢血幹細胞移植検討
開始判断に関する小委員会：
三田村真、伊藤克己、笠井正晴、清水透、福島雅典、星順隆、堀川日出輝

実施方法に関する小委員会：
土田昌広、加藤俊一、藤岡八重子、原田実根、塩原信太郎、酒井照子

日本造血細胞移植学会同種 PBSCT 小委員会：
小寺良尚、原田実根、中畑龍俊、森島泰雄、加藤俊一、谷本光音、浜島信之、
土肥博雄、塩原信太郎、浅野茂隆、池田康夫

厚生科学研究「造血細胞移植の自己修復能力、再生能力を利用した治療法の開発と普及に
関する研究」班：
小寺良尚（主任研究者）

骨髓提供ドナーの有害事象発現集計表

記載日 2001年11月30日

末梢血幹細胞採取 (N=287件)
(12年 4月~13年 3月)

骨髓採取 (N=869件)
(12年 4月~13年 6月)

■前処置

	【G-CSFの投与】		【自己血貯血】	
有	<u>287人</u>	(100%)	有	<u>784人</u> (90%)
無	<u>0人</u>	(0%)	無	<u>85人</u> (10%)
	【有害事象】			
有	<u>256人</u>	(89.2%)	有	<u>データ無</u>
無	<u>31人</u>	(10.8%)	無	<u>データ無</u>

■採取

	【体外循環：麻酔なし】		【骨髓採取：全身麻酔あり】	
	【有害事象】			
	【前処置中】			
有	<u>1人</u>	(0.3%)		
無	<u>286人</u>	(99.7%)		
	【採取中】			
有	<u>85人</u>	(33.1%)	有	<u>56人</u> (6%)
無	<u>202人</u>	(66.9%)	無	<u>813人</u> (94%)

■処置後（採取後）・退院後

【入院期間】 0 ~ 17 日間 3 ~ 25 日間
(中央値 7 日間) (N=285) (中央値 4 日間) (N=865)

■遅延性有害事象

【1週間後】

有	<u>122人</u>		有	<u>295人</u>	(37%)
無	<u>96人</u>		無	<u>506人</u>	(63%)

【2週間後】

有	<u>96人</u>		有	<u>98人</u>	(11%)
無	<u>91人</u>		無	<u>703人</u>	(89%)

【1ヵ月後】

有	<u>43人</u>		有	<u>20人</u>	(2%)
無	<u>47人</u>		無	<u>781人</u>	(98%)

骨髓提供ドナーの有害事象発現集計表

末梢血幹細胞採取
(N=287件)

骨髓採取
(N=869件)

■重篤な有害事象

【重篤な有害事象の内容】

1. 死亡	0 人 (0%)	0 人 (0%)
2. 死亡につながる恐れのあるもの	0 人 (0%)	1 人 (0. 1%)
3. 治療のための入院または、 入院期間の延長を必要とするもの	6 人 (1. 0%)	8 人 (0. 9%)
4. 永続的または顕著な傷害・機能不全 に陥るもの	0 人 (0%)	0 人 (0%)
5. 先天異常をきたすもの	0 人 (0%)	0 人 (0%)

PBSCT 重篤な有害事象

有害事象	登録番号	性別	年齢	G-CSF 投与方法	発現日	転帰/ 処置
腹水、心液貯留 全身浮腫	R-0239	女	38	600 μ g/Day 2回/Day, 5日間	7日間	軽快 利尿剤(ラシタ ス)投与
血小板減少 ($6.6 \times 10^4/\text{mm}^3$)	R-0251	男	20	300~600 μ g/Day 1~2回/Day, 6日間	8日目	6日後回復 無
食欲不振、悪心 嘔吐	R-0128	女	49	600 μ g/Day 2回/Day, 5日間	3日目	3日後回復 嘔き止め 補液投与
血小板減少 ($5.1 \times 10^4/\text{mm}^3$)	R-0482	女	35	500 μ g/Day 1~2回/Day, 5日間	5日目	20日後軽快 無
手足の痺れ、脱力	R-0473	女	33	600 μ g/Day 2回/Day, 5日間	4日目	2日後消失 加コル投与
血小板減少 ($1.8 \times 10^4/\text{mm}^3$)	R-0597	女	39	5~10 μ g/Day 1回/Day, 2日間	2日目	2日後軽快 無

(日本造血細胞移植学会 PBSCT 小委員会報告より)

骨髓提供ドナーの有害事象発現集計表

BMH 重篤な有害事象

有害事象	症例番号	性別	年齢	発現日	入院日数 通院日数 Follow-up 終了	転帰/ 処置
後腹膜血腫	2874	女	45	採取直後	25日 2回 88日目	軽快 安静
急性化膿性扁桃腺炎	2602	男	22	採取直後	6日 5回 53日目	軽快
腰部皮下血腫	3074	女	32	3日後	5日間 5回 62日目	軽快
角膜糜爛	3302	男	49	採取直後	3日間 1回 32日目	軽快 眼薬投与
気管支肺炎	3050	女	24	採取直後	9日間 4回 14日目	軽快 抗生物質投与
右下腿深部静脈血栓症	3338	女	29	5日後	11日間 5日目 169日目	軽快 抗凝固療法 (ワ-ファリン)
肝機能障害	2913	男	37	退院時	3日間 4回 180日目	軽快
左大腿部皮神経障害	2577	女	35	採取後	0日 3回 347日目	軽快
左下肢痛	2728	女	46	採取後	0日 54回 365日目	残存

【処置】

入院、外来等の治療の延長	<u>1</u> 人 (0. 3%)	<u>9</u> 人 (1. 0%)
経過観察のみ	<u>5</u> 人 (1. 7%)	<u>0</u> 人 (0%)

【転帰】

死亡	<u>0</u> 人 (0%)	<u>0</u> 人 (0%)
未回復	<u>0</u> 人 (0%)	<u>0</u> 人 (0%)
回復したが後遺症あり	<u>0</u> 人 (0%)	<u>1</u> 人 (0. 1%)
回復	<u>6</u> 人 (2. 1%)	<u>8</u> 人 (0. 9%)

骨髄提供ドナーの有害事象発現集計表

【G-CSF投与から重篤有害事象発生までの平均期間】

2 ~ 8 日間 (平均値 4.3日間)

【因果関係】

関連が否定できる* 3 人(1%) 0 人(0%)
 関連が否定できない** 3 人(1%) 9 人(1%)

※時間的に相関関係がない場合、または原疾患、合併症、併用薬、併用処置など他の要因によると考えられる場合。

※※「関連性が否定できる」の定義に該当しない場合。(評価材料の不足の場合含む)

G-CSF との因果関係	症例番号		
恐らく関連あり	R-0128, R-0597	2人	(0.6%)
関連あるかもしれない	R-0251, R-0239	2人	(0.6%)
関連なし	R-0473, R-0482	2人	(0.6%)
7フレース との因果関係			
関連あり	R-0251, R-0473 (R-0473 低Ca血症)	2人	(0.6%)

骨髓提供ドナーの有害事象発現集計表

海外におけるPBSCT ドナー死亡事例 (参考)

症例	報告年	性別	年齢	既往(現病)歴	有害事象とその発症時期	転帰
1	1997年以前	女	61	気管支喘息 冠動脈疾患	心不全 4日後	死亡
2	1997年以前	女	57	不明	脳卒中 帰宅後24時間後	死亡
3	1997年以前	男	64	冠動脈疾患	心筋梗塞 採取終了後	死亡
4	1998	男	73	高血圧 狭心症	脳卒中 採取終了数日後	死亡
5	1999	男	47	鎌状赤血球貧血	同左発作 4日目	死亡
6	2000	男	67	腹部大動脈瘤 心筋梗塞	硬膜下血腫 6日後	死亡
7	2000	男	不明	不明	脳血管障害 不明	死亡
8	1997年以前	女	54	エストロゲン 療法	脳血管障害 不明	死亡

(日本造血細胞移植学会 PBSCT 小委員会報告より)

海外及び国内BMH ドナー死亡事例 (参考)

症例	発生国 血縁・非血縁	性別	年齢	事故発生時	死 因	転帰
1	海外 血縁	女性	57	採取中	心室細動(心臓麻痺)	死亡
2	海外 血縁	男性	不明	採取中	麻酔に対する過敏反応による呼吸困難	死亡
3	日本 血縁	男性	35	採取中	麻酔中の呼吸停止	死亡
4	海外 非血縁	男性	35	採取後	肺動脈塞栓症	死亡

(Hematopoietic Cell Transplantation, 1999, 2nd Edition より抜粋)

骨髓提供ドナーの有害事象発現集計表

(参考 : 麻酔リスク) : ASA-PS I = 健常人

ASA-PS 別、原因別の心停止発生率、ならびにその後の総死亡率

原因分類	ASA-PS		小計 (%)	
	I		発生	総死亡
	発生	総死亡	発生	総死亡
麻酔管理が原因	0.24	0.00	0.49	0.00
	35.3	0.0	13.3	0.0
術中発症の病態が原因	0.20	0.00	1.38	0.49
	29.4	0.0	37.4	35.5
術前合併症が原因	0.00	0.00	0.72	0.23
	0.0	0.0	19.5	31.9
手術が原因	0.20	0.12	1.03	0.44
	29.4	60.0	27.9	42.7
全てが原因	0.68	0.16	3.69	1.19
	100.0	23.5	100.0	32.2

(麻酔 : 50巻6号 「麻酔関連偶発症例調査 1999」について) より抜粋

ASA-PS 別、原因別の全偶発症発生率、ならびにその後の総死亡率

原因分類	ASA-PS		小計 (%)	
	I		発生	総死亡
	発生	総死亡	発生	総死亡
麻酔管理が原因	4.92	0.00	7.72	0.03
	55.1	0.0	32.2	0.4
術中発症の病態が原因	1.08	0.00	4.77	0.66
	12.1	0.0	19.9	13.8
術前合併症が原因	0.40	0.00	4.05	0.58
	4.5	0.0	16.9	14.3
手術が原因	2.32	0.20	7.11	1.00
	26.0	8.6	29.6	14.1
全てが原因	8.93	0.24	23.99	2.31
	100.0	2.7	100.0	9.6

(麻酔 : 50巻6号 「麻酔関連偶発症例調査 1999」について) より抜粋

(参考 : アフェレーシスのリスク)

VVR 発生率の推移 (全国) (参考)

(N=)

年度	成分献血				全血献血	
	血漿成分	多血小板血漿	血小板成分	Total	400ml	200ml
1986-1988	0.48%	0.45%	0.41%	0.44%		
1989	0.41	0.45	0.41	0.42	0.15%	0.12%
1990	0.60	0.40	0.43	0.52	0.17	0.15
1991	0.67	0.39	0.32	0.56	0.20	0.16
1992	0.68	0.40	0.33	0.54	0.28	0.20
1993	0.66	0.49	0.35	0.54	0.36	0.23

骨髓提供ドナーの有害事象発現集計表

末梢血幹細胞採取
(N=287件)

骨髓採取
(N=869件)

■有害事象

◎自覚症状・他覚所見

【内臓障害】

脾腫 人 (%)
肝腫 人 (%)

【筋・骨格系障害】

骨痛 208人 (72.8%) 0人 (0%)
関節痛 3人 (1.0%) 0人 (0%)
腰痛 4人 (1.4%) 30人 (3.4%)
筋肉痛 5人 (1.7%) 0人 (0%)

【神経障害】

不眠 59人 (20.6%) 15人 (1.7%)
いらいら感 0人 (0%) 0人 (0%)

【皮膚・皮膚附属器疾患】

発疹 0人 (0%) 0人 (0%)
発赤 0人 (0%) 0人 (0%)

【中枢・末梢神経系障害】

めまい・立ちくらみ 0人 (0%) 1人 (0.1%)
頭痛・頭重(感) 79人 (27.5%) 1人 (0.1%)
知覚減退(痺れ) 9人 (3.1%) 4人 (0.5%)
テタニー 4人 (1.4%) 0人 (0%)

【消化器障害】

食欲不振 32人 (11.1%) 1人 (0.1%)
悪心・嘔気 24人 (8.4%) 1人 (0.1%)
嘔吐 5人 (1.7%) 2人 (0.2%)
腹痛 0人 (0%) 0人 (0%)
腹部膨満感 0人 (0%) 0人 (0%)

【心拍数・心リズム障害】

動悸 1人 (0.3%) 0人 (0%)
血圧低下 0人 (0%) 0人 (0%)
心拍数・心リズム障害 0人 (0%) 0人 (0%)

【一般的全身障害】

発熱 10人 (3.5%) 0人 (0%)
倦怠感 114人 (39.7%) -人 (-%)

【その他の自覚症状・他覚所見】

その他 17人 (5.9%) 45人 (5.1%)

骨髓提供ドナーの有害事象発現集計表

末梢血幹細胞採取
(N=287件)

骨髓採取
(N=869件)

◎画像所見

【脾腫大】	<u> — </u>	(— %)
【肝腫大】	<u> — </u>	(— %)
【その他】	<u> — </u>	(— %)

◎臨床検査値の異常変動

【一般血液検査】

血小板減少	<u>56 人 (19. 5%)</u>	<u>2 人 (0. 2%)</u>
血小板増加	<u>0 人 (0%)</u>	<u>0 人 (0%)</u>
白血球増加	<u>10 人 (3. 5%)</u>	<u>132 人 (15. 2%)</u>
赤血球減少	<u>1 人 (0. 3%)</u>	<u>281 人 (32. 3%)</u>
ヘモグロビン値減少	<u>2 人 (0. 7%)</u>	<u>228 人 (26. 2%)</u>
ヘマトクリット値減少	<u>0 人 (0%)</u>	<u>— 人 (—%)</u>

【生化学検査】

LDH上昇	<u>83 人 (28. 9%)</u>	<u>— 人 (—%)</u>
ALP上昇	<u>77 人 (26. 8%)</u>	<u>2 人 (0. 2%)</u>
血清AST (GOT) 上昇	<u>15 人 (5. 2%)</u>	<u>1 人 (0. 1%)</u>
血清ALT (GPT) 上昇	<u>28 人 (9. 8%)</u>	<u>1 人 (0. 1%)</u>
γGPT上昇	<u>3 人 (1. 0%)</u>	<u>1 人 (0. 1%)</u>
T-Bil上昇	<u>1 人 (0. 3%)</u>	<u>44 人 (5. 1%)</u>
CPK上昇	<u>1 人 (0. 3%)</u>	<u>161 人 (18. 5%)</u>
尿酸上昇	<u>18 人 (6. 3%)</u>	<u>— 人 (—%)</u>
カルシウム低下	<u>0 人 (0%)</u>	<u>— 人 (—%)</u>
カリウム低下	<u>9 人 (3. 1%)</u>	<u>— 人 (—%)</u>
クレアチニン上昇	<u>0 人 (0%)</u>	<u>2 人 (0. 2%)</u>

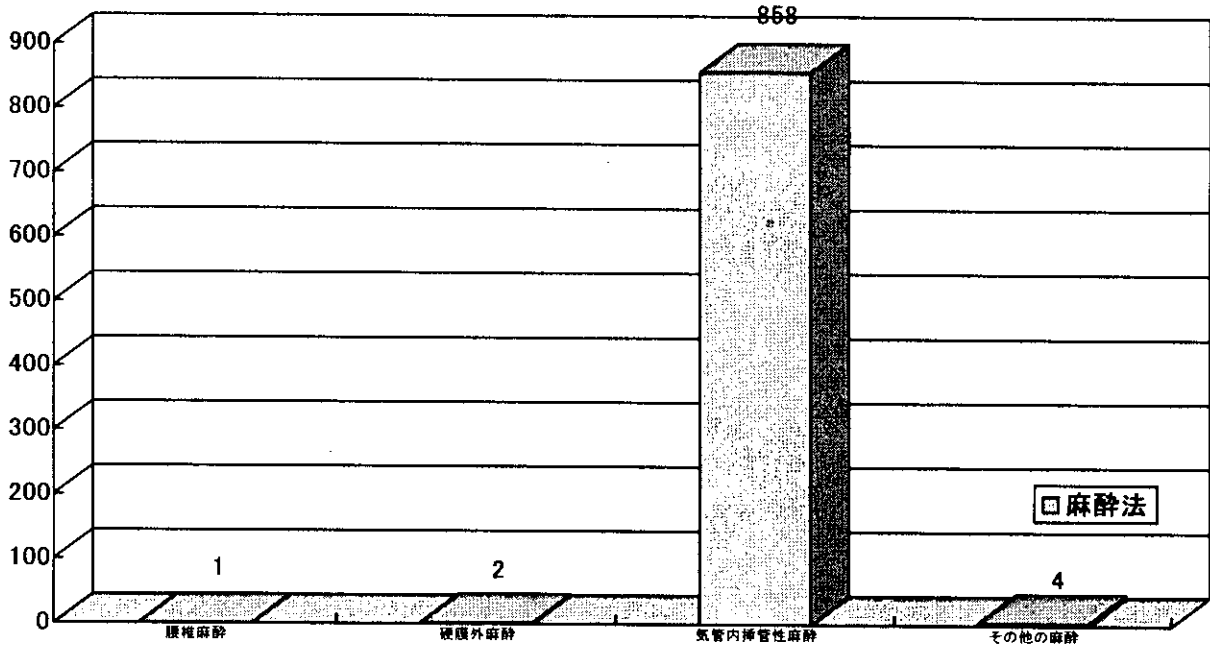
【その他の臨床検査値の異常変動】

凝固系異常	<u>1 人 (0. 3%)</u>	<u>— 人 (—%)</u>
CRP上昇	<u>11 人 (3. 8%)</u>	<u>— 人 (—%)</u>
その他	<u>5 人 (1. 7%)</u>	<u>2 人 (0. 2%)</u>

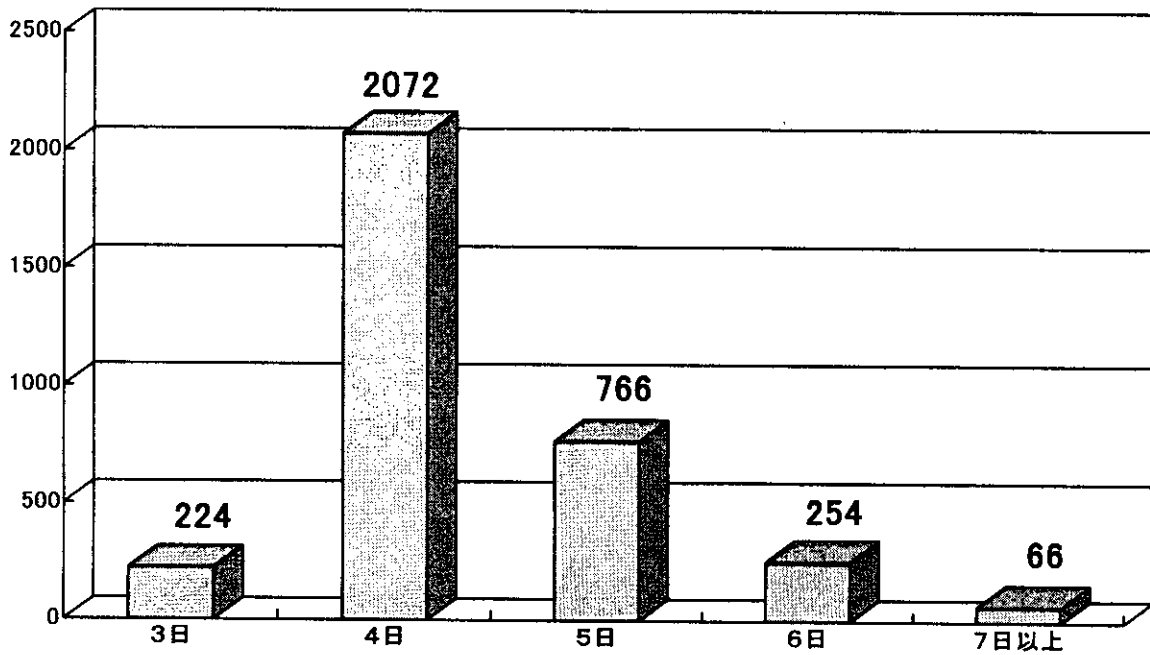
骨髓提供ドナーの有害事象発現集計表

(参考資料)

Anesthesia Type by Donor



Hospital stay by Donor



厚生科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療研究事業）

分担研究報告書

分担研究者 岡本 真一郎 慶應義塾大学医学部 内科 講師

研究要旨 全体としてみた場合、海外バンクドナーを用いた造血幹細胞移植の成績は JMDP ドナーを用いた移植のそれとほぼ同等である。移植成績（生存率）を低下させる最も重要な因子は重症急性 GVHD (III \leq) の発症であり、2つ以上の allele mismatch と cyclosporine の使用がその危険因子であることが明らかとなった。これより、allele match donor, GVHD 予防として FK506 を選択することで移植成績の向上が期待できると考えられる。

A. 研究目的

現在、日本骨髄バンク(JMDP)は北米骨髄バンク(NMDP)、台湾骨髄バンク(TCMDR)、韓国骨髄バンク(KMDP)と提携し、海外バンクドナーを用いた骨髄移植の機会の拡大に貢献している。それにより海外バンクドナーを造血幹細胞源とすることが可能となり、JMDPでドナーを見出せない患者の約50-60%にHLA適合ドナーが得られている。これまでの海外骨髄バンクドナーを用いた移植とJMDPドナーを用いた移植の成績を比較した preliminary な解析では、1) 急性移植片対宿主病 (GVHD) の頻度は海外バンクドナーを用いた移植で増加する、2) 生存率に関しては多変量解析において海外バンクドナーを用いた移植は危険因子ではないことが示

されている。しかしながら、JMDPドナーを用いた移植では allele disparity などの因子が生存率、急性GVHDの頻度・重症度と相関することが明らかにされている一方で、海外バンクドナーを用いた移植における予後因子についての十分な検討はこれまでなされていない。そこで、本研究ではこれまでに行われた海外バンクドナーからの移植で得られたデータを解析・検討し、今後の海外バンクドナーからの移植の治療成績向上のための問題点を明らかとするを目的とした。

B. 研究方法

1) 対象症例

対象は1997年4月から2000年10月までに移植された91例である。患者背景

をTable 1に示す。年齢は中央値で28歳で、疾患は白血病を中心とした造血器悪性疾患が大部分を占めていた。前処置は約90%の症例で全身放射線照射 (total body irradiation: TBI) を含む regimen が施行されていた。Pre-searchおよびFormal-searchから移植までの期間は中央値でそれぞれ199日、164日であった。

2) ドナーおよびHLA disparity

ドナー背景をTable 2に示す。年齢は中央値で33歳で、人種は日系人が15%、その他のアジア系が58%、白人やHispanicなどを含めた非アジア系が26%であった。患者とドナーのHLAのalleleレベルでのdisparityは、完全一致が57%、Class Iのみのmismatchが11%、Class IIのみのmismatchが25%、Class IおよびIIまたはClass IIの2 allele mismatchが6.7%であった (Table 3)。しかし、このデータはJMDPが施行するalleleのみのtyping (HLA-A2, A26, B15, B39, B40, B61, B62, B75) の結果であり、完全一致のpairの中にはallele mismatchのものが含まれている可能性が否定できない。

C. 研究結果

1) 生着

早期死亡を主な理由とした評価不能例8例を除いた83例では、全例でが得られた。好中球数が500/ μ lを越えた移

植後日数の中央値は18日であった。1例で二次性生着不全が認められた。

2) GVHDとGVHD発症の危険因子
急性GVHDは79例で評価可能であった。Grade II 以上およびGrade III以上の急性GVHDの累積発症率はそれぞれ38%、24%であった。慢性GVHDは64例で評価可能で、limited type、extensive typeがそれぞれ19%、23%の症例で認められた。急性GVHDの危険因子を解析因子として年齢、性の一致・不一致、ドナーの人種、allele mismatch、病期、急性GVHD予防法としての単変量解析を行った。Grade III以上のGVHDにおいてGVHD予防としてのシクロスポリン (CSA) 投与がFK506の投与と比較して唯一の有意な危険因子として検出された ($P=0.0098$)。多変量解析ではGrade III以上のGVHDにおいてAllele の Class I+II または Class II+II の不一致 ($P=0.0019$) およびGVHD予防としてのシクロスポリン (CSA) 投与がFK506投与と比較して有意な危険因子として検出された ($P=0.0175$)。

3) 生存率と予後因子

全症例の2年overall survivalは48.5%であった (Figure 1)。進行病期の症例が多く含まれているにも関わらず、比較的良好な成績であり、これはhigh-risk症例での成績が良好なことによる