

Cause of death

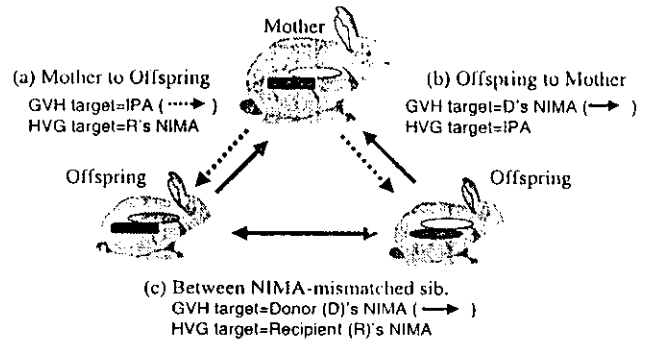
among 27 NIMA-SCT recipients

(number of deaths=12)

Relapse	4 (day 68, 308, 466, 467)
GVHD	3 (day 23, 45, 64)
Infection	3 (day 32, 52, 87)
BO	1 (day 136)
RRT	1 (day 10)

NIMA-complementary SCT
Japanese Nationwide Survey 2001

Allo-SCT between NIMA-complementary relatives:



NIMA相補的SCT第一次調査 ～GVH方向HLA不一致が2抗原以上の22例の移植成績～

- 観察期間中央値135日（範囲10～541日）の時点で12名が生存中。調査結果に基づいて推定された1年予測生存率は62%であり、従来の同種CD34陽性細胞移植に劣らない成績が得られる可能性が示唆された。
- III度以上急性GVHDの発症頻度は24%で、少数例での検討ではあるが、母がドナーの場合に、重症GVHDが発生しやすい傾向が見られた。特にドナー末梢血から、レシピエント型造血細胞のマイクロキメリズムが検出されてもIII度以上急性GVHDの発症が見られる場合があることに留意が必要である。
- Day 100以内非再発死亡を7例に認めた。非再発死亡の原因はGVHD(n=3)、感染症(n=3)、RRT(n=1)であった。

NIMA-complementary SCT
Japanese Nationwide Survey 2001

NIMA相補的ハプロアイデンティカル血縁者間における T-cell replete SCTの適応（試案）：

- a) Allelic GVH mismatch=0 or 1:
→ Conventional practiceの枠内で実施可能。
- b) Allelic GVH mismatch=2 or 3:
現段階においては、
→ (1) 全身状態は良好であるが (PS=0 or 1)、短期的予後がきわめて不良と予測され、同種造血幹細胞以外に有効な治療手段が存在しない。
(2) 骨髄バンクを介する移植を迅速に実施することが困難かつ、臍帯血バンクにおいて $1 \times 10^7/\text{kg}$ 以上の細胞数を確保することが困難。
な症例への緊急的移植手段。

NIMA-SCTの安全性を確立するため、
厚生労働省小奇班では前向き臨床試験を計画中。

FK506 を GVHD 予防に用いた
非遺伝母 HLA 抗原 (NIMA) 相補的血縁者間造血幹細胞移植
に関する臨床試験

実施計画書 (案)

2001年6月9日(初版)
2002年1月15日(第2版)

厚生科学研究ヒトゲノム・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

～研究概要～

- 1・背景および目的
- 2・対象
 - 2-1 対象疾患
 - 2-2 適格条件
 - 2-3 除外条件
- 3・説明と同意
 - 3-1 臨床試験に関するインフォームド・コンセント
 - 3-2 臨床試験審査委員会 (IRB)
- 4・登録
 - 4-1 登録方法
 - 4-2 登録時検査項目
- 5・母子間マイクロキメリズムの解析
- 6・記録などの保管
- 7・治療計画
 - 7-1 筋気腫および移植片
 - 7-2 GVHD の予防と治療
 - 7-3 CMV 感染症予防
 - 7-4 Donor Lymphocyte Infusion (DLI)
- 8・観察項目
 - 8-1 一般検査
 - 8-2 急性 GVHD
 - 8-3 慢性 GVHD
 - 8-4 移植関連合併症
 - 8-5 再発
 - 8-6 死亡
- 9・研究期間
- 10・試験の中止/緊急連絡
 - 10-1 試験の終了・中止

2

- 10-2 緊急連絡
- 11・研究組織
- 12・関連資料

(参考資料)

HLA-A, B, DR に二座以上 (アリルレベルを含む) の不一致が存在する母子間・NIMA 相補的同胞間で実施された造血細胞移植の全国調査結果

(添付文書 1)

本臨床試験の実施に関する説明文書と同意書

(添付文書 2)

症例登録票と症例報告書 (case report form)

(様式 1) 登録申請票

(様式 2) 登録確認票

(様式 3) マイクロキメリズム解析申し込み書

(様式 4) 移植経過報告書 (短期観察用)

(様式 5) 移植経過報告書 (長期観察用)

(様式 6) 有害事象緊急報告書

(付表 1) 骨髄異形成症候群に対する International Prognostic Scoring System (IPSS)

(付表 2) Performance status (Zubrod scale)

(付表 3) 移植前処置毒性の判定基準

(付表 4) 急性 GVHD の重症度分類

(付表 5) 急性 GVHD の治療効果判定基準

(付表 6) 慢性 GVHD の重症度分類

～研究概要～

目的:

FK506+MTX を移植片対宿主病 (GVHD) 予防に用いた場合の、非遺伝母 HLA 抗原 (NIMA) 相補的血縁者をドナーとする T 細胞非除去造血幹細胞移植の安全性の検討 (臨床第 II 相試験)。

なお NIMA 相補的血縁者 (NIMA-complementary relatives) とは、HLA のひとつのハプロタイプを遺伝的に共有し、非共有ハプロタイプについては妊娠時に相互に免疫寛容を成立させていたような関係にある血縁者のことであり (図 1)、具体的には、本試験の対象は母子間、あるいは父由来ハプロタイプを共有する同胞間で行われる移植である。

主評価項目:

ドナーとレシピエント間における HLA-A, B, DRB1 座不一致が、アリルレベルで GVH 方向に二座以内の NIMA 相補的血縁者間において、FK506+MTX を GVHD 予防に用いた T 細胞非除去造血幹細胞移植を実施した際の III 度以上急性 GVHD の発症および day 100 までの非再発死亡。

副次的評価項目:

- 1) 母子間長期マイクロキメリズム陽性群と陰性群における治療抵抗性急性 GVHD 発症頻度の比較。
- 2) GVH 方向 HLA 抗原不一致が一座以内の群と二座の群における治療抵抗性急性 GVHD 発症頻度の比較。
- 3) 慢性 GVHD。
- 4) GVHD 以外の移植関連合併症。
- 5) 移植後の原疾患再発。
- 6) 移植後生存期間。

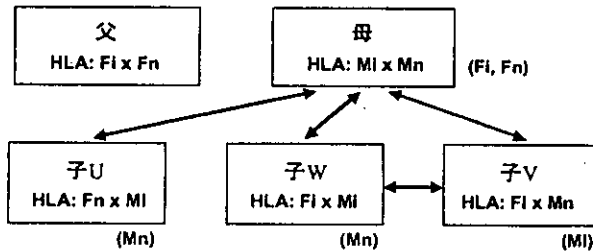


図1: 非遺伝母 HLA (NIMA) 相補的血縁者

子Wに遺伝した父 HLA ハプロタイプを Fi (A, B, DR), 非遺伝父ハプロタイプを Fn, 同様に子Uに遺伝した母ハプロタイプを Mi, 非遺伝母ハプロタイプを Mn とする。なお、() 内はマイクロキメリズムとして検出可能な非遺伝 HLA 抗原を含むハプロタイプ。子Wから見た時、子Uを非遺伝父 HLA (NIPA) 不一致同胞 (Mi) を共有し、父由来ハプロタイプが不一致、子Vを非遺伝母 HLA (NIMA) 不一致同胞 (Fi) を共有し、母由来ハプロタイプが不一致、と定義する。NIMA 不一致同胞間・母子間では互いの非共有ハプロタイプが「相補的に」マイクロキメリズムで検出される。母子間長期マイクロキメリズムを妊娠時に成立した非遺伝 HLA に対する何らかの獲得寛容の指標と仮定すると、矢印のペアの間では GVH・HVG いずれの方向にも不一致 HLA は「許容されやすい」と考えられる。

5

HLA に対する寛容機構を成立維持させている可能性があり¹³⁾、すでにイタリアのグループから、抗胸腺細胞グロブリン (ATG) を移植前後に用いるプロトコールによって、HLA 二座あるいは三座不一致の母をドナーとした T 細胞非除去移植の feasibility が報告されている¹⁴⁾。日本造血細胞移植学会ワーキンググループにおいて行われた同親からの造血細胞移植の治療成績に関する解析では、retrospective なものではあるが、母から移植を受けた群の生存率が父から移植を受けた群より有意に優れており、多変量解析でも同親の性が唯一の予後因子という結果が得られた¹⁵⁾。

また、このような母子間免疫寛容が長期間維持されている可能性を示唆するものとして、最近 long-term feto-maternal microchimerism (母子間長期マイクロキメリズム) という重要な現象が見い出されている¹⁶⁻¹⁸⁾。成人末梢血中には母由来造血細胞が、また母末梢血には出産後数十年を経ても児由来の造血細胞が拒絶されずに存在し続けているというこの現象は、妊娠を介して成立した非遺伝 HLA に対する何らかの獲得寛容の指標である可能性があり、母子間・NIMA 不一致同胞などの NIMA 相補的血縁者間においてもマイクロキメリズムの検出されるペアと検出されないペア間において移植成績が異なる可能性がある。

一方、HLA-A, -B, -DR 抗原に二座以上の不一致が存在する血縁者間移植においては、従来から GVHD の重症化が大きな問題とされてきた。それらの根拠となる移植成績は、主に cyclosporine (CsA) と methotrexate (MTX) を用いて実施された例を対象に解析されたものであるが、最近では FK506 (tacrolimus) を移植後免疫抑制に用いることによって、HLA 二座不一致同胞間においても GVHD を重症化させずに T 細胞非除去骨髄移植が実施可能であったとの報告が散発的になされている^{19) 20)}。FK506 は CsA と比較した場合、血縁者間・非血縁者間いずれにおいても急性 GVHD の発症頻度および程度を有意に抑制することが知られており^{21) 22)}、M.D.Anderson Cancer Center で開発された FK506+minidose MTX を用いた場合の III 度以上急性 GVHD の発症頻度は、HLA 一抗原不一致血縁者間を対象とした場合でも 17% (95%CI, 1-32%) と HLA 血清型一致非血縁者間を対象とした場合と同等の良好な成績が報告されている^{23) 24)}。なお、本臨床試験のパイロット試験として実施された絶対予後不良の白血病症例に対する NIMA 相補的ハプロアイデンティカル同胞あるいは母を幹細胞ドナーとした T 細胞非除去移植 6 例においても、FK506+MTX を骨髄とする GVHD 予防が用いられたが、ステロイド抵抗性の急性 GVHD の発症は一例も認められ

7

1970 年代に本格的に開始された同種造血幹細胞移植は、GVHD の制御をはじめにまだに未解決の問題を内包しつつも、多くの難治性造血器疾患症例に対し長期生存をもたらしてきた。その一方で donor availability による治療結果の違いが現実的に無視できないレベルまで顕在化しつつあり、公的造血幹細胞バンクを介してもドナーを見出せない移植適応症例に対して、どのような治療選択肢によって予後を改善し得るかが重大な問題となっている。

この間、欧米においては前処置の強化や T 細胞除去・CD34 陽性細胞の純化などによって alloreactive barrier を超えようとの様々な試みが行われ、HLA 部分不適合血縁者間における造血幹細胞移植技術の確立が目指されてきた^{25) 26)}。実際、1997 年に報告された IBMTR (international bone marrow transplant registry) の集計では、進行期症例にすぎれば幹細胞ソースが HLA 血清型一致非血縁者の場合と HLA 部分不一致血縁者の場合で治療成績に有意差は認められていない²⁷⁾。本邦においても 1990 年代後半より純化 CD34 陽性細胞を移植片とした HLA 部分不一致血縁者間移植が試みられてきたが、移植後の免疫不全や高い再発率などの問題に加え、実施経費や手技的煩雑さからまだ一般的な移植法となるには至っていない²⁸⁾。また近年実施可能になりつつある非血縁者間臍帯血移植に関しても成人に対する適応はまだ限られたものであると言わざるを得ない。

HLA 不一致ドナーの選択に関しては、従来から HLA-A, -B, -DR 度の不一致抗原数に基づく選択基準が汎用されてきたが、donor availability の拡大のためには拒絶や GVHD の観点から各 HLA 抗原の「許容されやすさ」を質的に検討し直すことが必要と考えられる。その意味で Claas や Burlingham らによって明らかにされた、腎移植時の非遺伝母 HLA (NIMA, non-inherited maternal HLA antigens) に対する獲得寛容効果の存在は^{29) 30)}、造血細胞移植におけるドナー選定にもきわめて重要な示唆を与えるものである。実際、このことを示唆する現象として、少数例での成績ではあるが HLA 部分不一致血縁者間臍帯血移植において、不一致ハプロタイプが母由来の場合には父由来の場合に比較して重症 GVHD の起こる頻度が低いとの報告がなされており^{31) 32)}、IBMTR での HLA 部分不一致血縁者間の造血細胞移植の解析でも、NIMA 不一致同胞間における急性 GVHD の発症は非遺伝父 HLA 抗原 (NIPA) 不一致同胞間よりも有意に低率であることが報告されている³³⁾。一方妊娠を通じて母も配偶者由来の非自己

6

なかった³⁴⁾。

また、本試験の実施に先立ち、本研究では、本邦において実施された HLA-A, B, DR 座に二座以上の不一致 (アリルレベルを含む) の存在する母子間・NIMA 不一致同胞間での T 細胞非除去造血幹細胞移植に関する調査を行った (参考資料)。この調査で報告された 27 症例中 26 例で、FK506 に MTX あるいはステロイド剤を組み合わせた GVHD 予防が用いられており、III 度以上急性 GVHD の発症率は、詳細可能であった 26 例全例を対象とした場合 24%、また GVHD 方向に血清レベルで二抗原以上の不一致例では 19%、三抗原不一致例では 40% と三抗原不一致例を除けば HLA 適合非血縁者間骨髄移植と同程度と見し得る頻度であった。また過半数の症例ではドナーを見出せぬまま、原病の増悪のため緊急的に移植を実施されていたにもかかわらず、全症例を対象とした 1 年予測生存率は 59% (GVH 方向二座以上不一致例を対象とした場合 62%) と、従来 HLA 不一致血縁者間で試みられてきた同種 CD34 陽性細胞移植よりも良好な治療成績が得られる可能性を示唆する結果であった。

以上のような背景から、NIMA 相補的血縁者は HLA の disparity にかかわらず優れた造血細胞ドナーである可能性があり、現在ドナーを見出せずに不備の転帰を持つ多くの症例への新たな移植法を確立していくためにも、われわれは母子間免疫寛容を考慮した HLA 不一致血縁者間造血幹細胞移植の feasibility を prospective に検討することが必要と考えた。

したがってここに、FK506 と MTX を GVHD 予防に用いた NIMA 相補的血縁者間造血幹細胞移植時における急性 GVHD の発症頻度と移植成績を検討するための臨床試験を計画する。本試験の primary endpoint は移植後 100 日以内における III 度以上重症 GVHD の発症および非再発死亡であり、同時に副次的評価項目として母子間マイクロキメリズム陽性例と陰性例における拒絶・急性 GVHD 発症頻度の比較、慢性 GVHD、移植後生存期間・再発・移植関連合併症などに際しても検討を行う。

8

2・対象

2-1 対象疾患

移植実施時 16 歳から 55 歳までの下記造血器悪性腫瘍症例および致死性非腫瘍性疾患。

- 2-1-1 非寛解期を含む第二寛解期以降の急性白血病。非寛解期例では末梢血中の芽球および髓外病変が存在せず、移植前の骨髄中白血病細胞が 10% 以下であること。
- 2-1-2 ハイリスク骨髄異形成症候群(RAEB・RAEB-t あるいは CMMoL で IPSS が INT-2、または HIGH の症例) (付表 1)
- 2-1-3 加速期・急性転化期を含む第二慢性期以降の慢性骨髄性白血病。
- 2-1-4 非寛解期を含む第二寛解期以降の化学療法抵抗性 low-grade lymphoma。
- 2-1-5 造血幹細胞移植を実施しなければ絶対予後不良と考えられる最重症型再生不良性貧血などの非腫瘍性疾患。

2-2 適格条件

以下の全ての項目を満たす症例を適格とする。

- 2-2-1 HLA-A, B, DR 一致血縁ドナーが見い出されず、骨髄バンクにおいても HLA 一致ドナーが見い出されないか、迅速なコーディネートの成立が困難と考えられること。
- 2-2-2 臍帯血バンクに HLA 一致あるいは二抗原以内不一致の臍帯血が見い出されないか、見い出されても移植の実施のために十分量の細胞数 ($1.0 \times 10^7/\text{kg}$ 以上) が確保できないと考えられること。
- 2-2-3 健康状態が良好かつ患者との GVH 方向への HLA-A, B, DR 不適合度が血清学的かつアレルレベルで二座以内 (HVG 方向は三座不一致も可) の NIMA 相補的血縁者が見い出され、同種造血幹細胞移植の実施に関し、当該血縁者および患者本人の文書による承諾が得られていること。なお、ドナーの年齢については原則として 10 歳以上 70 歳以下を適格とし、それ以外の年齢の者をドナーとする場合には、各施設の臨床試験審査委員会 (3-2 の項参照) の審査を受けること。
- 2-2-4 PS (performance status, Zubrod scale; 付表 2) が 2 以下であり、主要臓器機能が維持されていること。

3-2 臨床試験審査委員会 (IRB)

本試験の実施に当たっては、各移植施設における IRB (institutional review board) あるいはそれに相当する第三者機関において、試験の妥当性に関する審査を受けなければならない。すなわち、本試験の実施計画書は、移植担当施設における試験分相医師を通じて、当該施設の IRB あるいはそれに準じた機関へ提出され、実施の妥当性の承認を受けなければならない。

4・登録

4-1 登録方法

各施設の移植担当医師は本試験への登録を希望する場合、適格性を確認し、参加患者およびドナーからインフォームド・コンセントを得た後 (3-1 の項を参照)、登録申請票 (様式 1) に所定の事項を記入し、下記の症例登録センターへ FAX あるいは書留郵便にて申し込みを行う。登録申請後 1 週間以内に研究事務局は 2 名の安全性委員によって症例の適格性の確認を受けた後、各施設に FAX、あるいは書留郵便にて登録確認票 (様式 2)、マイクロキメリズム解析申込書 (様式 3) および移植経過の短期観察用報告書 (様式 4) を返送する。

登録センター：〒606-8396 京都市左京区川端通丸太町下町 82
恵比須ビル 4F HLA 研究所内
NIMA 相補的血縁者同種造血幹細胞移植登録センター
FAX: 075-762-5202 E-mail: hla@hla-labo.org

4-2 登録時検査項目

登録時の検査項目は登録確認票 (様式 2) に従う。検査結果は原則として申し込みの 1 ヶ月以内に行われたものとする。同期間で実施される場合には不適合 HLA ハプロタイプが父母のいずれに由来するかを決定するため、患者父あるいは母の血清学的 HLA タイピングが必須である。

2-3 除外条件

以下のいずれかの項目に該当するものは本試験の対象とされない。

- 2-3-1 前処置あるいは GVHD 予防に抗胸腺細胞グロブリン (ATG) を使用する症例。
- 2-3-2 骨髄非破壊的前処置を使用する症例 (ただし、骨髄破壊的前処置を用いた造血細胞移植の既往がある例を除く)。
- 2-3-3 ドナーの HLA 型に対する抗体を有する症例 (直接および間接リンパ球交叉試験によって確認を行うこと)。
- 2-3-4 血清クレアチニン (Cre) が施設基準値上限の 1.5 倍以上あるいは Cre クリアランスが 1 ml/min/kg 未満の症例。
- 2-3-5 その他重篤な感染症あるいは臓器障害を有する症例。

3・説明と同意

3-1 臨床試験に関するインフォームド・コンセント

本試験はヘルシンキ宣言の理念に従うものであり、患者およびドナーの自由意志による同意に基づいて行われる。試験の実施に先立ち、患者本人およびドナーに下記の項目に関する説明を行い、文書による承諾を得ることとする。患者本人への説明が困難な場合には患者の権利を擁護可能な家族または法定代理人に説明を行い、同様に文書による同意を得るものとする。同意書には同意の得られた日付、説明医師名を記入し、患者本人およびドナーの署名の後、本人および説明医師が一部づつ保存する。

- 3-1-1 本臨床試験の意義と目的。
- 3-1-2 試験の方法。
- 3-1-3 予測される効果。
- 3-1-4 予測される有害事象。
- 3-1-5 本試験への同意が得られなかった場合にも一切の不利益を受けないこと。
- 3-1-6 本試験への同意後も治療開始までいつでもこれを撤回できること。
- 3-1-7 患者およびドナーのプライバシーが厳守されること。

10

5・母子間マイクロキメリズムの解析

登録確認後、当該症例およびドナーの間における母子間長期マイクロキメリズムの解析 (母あるいは配偶者由来の非遺伝 HLA アレルの nested PCR-SSP による検出) を実施する¹⁹⁾。

マイクロキメリズム検出用の検体は、患者およびドナーから採取した EDTA 入り末梢全血 2 ml (ヘパリン不可)、また陰性コントロール用に爪 5 本を、解析依頼書 (様式 3) とともに下記あてに送付する。爪の採取にあたっては患者とドナーで別々のネイルクリッパー (新品を使用すること) を用い、検体のコンタミネーションを防ぐため十分に留意すること。

母子間マイクロキメリズム検出用検体送付先：

〒606-8396 京都市左京区川端通丸太町下町 82
恵比須ビル 4F HLA 研究所内
丸屋 悦子 行
FAX: 075-762-5202 E-mail: hla@hla-labo.org

6・記録などの保管

本試験の実施計画書、登録確認票、移植経過報告書は各施設の試験分相医師が、適切に保管を行う。

患者およびドナーの同意に関する記録、当該施設の臨床試験審査委員会における議事の記録および試験実施に関する指針書、移植経過報告書作成のための臨床検査成績・診療記録等、については当該医療機関の長が定めた保管責任者が適切な保管を行う。

7・治療計画

7-1 前処置および移植片

7-1-1 移植前処置：本試験の対象症例は進行期病例であり、各症例にもっとも適切な方法を選択するという観点から、移植前処置については各施設の方法に委ねる。ただし、HLA 不一致血縁者をドナーとした場合に、安定した生着を得ることが可能な骨髄非破壊の前処置方法は未確立と考えられるため、再移植例を除き、原則として骨髄破壊の前処置を用いる。

7-1-2 移植片：移植片は骨髄液の使用を原則とする。ただし原疾患の病状やドナーの希望などから G-CSF で動員した末梢血幹細胞 (G-PBSC) (目標移植 CD34 陽性細胞数：レシピエントの体重 1kg あたり 2.0×10^6 以上) を用いる症例、あるいは骨髄と G-PBSC を併用する症例も登録可能である。なお、G-PBSC 採取に際しては、日本造血細胞移植学会・輸血学会のガイドラインを遵守して行う³⁾。

7-1-3 T 細胞除去：移植片からの T 細胞除去 (純化 CD34 陽性細胞の調整を含む) は行わない。

7-2 GVHD の予防と治療

7-2-1 GVHD 予防：急性 GVHD 予防は FK506 の持続静脈内投与と *minidose* MTX によって行う。FK506 の投与方法は各施設の方法に委ねるが、原則として生理食塩水で希釈し、day -1 より初期用量 0.02 mg/kg/day を 24 時間持続静注にて開始する。以後血中濃度 15 ng/ml を目標に投与量の調節を行い、移植後第 4 週目以降は可及的早期に経口投与への変更を行う。経口投与へ変更時の初期投与量は一日静脈内投与量の 2~4 倍とし、これを分割して内服する。経口投与へ変更後の FK506 の trough 濃度は 5~10 ng/ml を目標とし、GVHD が存在しない場合には原則としてできるだけ増量を行わない。MTX は day +1, day +3 および day +6 に 5 mg/m² を静注する。

7-2-2 急性 GVHD の初期治療：急性 GVHD の治療は各施設の方法に委ねるが、以下を原則とする。なお、急性 GVHD の診断にあたっては、日本造血細胞移植学会のガイドライン等を参考に³⁾、組織学的検索も含め、移

植後の他の合併症との鑑別をできる限り厳密に行う。

Primary treatment は、PSL あるいは mPSL 1~2 mg/kg/day (二分割投与) とする。治療開始基準は原則として grade II 以上が出現した場合とするが、grade I であっても高熱を伴う場合や、急速な全身状態の悪化を認める場合には治療を考慮する。治療開始後初期投与量は最低 1 週間継続し、complete response が得られるまでは減量を開始しない。また PSL・mPSL の減量は 3 日間に 0.2 mg/kg を越えない速度で慎重に行う。

7-2-3 急性 GVHD の二次治療：Secondary treatment は各施設の方法に委ねる。

7-2-4 免疫抑制剤の減量と中止：FK506 の減量および中止時期は各移植担当医師の判断に委ねるが、原則として移植後 day+100 までは投与を継続することとする。また FK506 が原因と考えられる有害事象が発生した場合には、各施設の判断で FK506 の休薬・減量を行い、cyclosporine A 等による治療法への変更を行ってよい。

7-3 CMV 感染症予防

原則として各施設の方法に委ねる。

7-4 Donor Lymphocyte Infusion (DLI)

EB ウイルス関連リンパ増殖性疾患 (EB-LPD) の発症時や再発時における DLI の実施は各施設の方法に委ねるが、HLA に不一致が存在する場合の至適投与方法は未確立と考えられるため、本邦における集計結果を参考にその適応は慎重に検討すること³⁾。また day 100 以内に DLI が実施された場合には主評価項目のうち重症 GVHD の解析対象とはされない。

8・観察項目

登録症例の経過に関しては、症例報告書 (様式 4・様式 5) を用いて、移植後 100 日経過後および移植後 1 年毎に移植後 3 年目まで研究事務局に報告を行う。

8-1 一般検査

血液学的検査・血液生化学検査・血清学的検査などについては臨床経過 (様

13

式 4-5) を参考に各施設で必要に応じて行う。FK506 の血中濃度は、投与期間中移植後第 8 週目までは週 2 回の測定を行う。

2-4 急性 GVHD

急性 GVHD に関しては改訂 Glucksberg 基準に従って (付表 4)³⁾、発症日、組織学的診断の有無、治療開始日、治療開始時点での overall grade (各臓器障害の stage とともに記載)、具体的な治療方法、治療に対する反応性 (付表 5)³⁾、day +100 まで最も重症であった時期の grade (各臓器障害の stage とともに記載)、最終転帰を記録する。

2-5 慢性 GVHD

慢性 GVHD に関しては発症様式、罹病臓器、重症度、治療方法、治療に対する反応性、最終転帰を記録する (付表 6)。

8-4 移植関連合併症

前処置関連毒性については Bearman らの基準に従って (付表 3)³⁾、各臓器毎に day 28 までに発生した最重症の非血液毒性を記載する。その他の毒性に関しても NCI-Common Toxicity Criteria ver 2.0 (1998) に従って記載する³⁾。VOD、TMA、感染性合併症の発生した場合にはその発症日、治療方法、治療経過、転帰を記載する。

8-5 再発

原疾患の再発が確認された場合には、再発と診断した日、診断の根拠、再発後の治療経過を記載する。

8-6 死亡

登録症例が死亡した場合には、死亡日、死亡原因を記載する。

9・研究期間

登録期間は 2002 年 月 日から 200 年 3 月 31 日までとし、追跡期間は 3 年とする。目標登録症例数は 50 症例以上とする。

10・試験の中止/緊急連絡

10-1 試験の終了・中止

試験の終了、中止については、以下のいずれかの場合に研究代表者によって決定される。

10-1-1 登録数が目標数に到達した場合。

10-1-2 本臨床試験に登録された症例中、ドナーとの GVH 方向の HLA-A, B, DR の血清学的な不一致が一抗原の群または二抗原の群いずれかにおける治療抵抗性 III 度以上急性 GVHD の発症頻度が統計学的に 20% 以上と推定された場合。ここで治療抵抗性の GVHD とは 2 mg/kg/日以上の PSL または mPSL を用いても、2 週間以内に complete response が得られない症例とする。具体的には、試験の開始後、累積症例数が以下の評価症例数に達した際の治療抵抗性 III 度以上急性 GVHD 発生頻度より、二項分布の信頼区間を計算し、その下限値が 20% を上回った場合。なお、評価症例数は、3、6、9、15、25 例とする。

症例数	信頼区間の下限が20%を越える症例数=この人数に達したら中止
3例目まで	3
6例目まで	4
9例目まで	5
15例目まで	7
25例目まで	10
50例目まで	17

10-1-3 症例登録開始後に安全性評価委員から試験の中止が妥当であるとの助言を受けた場合。

10-1-4 その他研究代表者によって試験の継続が困難と判断された場合。

10-2 緊急連絡

各施設の移植担当医師は、試験の開始後に予期されない重篤な有害事象の発生を認められた際には、有害事象緊急報告書 (様式 6) を用いて研究事務局に可及的速やかに連絡を行う。

11・研究組織

本研究は厚生科学研究ヒトゲノム・再生医療等研究事業「造血幹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」(小寺良尚班長)の助成を受けて実施され、その研究組織は以下の通りとする。

- 研究代表者： 小寺 良尚 (名古屋第一赤十字病院第四内科)
- 研究事務局：〒606-8507 京都市左京区盤橋院川原町 54
京都大学医学部附属病院第一内科内
NIMA 相稱的血縁者間造血幹細胞移植研究事務局
(事務局責任者) 一戸 辰夫
Tel: 075-751-3153 Fax: 075-751-4963
E-mail: nabc@kuhp.kyoto-u.ac.jp
- プロトコル委員： 一戸 辰夫 (京都大学第一内科)
石川 隆之 (京都大学第一内科)
玉木 茂久 (山田赤十字病院内科)
小川 啓哉 (大阪大学第三内科)
内山 卓 (京都大学第一内科)
- 効果安全性評価委員会： 森島 泰雄 (愛知県がんセンター化学療法科)
平林 憲之 (名古屋第二赤十字病院血液内科)
平岡 諦 (大阪府立成人病センター第五内科)
土肥 博雄 (広島赤十字・原爆病院内科)
原田 実根 (九州大学病態修復内科)
- HLA 解析/登録センター： 丸屋 悦子 (特定非営利活動法人 HLA 研究所)
佐治 博夫 (特定非営利活動法人 HLA 研究所)
- 統計解析： 松尾 恵太郎 (愛知県がんセンター疫学部)

17

12・関連資料

- 1) Henslee-Downey PJ, Abhyankar SH, Parrish RS, et al. Use of partially mismatched related donors extends access to allogeneic marrow transplant. *Blood* 1997;89:3864-3872.
- 2) Aversa F, Tabilio A, Veraldi A, et al. Treatment of high-risk acute leukemia with T-cell-depleted stem cells from related donors with one fully mismatched HLA haplotype. *N Engl J Med* 1998;339:1186-1193.
- 3) Champlin RE, Passweg JR, Zhang MJ, et al. T-cell depletion of bone marrow transplants for leukemia from donors other than HLA-identical siblings: advantage of T-cell antibodies with narrow specificities. *Blood* 2000;95:3996-4003.
- 4) Szylo R, Goldman JM, Klein JP, et al. Results of allogeneic bone marrow transplants for leukemia using donors other than HLA-identical siblings. *J Clin Oncol* 1997;15:1767-1777.
- 5) Kato S, Yabe H, Yasui M, et al. Allogeneic hematopoietic transplantation of CD34+ selected cells from an HLA haploidentical related donor. A long-term follow-up of 135 patients and a comparison of stem cell source between the bone marrow and the peripheral blood. *Bone Marrow Transplant* 2000;26:1281-1290.
- 6) Burlingham WJ, Grainger AP, Heisey DM, et al. The effect of tolerance to noninherited maternal HLA antigens on the survival of renal transplants from sibling donors. *N Engl J Med* 339:1657-1664, 1998.
- 7) Smits JMA, Claas FHJ, van Houwelingen HC, et al. Do noninherited maternal antigens (NIMA) enhance renal graft survival? *Transplant Int* 1998;11:82-88.
- 8) van Rood JJ, Claas F. Both self and non-inherited maternal HLA antigens influence the immune response. *Immunol Today* 2000;6:269-272.
- 9) Cairo MS, Wagner JE. Placental and/or umbilical cord blood: an alternative source of hematopoietic stem cells for transplantation. *Blood* 1998;90:4665-4678.
- 3) 丸屋悦子. ASHI 24th Annual Meeting Report. 日本組織適合性学会誌 1999;5:206-220.
- 4) van Rood JJ, Loberiza FR, Zhang MJ, et al. Effect of early exposure to non-inherited maternal antigens on outcome of haploidentical bone marrow transplants. *Blood* 2000;96(suppl 1):840a (abstract #3631).

19

試験分担医師： 本試験への症例の登録を行った施設において、試験業務を分担し、研究事務局との連絡を担当する医師。

なお、本試験は原則として、厚生科学研究ヒトゲノム・再生医療等研究事業「造血幹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」班の研究分担者、研究協力者が試験分担医師を担当可能な施設において実施する。

- 5) Harris DT, Schumacher MJ, LoCascio J, et al. Immunoreactivity of umbilical cord blood and post-partum maternal peripheral blood with regard to HLA-haploidentical transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1994;14:63-68.
- 6) Polchi P, Lucarelli G, Galimberti M, et al. Haploidentical bone marrow transplantation from mother to child with advanced leukemia. *Bone Marrow Transplant* 1995;16:529-535.
- 7) Tamaki S, Ichinohe T, Matsuo K, et al. Superior survival of blood and marrow stem cell recipients given maternal grafts over recipients given paternal grafts. *Bone Marrow Transplant* 2001;28:375-380.
- 8) Bianchi DW, Zickwolf GK, Weil GJ, et al. Male fetal progenitor cells persist in maternal blood as long as 27 years postpartum. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:705-708.
- 9) Maloney S, Smith A, Furst DE, et al. Microchimerism of maternal origin persists into adult life. *J Clin Invest* 1999;104:41-47.
- 10) Maruya E, Terasaki PI, Ichinohe T, et al. Very common occurrence of long-term reciprocal feto-maternal microchimerism detected by nested PCR for HLA antigens. *Human Immunol* 2001;62(suppl 1):S104 (abstract #130).
- 11) Saji H, Maruya E, Terasaki PI, et al. Microchimeric cells in mothers from their children as well as from their own mothers. *Human Immunol* 2001;62(suppl 1):S105 (abstract #131).
- 12) 北折健次郎, 足立達哉, 加藤千明, 他. GVHD 予防に FK506 を用い、血清学的 2 座不適合血縁者ドナーから骨髓移植を行った難治性白血病の一例。平成 11 年度厚生省がん研究「非血縁者間の同種血液幹細胞移植法による悪性腫瘍の治療率向上に関する研究」班会議抄録 (1999 年 6 月 26 日)。
- 13) 大津聡子, 一戸辰夫, 野呂和弘, 他. HLA 部分不適合血縁者からの T 細胞非除去骨髓移植にて完全寛解が得られた初回寛解不能の赤白血病。臨床血液 1999;40:581-586.
- 14) Jacobson P, Uberti J, Davis W, et al. Tacrolimus: a new agent for the prevention of graft-versus-host disease in hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1998;22:217-225.
- 15) Hiraoka A, Ohashi Y, Okamoto S, et al. Phase III study comparing tacrolimus (FK506) with cyclosporine for graft-versus-host disease prophylaxis after allogeneic

20

- bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2001;28:181-185.
- 16) Przepiorka D, Khouri I, Appelid C, et al. Tacrolimus and methotrexate for prevention of acute graft-versus-host disease after matched unrelated donor marrow transplantation. *Blood* 1996;88:4383-4389.
 - 17) Przepiorka D, Khouri I, Appelid C, et al. Tacrolimus and methotrexate for prevention of acute graft-versus-host disease after HLA-mismatched marrow or blood stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1999;24:763-768.
 - 25) Ichihara T, Tanaki S, Watanabe A, et al. Feasibility of non-T-cell-depleted blood and marrow transplantation between haploidentical family members linked with long-term fetomaternal microchimerism. *Blood* 2001;98:669a (abstract #2804).
 - 26) 日本造血細胞移植学会・日本輸血学会：同種末梢血幹細胞移植のための健康人ドナーからの末梢血幹細胞の動員・採取に関するガイドライン（2000年7月21日）。
 - 27) 日本造血細胞移植学会：造血細胞移植ガイドライン（2）急性GVHD（1999年7月）。
 - 28) Shiohara S, Nakao S, Ueda M, et al. Donor leukocyte infusion for Japanese patients with relapsed leukemia after allogeneic bone marrow transplantation: lower incidence of acute graft-versus-host disease and improved outcome. *Bone Marrow Transplant* 2000;26:769-774.
 - 29) Przepiorka D, Weisdorf D, Martin P, et al. Consensus conference on acute GVHD grading. *Bone Marrow Transplant* 1995;15:825-828.
 - 30) Martin PJ. Overall response categories. *Blood* 1990;76:1464-1472.
 - 31) Bearman SI, Appelbaum FR, Buckner CD, et al. Regimen-related toxicity in patients undergoing bone marrow transplantation. *J Clin Oncol* 1988;6:1562-1568.
 - 32) NCI-CTC ver 2.0 日本語訳 JCOG 版について. *癌と化学療法* 1999;26:1084-1144.

臨床研究：

「FK306 を GVHD 予防に用いた非遺伝母 HLA 抗原（NIMA） 相補的血縁者間造血幹細胞移植」に関する説明文書

これからあなたに、「FK306 を移植片対宿主病（GVHD）予防に用いた非遺伝母 HLA 抗原（NIMA）相補的血縁者間造血幹細胞移植」（以下「FK306 を用いた NIMA 相補的血縁者間移植」と略）の臨床試験についての説明をさせていただきます。臨床試験とは、よりよい治療法を見つけていくために行われる医学研究のひとつであり、一定の基準で治療の行われた患者さんを対象にして、その効果や安全性の詳しい検討を行うものです。今回の試験の目的は、母子間免疫寛容に基づいた新しいドナーの選択方法によって、HLA が一致していない血縁者の間においても安全な造血幹細胞移植の実施が可能であるかを知ることです。

この臨床試験への参加は全てあなたの自由意志によって決定されます。あなたには試験分担医師より十分な説明を受け、この研究の医学的意義・治療の内容・治療による利益・治療に伴うリスクに関して全ての事項を知る権利があります。この説明書は、あなたにこの治療に関する十分な知識をもっていただき、この試験への参加を含む今後の治療方針の選択のためにできるだけ多くの情報を持っていただくために作成されています。説明の内容や医学用語などを、わかりにくい点や不安な点がございましたら、遠慮することなく試験分担医師まで質問して下さい。またこの説明書は、あなたのご家族やあなたの権利を法的に保護可能な立場の方にお読みいただいても差し支えありません。

この臨床試験の内容を十分に理解され、試験への参加を希望される場合には、試験参加への同意書にご署名をお願いいたします。この臨床試験への参加に同意した後も、実際に治療が開始される直前まで、あなたはいつでもその意志を撤回することが可能です。またこの臨床試験にあなたが参加しない場合にも、あなたは治療上一切の不利益を受けず、この方法以外の最善の処置によって以後の治療は行われます。

1

ト白血球抗原系（HLA）と呼ばれるものです。

1-⑤ HLA とは？

HLA は個体の免疫応答の制御に関わる重要なタンパク質で、その役割・構造・分布などの点から、大きく 2 つのグループに分類されています。現在同種造血幹細胞移植のドナーの選択に当たっては、HLA-A、HLA-B、HLA-DR と呼ばれる 3 種類の抗原の一致程度が参考にされています（両親から A-B-DR の組み合わせを一組ずつ遺伝するため、実際には 6 抗原の一致程度を調べます）。

1-⑥ HLA の検査方法と一致・不一致の判定：

HLA の検査方法には、血清を用いる方法などの低精度タイピング法と、遺伝子型からより詳しい判定を行う高精度タイピング法があり、一部の抗原では「低精度タイピングでは「一致」と判定されても、高精度タイピングでは「不一致」と見なされる場合があります。以下の説明の中では、HLA の一致・不一致は、特にことわりがない限り、低精度タイピングに基づいて判定されているものです。なお、患者さんがドナーと異なる HLA を有している場合を、「GVHD 方向の不一致」と呼びます。またドナーが患者さんと異なる HLA を有している場合を「拒絶方向の不一致」と呼びます。

1-⑦ ドナー選択における HLA の重要性：

同種造血幹細胞移植後の GVHD の発生頻度は、HLA が 6 抗原とも一致したドナーからの移植において最も低いことが知られています。また、病気が安定している時期に移植を受ける場合には、移植後に長期生存が得られる可能性も、HLA が一致したドナーからの移植でもっとも高いとされています。このため、現在では、血縁者間で HLA の一致したドナーが見つからなかった場合には、骨髄バンクから HLA が一致したドナー候補者を探して移植を試みるのが一般的に行われています。ただし同じ HLA 6 抗原一致ドナーでも、非血縁者間で実施された場合には血縁者間よりも重症 GVHD が出現しやすいことが知られており、移植成績を高めるためには、高精度タイピングで HLA が一致しているドナーを選択することが重要と考えられています。

1-⑧ 臍帯血の選択と HLA：

一方、臍帯血移植では、HLA に不一致が存在する場合にも、骨髄や末梢血幹細胞を用いた移植と比較して、GVHD の重症化が起こりにくいことが知られています。このような臍帯血の利点を生かして、骨髄バンクにドナーが見つからない場合でも、臍帯血バンクで HLA の不一致が 2 抗原以内の臍帯血が見つければ、同種造血幹細胞移植の実施が可能と考えられています。しか

3

1・同種造血幹細胞移植と HLA

1-① 難治性血液疾患に対する根治療法としての同種造血幹細胞移植：

白血病・リンパ腫などの難治性血液疾患の治療成績は、この数年間で著しい向上を遂げています。特に同種造血幹細胞移植と呼ばれる治療法の普及は、通常の薬物療法だけでは治療が困難な病状の患者さんに対しても、根治の可能性を大きく開いてきたと考えられています。実際、あなたの現在のご病状に対しても、同種造血幹細胞移植によって予後が改善される可能性があることが判断されています。

1-② 造血幹細胞とは？

造血幹細胞とは、赤血球・白血球・血小板など体内に分布するすべての血液細胞（「血球」）の供給源になっている細胞です。移植のための造血幹細胞の提供者をドナーと呼びます。同種造血幹細胞移植とは、あなたの造血幹細胞をドナー由来のものに置き換えるという治療法です。

1-③ 3 種類の造血幹細胞移植法：

現在日常的に実施されている同種造血幹細胞移植方法として、骨髄移植、末梢血幹細胞移植、そして臍帯血移植の 3 種類があります。いずれも医療保険で認可された治療法ですが、どの方法が優れているかについては、これまで一定の見解は得られていません。ドナーの方からの造血幹細胞の採取方法はそれぞれの移植で異なっています。骨髄の採取は、全身麻酔下で通常骨盤から行われます。末梢血幹細胞の採取は、体外循環回路を用いて行われ、全身麻酔は不要です。そのかわりに、骨髄から末梢血管内へ造血幹細胞を動員するため、採取に先立って顆粒球コロニー刺激因子（G-CSF）と呼ばれる注射薬を 4～5 日間ドナーに注射することが必要です。一方、臍帯血は、分娩時に所定の手続きを経て採取され、その保存と管理は通常臍帯血バンクで行われています。

1-④ 同種造血幹細胞移植のリスクと GVHD：

さて、難治性血液疾患に対する高い有効性の反面、同種造血幹細胞移植にはさまざまなリスクも存在します。その最大のもののひとつは、移植後にドナー由来のリンパ球があなたの臓器を攻撃するために発生する「移植片対宿主病」（graft versus host disease, GVHD）と呼ばれる合併症です。GVHD の発生には、あなたとドナーの間の遺伝情報の違いが関与すると考えられています。その中でもとりわけ大きな影響を与えることが知られているのが、ヒ

2

し、臍帯血の生着（移植後造血幹細胞が体に定着し、安定した造血機能の回復が得られること）のためには、患者さんの体重 1 kg あたり 1,000 万個程度の細胞数が必要と考えられており、小児以外の患者さんを対象とした場合には、移植細胞数の不足等から生着不全や重篤な感染症の発生頻度が高まることが問題とされています。

2・HLA 不一致同種造血幹細胞移植の問題点

2-① HLA 不一致移植の位置付け：

現在では、骨髄バンクや臍帯血バンクの発達により、移植が必要と考えられる過半数の患者さんに対しては、血縁者ドナーが見つからなくても非血縁者由来の造血幹細胞の提供が可能になりました。しかし、あなたのための、順度の低い HLA の組み合わせを有している、あるいは病気の進行が早いドナーを探し出す時間的余裕がない等の理由のため、公的造血幹細胞バンクを介した移植の実施が困難と考えられる患者さんも少なからず存在しています。そのような場合に考慮されるのが、HLA が一致していない血縁者からの造血幹細胞移植です。

2-② HLA 不一致移植の問題点：

HLA に不一致が存在するドナーからの同種造血幹細胞移植では、HLA 一致ドナーからの移植と比較し、移植した細胞の拒絶（ドナーの細胞が患者さんの造血組織から失われてしまうこと）や重症 GVHD の発生頻度が高まることの問題とされています。特に 1980 年代までは HLA に 2 抗原以上の不一致が存在する血縁者ドナーからの骨髄移植も試みられていましたが、GVHD 方向の不一致が 2 抗原以上存在する場合には、過半数の症例に重症の GVHD が発症し、長期生存率も 10% 程度というきわめて低い数字にとどまるものでした。また、拒絶方向に不一致が存在する場合には、移植をした細胞が生着しなかったり、生着しても時間の経過とともに拒絶されていく頻度が高まるということも報告されました。このような経験を通じて、骨髄や末梢血幹細胞を用いた移植実施に当たって、患者さんとドナーの HLA の不一致に関しては 1 抗原以内までが許容範囲と考えられてきました。

2-③ T 細胞除去移植法：

その一方で、HLA 不一致造血幹細胞移植の治療成績を改善することを目的として、「T 細胞除去移植」という方法も開発されてきました。T 細胞除去移

4

植とは、GVHDの発生に関与するT細胞と呼ばれるリンパ球を、あらかじめ、骨髄液や末梢血幹細胞浮遊液から除去して移植を行う方法であり、最近では、CD34陽性細胞と呼ばれる、造血幹細胞を豊富に含む細胞を純化して移植される方法がよく用いられています（純化CD34陽性細胞移植）。T細胞除去移植法を用いると、HLAの組み合わせが半分だけ一致している血縁者間（主にHLA2抗原または3抗原一致の血縁者）においても、GVHDの重症化を招くことなく移植が行えるため、理論的にはほとんどすべての患者さんへ移植の適応を拡大することが可能となります。

3-④ T細胞除去移植の問題点：

このように大きな期待がもたれたT細胞除去移植ですが、実施経験の増加に伴い、従来の移植と比較して、生着不全（移植した細胞が拒絶されたり、一旦生着しても徐々に失われていったりすること）が起こりやすい、移植後の日和見感染症の発生率が高い、腫瘍性の疾患においては原癌の再発が起こりやすいなどの問題が指摘されるようになってきました。実際、わが国において1993年から1998年までに試みられた純化CD34陽性細胞移植の調査では、およそ20%の患者さんに生着不全が見られ、6歳以上の患者さんを対象とした場合の1年予後生存率は15%以下という非常に低いものにとどまりました。T細胞は、このように幹細胞の生着や、移植後の免疫機能の維持、腫瘍細胞の除去などに重要な役割を果たしていると考えられ、最近では、移植後の移植法として、T細胞除去移植を行った後に、少しずつT細胞を追加して移植する試みも行われています。また、海外の施設からは、従来よりも大量のCD34陽性細胞を移植することによって治療成績の改善が得られるという報告がなされており、現在その知見を確認するために、厚生労働省の研究班において新たな臨床試験の実施が検討されています。あなたがもし純化CD34陽性細胞移植の臨床試験についての情報を詳しく知りたい場合には、試験分担医師までお申し出下さい。

3-⑤ 新たなHLA不一致移植法開発の必要性：

以上述べてきたように、HLAに2抗原以上の不一致が存在する血縁者からの標準的な造血幹細胞移植法はいまだに確立していないのが現状であり、新たなアプローチによる治療成績の改善が求められています。

NIMAに対して「寛容」になっているのか否かについては、まだ明らかではありません。

3-④ 母子間免疫寛容とNIMA：

このようなNIMAに対する寛容の説明として、妊娠中に見られる「母子間免疫寛容」という現象の関与が示唆されています。つまり、人は胎児期に母親の細胞を体内に受け入れていることが知られており、その結果として自分とは異なったHLAであるにもかかわらず、NIMAを攻撃しにくくなっている可能性がある、というものです。同様に妊娠中の母親は胎児の細胞を体内に受け入れており、胎児固有の抗原に対して寛容状態にあるとされています。

3-⑤ 母子間マイクロキメリズム：

これまでこのような母子間の免疫寛容は、妊娠期間特有のものであり、出産とともに解消されると考えられてきました。しかし、NIMAに対する寛容の発見は、母子間の免疫寛容が妊娠終了後も持続している可能性を示すものといえます。実際、最近開発された感度の高い検査方法を用いることによって、成人でも母親由来の細胞を拒絶せずに体内に有し続けている場合があることや、母親も子供由来と考えられる細胞を出産後長期間持ち続けている場合があることが知られるようになってきました。このような現象は「母子間（長期）マイクロキメリズム」と呼ばれ、その生物学的意義について、現在精力的な研究が行われています。日本では、100名以上を対象とした調査がおこなわれ、成人の60%以上に母由来細胞の検出が可能であり、出産経験のある女性の80%以上に子由来細胞のマイクロキメリズムが認められた、と報告されています。

3-⑥ 造血幹細胞移植における母子間免疫寛容の効果：

造血幹細胞移植においても腎移植と同様に、NIMAへの寛容、あるいは母の子に対する寛容が認められる可能性が、国際造血細胞移植登録（IBMT）及び日本造血細胞移植学会の調査において示唆されています。前者は、HLAに2抗原以内の不一致が存在する血縁者間T細胞除去移植において、NIMAが不一致の兄弟間ではNIPAが不一致の兄弟間よりも急性GVHDの発症頻度が少なかったとするものです。また後者は、親から造血幹細胞移植を受けた患者さんの長期生存率を検討したもので、母から移植を受けた群が父から移植を受けた群よりも高かったとするものです。ただし、これらの検討は、もともとの病気の背景や、GVHDの予防法なども様々な移植例をまとめて解析した結果であるため、厳密に母子間免疫寛容の効果を示した報告とは評価できません。

3・母子間長期免疫寛容仮説に基づいた新しいドナー選択方法 ～NIMA相補的血縁者間移植～

3-① NIMA相補的血縁者間移植：

これから説明する治療法は、「PK506を用いたNIMA相補的血縁者間移植」と呼ばれるT細胞除去を用いないHLA不一致移植法です。この治療法は、1999年に日本で提案され、その後、国内で実施された調査の結果、今後の新しいドナー選択法として有望である可能性が示唆されています。しかし、現在の段階では海外においても系統的研究はなされておらず、治療法として確立したものではありません。

3-② HLAの遺伝形式とNIMA：

まず非遺伝母HLA抗原（NIMA）について説明をいたします。1-⑤でも述べたように、私たちは通常、父親と母親から一組ずつのHLAの組み合わせを遺伝します。つまり、ひとりの子供は、父親と母親のもつ2組のHLAの組み合わせのうち1組だけを遺伝しています。この時、母親のHLAのうち、子供に遺伝しなかったHLAを、その子供から見たときの非遺伝母HLA抗原（NIMA）と呼びます。同様に、父親のHLAのうち、子供に遺伝しなかったHLAを非遺伝父HLA抗原（NIPA）と呼びます。

3-③ NIMAに対する免疫寛容の可能性：

私たちは、通常自分と異なったHLAを持った細胞を排除しようとする体のしくみを継いでいます。そしてこのことが2-②で述べたように、HLA不一致造血幹細胞移植の大きな妨げになっていると考えられます。しかし、最近のさまざまな研究を通じて、NIMAに対してだけは他の自己HLAに対してよりも免疫応答が起こりにくい傾向があることが示唆されています。たとえば、たくさん輸血を受けた患者さんでは、血液の中に、自分とは異なったHLAに対する抗体（異物を排除するためにB細胞と呼ばれるリンパ球が産生する特別なタンパク質）が検出されることがありますが、NIMAに対しては、NIPAに対してよりも抗体ができにくいという現象が報告されています。また、ひと組のHLAの組み合わせを共有した兄弟間の腎臓移植では、不一致のHLAがNIMAである場合の方が、NIPAである場合よりも長期生着率がすぐれていたという報告もあります。このように、ある特定の抗原（免疫反応の引き金となる物質）に対して免疫担当細胞の攻撃が起こりにくくなっていることを、「免疫寛容」の状態と呼んでいます。ただし、これらの研究の多くは臨床的な観察にとどまっているため、どの個人の免疫系も必ず

3-④ NIMA相補的血縁者～新しいHLA不一致ドナー選択法：

このような背景のもと、1999年から2001年にかけて、日本の複数の造血幹細胞移植施設において、ドナーの見つからないきわめて病状の進行した患者さんに対する救命的治療として、新しいHLA不一致血縁者間造血幹細胞移植の試みが開始されました。この移植方法が「NIMA相補的血縁者間移植」です。なお、「NIMA相補的血縁者」とは、母親（患者さんが母親である場合には子供）や不一致HLAがNIMAであるような兄弟（NIMA相補的同胞と呼ばれる）のように、ドナーとなった場合に母子間免疫寛容の効果が期待できる血縁者のことを指します。「NIMA相補的血縁者間移植」とは、HLAの不一致抗原数によらず母子間マイクロキメリズムを免疫寛容の目的に、NIMA相補的血縁者からT細胞除去移植を行うという移植方法です。

3-⑤ NIMA相補的血縁者間移植に関する全国調査：

厚生労働省の研究班（研究代表者：小寺 良尚、名古屋第一赤十字病院）では、この臨床試験の実施に先立ち、NIMA相補的血縁者間移植に関する全国調査を行い、GVHD方向にHLAに2抗原以上の不一致が存在するドナーからの移植例22例の移植成績を検討しました。その結果、T細胞除去を用いていないにもかかわらず、重症のGVHDが認められた患者さんは24%にとどまっており、ほとんどの患者さんが病状の悪化している状態で移植を受けていたにもかかわらず、半数以上の方がご生存中（6名が移植後1年以上生存）ということが明らかになりました。また、合併症のため生着が確認される前になくなられた1名の患者さんを除いては、移植した細胞の拒絶や生着不全は認められませんでした。この結果は、「NIMA相補的血縁者間移植」が、従来のT細胞除去移植方法に劣らない有望なHLA不一致血縁者間移植法である可能性を示しているものと考えられます。

3-⑥ NIMA相補的血縁者間移植の問題点と臨床試験の必要性：

一方、この調査では、母から子への移植例において重症GVHDが発生しやすい傾向がある。また母子間マイクロキメリズムが証明されていてもGVHDが重症化する場合があります。などNIMA相補的血縁者間移植の問題点も指摘されています。したがって、より多くの病者の方々に安全で有効性の高い治療法としてNIMA相補的血縁者間移植を実施可能にしておくためには、同種造血幹細胞移植に対する十分な経験をもった施設における臨床試験を行い、GVHDの発生頻度、母子間マイクロキメリズムの有無とGVHD発症の相関、もともとの病状に対する治療効果などをあらかじめ厳密に検討する必要があると考えられます。

4・臨床試験の内容

4-① 臨床試験の目的：

この臨床試験の目的は、NIMA 相補的血縁者からのT細胞非除去移植の安全性の検討を行うことです。移植後の安全性の目安としては、移植後 100 日以内において、重症 GVHD や再発以外の原因による死亡がどれだけ起こりにくいかを調べます。なお、一般に GVHD 方向への HLA 不一致抗原数が増えると重症 GVHD の発生頻度が高まると考えられており、今回の試験では、高精度タイピングで HLA-A, HLA-B, HLA-DR の 3 抗原すべてに GVHD 方向の不一致が存在するドナーからの移植は対象とはされません。

4-② 臨床試験参加の手続き：

あなたとドナーがこの試験への参加を希望された場合、まず試験参加への同意書にご署名をいただきます。その後、今回の治療を行う上であなたのご病状やドナーの方の健康状態に問題がないかを調べるために、血液検査などを行わせていただきます。この段階で、あなたやドナーの健康状態が、移植の実施に適していないと判断された場合には、試験への参加はできません。一方、試験への参加に適していると判断された場合には、あなたとドナーの血腫と爪を用いて、母子間マイクロキメリズムの検査が行われます。母子間マイクロキメリズムの検査には通常 2~4 週間を要します。検査結果は、試験分相医師からあなたに説明され、以後はあなたのご病状から判断して最も適切と考えられる時期に移植の前処置が開始されます。母子間マイクロキメリズムが絶対的なドナー選択の指標になり得るかはまだ不明のため、今回の試験では母子間マイクロキメリズムの検出と GVHD 発症の関連も検討することが予定されています。したがって、母子間マイクロキメリズムが陰性の場合でも移植を受けることは可能です。また、ご病状の悪化が予測される場合に、母子間マイクロキメリズムの検査結果を待たずに移植を受けることも可能です。

4-③ 移植前処置：

同種造血幹細胞移植実施のための前処置は、あなたの現在の病状に最も適したと考えられる方法が試験分相医師によって決定されます。

4-④ ドナーと移植片（移植に用いる細胞）：

移植に用いられる細胞には、あなたの病状やドナーの方の健康状態・希望に応じて、骨髄あるいは末梢血幹細胞のいずれかが選択されます。また、移

植に十分なための造血幹細胞が確保されていないとの判断から、骨髄と末梢血幹細胞を合わせて移植する場合があります。なおドナーは、安全に造血幹細胞の採取が可能と考えられる 10 歳から 70 歳までの健康な方であることが必要です（末梢血幹細胞を使用する場合には原則として 65 歳まで）。

4-⑤ 免疫抑制剤：

移植時の免疫抑制剤としては、FK506（タクロリムス）とメソトレキセートという薬剤を組み合わせて用います。FK506 は 1983 年に日本で発見された免疫抑制剤で、移植後の拒絶や GVHD などの予防にすぐれた効果を発揮することが知られています。また FK506 のこのような効果はメソトレキセートとあわせて用いることにより、さらに高められるとされています。日本においては、従来から使用されているサイクロスポリンという免疫抑制剤と FK506 の GVHD 予防効果に関する比較臨床試験が行われ、サイクロスポリンを用いた群の中重症～重症 GVHD の発症頻度は 48.0% であったのに対し、FK506 使用群においては 17.5% であったと報告されています。

4-⑥ 免疫抑制剤の投与スケジュール：

この試験における FK506 とメソトレキセートの投与スケジュールは原則として以下の通りです。

移植前日から、1 日量であなたの体重 1kg あたり 0.02 mg の FK506 を 24 時間かけて静脈内投与をいたします。FK506 は、移植後 4 週間が経過した時点を行々に内服薬に変更され、以後はあなたの病状にしたがって、少しずつ減量されていきます。

移植後第 1 日目、第 3 日目、第 6 日目の合計 3 回、あなたの体表面積 1 平方メートルあたり 5 mg のメソトレキセートが静脈注射されます。

なお、FK506 には、腎臓の働きを弱めたり、血糖値をあげたりする副作用があるため、その投与量や投与方法は、試験分相医師があなたにとって適切と判断する方法に変更されることもあります。

4-⑦ GVHD の治療：

移植後に GVHD の発症を認め、治療が必要と判断された場合には、原則として、まず副腎皮質ステロイド剤による治療が行われます。副腎皮質ステロイド剤で十分な治療効果が得られなかった場合には、試験分相医師によって最も適切と考えられる治療が選択されます。

4-⑧ 試験参加期間・試験参加人数：

この臨床試験では、移植を受けていただいてから 100 日目、1 年目、2 年目、3 年目の 4 回にわたって、その時点までの治療経過とあなたの健康状態

を調査させていただきます。したがって、試験に参加していただく期間は、あなたとドナーに同意書をいただいてから移植後 3 年目までの期間となります。また、移植の安全性を十分に検討するため、この試験には 50 人以上の方に参加していただくことを予定しています。

5・予想される有害事象と健康被害の補償

5-① 健康被害発生の可能性：

あなたの現在のご病状はこれまでの治療方法では治癒が難しい状態と判断されており、私たちは、あなたのご病状を根治に導くためには NIMA 相補的血縁者間移植の実施が有用であると考えています。しかし、現時点においては、このような難治性の血液疾患に対する NIMA 相補的血縁者間移植の治療効果は十分に確立されたものではなく、移植の実施後に現在より病状が悪化したり、最悪の場合には命を落とされるなどの健康被害が発生する可能性を否定することができません。

5-② 移植に伴う有害事象：

移植の前処置に用いられる大量の抗がん剤や放射線による治療は、口内炎や下痢などの消化管粘膜の障害を引き起こすばかりではなく、肺・心臓・肝臓・腎臓のような生命活動の維持に必須の臓器に回復不可能な障害をもたらすことがあります。移植後に発生する GVHD は、主に皮膚や消化管・肝臓に炎症を起こしますが、難治性の下痢や黄疸の進行など生命の維持が困難なほど重症化が見られることがあります。また、移植後長期間にわたる免疫抑制剤の使用により、日和見感染症やがんの発生頻度が高まる可能性があります。

上記のような有害事象に対しては、試験分相医師によって最善の対処がなされますが、最悪の場合には移植の実施後にご病状の再発以外の理由で命を落とす可能性も存在します。

5-③ 健康被害の保障：

同種造血幹細胞移植は、このように一定のリスクを伴った治療法ですが、現在医薬品副作用被害救済制度の対象外とされています。したがって、この臨床試験で発生した健康被害に対しては、医薬品副作用被害救済制度による補償をお支払いすることができません。ただし、あなたの治療を担当する試験分相医師は、この試験に起因すると判断された健康被害によって賠償責任が発生したときへの対応が可能であるよう、医師賠償保険に加入することが義務付けられています。

6・試験参加者の人権の保護

6-① 倫理審査委員会：

この臨床試験は、この治療法を実施する施設の倫理審査委員会によって実施の倫理性・医学的な意義などに関する十分な審議を経て承認されたものです。倫理審査委員会とは、この臨床試験には参加しない中立的な立場の医師、薬剤師、弁護士などによって構成され、試験に参加する患者さんの人権や安全性が確保されているかを審査する会のことです。

6-② 試験参加者のプライバシーの保護：

この臨床試験で明らかにされた新しい知見は、学会や研究会で報告されたり、論文として発表されることがありますが、あなたとドナーの名前は、臨床試験登録時から匿名化されており、検査結果や治療経過が個人が特定される形で外部に公表されることは決してありません。また、この試験全体を通じて、あなたとドナーのプライバシーはかたく守られます。

6-③ カルテの閲覧：

この臨床試験に関する検査データや治療経過の報告が正確に行われているかを確認するために、研究事務局が派遣する医師があなたとドナーのカルテを閲覧させていただくことがあります。その場合にも、あなたとドナーのプライバシーはかたく保護されます。なお、試験参加への同意書にご署名いただくことにより、この臨床試験に関わるカルテの閲覧に関してのご承諾を得たこととさせていただきます。

6-④ 試験情報の開示：

あなたがこの試験の参加に同意された後で、試験参加の継続にかかわる重要な情報が得られた場合には、あなたには文書によってその情報をお伝えします。また、試験分相医師にはあなたが移植を受けるまでにこの試験に参加された方の治療成績が定期的に報告されており、あなたはその情報を知ることができます。

6-⑤ 試験の中止：

この臨床試験では、試験分相医師以外の 5 名の医師から構成される効果安全性評価委員会が、定期的に治療の安全性評価を行っています。また、この試験の開始後に試験の続行が困難と考えられる問題が発生した場合には、この臨床試験の研究代表者（小寺貞尚、名古屋第一赤十字病院）によって臨床試験が中止されることがあります。

6-⑤ 試験不参加の自由：

この説明を聞いた後で、試験に参加することを希望されなくても、あなたは、治療上の不利益を被ることは決してありません。また、試験参加に同意した後でも、いつでもそれを撤回することが可能です。すなわち、いつでも、いかなる理由でも、試験への参加を取り止めることが可能です。どの場合においても、以後はあなたの病状にとって最善と考えられる方法によって治療が行われます。

上記の説明と試験の内容を十分に理解された後で、この試験に参加してもよいと判断された方は、別紙の試験参加に関する同意書にご署名下さい。また、もしこの試験の内容に関してご不明の点がおありの場合は、下記の研究事務局長まで試験分担医師を介してお問い合わせ下さい。

：NIMA 相補的血縁者間造血幹細胞移植研究事務局
（事務局責任者）一戸 辰夫
〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町 54
京都大学医学部附属病院第一内科内
TEL:075-751-3153 Fax:075-751-4963

説明年月日 _____ 年 ____ 月 ____ 日

説明者署名（試験分担医師氏名）：

試験分担医師連絡先（所属施設・診療科・連絡先）：

「FK506 を GVHD 予防に用いた非遺伝子 HLA 抗原（NIMA）相補的血縁者間造血幹細胞移植に関する臨床試験」実施計画書（案）

（頁）（項）	（行）	（訂正箇所）
P8 1	下から 4 行目	Ⅲ度以上重症 GVHD ⇒Ⅲ度以上重症急性 GVHD（正）
P14 7-4	下から 1 行目	主評価項目のうち重症 GVHD ⇒主評価項目のうち Ⅲ度以上急性 GVHD（正）
P16 10-1-2	上から 4 行目	ここで治療抵抗性の GVHD とは ⇒ここで治療抵抗性であると は（正）
	上から 5 行目	得られない症例とする。 ⇒得られない場合と定義する。（正）
	下から 2 行目	二項分布の信頼区間 ⇒二項分布の 95% 信頼区間（正）
P17 11	下から 1 行目	愛知県がんセンター 疫学部 ⇒愛知県がんセンター 研究所疫学予防部（正）

その他お気づきの点がございましたら、
研究事務局までご教示よろしくお願いたします。
(FAX:075-751-4963 担当：村松裕子)

同意年月日 年 月 日

署名（本人氏名）

（代諾者氏名*） [本人との関係]

*本人が署名できない場合のみ

私は臨床試験「FK506 を GVHD 予防に用いた NIMA 相補的血縁者間造血細胞移植」に関して、この説明書の内容に関する説明を受け、これを十分に理解した上、上の者のドナーとして本試験に参加することに同意いたします。

同意年月日 年 月 日

署名（ドナー氏名）

（代諾者氏名*） [本人との関係]

*本人が署名できない場合のみ

私は臨床試験「FK506 を GVHD 予防に用いた NIMA 相補的血縁者間造血細胞移植」に関して、この説明書に従い、口頭および文書で説明を行い、上記 2 名の試験参加への同意が得られたことを認めます。

署名年月日 年 月 日

署名（試験分担医師氏名）

（試験実施施設名）

（署名後、本人・ドナー・試験担当医師が一部づつ保管のこと）

臨床研究：「FK506 を GVHD 予防に用いた NIMA 相補的血縁者間

造血細胞移植」への参加に関する同意書

私は、試験分担医師 _____ 氏より

- (1) 私の病気の予後の改善のためには同種造血細胞移植の実施が望ましいと考えられること。
- (2) 私には造血細胞移植の実施のために標準的と考えられるドナー・臍帯血が見い出されていないこと。
- (3) FK506 を用いた NIMA 相補的血縁者からの T 細胞非除去造血細胞移植は実施経験が少なく、現在臨床研究の段階にあると考えられること。
- (4) HLA 不一致血縁者間移植においては、HLA 一致者間移植に比較し、重症感染症や移植片対宿主病の発生頻度が高い傾向にあること。特に HLA に 2 抗原以上の不一致が存在する場合にはその頻度が高まることが報告されていること。
- (5) 同種造血細胞移植を行っても病気が再発する可能性があること。
- (6) 母子間長期免疫寛容の評価を行うため、私およびドナーの血液・爪を用いて造血細胞の母子間マイクロリズムの検査が行われること。
- (7) 私はこの治療への承諾後もいつでも参加の意志を撤回できること。また、撤回後も、一切治療の上での不利益を受けず、原疾患に対する最善の処置を受けられること。
- (8) 私およびドナーのプライバシーは最大限に尊重されること。
に関して説明を受け、「FK506 を GVHD 予防に用いた NIMA 相補的血縁者間造血細胞移植」による治療を受けることを同意します。
私は治療によって期待される効果およびそれに伴う可能性のある不利益を理解しましたが、不測の事態が生じた場合には再度十分な説明と最善の処置を受けられることを希望します。

血清型HLA 1抗原ミスマッチ非血縁者間骨髄移植の成績

骨髄移植推進財団医療委員会 加藤俊

1. 疾患内訳

腫瘍性疾患30例 (SR 6例、HR 24例)

ALL 8例、AML 7例、MDS 8例、CML 7例

再生不良性貧血 3例

2. 年齢：8～46歳 (中央値24歳) 3. 性別：男性22例、女性11例

4. 植実施期間：1996年5月～2001年3月

5. HLAミスマッチ度

	ミスマッチ数			
	0	1 (I; II)	2	3
拒絶・血清型	2	31 (12:19)	0	0
拒絶・DNA型	1	22 (5:17)	9	1
GVH・血清型	22	11 (0:11)	0	0
GVH・DNA	6	23 (6:17)	2	2

6. GVHD予防法：CYA±MTX 13例、FK±MTX 20例

7. 急性GVHD

0度：6例、I度：5例、II度：12例、III度：4例、IV度：3例、評価不能：3例

8. ミスマッチ別急性GVHD

	拒絶・血清			拒絶・DNA				GVH・血清		GVH・DNA				合計
	0	1A	1DR	0	1A	1DR	2-3	0	1DR	0	1AB	1DR	2-3	
0	0	3	3	0	1	3	2	5	1	2	1	3	0	6
I	0	3	2	0	2	1	2	4	1	1	2	1	1	5
II	1	2	9	1	0	8	3	5	7	2	1	8	1	12
III	0	2	2	0	1	2	1	3	1	1	0	2	1	4
IV	0	2	1	0	1	1	1	3	0	0	2	1	0	3
不明	1	0	2	0	0	2	1	1	1	0	0	2	1	3
合計	2	12	19	1	5	17	10	21	11	6	6	17	4	33

9. GVHD予防法別急性GVHD

	CYA±MTX	FK±MTX	合計
N	14	19	32
0	2	4	6
I	3	2	5
II	4	8	12
III	2	2	4
IV	3	0	3
不明	0	3	3

10. 慢性GVHD

あり：6例、 なし、17例、 評価不能：10例

11. DFS

		症例数	DFS
全体		33	50.0 ± 9.6
腫瘍性疾患リスク別	SR	7	71.4 ± 17.1
	HR	23	42.3 ± 11.5
再生不良性貧血		3	66.7 ± 27.2
血清・GVH方向	0	22	33.0 ± 10.5
	1	11	90.9 ± 8.7
DNA・GVH方向	0	6	62.5 ± 21.4
	1	23	49.3 ± 12.3
	2	2	50.0 ± 35.4
	3	2	0.0 ± 0.0
GVHD予防法別	CYA ± MTX	14	50.0 ± 13.4
	FK ± MTX	19	49.3 ± 13.7

12. 死因 (12例)

感染：6例、GVHD：1例、再発：1例、出血：1例、VOD：1例、その他：2例

[結論]

DFSと最も強い相関が認められたのはGVH方向のDNAミスマッチ数であり、クラスI抗原の方がクラスII抗原よりも強い相関を示した。

「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

Unmanipulated marrow を用いた HLA ミスマッチ移植

大阪大学大学院医学系研究科 分子病態内科学 小川啓恭

HLA 不適合移植

1. HLA1 抗原の mismatch は、重症の GVHD の約 10%の上昇につながる。
2. 血縁者間 HLA1 抗原不適合移植の成績は、血縁者間 HLA 適合移植の成績に、ほぼ匹敵する。
3. FK506+MTX+mPSL(2mg/kg)の GVHD 予防により、uBMT(allele level での mismatch:1 座 9 例、2 座 3 例を含む)の急性 GVHD をほぼ 100%押さえることができる。
4. FK506+MTX+mPSL を base にした、GVHD 予防により、血縁者間 HLA 不適合移植が可能かどうかを検討した。

HLA 不適合数と急性GVHD (II~IV) の発症率の関係

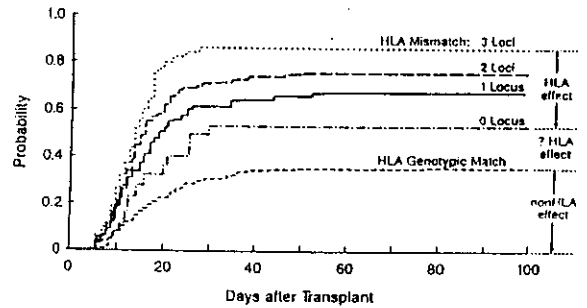


Figure 1. Effect of the degree of HLA incompatibility on the probability of acute GVHD (grades II-IV) in patients who received related donor transplants and immunosuppression with cyclosporine (CSP) and methotrexate (MTX).

(Anasetti et al. Transfus. Sci. 1994)

対象および定義

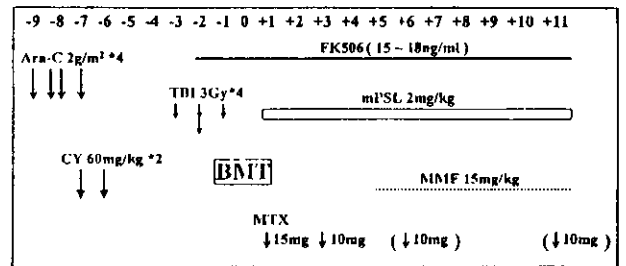
進行期悪性血液疾患であり、血縁者にHLA適合ドナーが存在せず、骨髄バンクに適合ドナーが存在しないか、あっても時間的余裕がない症例を対象とした。

幹細胞ソースはすべて骨髄より採取した。

ドナーは1つのhaplotypeを共有し、HLA-A, B, DRのうち、2つまたは3つが不適合の者とした。

HLA不適合数はGVH方向について、不適合抗原を数える。HVG方向については不適合数は問わない。またDNAレベル(genotype)での不適合は数えない。

Protocol

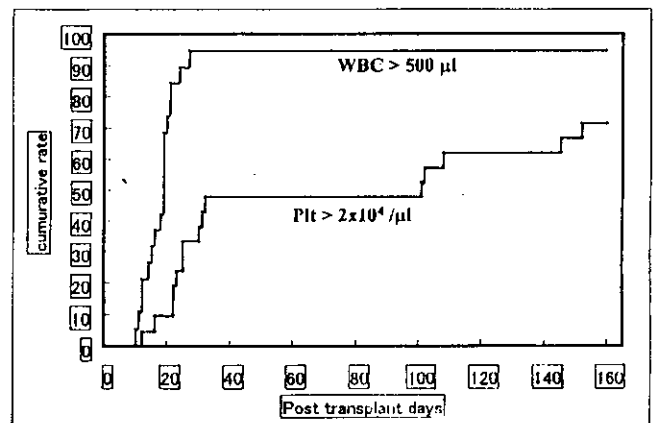


症例

No.	age/sex	disease	stage	mismatched Ag		m/p	microchimerism
				GVH	HVG		
1	33F	mantle cell lymphoma	Re3	2	2	p	
2	23F	AML	RR	2	2	m	
3	31F	ATL	RR	2	2	m	
4	37F	Ph1 ALL	RR	2	2	m	NT
5	26F	Hodgkin	RR	2	2	p	
6	35M	AML	RR	2	2	m	NT
7	22F	LBL/T-ALL	Re2	2	2	m	+
8	35F	AML	RR	2	2	m	
9	23M	GML	RC	3	3	m	+
10	26M	AML with TLD	RR	2	2	m	+
11	25M	LBL/T-ALL	RR	3	3	m	+
12	25M	NK lymphoma	RR	3	3	m	-
13	44F	ATL	PR	2	2	m	
14	23F	ALL	PR	2	2	m	NT
15	23M	ALL	RR	2	2	p	-
16	43F	ATL	PR	2	2	m	+
17	35F	Ph1 biphenotypic AL	IF	3	3	x	NT
18	23M	GML	AP	2	2	m	+
19	40F	AML	RR	3	2	m	

Re: relapse, RR: resistant relapse, CR: complete remission, IF: induction failure
m: maternal (NIMA), p: paternal (NIPA), x: couzin

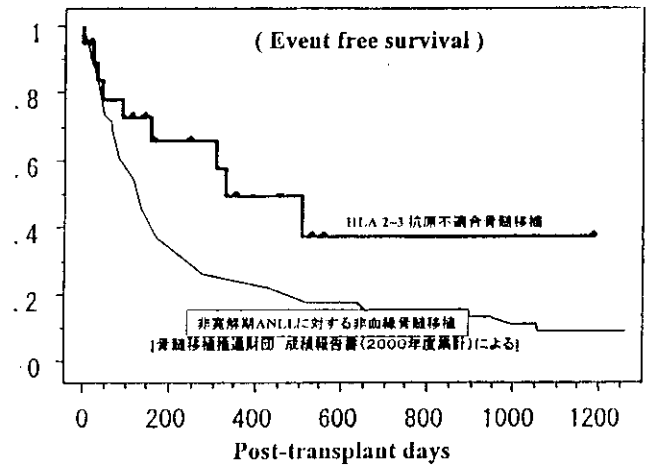
HLA 2~3 抗原不適合骨髄移植における白血球および血小板の生着



現在(H13. Dec.) までの治療結果

No.	age/sex	disease	stage	aGVHD	cGVHD		
1	33E	MCL	Re1	0	Ex		
2	23E	AML	RR	I	-	dead	relapse
3	31E	ALL	RR	I	I	dead	aspergillosis
4	37E	Ph1ALL	RR	0	-	dead	relapse
5	26E	HD	RR	II	NE	dead	relapse
6	35M	AML	RR	0	Ex	dead	cGVHD
7	22E	LBL/T-ALL	Re2	II	I		
8	35E	AML	RR	0	-		
9	23M	CML	BC	0	NE	dead	aspergillosis
10	26M	AML-TLD	RR	II	I		
11	25M	LBL/T-ALL	RR	0	-		molecular relapse
12	25M	NK lymphoma	RR	I	I		
13	44E	ALL	PR	0	NE	dead	aspergillosis
14	23E	ALL	PR	III	NE		graft failure
15	23M	ALL	RR	NE	NE	dead	rejection
16	43E	ALL	PR	II	-		
17	35E	Ph1AL	JE	0	-		
18	23M	CML	AP	0	-		
19	40E	AML	RR	0	NE		

T細胞除去をしない HLA 2~3 抗原不適合
血縁骨髄移植の成績



結語

化学療法抵抗性の血液悪性腫瘍で、適合ドナーが見つからない
19症例に対して、HLA2-3抗原不適合骨髄移植を行った。

1例を除いて生着(完全キメリズム)が得られ、GVHDもコントロール
可能な範囲であった。

進行期の血液悪性腫瘍で、適当なドナーが存在しない場合、
HLA2-3抗原不適合移植も alternative な選択肢となりうる
ことが示唆された。

平成 13 年度 厚生科学研究ヒトゲノム・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

第二回会議

テーマ 1-4)

平成 14 年 2 月 15 日 (金)

小児科領域に於ける両親をドナーとする
 造血細胞移植実施例467例のまとめ
 —小児造血細胞移植全国集計より—

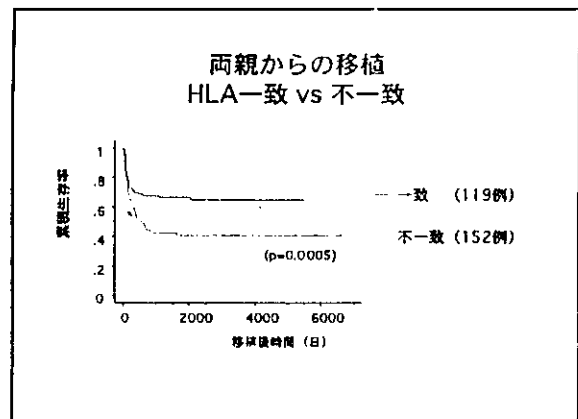
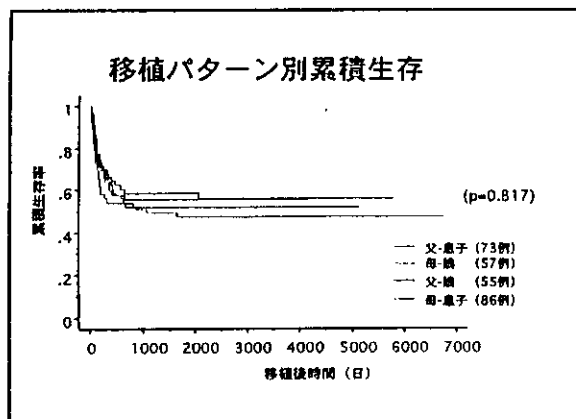
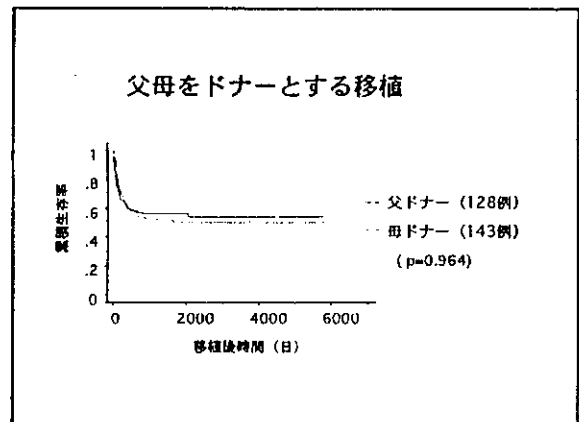
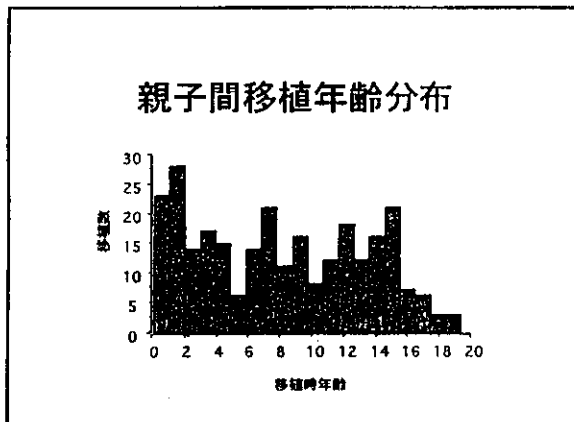
田中竜平、田淵 健、渡辺 新
 矢部晋正、気賀沢寿人
 日本小児血液学会造血細胞移植委員会

データベースについて

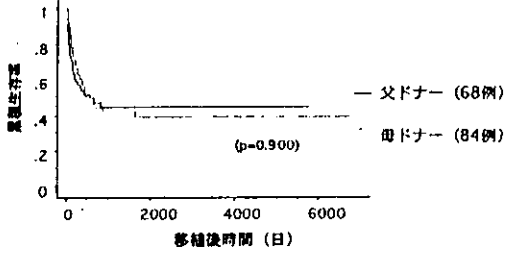
小児造血細胞移植登録全国集計 小児科領域事務局
 神奈川県立こども医療センター

1974年6月から2000年11月までに、父母をドナーとし
 造血細胞移植を施行された467例を対象とした

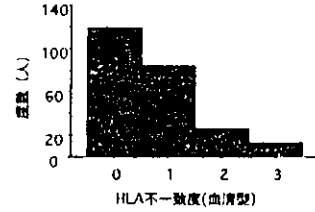
今回の解析対象症例の内訳：
 467例の内、T細胞除去 165例、aGVHD評価不能 30例、
 ドナー 父/母の別不明 5例 (重複例あり) を除く
 271例を対象とした



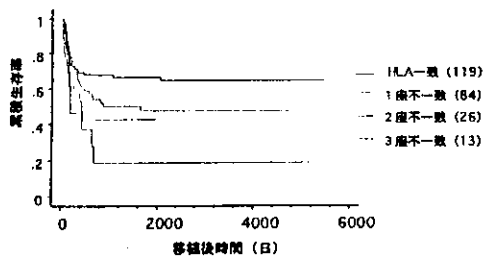
HLA不一致の両親からの移植



親子間移植HLA不一致度 度数分布 (242例)



HLA不一致度別累積生存



母ドナーはaGvHDが軽症か？

	aGvHD度					合計
	0	I	II	III	IV	
父ドナー	43	28	36	11	10	128
母ドナー	41	40	31	18	13	143
合計	84	68	67	29	23	271

帰無仮説：「ドナーの別は重症aGvHD (III~IV)に関係しない」 p=0.273

母ドナー-重症aGvHD (III~IV)発症のオッズ比 1.41 (95%CI 0.76-2.61)

2座以上不一致の親からの移植

	aGvHD度		
	0-II	III-IV	
不一致0-1座	166	37	203
不一致2座以上	33	6	39
	199	43	242

帰無仮説：「HLA不一致度は重症aGvHDに関係しない」 p=0.681

2座以上不一致：重症aGvHD発症のオッズ比 0.816 (95%CI 0.32-2.09)

親子間造血細胞移植のまとめ

1. 小児登録例の解析からは、ドナーの父/母は移植結果に影響するとは言えない。
2. 2座以上不一致血縁者、1座不一致非血縁者、非血縁臍帯血などのalternative graftの移植が許容される疾患群・病期等を探索する前方向的研究の実施が望まれる。

厚生科学研究ヒトゲノム・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(小寺班)

平成13年度第2回研究会議・資料

2002/02/15

HLA-DNA抗原と非血縁者間骨髄移植

愛知県がんセンター 血液化学療法部 森島泰雄

国立国際医療センター	笹月健彦
九州大学	山本 健
東海大学	猪子英俊
日本赤十字血液センター	石川善英 赤座達也 十字猛夫
HLA研究所	佐治博夫
愛知県がんセンター	赤塚美樹
名古屋第1赤十字病院	小寺良尚

解析症例(1298例)

- HLA-A, B, DR血清型完全適合初回移植症例
- HLA-A, B, C, DR, DQ DNA型タイピング実施1298例
- 年齢 中央値23才(0~51才)
- 疾患 急性骨髄性白血病 304例 急性リンパ性白血病 353例
慢性骨髄性白血病 367例 骨髄異形成症候群 99例
悪性リンパ腫 39例
再生不良性貧血 101例 遺伝性疾患 35例
- スタンダードリスク
:急性白血病 第1寛解期+慢性骨髄性白血病 第1慢性期 480例
ハイリスク:スタンダードリスクより進んだ病期の白血病 544例
- GVHD予防法 T細胞除去法16例
Cyclosporine based 1145例 Tacrolimus based 148例

Table 2. Effect of HLA-allele mismatch on acute graft versus host disease (GVHD)

HLA mismatch locus	No. of Cases	Incidence of acute GVHD			
		Grade II-IV	p*	Grade III-IV	p*
Match	561	34.5	-	11.8	-
A/B	115	54.9	<0.001	27.8	<0.001
C	156	42.7	0.030	20.6	0.005
DR/DQ	141	34.4	0.764	16.1	0.139
A/B + C	123	60.9	<0.001	37.0	<0.001
A/B + DR/DQ	45	38.4	0.391	18.3	0.166
C + DR/DQ	90	55.7	<0.001	30.9	<0.001
A/B + C + DR/DQ	57	64.3	<0.001	42.1	<0.001

* p value compared with matched cases by univariate analyses.

Table 4. Effect of HLA-allele mismatch on chronic graft versus host disease(GVHD).

HLA mismatch locus	No. of cases	Incidence (%) of chronic GVHD			
		LD* + EX**	p***	EX**	p***
Match	310	44.8	-	29.9	-
A/B	67	59.6	0.004	40.2	0.015
C	86	50.5	0.178	37.6	0.146
DR/DQ	60	40.5	0.960	31.5	0.546
A/B + C	74	51.0	0.163	33.2	0.429
A/B + DR/DQ	26	55.2	0.135	39.7	0.188
C + DR/DQ	39	52.5	0.084	37.8	0.103
A/B + C + DR/DQ	32	76.8	0.010	53.3	0.021

*Limited type. **Extensive type

***p value compared with matched cases by univariate analyses.

Table 5. Effect of HLA-allele mismatch on engraftment failure.

HLA mismatch* locus	No. of cases	Incidence(%) of engraftment failure			
		primary + secondary	p**	primary	p**
Match	554	1.7	-	0.7	-
A/B	114	4.8	0.226	3.6	0.171
C	141	4.1	0.085	1.3	0.216
DR/DQ	125	4.8	0.226	2.5	0.225
A/B + C	114	10.4	0.009	6.2	0.063
A/B + DR/DQ	45	8.9	0.021	7.1	0.014
C + DR/DQ	89	6.0	0.472	4.7	0.491
A/B + C + DR/DQ	57	10.6	0.022	8.9	0.009

* rejection vector

** p value compared with matched cases by univariate analyses.

Table 3. Multivariate analysis for factors affecting acute GVHD, chronic GVHD, engraftment, leukemia relapse and mortality.

Outcome and Significant Factor*	Hazard Risk (95% CI)	p value
Acute GVHD (grade III or IV)**		
HLA-C allele (match vs. mismatch)	1.85 (1.42 - 2.41)	<0.001
HLA-A allele (match vs. mismatch)	1.58 (1.20 - 2.09)	0.001
HLA-B allele (match vs. mismatch)	1.43 (1.01 - 2.01)	0.041
HLA-DRB1 allele (match vs. mismatch)	1.42 (1.07 - 1.90)	0.017
Chronic GVHD **		
HLA-A/B allele*** (match vs. mismatch)	1.45 (1.13 - 1.85)	0.003
Patients' age (linear)	1.014 (1.003 - 1.024)	0.006
Engraftment **		
HLA class I allele**** (match vs. mismatch)	0.86 (0.76 - 0.96)	0.011
Transplanted cell number (linear)	1.00047 (1.00007 - 1.00088)	0.023
Disease (ALL vs. CML)	0.79 (0.69 - 0.90)	0.001
Leukemia relapse***		
Risk (standard risk vs. high risk)	3.40 (2.43 - 4.76)	<0.001
Mortality***		
HLA-A allele (match vs. mismatch)	1.63 (1.35 - 1.97)	<0.001
HLA-B allele (match vs. mismatch)	1.33 (1.04 - 1.70)	0.022
Patients' age (linear)	1.019 (1.012 - 1.026)	<0.001
Risk of leukemia relapse (standard vs. high)	2.05 (1.72 - 2.45)	<0.001
GVHD prophylaxis (cyclosporine vs. ATG)	1.39 (1.03 - 1.89)	0.030

Table 6. Effect of HLA-allele mismatch on non-relapse mortality (R.N), relapse and survival in leukemia patients.

HLA mismatch* Locus	No. of cases	3-year non-RM(%)	p**	3-year Relapse rate(%)	p	3-year Survival(%)	p
<i>Standard Risk</i>							
Match	210	27.7		12.6		65.4	
A/B	47	54.6	<0.001	20.8	0.364	39.9	<0.001
C	61	25.2	0.672	11.0	0.707	68.9	0.969
DR/DQ	52	27.5	0.953	4.9	0.162	70.9	0.631
A/B + C	38	43.2	<0.001	19.0	0.460	51.5	0.101
A/B + DR/DQ	14	55.6	0.045	22.9	0.425	50.0	0.092
C + DR/DQ	35	50.8	0.022	10.5	0.953	50.6	0.062
A/B + C + DR/DQ	23	55.8	<0.001	15.6	0.758	39.1	<0.001
<i>High Risk</i>							
Match	214	35.0		40.1		43.1	
A/B	44	61.9	<0.001	49.2	0.632	23.9	0.002
C	62	49.5	0.077	34.4	0.518	36.1	0.225
DR/DQ	64	42.4	0.575	39.3	0.880	35.5	0.362
A/B + C	64	64.1	<0.001	37.7	0.767	21.2	<0.001
A/B + DR/DQ	30	71.1	0.045	24.9	0.329	32.6	0.145
C + DR/DQ	35	61.8	0.006	32.5	0.874	25.7	0.018
A/B + C + DR/DQ	31	78.0	0.001	27.5	0.952	15.9	0.003

* GVHD vector and/or rejection vector

** p value compared with HLA matched cases by univariate analyses.

HLA型が急性GVHD発症に及ぼす影響

HLA適合度: HLA-A, B, C, DR, DO適合
GVHD予防法: Cyclosporine + MTX

HLA-A座	症例数	3度以上急性GVHD(%)	P
2402	2402	10.6	—
2402	0201	20.4	0.162
2402	0206	34	0.288
2402	0207	17	0.386
2402	1101	48	0.944
2402	2601	17	0.325
2402	3101	37	0.613
2402	3303	44	0.539

HLAハプロタイプが急性GVHD発症に及ぼす影響

HLA適合度: HLA-A, B, C, DR, DO適合
GVHD予防法: Cyclosporine + MTX

HLAハプロタイプ(指定)	症例数	急性GVHD(%)	P
A2402-C1702-B5201-DRB1*501-DOB10601	あり 78	14.3	P=0.46
	なし 457	11.8	
A2402-C0702-B0702-DRB1*0101-DOB10501	あり 35	8.7	P=0.56
	なし 500	12.4	
A3303-C1403-B4403-DRB1*0202-DOB10604	あり 92	9.2	P=0.31
	なし 443	12.7	
A2402-C0102-B5401-DRB1*0405-DOB10401	あり 24	8.4	P=0.55
	なし 511	12.3	

まとめ

- 患者とドナー間のHLAの違いがさまざまな程度に移殖免疫反応に関与している。
- この結果として
 1. HLA-A, B, C, DR, (DQ)適合移植の成績が最も良く、HLA-A,B DNA型が違えば移植後の生存は悪くなる。
 3. HLA-Cの違いに他のHLA座の違いが加わると悪くなる傾向にあった。
 4. HLA3座が違えば、最も成績が悪くなる。
- HLA適合移植において
 1. HLA抗原型そのものが急性GVHDの発症に関与している可能性がある。
 2. HLAハプロタイプ別の解析も今後重要になる。