

移植を組み合わせて、KtTの軽減をはかる一方、graft versus leukemia (GVL)効果を利用する治療が試みられ、その成績が報告されている(7-14)。

Childsらは、fludarabine (25mg/m², 5日間)+cyclophosphamide (60 mg/kg, 2日間)による移植前治療を併用した同種末梢血幹細胞移植を8例の造血器腫瘍と7例の固形腫瘍患者に行い、5例が原病の進展のために死亡したが、8例が移植後121~409日の時点で生存し、30日以上生存した14例中10例でday30以後に腫瘍量の減少が見られ、腎臓1例、CML2例で13、12、5ヶ月間持続している完全寛解が得られたと報告している。彼らの報告では、治療関連死は2例で、day100までの治療関連死亡は1例であった(14)。

これらの報告を参考に、高齢または臓器障害を有するために通常の同種造血幹細胞移植の対象とならないhigh-riskの骨髄異形成症候群症例を対象として、Childsらのプロトコルの移植前治療におけるcyclophosphamide投与量を半量とし、拒絶の危険性を低下させるためにGVHD予防としてcyclosporineに短期methotrexateを加えたプロトコルによる同種末梢血幹細胞移植を行う共同研究を計画した。

2. 目的

本来なら通常の同種造血幹細胞移植の適応となるが、年齢が55歳以上であったり臓器障害を有するために、通常の同種造血幹細胞移植が実施困難な予後不良の骨髄異形成症候群症例に対して、HLA一致同胞をドナーとする骨髄非破壊的前治療併用同種末梢血幹細胞移植を、多施設共同臨床第1/II相試験として行い、その安全性と有効性を検討する。fludarabineは、骨髄異形成症候群に対しては保険適応とならないが、本研究に対しては、日本シェーリング社から、当研究費を通じて無償供与される。各施設は、最初の症例登録時に当該施設のIRBによる承認を証明する書類のコピーをファックスにて事務局に送り、正式に登録された症例に対して、日本シェーリング社からfludarabineの必要量が送付される。

2-1 primary endpoint: 安全性

- 2-1-1 生存(移植後3ヶ月の時点でドナータイプが50%未満なら拒絶とする)
- 2-1-2 GVHD
- 2-1-3 day100までの死亡
- 2-1-4 fludarabine/cyclophosphamideによる移植前治療による有害事象の検討
- 2-1-5 その他の有害事象の検討

5

- A. 活動性の重複癌を有する症例。
- B. コントロール困難な感染症のある症例。
- C. コントロール不良の糖尿病のある症例。
- D. 薬剤アレルギーのある症例。
- E. 妊娠中あるいは授乳中の女性。
- F. HBS抗原陽性、HCV、HTLV-1、HIV抗体陽性の症例。
- G. 重症の精神障害を有する症例。
- H. 同種造血幹細胞移植の適応とならない症例。
- I. HLA一致同胞がIRSCドナーとして不適格と判断された症例。
- J. ドナーから $2 \times 10^6 / \text{kg}$ 以上のCD34陽性細胞を採取できなかった症例。

3-4 ドナーの適格条件

- A. 原則として、日本造血細胞移植学会・日本輸血学会による「血縁者間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採取に関するガイドライン」(15)に沿って、HLA一致同胞からドナーを選定する。
- B. 年齢が70歳未満であること。

3-5 ドナーの除外基準

- A. 薬物過敏症の既往歴のある者
- B. G-CSF製剤に対する過敏症のある者
- C. アレルギー要因のある者
- D. 脳血管障害や虚血性心疾患などの既往歴あるいは合併症(心筋梗塞、狭心症、脳梗塞、血栓症など)を持つ者
- E. 活動性の消化性潰瘍を持つ者
- G. コントロール不良の糖尿病を持つ者
- H. リウマチなどの膠原病や炎症性疾患を持つ者
- I. 悪性腫瘍の既往を有する者
- J. その他、通常の骨髄移植ドナー選択基準から担当医師が不適当と判断した者

4. レシピエントおよびドナーの同意

本研究の開始前に、担当医師は対象となるレシピエントとドナーに対して十分に説明した上で、本研究への参加について本人の自由意志による同意を文書で得る。ただし、未成年や同意能力を欠く者を対象とする場合は、その家族(法定代理人な

7

2-2 secondary endpoint: 有効性

- 2-2-1 抗腫瘍効果
- 2-2-2 生存率
- 2-2-2-1 overall survival
- 2-2-2-2 progression-free survival
- 2-2-2-3 disease-free survival

3. 実施条件

3-1 本臨床研究の実施について院内の倫理委員会(IRB)の承認が得られていること。

3-2 レシピエントの適格条件

A. RA (IPSSで中間群-2)、CMML、RAEB-t、RAEBのいずれかと診断された症例。

(治療歴は問わない。移植時点で overt leukemia となっている症例は除く。RAEB-t 症例は、化学療法で骨髄中の芽球が10%以下になっている症例を対象とする。)

B. 年齢55歳以上70歳未満で主要臓器に重篤な障害のない(下記の(1)-(4)を満たす)症例、または年齢15歳以上55歳未満で臓器障害のために通常の骨髄破壊的治療を併用する同種造血幹細胞移植の適応とならない症例。

(1)十分な肝機能を保持していること。

T-Bil<1.5mg/dl, AST・ALTは各施設の正常上限値の2.5倍以下。

(2)十分な腎機能を保持していること。Cr<1.5mg/dl, CCr>60ml/min

(3)十分な肺機能を保持していること。PaO₂>60 Torr

(4)十分な心機能を保持していること。EF>50%

C. performance status: 0-2の症例。

D. 文書による同意の取得後に、末梢血幹細胞移植とDLIに必要な細胞の採取が可能な70歳未満のHLA一致同胞を有する症例。

E. 本研究に関して本人およびドナーへの十分な説明が行われ、文書による同意が得られている症例。

3-3 レシピエントの除外条件

ど)の自由意志による同意を文書で得るものとするが、可能な限り本人からも同意を得る。また、その際、本人と家族との関係を記録する。

同意の取得に際しては別添の「骨髄非破壊的前治療を用いた同種末梢血幹細胞移植の説明書」を参考に説明を行い、各施設の方法にて同意を取得して、同意書を保存する。

日本造血細胞移植学会「同種末梢血幹細胞ドナーフォローアップ調査」に協力頂くための同意も併せて文書で取得する。

5. 症例の登録

5-1 患者登録票とドナー登録票による登録

担当医師は、選択基準のすべてに適合し、除外基準に該当せず、文書による研究参加への同意を得られた症例について、骨髄非破壊的前治療を開始する前に、必要事項を記入した患者登録票及びドナー登録票をFAXで事務局に送信することにより登録する。なお、最初の症例の登録時に、当該施設のIRBによる承認を証明する書類のコピーをファックスにて事務局へ送る。

事務局: 岡山大学第二内科
700-8558 岡山市鹿田町 2-5-1
TEL: 086-235-7227, FAX: 086-232-8226

担当: 池田和真

また、同時に日本造血細胞移植学会・同種末梢血幹細胞ドナー登録センターにも登録を行う。

ドナー登録センター
登録事務局: イー・ピー・エス株式会社
専用FAX: 0120-60-7584

5-2 患者登録確認票の送付

事務局は患者登録票及びドナー登録票の内容を確認し、登録番号を記入して、登録施設にファックスで送付する。登録施設は、登録番号が記入された登録票を受け取った後に末梢血幹細胞の動員・採取を開始する。

8

6. 末梢血幹細胞の動員と採取

原則として、日本造血細胞移植学会・日本輸血学会による「血縁者間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採取に関するガイドライン」(15)に沿って行う。

6-1 G-CSFの投与

原則として、G-CSFを1日1回400 μ g/m²または10/kg、5日間連日皮下投与する。ただし、末梢血幹細胞採取終了前に白血球数が50000/ μ l以上に増加した場合は減量を考慮することとし、減量後に白血球数が75000/ μ lに達した場合は投与を中止する。

6-2 予想される副作用に対する処置 (日本造血細胞移植学会・日本輸血学会による「血縁者間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採取に関するガイドライン」を参照)

日本造血細胞移植学会による94ドナーの全国集計では、骨痛(71%)、全身倦怠感(33%)、頭痛(28%)、不眠(14%)、食欲不振(11%)、悪心嘔吐(11%)などが報告されている(16)。その他、心筋梗塞(17)、脳血管障害(18)、脾破裂(19)が報告されている。

骨痛や頭痛などに対しては必要に応じて鎮痛剤(アフェレーシス中の出血傾向を避けるため、アスピリン以外が望ましい)を投与する。その他の治療を必要とする症状が発現した場合には適切な処置を行うとともに、G-CSFの投与及びアフェレーシスの中止を考慮する。

骨痛が発現した場合には、非麻薬性の鎮痛剤(アセトアミノフェンやその他のNSAIDなど)を適宜使用する。

6-3 その他の併用薬

末梢血幹細胞の動員に影響を及ぼす薬剤(G-CSF以外のサイトカイン等)の使用は禁止する。また、骨痛等の副作用に対する処置以外の併用薬についても原則として禁止するが、やむを得ず使用した場合は、必ず記録を残すこととする。

6-4 末梢血幹細胞の採取

原則として以下の要領で末梢血幹細胞の採取を行う。

A. アフェレーシスの処理と処理血液量

G-CSF投与4日目から1~3日間わたってアフェレーシスを行う。アフェレー

シスの処理量血液量は200ml/kgを超えないものとする。十分量の末梢血幹細胞を採取できない場合には6日目にもアフェレーシスを追加する。当初から3日間のアフェレーシスが困難であると考えられる場合には、5日目及び6日目の2日間て採取を行ってもよい。6日目に採取を行う場合には6日目にもG-CSFを投与し、投与後にアフェレーシスを行う。アフェレーシスに用いる機器については、規定しない。可能な限り、末梢静脈(例えば肘前静脈)を採血ルートとする。

B. 血小板数低下に対する処置

血小板数が10000/ μ l未満の場合、採取末梢血幹細胞を遠心して自己多血小板血漿を作成して、ドナーに再輸注する。アフェレーシスによって一時的に血小板数が50000/ μ l未満となることもあるので、アフェレーシス終了後、血小板数の正常値への回復を確認する。

C. 低カルシウム血症に対する予防処置

ACDによる低カルシウム血症に対して乳酸カルシウムの前投与(アフェレーシス前日夜から3.0gを3回)あるいはカルチコールの持続点滴などの処置を適宜行う。

D. 目標細胞数

患者体重あたり 2×10^6 個以上のCD34陽性細胞を採取することを目標とする。3日間のアフェレーシスによって 2×10^6 個以上のCD34陽性細胞を採取できなかった場合には、脱落症例とする。

E. 末梢血幹細胞の保存

採取した末梢血幹細胞は、原則として凍結保存する。

F. 末梢血幹細胞のin vitroでの操作

採取した末梢血幹細胞については、T細胞除去やCD34陽性細胞純化などの操作は行わない。

7. 造血幹細胞移植

レシピエント体重あたり 2×10^6 個以上のCD34を採取・保存できた場合のみ移植を行う。

7-1 移植前治療 (1-4)

fludarabine	25 mg/m ² , iv, days -5, -4, -3, -2, -1
cyclophosphamide	30 mg/kg, iv, days -7, -6

(上記の移植前治療を用いた移植の結果、最初の7例で2例以上の拒絶がみられたら、cyclophosphamideの1回投与量を45mg/kgに増量する。また、cyclophosphamideの1回投与量を45mg/kgにしても、7例中4例以上でfull chimerismが得られなければ、cyclophosphamideの1回投与量を60mg/kgに増量する。)

本研究に用いるfludarabine(商品名:Fludara)は、本邦では、慢性リンパ性白血病に対して保険承認されている。Fludarabineは、骨髄異形成症候群に対しては保険適応とならないが、本研究に対しては、日本シェーリング社から、当研究を通じて無償供与される。各施設は、最初の症例登録時に当該施設のIRBによる承認を証明する書類のコピーをファックスにて事務局に送り、正式に登録された症例に対して、日本シェーリング社からfludarabineの必要量が送付される。

7-2 GVHD予防

GVHD予防は、methotrexate+cyclosporineによって行う。

methotrexateは、day1(10mg/m²)、day3、6(7mg/m²)に投与する。

cyclosporineは、day-4から、1.5mg/kg x 2/day iv(1回4時間)で開始して、血中濃度を200~250ng/ml(トランプ濃度)に調節する。経口摂取可能になれば注射量の倍量の経口剤に変更し、血中濃度により投与量を調節する。

7-3 顆粒球コロニー刺激因子の投与

移植後day1(移植が2日間をわたる場合はday2)よりG-CSF(300 μ g/m²または5 μ g/kg)を1日1回連日点滴静注し、好中球数が5000/ μ l以上に回復した時点で投与を中止する。

7-4 その他の支持療法

各施設の同種末梢血幹細胞移植の支持療法に準ずるものとする。

7-5 cyclosporineの減量とDLI(donor lymphocyte infusion)

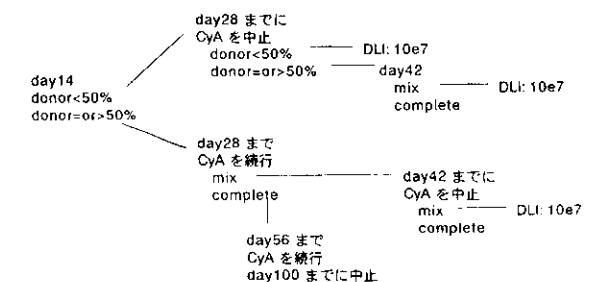
DLIの投与量リンパ球数はCD3陽性細胞数とし、原則として以下の手順で行う。

DLIを始める時点でGVHDがない症例のみを対象とする。

8-1 1)キメリズムの検討の項に記してある要領でキメリズムの解析を行う。

移植後2週の時点でdonor typeが50%未満であればcyclosporineを4週目までに中止する。4週目の時点でdonor typeが50%未満であれば、可及的早期にDLIを開始する。10x10⁶/kgでDLIを開始して、GVHD発症あるいはcomplete chimerismが得られるまで、4週毎に50x10⁶、100x10⁶と、100x10⁶まで増量する。4週目の時点でdonor typeが50%以上であれば経過観察して、6週目にcomplete chimerismでなければ10x10⁶/kgでDLIを開始する。GVHDが発症した場合、キメリズム検査でドナータイプが増加している場合は中止し、ドナータイプの比率が不変であれば同じ細胞数でDLIを行う。また、DLIを行っているにもかかわらず、donor typeの比率が低下した場合には、DLIを2週間間隔で追加することも考慮する。

移植後2週の時点でdonor typeが50%~100%であれば、移植後4週までcyclosporineを続行して、移植後4週でcomplete chimerismなら、引き続きキメリズムを確認しながらcyclosporineを続行して8週目から10日間で25%を目安に減量を開始してday100までに中止する。移植後4週でcomplete chimerismでなければ、cyclosporineを6週目までに中止し、6週目の時点でcomplete chimerismでなければ、10x10⁶/kgでDLIを開始して、GVHD発症あるいはcomplete chimerismが得られるまで、4週毎に50x10⁶、100x10⁶と、100x10⁶まで増量する。ただし、GVHDが発症した場合、キメリズム検査でドナータイプが増加している場合は中止し、ドナータイプの比率が不変であれば同じ細胞数でDLIを行う。



8. 観察・検査項目及び時期

8-1 レシビエント

8-1-1 登録前

病歴（現病歴、既往歴、家族歴）
 自他覚所見・PS
 尿検査：蛋白、糖、ウロビリノーゲン、潜血、沈渣
 胸部X線写真
 心電図
 心エコー：駆出率
 腹部超音波検査
 末梢血液検査（WBC、RBC、Hb、Ht、Plat、白血球分類、網状赤血球）
 一般生化学検査：TP、Alb、T.Bil、GOT、GPT、ALP、LDH、BUN、Cr、UA、Na、K、Cl、Ca、BS
 凝固系検査：PT、APTT、FDP、フィブリノーゲン
 CMV 抗体価
 骨髄穿刺：骨髄像、クワット、染色体

8-1-2 移植前治療開始から退院まで

自他覚所見・PS：移植前治療開始日より連日
 末梢血液検査（WBC、RBC、Hb、Ht、Plat、白血球分類、網状赤血球）
 移植前治療開始日、前治療開始から生着まで週3回、その後は週1回
 DLI開始後は、最終DLI終了後、最低4週間は週2回
 一般生化学検査
 移植前治療開始日、前治療開始から生着まで週3回、その後は週1回
 DLI開始後は、最終DLI終了後、最低4週間は週2回
 凝固系検査：PT、APTT、FDP、フィブリノーゲン
 移植前治療開始日、移植日、以降生着まで週1回
 尿検査
 移植前治療開始日から移植日まで週3回、以降週1回
 骨髄穿刺：骨髄像、クワット、染色体
 生着確認時、移植後2ヶ月、3ヶ月、6ヶ月

	登録前	前治療開始から生着まで	生着後
自他覚所見・PS	○	連日	退院まで連日
尿検査	○	移植まで週3回 以後週1回	
胸部X線写真	○		
心電図	○		
心エコー	○		
腹部超音波検査	○		
末梢血液検査	○	週3回	完全キメラまで週1回 その後は月1回 DLI終了後4週間は週2回 完全キメラまで週1回 その後は月1回 DLI終了後4週間は週2回
一般生化学検査	○	週3回	
凝固系検査	○	週1回	
CMV 抗体価	○	週1回	day 100 まで週1回
キメラズム	○	2週に1回	完全キメラになるまで 2～4週に1回、その後必要に応じて
骨髄穿刺	○	生着確認時	2,3,6ヶ月後

8-2 ドナー

8-2-1 登録前

病歴（現病歴、既往歴、家族歴）
 自他覚所見・PS
 胸部X線写真
 心電図
 腹部超音波検査：spleen index
 末梢血液検査（WBC、RBC、Hb、Ht、Plat、白血球分類、網状赤血球）

8-1-3 CD34陽性細胞数およびCD3陽性細胞数の測定

採取直後にフローサイトメトリーによって測定する。
 (1) 移植のために採取した細胞：CD34陽性細胞数、CD3陽性細胞数
 (2) DLIのために採取した細胞：CD3陽性細胞数

8-1-4 キメラズムの検討

移植後 day 14, day 28 に末梢血で検索し、混合キメラの場合は完全キメラになるまで2～4週おきに検索する。

8-1-4-1 異性間移植の場合

各施設で、性染色体FISHによりキメラズムの解析を行う。可能なら、単核球分画と顆粒球分画（またはT細胞分画と非T細胞分画）に分けて解析する。

8-1-4-2 同性間移植の場合

キメラズムの検討は金沢大学第三内科で行う。移植前にドナーとレシビエントの血液を金沢大学第三内科に送付し、識別に有用なマーカーを決定しておく。検体はすべてEDTA血 10 ml とし、クール宅急便で下記宛に送付する。送料は各施設の負担とする。

金沢大学医学部第三内科
 〒920-8641 金沢市宝町 13-1
 TEL：076-265-2274, 2275
 FAX：076-234-4252
 担当：高見昭良

一般生化学検査：TP、Alb、T.Bil、GOT、GPT、ALP、LDH、BUN、Cr、UA、Na、K、Cl、Ca、BS
 凝固系検査：PT、APTT、FDP、フィブリノーゲン
 尿検査：蛋白、糖、ウロビリノーゲン、潜血、沈渣
 CMV 抗体価

8-2-2 末梢血幹細胞の動員・採取時期

自他覚所見・PS：G-CSF 投与開始日より連日
 末梢血液検査（WBC、RBC、Hb、Ht、Plat、白血球分類、網状赤血球）
 G-CSF 投与開始日、day2、day3、day4、day5、day6、day12
 (day6にもアフエレーシスを行った場合はday7も)
 (異常値があれば正常化を確認する。)
 及びアフエレーシス直後
 血小板数が100000/ μ l未滿になった場合は回復するまで3回/週
 一般生化学検査

G-CSF 投与開始日、day4、day6、day12
 (day6にもアフエレーシスを行った場合はday7も)
 (異常値があれば正常化を確認する。)

凝固系検査：PT、APTT、FDP、フィブリノーゲン

G-CSF 投与開始日、day4、day6、day12

末梢血 CD34 陽性細胞数

G-CSF 投与開始前、day4、day5

尿検査

G-CSF 投与開始日、day4、day6、day12

心電図

day6

腹部超音波検査：spleen index

day5 または day6、day12 または day13

	登録前	動員開始日以後
自他覚所見・PS	○	G-CSF 投与開始日から最終採取日の翌日まで連日 最終 G-CSF 投与日の1週間後 (day 12)
尿検査	○	G-CSF 投与開始日, day 4, day 6, day 12
胸部X線写真	○	最終採取日の翌日
心電図	○	最終採取日の翌日
腹部超音波検査	○	最終採取日の翌日, day 12
末梢血液検査	○	G-CSF 投与開始日から最終採取日の翌日まで連日 最終 G-CSF 投与日の1週間後 (day 12)
一般生化学検査	○	G-CSF 投与開始日から最終採取日の翌日まで連日 最終 G-CSF 投与日の1週間後 (day 12)
凝固系検査	○	最終採取日の翌日, day 12
CMV 抗体価	○	
キメリズム	○	(ドナータイプ決定用、金沢大学第三内科へ送付)
骨髄穿刺	○	

9. 評価

9-1 primary endpoint : 安全性

9-1-1 生着

白血球 :

- 移植後、好中球数が 500/ μ l まで回復するのに要した日数
- 好中球数が 500/ μ l 未満であった日数
- 38℃以上の有熱日数
- 注射による抗生剤の使用日数

血小板 :

- 移植後、輸血なしで血小板数が 2 万/ μ l 以上に安定するのに要した日数
- 移植後、輸血なしで血小板数が 5 万/ μ l 以上に安定するのに要した日数
- 輸血した血小板製剤の単位数

網状赤血球 :

- 移植後、網状赤血球が 1% 以上となるのに要した日数

17

9-2-2 生存

9-2-2-1 移植後生存期間 (overall survival)

あらゆる原因による死亡を event とする。

9-2-2-2 移植後無増悪生存期間 (progression-free survival)

再発、PD、あらゆる原因による死亡を event とする。

9-2-2-3 移植後無病生存期間 (disease-free survival)

完全寛解例において再発を event とする。

10. データの収集・解析

レシビエントについては、移植後 day 30, day 100, 6ヶ月、12ヶ月でデータを収集し、解析する。

11. 重篤な副作用が出現した場合の対応

本研究中に本プロトコルに関連したと考えられる予測できない重篤な有害事象 (死亡または Common Toxicity Criteria の Grade 4 以上の非血液毒性)、移植日または DLI 後 1ヶ月以内の死亡、DLI 後の Grade III 以上の GVHD が出現した場合は、ドナーあるいはレシビエントに対して適切な処置を講ずるとともに、研究事務局まで直ちに連絡する。研究事務局は研究代表者に報告し、必要に応じて効果・安全性評価委員会で検討にて検討し、必要な措置を講じる。

12. 中止の基準

12-1 試験治療中止の基準

12-1-1 患者体重あたり 2×10^6 の CD34 陽性細胞数を採取できなかった場合

12-1-2 移植後に原病の再発や進展 (PD) がみられ、主治医が他の治療法を行うことが最善であると判断した場合

12-1-3 拒絶

12-1-4 患者が同意の撤回または、試験治療の中止を希望した場合

12-1-5 主治医が研究治療の継続を不適当と判断した場合

12-2 研究中止の基準

移植後 100 日までの生着不全および移植関連死亡の発生の 95% 信頼区間の下限が 20% を超えた場合には本研究を中止する。

19

輸血した赤血球製剤の単位数

キメリズム : STR, VNTR (variable number of tandem repeats)、
染色体 (G-banding, FISH)、血液型
(移植後 3ヶ月の時点でドナータイプが 50% 未満であれば拒絶と判断する。)

9-1-2 GVHD

別表(20, 21)により移植後及びドナーリンパ球輸注後の GVHD の有無、重症度を観察する。

9-1-3 day 100 までの死亡率

9-1-4 fludarabine と cyclophosphamide による移植前治療による有害事象
National Cancer Institute Common Toxicity Criteria により判定する。
ただし、血液毒性は除外する。

9-1-5 その他の有害事象

National Cancer Institute Common Toxicity Criteria により判定する。
ただし、血液毒性は除外する。

9-2 secondary endpoint : 有効性

9-2-1 抗腫瘍効果 :

判定基準 (JALSG の判定基準)

(A) 完全寛解 :

骨髄芽球が 5% 以内でアウエル正体を有する細胞を認めず、骨髄に正常の形態を呈する赤芽球、顆粒球および巨核球を認める。末梢血には芽球は認められず、好中球が 1000/ μ l 以上、血小板が 10 万/ μ l 以上で、髄外白血病なし。最低 4 週間持続すること。

(B) 血液学的寛解 :

骨髄・末梢血はともに上記完全寛解基準を満たすも、髄外白血病が存在する。

(C) 再発 :

骨髄芽球 10% 以上、または末梢血に芽球の出現がある。

(D) 髄外再発 : 血液学的寛解中の髄外白血病のみの再発

(E) 部分寛解 : 完全寛解の条件のうち、骨髄の芽球が 5% 以上 10% 未満。

18

移植患者数	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
生着不全	3	4	4	4	5	5	5	6	6	6	7	7	7	8	8	8	8	9
or 早期死亡																		

13. 研究期間・目標症例数

13-1 研究期間 :

症例登録期間を平成 13 年 1 月から 1 年間とし、追跡期間を移植後 2 年間とする。

13-2 目標症例数 : 20 例

14. 健康被害に関する補償

本研究は、現在までの医学的知見と被験者の疾患の状態を鑑み、被験者にとって有用な治療法であると判断されて実施される。現時点ではこの治療法は確立されていないことから、本研究に関連した死亡を含む健康被害はやむをえず発生することが予測される。通常、健康被害に対する治療費等の補償金は医薬品副作用被害救済制度に基づいて支払われるが、抗がん剤、免疫抑制剤などの薬剤は、適応内・適応外の如何に関わらず当該制度対象外医薬品のため、本研究に起因した健康被害に対する補償金は支払われない。そのため、各実施医療機関における試験責任医師は、本研究に起因する健康被害による賠償責任が生じた場合の履行措置として、医師賠償責任保険に加入する。

15. 研究組織

研究代表者 昭和大薬が丘病院 内科血液 小峰光博
研究実施責任者 九州大学大学院病態修復内科 原田英根
研究事務局 812-8582 岡山市鹿田町 2-5-1
岡山大学医学部第二内科
TEL : 086-235-7227, FAX : 086-232-8226
担当 : 池田和真

効果・安全性評価委員会

小峰 光博 昭和大薬が丘病院内科血液
森 眞由美 東京都老人医療センター血液科
嵐原 昌太郎 金沢大学医学部附属病院輸血部

20

16. 参考文献

- Horowitz, M.M., et al. Graft-versus-leukemia reactions after bone marrow transplantation. *Blood*, 1990, 75(3): p. 555-62.
- Gale, R.P., et al. Identical-twin bone marrow transplants for leukemia. *Ann Intern Med*, 1994, 120(8): p. 636-52.
- Kob, H.J., et al. Graft-versus-leukemia effect of donor lymphocyte transfusions in marrow grafted patients. *European Group for Blood and Marrow Transplantation Working Party Chronic Leukemia*. *Blood*, 1995, 86(5): p. 2041-50.
- Collins, R.J., Jr., et al. Donor leukocyte infusions in 140 patients with relapsed malignancy after allogeneic bone marrow transplantation. *J Clin Oncol*, 1997, 15(2): p. 433-44.
- Oguma, S., et al. Clinical characteristics of Japanese patients with primary myelodysplastic syndromes: a co-operative study based on 838 cases. Anemia Study Group of the Ministry of Health and Welfare. *Leuk Res*, 1995, 19(3): p. 219-25.
- 日本造血細胞移植学会全国データ集計事務局: 骨髄異形成症候群 (MDS) 症例の生存曲線, 日本造血細胞移植学会平成11年度全国調査報告書. 名古屋, 日本造血細胞移植学会, 1999, p. 80-87
- Giralt, S., et al. Engraftment of allogeneic hematopoietic progenitor cells with purine analog-containing chemotherapy: harnessing graft-versus-leukemia without myeloablative therapy. *Blood*, 1997, 89(12): p. 4531-6.
- Khouri, I.F., et al. Transplant-lite: induction of graft-versus-malignancy using fludarabine-based nonablative chemotherapy and allogeneic blood progenitor-cell transplantation as treatment for lymphoid malignancies. *J Clin Oncol*, 1998, 16(8): p. 2817-24.
- Shahi, S., et al. Nonmyeloablative stem cell transplantation and cell therapy as an alternative to conventional bone marrow transplantation with lethal cytoreduction for the treatment of malignant and nonmalignant hematologic diseases. *Blood*, 1998, 91(3): p. 756-63.
- Kelemen, E., et al. Reduction in the frequency of transplant-related complications in patients with chronic myeloid leukemia undergoing BMT

- preconditioned with a new, non-myeloablative drug combination. *Bone Marrow Transplant*, 1998, 21(8): p. 747-9.
- Sykes, M., et al. Mixed lymphohematopoietic chimerism and graft-versus-lymphoma effects after non-myeloablative therapy and HLA-mismatched bone-marrow transplantation. *Lancet*, 1999, 353(9166): p. 1755-9.
- Carella, A.M., et al. Engraftment of HLA-matched sibling hematopoietic stem cells after immunosuppressive conditioning regimen in patients with hematologic neoplasias. *Haematologica*, 1998, 83(10): p. 904-9.
- Grigg, A., et al. Fludarabine-based non-myeloablative chemotherapy followed by infusion of HLA-identical stem cells for relapsed leukaemia and lymphoma. *Bone Marrow Transplant*, 1999, 23(2): p. 107-10.
- Childs, R., et al. Engraftment kinetics after nonmyeloablative allogeneic peripheral blood stem cell transplantation: full donor T-cell chimerism precedes alloimmune responses. *Blood*, 1999, 94(9): p. 3234-41.
- 日本造血細胞移植学会, 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 2000.7.21改訂版, 2000.
- Murata, M., et al. Peripheral blood stem cell mobilization and apheresis: analysis of adverse events in 94 normal donors. *Bone Marrow Transplant*, 1999, 24(10): p. 1065-71.
- Bensinger, W.L., et al. Transplantation of allogeneic peripheral blood stem cells mobilized by recombinant human granulocyte colony stimulating factor. *Stem Cells*, 1996, 14(1): p. 90-105.
- Anderlini, P., et al. Allogeneic blood stem cell transplantation: considerations for donors. *Blood*, 1997, 90(3): p. 903-8.
- Becker, P.S., et al. Spontaneous splenic rupture following administration of granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF): occurrence in an allogeneic donor of peripheral blood stem cells. *Biol Blood Marrow Transplant*, 1997, 3(1): p. 45-9.
- Przyporka, D., et al. 1994 Consensus Conference on Acute GVHD Grading. *Bone Marrow Transplant*, 1995, 15(6): p. 825-8.
- Sizak, M. and K.M. Sullivan. The management of chronic graft-versus-host disease. *Blood Rev*, 1994, 8(3): p. 154-60.

患者登録票

送付先: 岡山大学第二内科, FAX: 086-232-8226
 登録年月日: 200 年 月 日
 施設・診療科名: _____ 担当医師名: _____

患者イニシャル: 姓 _____ 名 _____ カルテ番号: _____ 性別: 男・女
 生年月日: 19 年 月 日, 年齢: _____ 歳, 身長: _____ cm, 体重: _____ kg
 LRA (GPSで中間群②), CMbl, RAEB-t (治療によって骨髄中の芽球が10%以下になっている), RAEBのいずれかである。

overt leukemiaではない。
 主要臓器の機能 (登録前2週間以内に測定) 施設基準取値
 総ビリルビン (1.5mg/dl) _____ mg/dl
 AST (施設基準上限値の2.5倍以下) _____ IU/L _____ IU/L
 ALT (施設基準上限値の2.5倍以下) _____ IU/L _____ IU/L
 Cr (Cr<1.5mg/dl) _____ mg/dl
 Cr (Cr>60ml/min) _____ ml/min
 PaO₂ (PaO₂>60 Torr) _____ mmHg
 EF (EF>50%) _____ %
 次のいずれかである

年齢 55 歳以上 70 歳未満で主要臓器に重要な障害がない症例
 年齢 15 歳以上 55 歳未満で臓器障害のために通常の骨髄破壊的治療を併用する同種造血幹細胞移植の適応とならない症例

performance status: 0-2
 本研究に関して十分な説明が行われ、文書による同意が得られている
 文書での同意が得られた日: 200 年 月 日 (□本人 □家族 (関係: _____))
 次のいずれでもない

(1)活動性の重篤な、(2)コントロール困難な感染症、(3)薬剤アレルギー、
 (4)妊娠中あるいは授乳中の女性、(5)HIS 抗阻障、
 (6)HCV、HTLV-1、HIV 抗体陽性、(7)重症の精神障害、
 (8)同種造血幹細胞移植の適応とならない症例

□登録前の観察・検査項目
 病歴 (□現病歴、□既往症、□家族歴)、□自他覚所見・PS、□採検査、
 胸部X線写真、□心電図、□心エコー、□造影剤、□腹部超音波検査、
 末梢血液検査 (WBC、RBC、Hb、Ht、Plat、白血球分類、網状赤血球)、
 一般生化学検査、□凝固系検査、□CMV 抗体陰性、
 骨髄穿刺: 骨髄像、クワット、染色体

□現在までの治療
 登録時の原疾患の状態:
 日本治療、□治療後: □完全寛解、□血液学的寛解、□再発、□他外再発

事務局で記入: □適格、□不適格: 登録番号: _____
 cyclophosphamide 投与量: □30mg/kg、□45mg/kg、□60mg/kg

ドナー登録票

送付先: 岡山大学第二内科, FAX: 086-232-8226

登録年月日: 200 年 月 日

施設・診療科名: _____ 担当医師名: _____

フリガナ
 ドナー氏名: _____ 性別: 男・女 年齢: _____ 歳
 カルテ番号: _____

フリガナ
 地者氏名: _____ 性別: 男・女 年齢: _____ 歳
 カルテ番号: _____

70 歳未満の HLA 一致同胞
 末梢血幹細胞移植と DJI に必要な細胞の採取が可能
 本研究に関して十分な説明が行われ、文書による同意が得られている
 文書での同意が得られた日: 200 年 月 日 (□本人)

次のいずれでもない
 (1)薬物過敏症の既往歴、(2) G-CSF 製剤に対する過敏症、(3)アレルギー素因、
 (4)脳血管障害や虚血性心疾患などの既往歴あるいは合併症、(4)消化性潰瘍、
 (5)糖尿病、(6)リウマチなどの膠原病や炎症性疾患

□登録前の観察・検査項目
 病歴 (□現病歴、□既往症、□家族歴)、□自他覚所見・PS (_____)、
 胸部X線写真、□心電図、□腹部超音波検査: spleen index、
 末梢血液検査 (WBC、RBC、Hb、Ht、Plat、白血球分類、網状赤血球)、
 一般生化学検査、□凝固系検査、□尿検査、□CMV 抗体陽性

事務局で記入: □適格、□不適格: 登録番号: _____

採取データ票

送付先：岡山大学第二内科、FAX：086-232-8226

登録番号： 報告日：200 年 月 日
 施設・診療科名： 担当医師名：
 フリガナ
 ドナー氏名： 性別：男・女 年齢： 歳
 カルテ番号：
 フリガナ
 患者氏名： 性別：男・女 年齢： 歳
 カルテ番号：

G-CSF 投与開始日：200 年 月 日

採取されたCD34陽性細胞数

- 1. 200 年 月 日： CD34陽性細胞数： x 10⁶/kg
- 2. 200 年 月 日： CD34陽性細胞数： x 10⁶/kg
- 3. 200 年 月 日： CD34陽性細胞数： x 10⁶/kg

疼痛などの副作用に対する処置以外の併用薬剤：

25

移植後 day 30 報告書

送付先：岡山大学第二内科、FAX：086-232-8226

報告日：200 年 月 日 登録番号（事務局で記入）：
 施設・診療科名： 担当医師名：
 フリガナ
 患者氏名： 性別：男・女 年齢： 歳
 カルテ番号：

1. 移植前処置開始日：200 年 月 日
2. 移植施行日：200 年 月 日
3. 生着に関するデータ
 白血球：移植後、好中球数が500/ μ lまで回復するのに要した日数： 日
 好中球数が500/ μ l未満であった日数： 日
 38℃以上の有熱日数： 日
 注射による抗生剤の使用日数： 日
 血小板：
 移植後、無輸血で血小板数が2万/ μ l以上に安定するのに要した日数： 日
 移植後、無輸血で血小板数が5万/ μ l以上に安定するのに要した日数： 日
 輸血した血小板製剤の単位数： 単位
 網状赤血球：移植後、網状赤血球が1%以上となるのに要した日数： 日
 輸血した赤血球製剤の単位数： 単位
4. 急性GVHD：□無 □有；診断日：200 年 月 日 (day Grade： Stage：皮膚、肝、消化管)
5. キメリズム 移植後2週 VNTR：donor %、recipient %
 性染色体FISH：donor %、recipient %
 他：donor %、recipient %
 移植後4週 VNTR：donor %、recipient %
 性染色体FISH：donor %、recipient %
 他：donor %、recipient %

27

キメリズム検索依頼票（同性間移植用）

送付先：金沢大学第三内科

住所：〒920-8641 金沢市宝町13-1

ファックス：076-234-4252

電話：076-265-2274

担当者：高見昭良

メールアドレス：takami@med3.m.kanazawa-u.ac.jp

【必要な検体】EDTA血10 ml

【検体の採取時期】移植前（ドナー及び患者）、移植後の検体については、day 14前後に1回目の採取を行い、その後は完全キメラになるまで2週に1回の割合で採取してください。

【検体の送付方法】クール宅急便で上記宛にお送り下さい。同時に本票のコピーに必要事項を書き入れたのち、上記宛にファックスしてください。ドナーと患者の検体を同時に送る場合でも本票は1枚で十分です。E-mailも可能です。

太字は必須項目です。その他は初回時だけで結構です。

1. 施設名（略称可） _____
2. 診療科（略称可） _____
3. 担当医（カタカナ可） _____ 先生
4. ファックス番号 _____
5. メールアドレス（もしお持ちなら） _____ @ _____
6. 患者氏名（フリガナ） _____ (_____)
7. 患者性別（○で囲んでください）男 □ 女
8. 移植時患者年齢 _____ 歳
9. 移植時ドナー年齢 _____ 歳
10. 移植施行日（又は予定日）200 年 月 日
11. 検体の由来（○で囲んでください）患者 □ ドナー
12. 検体の採取日 200 年 月 日 移植後 day ()
13. 白血球数 _____ / μ l

26

移植後 day 100 報告書

送付先：岡山大学第二内科、FAX：086-232-8226

報告日：200 年 月 日 登録番号：
 施設・診療科名： 担当医師名：
 患者イニシャル： 性別：男・女 年齢： 歳
 カルテ番号：

1. 移植施行日：200 年 月 日
2. 生着に関するデータ
 白血球：移植後、好中球数が500/ μ lまで回復するのに要した日数： 日
 好中球数が500/ μ l未満であった日数： 日
 38℃以上の有熱日数： 日
 注射による抗生剤の使用日数： 日
 血小板：移植後、無輸血で血小板数が2万/ μ l以上に安定するのに要した日数： 日
 移植後、無輸血で血小板数が5万/ μ l以上に安定するのに要した日数： 日
 輸血した血小板製剤の単位数： 単位
 網状赤血球：移植後、網状赤血球が1%以上となるのに要した日数： 日
 輸血した赤血球製剤の単位数： 単位
 完全キメラの確認：移植後 日、
 キメリズム解析：移植後 日、donor type % (検体：LIPB □IBM 分離：)
 移植後 日、donor type % (検体：LIPB □IBM 分離：)
 移植後 日、donor type % (検体：LIPB □IBM 分離：)
 移植後 日、donor type % (検体：LIPB □IBM 分離：)
 移植後 日、donor type % (検体：LIPB □IBM 分離：)
3. DLHの有無：□無 □有；
 CD3陽性細胞として：
 /kg (移植後 日)、 /kg (移植後 日)、 /kg (移植後 日)
4. 急性GVHD：□無 □有；診断日：200 年 月 日 (day Grade： Stage：皮膚、肝、消化管)
 治療： 転帰：
5. DLH後の急性GVHD：□無 □有；診断日：200 年 月 日 (day Grade： Stage：皮膚、肝、消化管)
6. 慢性GVHD：□無 □有、 □眼型 □全身型、 □皮膚 □肝 □消化管 □膵 □口腔 □呼吸器 □造血細胞 □その他 ()

28

有害事象報告書

「高齢者または臓器障害を有する high-risk 骨髄異形成症候群症例に対する骨髄非破壊的移植前治療を用いた同種末梢血幹細胞移植に関する臨床第 I/II 相試験」

報告日：____年 ____月 ____日
 施設名：____ 報告者：____
 電話番号：____ FAX 番号：____
 電子メール：____
 有害事象発生者：イニシャル(姓・名)：____ 年齢：____歳
 どちらかを○で囲んでください：患者・ドナー、性別：M・F
 カルテ番号：____

有害事象の内容：症状、Common Toxicity Criteria の grade、装置、経過、転帰

報告先：研究事務局 岡山大学第二内科、TEL：086-235-7227、FAX：086-232-8226

29

3. 造血器悪性腫瘍に対する同種造血幹細胞移植

造血幹細胞が悪性化した白血病や骨髄異形成症候群などの造血器悪性腫瘍に対する同種造血幹細胞移植は、大量の抗がん剤や全身放射線照射(骨髄破壊的前治療)で腫瘍細胞と患者さんの造血細胞を破壊した後に、ドナーからの造血幹細胞を輸注することによって行われてきました。他の治療法では治癒を期待できない病気の患者さんに治癒をもたらすことができる治療法として確立していますが、大量の抗がん剤や全身放射線照射に耐えられる患者さんか治療の対象になりませんし、致死的副作用をもたらすことも稀ではありません。

4. 骨髄非破壊的前治療を併用した同種末梢血幹細胞移植

造血器悪性腫瘍に対する同種造血幹細胞移植の抗腫瘍効果は、大量の抗がん剤や全身放射線照射(骨髄破壊的前治療)によるものと考えられていましたが、移植されたドナーの免疫担当細胞が患者さんの腫瘍細胞を異物として認識して攻撃する免疫学的効果が大きな役割を果たしていることが次第に明らかになってきました。移植前治療として行われていた大量の抗がん剤投与や全身放射線照射を、移植されたドナーの細胞が患者さんの免疫担当細胞によって相対されない程度に弱めた治療(骨髄非破壊的前治療)に置き換えて、同種造血幹細胞移植を行うことが試みられるようになってきました。多くの場合、幹細胞としては、多くの細胞が採取でき、しかも免疫担当細胞であるドナーのリンパ球を多く含む末梢血幹細胞が用いられ、さらに、移植後にドナーリンパ球を追加輸注することもあります。この治療法では、前治療の副作用を軽減し、移植後の速やかな造血能の回復を期待することはできますが、骨髄異形成症候群を含めた造血器悪性腫瘍に対する治療効果は確立されていません。

5. ドナーからの末梢血幹細胞採取

同種末梢血幹細胞移植に必要な十分量の末梢血幹細胞を採取するためには、造血因子である顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF製剤)をドナーに投与し、造血幹細胞を骨髄から末梢血に一時的に流出(動員)させる必要があります。G-CSFは造血幹細胞移植後や癌化学療法後などの白血球減少症の治療薬として日本を含め世界中で使用されています。さらに、造血幹細胞を骨髄から末梢血に動員するために健康なボランティアドナーに投与することも、厚生省から承認されて保険の適用を既に受けています。

これまでの健康ボランティアやHLA一致同胞での検討から、十分量の末梢血

31

「高齢者または臓器障害を有する high-risk 骨髄異形成症候群症例に対する骨髄非破壊的移植前治療を用いた同種末梢血幹細胞移植に関する臨床第 I/II 相試験」の説明書

1. はじめに

骨髄異形成症候群の一部は、短期間に病気が進行し、予後が不良であることが分かっています。抗がん剤による化学療法で一部の患者さんは一時的によくなりますが、効果は持続しないことが知られています。同種造血幹細胞移植は、大量の抗がん剤や全身放射線照射を用いた移植前治療で体内の悪性細胞を破壊した後にドナーの造血幹細胞を移植して、正常の血液産生を再開させる治療で、多くの治療困難な病気を治癒させる治療法ですが、大量の抗がん剤や全身放射線照射による副作用も強く、副作用に関連した死亡も少なくありません。予後不良の骨髄異形成症候群の患者さんを同種造血幹細胞移植で治療することで治癒の可能性があることが報告されていますが、骨髄異形成症候群には高齢者が多いため、副作用が強い通常の同種造血幹細胞の対象となりうる患者さんは多くはありません。今回の臨床研究は、移植前治療を弱くして副作用を軽減し、残った腫瘍細胞を移植されたドナーの細胞の腫瘍細胞に対する免疫効果を利用して破壊する治療の安全性と効果を検討するためのものです。

2. 造血幹細胞とその移植

血液の中には、感染防御や免疫機能を担う白血球、酸素を運搬する赤血球、出血を止める血小板という3種類の血液細胞が含まれています。これらの血液細胞は、骨髄の中にある造血幹細胞が増殖・成熟することによって産生されます。この造血幹細胞を移植するのが造血幹細胞移植で、造血幹細胞の採取を、患者さん自身、一卵性双生児、その他の人(兄弟を含む血縁者と非血縁者の場合があります)のいずれから行うかによって、自家移植、同系移植、同種移植と区別されます。また、造血幹細胞を、骨髄、末梢血、臍帯血のいずれから得るかによって、骨髄移植、末梢血幹細胞移植、臍帯血移植と分類されます。

30

幹細胞を採取するために、原則として、400 μ R/m²または10 μ R/kgのG-CSFを1日1回5日間連日皮下注射します。ドナーは必ずしも入院する必要はありませんが、十分にドナーの安全性に配慮し、確保するために、可能な場合には、G-CSF投与前日から採取終了までの約1週間入院していただきます。入院が不可能な場合は、毎日通院していただき、外来でG-CSF注射を行います。予想される副作用の一つである骨痛に対しては、解熱鎮痛剤を使用します。

G-CSF投与開始1日目と5日目の2日間、連続血液分離装置を用いて末梢血幹細胞を採取します。具体的には、左(右)肘静脈から血液を体外へ循環させ、連続血液分離装置によって末梢血単核細胞を選択的に採取し、残りの血液成分は、右(左)肘静脈へ返血します。これまでの検討から、処理血液量は、ドナー体重あたり約200ml/kg(体重50kgのドナーで約10Lに相当します)に設定すると、患者さんの体重1kgあたり 5×10^6 以上の単核細胞数が採取できることが分かっています。

G-CSF投与による末梢血幹細胞の動員及び採取に際しては、ドナーの安全の確保と効果の確認のために1日1~2回約10mlの採血を毎日行います。G-CSF投与に先立ち、血液、尿、心電図、胸部X線、腹部超音波、骨髄などの検査を行い、投与中から投与終了後1週間後までくり返して検査を行います。

移植後にリンパ球輸注が必要になった場合には、再度、連続血液分離装置を用いて、リンパ球を採取する必要が生じる可能性があります。この場合には、G-CSFの注射による末梢血幹細胞の動員は行わず、細胞の採取だけを行います。

6. 予想される効果と副作用

1) ドナー

G-CSFを使用することにより造血幹細胞が骨髄から末梢血に動員され、同種末梢血幹細胞移植に必要な造血幹細胞の採取が期待されます。この方法は、ドナーに全身麻酔や骨髄採取の手術を行うことなく造血幹細胞を採取でき、従って、全身麻酔に伴う不快感や危険性を回避できます。

一方、比較的大量のG-CSFが投与されるため、投与中に全身倦怠感、骨痛、筋肉痛、発熱、頭痛などの副作用出現が予想されます。これらの副作用は一過性で、G-CSF投与を中止すれば消失します。また、解熱鎮痛剤の予防投与によって副作用発現を抑えることができます。G-CSF投与によって白血球数が数万/ μ lに上昇(正常値は3500~9000/ μ l)しますが、50000/ μ l以上になった場合は、状況により投与を中止したり、投与量を減らしたりする処置が行われます。また、血小板減少傾向もみられ、まれに50000/ μ l(正常値は13万~30万/ μ l)となること

32

もありますが、白血球増加の場合と同様に投与中止などの処置がとられます。いずれの副作用も投与を中止することによって自然に正常化します。G-CSF投与の長期的影響については現在のところ不明です。

連続血液分離装置を用いた末梢血幹細胞採取では、採取操作、抗凝固剤による血液中のカルシウム濃度の低下、血管迷走神経反射などのために、全身倦怠感、しびれ感、吐き気、めまい、血圧低下などの副作用がみられることがあります。そのため、カルシウム液の注入など必要な処置を平行して行います。また、採取によって血小板数が低下しますので、採取した末梢血幹細胞のバッグからドナーの血小板を分離して、輸注によってドナーに戻すことがあります。

なお、十分な末梢血幹細胞を採取できなかったり、移植後に患者さんの造血が再開しなかった場合には、同じドナーから骨髄を採取して移植しなければならなくなる可能性があります。

2) レシピエント

通常と同種造血幹細胞移植より弱い移植前治療を行いますので、重要な臓器の副作用の頻度が低く、程度が軽くなることが期待できます。また、G-CSFによって動員された大量の末梢血幹細胞を移植することによって、同種骨髄移植と比べて1週間ほど早く、血液細胞産生が回復することが期待されます。したがって、輸血の必要性和感染症の危険性も低くなることが期待されます。

その一方で、移植前処置が弱いために残った腫瘍細胞に対して、期待した免疫学的効果がうまく働かず、腫瘍細胞がそのまま残存したり増殖したりする可能性があります。

7. 他の治療法の有無とその内容

通常の化学療法を行うことが考えられます。症状を取ることを目的とした対症療法だけの治療法もあります。いずれにしても、患者さんの希望と病状に合わせた治療を選択していくことになります。

8. 有害事象発生時の対処法

予想される危険性については、十分配慮して治療を行います。万一、有害事象が発生した場合には、直ちに適切な処置を行います。

本試験の対象となる病気はいずれも血液の悪性腫瘍であり、また、本試験の治療方法は同種造血幹細胞移植を用いた新しい治療で現時点では確立されたものではありません。

以上の内容を十分ご理解の上、この臨床研究に参加をされる方は、同意書にご署名・ご捺印をお願いします。

あなたの担当医は _____ です。分かりにくかった点や、疑問な点があれば、遠慮なくおたずねください。

りません。したがって、本試験の治療を受けたことで、移植前よりも健康状態が悪化したり、最悪の場合には治療を受けたために命をなくされたりすることなどの健康被害がやむを得ず発生することが考えられます。あなたの病気の状態は、通常の治療では治療が難しい状態であり、治療を目指すためにはこの新しい治療法が有用であると判断しています。一般には、これらの健康被害に対して、健康保険等による給付の額を除いた自己負担額に対する補償金（治療費等）が、医薬品副作用被害救済制度に基づいて支払われますが、本治療に用いる抗がん剤や免疫抑制剤などの薬剤は、その適応症内、適応症外での使用のいかんに関わらず、その制度の対象外となるため、本試験で発生した健康被害に対しては補償金は支払われません。そのため、この施設の本試験に関する責任医師は、本試験に起因する健康被害による賠償の責任が生まれたときに対応できるように保険に加入することが義務付けられています。

9. 試験参加の同意について

この臨床試験に参加されるかどうかを決めるのは、あなた自身の自由意志によります。参加を拒否なさっても、今後の治療において不利益を受けることはありません。また、同意後にも、随時、同意を撤回することができます。

10. プライバシーの保護

この臨床試験の結果は学会発表や論文での報告に使われますが、あなた自身のプライバシーに関する秘密は全て厳守されます。名前や個人を識別する情報は報告に当たって一切使用されません。

11. 患者さんとドナーの人権保護

この臨床研究は、同意書の内容も含め、研究方法が医学的に適切であり、患者さんとドナーの人権が守られています。

12. 費用

今回の臨床研究では一部保険適用が認められていない薬剤を使用しますが、それは厚生省の研究費から支給されます。その他については、通常の保険診療で行われます。

13. 文書による同意

「高齢者または臓器障害を有する high-risk 骨髄異形成症候群症例に対する骨髄非破壊的移植前治療を用いた同種末梢血幹細胞移植に関する臨床第 I/II 相試験」の同意書（患者用）

「高齢者または臓器障害を有する high-risk 骨髄異形成症候群症例に対する骨髄非破壊的移植前治療を用いた同種末梢血幹細胞移植に関する臨床第 I/II 相試験」の実施に際し、同試験に関する説明を担当医師から受け、下記の事項について十分に理解しました。ここにこの臨床試験に参加することに同意します。

1. 造血幹細胞とその移植
2. 造血器悪性腫瘍に対する同種造血幹細胞移植
3. 骨髄非破壊的移植前治療を併用した同種末梢血幹細胞移植
4. ドナーからの末梢血幹細胞採取
5. 予想される効果と副作用
6. 他の治療法の有無とその内容
7. 有害事象発生時の対処法
8. 全身麻酔下でドナーからの骨髄採取の必要が生じる可能性
9. 試験参加の同意について
10. プライバシーの保護
11. 患者さんとドナーの人権保護
12. 費用
13. 文書による同意

同意取得日：200 年 月 日

患者 住所：

氏名：（署名） _____ 印

法定代理人（患者から同意を得ることが困難な場合）

住所：

氏名：（署名） _____ 印 続柄（患者の _____）

本臨床試験に関する説明を行い、同意が得られたことを確認します。

施設名： _____ 病院、 診療科： _____ 科

説明者氏名：（署名） _____ 印（200 年 月 日）

担当医氏名：（署名） _____ 印（200 年 月 日）

「高齢者または臓器障害を有する high-risk 骨髄異形成症候群症例に対する骨髄非破壊的移植前治療を用いた同種末梢血幹細胞移植に関する臨床第 I/II 相試験」の同意書（ドナー用）

「高齢者または臓器障害を有する high-risk 骨髄異形成症候群症例に対する骨髄非破壊的移植前治療を用いた同種末梢血幹細胞移植に関する臨床第 I/II 相試験」の実施に際し、同試験に関する説明を担当医師から受け、下記の事項について十分に理解しました。ここにこの臨床試験に参加することに同意します。

1. 造血幹細胞とその移植
2. 造血器悪性腫瘍に対する同種造血幹細胞移植
3. 骨髄非破壊的移植前治療を併用した同種末梢血幹細胞移植
4. ドナーからの末梢血幹細胞採取
5. 予想される効果と副作用
6. 他の治療法の有無とその内容
7. 有害事象発生時の対処法
8. 全身麻酔下でドナーからの骨髄採取の必要が生じる可能性
9. 試験参加の同意について
10. プライバシーの保護
11. 患者さんとドナーの人権保護
12. 費用
13. 文書による同意

同意取得日：200 年 月 日

ドナー住所：

氏名：（署名） _____ 印

法定代理人（ドナーが未成年者などのため単独で同意を得ることが困難な場合）

住所：

氏名：（署名） _____ 印 続柄（ドナーの _____）

本臨床試験に関する説明を行い、同意が得られたことを確認します。

施設名： _____ 病院。 診療科： _____ 科

説明者氏名：（署名） _____ 印（200 年 月 日）

担当医氏名：（署名） _____ 印（200 年 月 日）

MDS の予後判定のための国際スコアリングシステム (Blood 89:2079, 1997)

予後因子	スコア値				
	0	0.5	1.0	1.5	2.0
骨髄の芽球(%)	<5	5~10	-	11~20	21~30
核型*	予後良好群	中間群	予後不良群		
血球減少	なし~1血球系		2~3血球系		

スコア値の合計による分類

- 低リスク群：スコア値 0
- 中間群-1：スコア値 0.5~1.0
- 中間群-2：スコア値 1.5~2.0
- 高リスク群：スコア値 2.5 以上

* 予後良好群：正常、-Y、5q-、20q-、予後不良群：

- 複雑型染色体異常（3個以上の染色体異常）または7番染色体の異常。
- 中間群：その他の異常。

(1)急性 GVHD の重症度(20)

Stage の定義

Stage ⁽¹⁾	皮膚	肝	消化管
	皮疹 (%) ⁽²⁾	総ビリルビン (mg/dl)	下痢 (ml/day) ⁽³⁾
1	<25	2~3	500~1000 または持続する嘔気 ⁽⁴⁾
2	25~50	3~6	1000~1500
3	>50	6~15	>1500
4	全身性紅皮症 (水疱形成)	>15	高度の腹痛・腸閉塞

- a) 火傷における "rule of nines" (成人)、“rule of fives” (乳幼児・小児) を適用。
- b) 小児の場合は ml/m² とする。連続する 3 日間の平均値で判定する。
- c) 胃・十二指腸の組織学的証明が必要。
- d) ビリルビン上昇、下痢、皮疹を引き起こす他の疾患が合併する場合は stage を一つ落とし、疾患名を明記する。

Grade の定義

Grade	皮膚	肝	消化管
	Stage	Stage	Stage
I	1~2	0	0
II	3 or	1 or	1
III	-	2~3 or	2~4
IV	4 or	4	-

注 1) PS が極端に悪い場合 (Karnofsky score<30%)、臓器障害が 4 に達しなくても grade IV とする。

注 2) "or" は各臓器障害の Stage のうち、ひとつでも満たしていればその Grade とする。

注 3) "-" は、皮膚の場合 Stage が 0、1、2、3 の範囲であっても構わない。たとえば肝障害が Stage 2、3、なら自動的に Grade III となる(皮膚障害の程度は Grade III を規定しない)。同様に腸管の場合は障害の程度が何であれ Grade IV には関与せず、たとえ Stage 4 でも皮膚または肝に Stage 4 がない限り、Grade IV とは判

定されない。

(2)慢性 GVHD の重症度(21)

Limited type

1. 限局性皮膚病変
2. 慢性 GVHD による肝機能障害
いずれも生検による病理診断が必要

Extensive type

1. 広汎な皮膚病変が存在する場合
2. 限局性皮膚病変 and/or 慢性 GVHD による肝機能障害があり、なおかつ下記のうち少なくとも 1 つを満たすこと。

- a. 肝生検にて慢性活動性肝炎・bridging necrosis・肝硬変のいずれかの所見を認める。
- b. 眼症状合併 (Schirmer 試験で 5mm 未満)
- c. 唾液腺もしくは口腔粘膜病変 (口腔生検にて確認)
- d. 慢性 GVHD による他臓器病変：鼻腔病変、消化器症状 (食道病変、慢性下痢など)、呼吸器症状 (閉塞性肺疾患、bronchiolitis obliterans)、血小板減少症、自己抗体産生、自己免疫疾患、生殖器慢性炎症

DLT 療法のガイドライン（血縁者間移植例）（金沢大学BMT 規案：）

1. 適応疾患

骨髄移植後の症例でDLTによって予後の改善ができる以下の疾患。

(1) DLTを積極的に考慮すべき疾患（絶対的適応）

慢性骨髄性白血病（CML） 細胞遺伝学的再発例

慢性骨髄性白血病（CML） 血液学的慢性期再発例

EBウイルス関連B細胞リンパ腫

(2) DLTを考慮すべき疾患

骨髄異形成症候群（MDS；ただし急性白血病移行期は除く）

(3) ほかに有効な治療法がなく、主治医がDLTの有効性が期待できると判断した疾患

2. 輸注細胞数

原疾患の種類や移植後から再発までの期間によって調整する。

原疾患	再発時期	GVHD (-)	GVL (+)
CML/MDS	移植後6ヶ月以内	$1 \times 10^7/\text{kg}$	$\sim 2 \times 10^8/\text{kg}$
CML/MDS	移植後6ヶ月以後	$5 \times 10^7/\text{kg}$	$\sim 5 \times 10^8/\text{kg}$
その他		$5 \times 10^7/\text{kg}$	$\sim 5 \times 10^8/\text{kg}$

GVHD (-) : 致命的GVHDを回避可能な初回輸注T細胞数

GVL (+) : GVL効果を示した症例の最大総輸注有核細胞数

注意：EBウイルス関連B細胞性リンパ腫の場合：輸注T細胞数 $1 \sim 2 \times 10^8/\text{kg}$

3. GVHDを回避するための dose escalation

GVHDの発症が懸念される症例ではGVHDを回避可能な初回輸注T細胞数から開始し、6～8週間ごとに輸注する細胞数を増量する。

付6 共同研究；t(1;7)転座および-7/-7qの臨床像

t(1;7)(p11;q11)転座および-7/-7qの臨床像の比較に関する共同研究提案

研究の背景と目的

MDS (ないし二次性 AML) にしばしば認められる t(1;7)(p11;q11)転座の解析結果より、同転座による MDS 発症のメカニズムとして、不均衡転座の結果生ずる 7 番長腕の欠失ないし 7 番長腕の増幅が想定された。そこで興味を持たれるのは、t(1;7)(p11;q11)転座が、従来 MDS において子孫不良型型として記載されている -7/-7q と遺伝学的に同一であるかどうかということである。とくに、t(1;7)(p11;q11)転座を有する MDS と従来型の -7/-7q の核型を有する MDS の臨床像に共通性が見いだされるかどうかという問題は興味深い。一方、t(1;7)転座の臨床像についてはこれまでに多数の報告が存在するものの、多数例のまとまった検討はない。そこで、今回の検討の目的は、t(1;7)(p11;q11)転座を有する MDS の臨床病態と、従来型の -7/-7q (ないし -7q) を有する MDS の臨床病態の異同について、アンケート調査により多数の症例について比較・検討を行うことである。

研究の方法

別紙 1 の様式のアンケートにて症例の登録を行い、t(1;7)(p11;q11)転座例と -7/-7q の症例について臨床像および細胞遺伝学的特徴を比較検討する。主たる検討項目は以下の通りである。

1. 年齢分布と性分布
 2. 病型分布
 3. 異形成の有無と程度
 4. 細胞遺伝学的な付加的異常の種類
 5. 異常クローンの特性ならびに経時的動態
当該染色体異常は primary な異常であるか secondary な異常であるか。
当該クローンの経時的動態はどうであるか。(t(1;7)(p11;q11)転座では一過性に異常をみとめるものの自然経過で消失する場合がある。)
 6. 骨髄の繊維化の有無、骨髄異形成の程度
 7. 末梢血における特徴
- t(1;7)(p11;q11)転座例については従来好酸球増多や白血球減少といった特徴の報

告もある。

8. 先行化学療法、放射線療法、免疫抑制療法との関連の有無
9. 治療反応性と子孫および感染症に対するリスクの検討

研究結果の公表

検討結果については、t(1;7)(p11;q11)転座の分子遺伝学的検討結果と併せ、本研究会で報告するとともに欧文学術雑誌に掲載する。

t(1;7)(p11;q11)転座および-7/-7qの臨床像の比較に関するアンケート調査

患者の同意ID: _____ 報告担当医師: _____ 施設名: _____

I. 患者基本情報

患者イニシャル: _____ 性別: 男 女 生年月日: _____ 年 ____ 月 ____ 日

診断: IAML MDS 診断日: _____ 年 ____ 月 ____ 日

病型: M0 M1 M2 M3 M4 M5 M6 M7
 RA RARS RAEB RAEB-t CMMLol unclassified

#AMLの場合
MDSの既往の有無 有 無 不明

#MDSの場合
白血球化の有無 有 無 不明 診断日: _____ 年 ____ 月 ____ 日

異形成の有無と程度: 有 無 不明
 1系統のみ 2系統 3系統全て

II. 染色体異常

1. 核型タイプ: t(1;7)(p11;q11) loss of 7q gain of 1q -7q and +1q
#上記の異常を 異常クローンの一部に認めた。
 全ての異常クローンに認めた。

#上記の異常を有するクローンは 一過性に認めたのみでその後消失した。
 安定的クローンとして維持された。

2. 診断時核型 検査日: _____ 年 ____ 月 ____ 日 上記1.の異常を有するクローンの割合: _____ %
(上記1.の異常が初めて検出されたときの核型の記載を記載してください。)

カルテ参照の有無 有 無

3. 経過中新たな付加的染色体異常の出現の有無 有 無 不明
核型 検査日: _____ 年 ____ 月 ____ 日 上記1.の異常を有するクローンの割合: _____ %

カルテ参照の有無 有 無

患者の同意ID: _____

III. 診断時骨髄所見

巨核形成 巨核形成 過形成 blast: _____ % NCC: _____ / 10^6
McR: _____ / 10^6

骨髄繊維化の有無 有 無 不明

IV. 末梢血所見

診断時	最近の値(死亡時)	単位
WBC	_____	$\times 10^9/l$
RBC	_____	$\times 10^6/l$
Hb	_____	g/dl
PLT	_____	$\times 10^9/l$

V. 化学療法歴：放射線療法歴

腫瘍名: 多発性骨髄腫 再生不良性貧血 その他 発症日: _____ 年 ____ 月 ____ 日
疾患名: 悪性リンパ腫 乳癌

治療歴: 有 無 不明

#免疫抑制療法の既往 有 無 不明 施行日: _____ 年 ____ 月 ____ 日
#大剂量化学療法の既往 有 無 不明 施行日: _____ 年 ____ 月 ____ 日
#放射線療法の有無 有 無 不明 施行日: _____ 年 ____ 月 ____ 日
#アルキル化剤の使用 有 無 不明

VI. 治療と転帰

治療: 化学療法 同種移植 免疫抑制療法 補助療法のみ その他

反応: CR PR NR 不明

異常クローンの消失の有無: 有 無 不明

感染症: なし 真菌感染 細菌感染 ウイルス感染 カリシ肺炎 その他

転帰: 死亡 生存 最終確認日: _____ 年 ____ 月 ____ 日 (死亡の場合は死亡日)

死因: 感染症 出血 難治性 その他 (_____)

FAX送付先: 03-5804-6261
 東京大学医学部附属病院血液腫瘍内科 小川 誠司

骨髓血を用いたサバイビン(Survivin)検出検査の説明書

サバイビンという蛋白は肺癌、胃癌、大腸癌、前立腺癌、悪性リンパ腫などの様々な悪性腫瘍の細胞で検出されることが知られています。しかしながら、サバイビンは、正常な組織では、現在までのところほとんど検出されないと報告されています。また、サバイビンが強く発現している症例と、そうではない症例では、臨床経過が異なることが報告されています。

一方、骨髓異形成症候群および再生不良性貧血でサバイビンがどの程度発現しているかどうかは、現在までのところわかっていません。そこで、通常の骨髓穿刺検査の際に、同意して頂ければ、貴方の骨髓血でのサバイビンの発現を調べたいと考えています。検査に費用はかからず、またその他の目的に血液を使用することはありません。結果については後日連絡いたします。

また、同意されない場合でも不利益が生じることは、まったくありません。

病院 科 責任医師名：

同意書

私は上記の骨髓血を用いたサバイビン(Survivin)検出検査を受けることに同意します。

年 月 日 氏名：

付 8 - 1 共同研究；再生不良性貧血における染色体不安定性の解析

厚生科学研究 特発性造血障害に関する研究班
共同研究提案書（初回案）
研究主題：再生不良性貧血における染色体不安定性の解析
埼玉医科大学 第一内科
矢ヶ崎 史治、松田 晃、別所 正美

[研究背景] 再生不良性貧血(AA)の予後は免疫抑制療法(IST)や G-CSF の併用により著しく改善した。しかしながら、治療後約 10 年で、10-15%の症例が骨髄異形性症候群(MDS)や急性骨髄性白血病(AML)に移行することが問題になっている。MDS/AML 移行例における染色体異常は+8,-7 などの数染色体異常の頻度が高いことが特徴的である。現在まで我々は AA における潜在的な-7 minor clone の存在と clonal evolution との関連性を検出感度の高い Two-color FISH 法を用いて検討してきた。その結果、AA 初診時に存在する -7 minor clone は早期に clonal evolution するものと、治療後に測定感度以下に消退するものがあることが明らかになった。前者では-7 が clonal disease の early event である可能性を示唆するが、本質的に低形成性 MDS との異同が問題となる。後者では治療経過中に上昇傾向を示す症例もあり、初診時-7 が測定感度以下であっても、経過観察が重要と考えられる。近年、AA 治療後に一過性に-7 などの染色体異常が出現し自然消退した報告や小児における transient -7 syndrome の報告があり、これらの-7 と MDS の予後不良因子である-7 との間に質的な違いが存在する可能性がある。

今日まで、癌細胞における数染色体異常は癌化の結果生ずる染色体不安定性(CIS)に起因したり、二次的なものと考えられてきたが、近年、mitotic check point 遺伝子である MAD2 の haplo-insufficiency によって check point が破綻し、CIS により減数染色体異常が発生すること、マウスの実験では長期の潜伏後に肺癌が発生することが報告され、注目されている。また mitotic check point 機構に異常が発生すると、紡錘糸阻害剤存在下でも、cohesin の分解により姉妹染色体の早期解離現象 PCS が発生する。また Kajii らによって PCS 家系よりホモ接合体と考えられる 2 児が出生し、1 例に Wilms 腫瘍が発生したことも報告され、CIS が発癌の initiation になりうることを示唆されている。そこで我々は AA における数染色体異常の発生機構を明らかにするために、CIS を示唆すると思われる premature chromatid separation (PCS)の分裂期染色体における出現頻度を検討した。その結

果、-7 minor clone 陽性群では全例で PCS>20%であることから、これらの-7 minor clone は CIS によって生じ、AA における免疫学的選択圧の負荷により expand した innocent clone であるのかもしれない。また解析可能症例の約半数で PCS が高値を示し、治療反応例では PCS が低下することから、治療抵抗性 AA では PCS 高値の状態が持続し、clonal evolution のリスクが高まることも予想される。

以上の結果を踏まえて、今回の共同研究では AA における染色体不安定性と染色体異数性および clonal evolution の関係を多数例における経時的な解析によって明らかにしたい。

1. Michel LS, et al. Nature. 409:355, 2001
2. Kajii T, et al. Am J Med Genet. 78:245, 1998

[研究目的] AA における clonal evolution の病態を明らかにするため、経時的な FISH 解析により染色体異数性および PCS を評価し、染色体不安定性と染色体異数性が clonal evolution に与える影響を検討する。

[対象] 再生不良性貧血初診例：治療前、治療半年後、1年後、2年後
間断核 Two-color FISH による-7 minor clone、間断核 Triple-color FISH による 6,7,8 番染色体異数性および分裂前中期染色体における PCS 発生率を経時的に解析する。

[方法] 患者本人より、十分な informed consent のもとで検体提供の同意を得た後、同意書に署名してもらう。検査に必要な検体は、未染骨髄塗抹標本1枚、ヘパリン添加骨髄液1ml を所定のスピッツ(染色体解析用)に入れて室温で輸送してください(SRL 病院間メールもしくは宅急便)。検体送付前日までに所定の FAX 登録用紙でご登録をお願いします。フォローアップの検体送付の際も前日までに所定の用紙で FAX 連絡をお願いします。検体受付は月曜日から木曜日までとなります。

[検体送付先] 350-0495 埼玉県入間郡毛呂山町毛呂本郷3-8
埼玉医科大学第1内科 研究室 矢ヶ崎 史治
電話・ファックス 049-276-1187
E-mail fyagasaki@saitama-med.ac.jp

[報告] 検査結果は主治医に郵送で通知する。
[目標症例数] 約100例
[研究期間] 検体受付は2年間、症例のフォローアップは5年間を予定する。
[論文発表] 論文および学会発表時は原則的に検体提供頂いた施設から一名を共著者および共同研究者とする。

FAX 症例登録用紙（初回登録用）

FAX 先
埼玉医科大学 第1内科研究室 矢ヶ崎 史治
049-276-1187 (FAX/電話切り替え)

登録日 年 月 日
主治医 ()
施設間症例番号 ()-()-1
(施設名)-(施設患者ID番号)を記入してください。

症例の情報
所定の同意書で書面に同意は得られましたか? YES NO
治療前症例ですか? YES NO
年齢 () 性別 ()
検体採取時の臨床データをお教えてください。
WBC ()/μl, 分画 ()
RBC ()/μl, 網状赤血球数 ()%, Hb ()g/dl, Ht ()
血小板 ()/μl
染色体異常の有無 あり 無し 有りの際内容をお教えてください ()

Clot section または骨髓生検による骨髓細胞密度 ()
AA の診断: 特発性 AA, 肝炎後 AA, 薬剤性 AA
重症度: 重症 中等症 軽症

検体送付は月曜日から木曜日の間に発送をお願いします。
検査結果は約 2 週間ほどかかります。

FAX 検体送付通知書（フォローアップ検査で使用します）

FAX 先
埼玉医科大学 第1内科研究室 矢ヶ崎 史治
049-276-1187 (FAX/電話切り替え)

検体送付日 年 月 日
治療開始後 6ヶ月, 1年, 2年
主治医 ()
施設間症例番号 ()-()
(施設名)-(施設患者ID番号)を記入してください。

症例の情報
治療は行いましたか? YES NO
YES の場合は内容を簡単に記載してください ()
G-CSF は使用しましたか? YES NO
YES の場合は総用量を記載してください ()

検体採取時の臨床データをお教えてください。
WBC ()/μl, 分画 ()
RBC ()/μl, 網状赤血球数 ()%, Hb ()g/dl, Ht ()
血小板 ()/μl
通常の染色体解析は施行しましたか YES NO
AA の治療の有効性: ()
輸血の必要性 ()
検査結果の通知: 至急で希望する 希望しない

検体送付は月曜日から木曜日の間に発送をお願いします。
検査結果は約 2 週間ほどかかります。

患者さんに対する説明文書

はじめに

これから説明する内容は、この病院がおこなっている、あなたの病気にに対する検査法のひとつです。説明の中には少し専門的なことも含まれますが、よくお読みになって、ご理解ください。またさらに詳しい説明が必要でしたら、遠慮なくお申し出下さい。

検査の目的

あなたの病気は再生不良性貧血です。再生不良性貧血は、良性疾患でガンではありませんが、免疫抑制療法を受けた患者さんの一部に血液ガンである白血病や前白血病状態である骨髄異形成症候群が発生することが知られています。その理由は不明ですが、免疫抑制療法が治療に用いられる以前から白血病に移行したという報告があることから、再生不良性貧血では白血病になりやすい病態が存在するのかも知れません。残念ながら、現在、どのような患者さんに白血病が発生しやすいのか知る術はありません。またそのような白血病では特定の染色体に認められることが多い特徴があります。そこで今回採取する骨髄細胞中にもとより、そのような染色体異常が存在するのか、それとも治療後に出現するのかを明らかにするために FISH 法という特殊な染色体解析法を用いて研究を行っております。染色体異常といえますと遺伝するのではないかと、遺伝病ではないかと思われるかもしれませんが、そうではありません。染色体異常は後天的に、貴方の血液細胞で発生すると考えられています。この研究的検査は再生不良性貧血の病態と白血病移行との関連を検討し、治療法を開発する上で大変重要と考えています。何卒ご協力をお願いいたします。

骨髄液のご提供は、あなたの自由意志に基づきますので、ご提供いただけない場合でも、当施設での診療に不利益をこうむることはありません。また、同意をいただいた後、いつでも不利益を受けることなく文書により撤回することができます。その際には同意を取り消したときにすでに研究結果が集計・解析後あるいは公表されていた場合などには、研究結果を廃棄できない場合があります。

被験者のすべての記録が関係者に閲覧される可能性があること。

この検査に参加された場合には観察期間終了までの期間のデータは検査施設に定期的に報告されます。あなたがこの同意書に署名されることは、この閲覧を認めていただいたこととなります。あなたのカルテおよび診療情報は秘密が保守さ

れます。治療プロトコルの結果や研究的検査の結果の発表に当たっては、あなたの名前や個人が識別できる情報は一切公表されることはありませんので人権は確実に擁護されます。また、この試験で得られた結果はきちんと記録され、医学雑誌や学会に発表されることもあります。この場合も、あなたの氏名や個人情報に外部に漏れることはありません。この同意書に署名していただくことにより、あなたから結果の公表について許可を得たこととさせていただきます。

ご提供いただける場合には、今回行う検査の際に同時に末梢血・骨髄液を少量余分に採取させていただきます。余分に採取することにより、あなたの身体に悪影響を及ぼすことはありません。また末梢血・骨髄液を提供していただくにあたり、通常の診療にかかる医療費以外には経済的負担はありません。研究に必要な経費はすべて研究者の研究費によりまかなわれます。また、ご提供いただいたことに対する報酬はありません。

ご提供いただいた骨髄液は、血液疾患および関連するヒト疾患の病態解明、診断、治療、予防などのための研究に使用されます。その目的のために、いただいた末梢血・骨髄液より、染色体を分離・抽出し、一部は治療方針にすぐに反映する可能性の高い染色体診断に用い、残りは埼玉医科大学 第一内科にて保存いたします。

ご提供いただいた末梢血・骨髄液より得られた検査結果は主治医にお知らせしますので主治医よりお聞きください。

研究の成果から知的所有財産を生み出す可能性があります。その場合は研究者に帰属し、あなたには帰属しません。

文書による同意

この臨床試験では、患者さんの同意を文書で得ることが求められています。以上の内容を十分理解し、納得された上で同意書にご署名をお願いいたします。もし、不明な点や、不安なことがありましたら、遠慮せず担当の医師にお申し出ください。この検査への参加に同意いただけましたら、同意書に署名捺印をお願いします。

同意書

_____ 病院 _____ 科

担当医師 _____ 殿

責任医師 _____ 殿

このたび、私は骨髄検査を受けるに当たり骨髄細胞の FISH 法による染色体検査について、担当医師から詳細な説明を受けて了承しましたので、その実施に同意します。

1. 本検査の目的と方法
2. 本検査により得られる情報
3. 染色体解析および検体保存
4. 本治療に同意しない場合にも不利益を受けないこと
5. 同意した場合も随時それを撤回できること
6. 人権プライバシー保護の遵守

平成 年 月 日

患者本人氏名 (署名) _____ 印

または法定代理人 (署名) _____ 印

続柄 _____

本臨床試験に関する説明を行い、同意が得られたことを確認します。

平成 年 月 日
同意取得医師 _____ 科 (署名) _____ 印

**International Symposium on
Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria (PNH)
and Related Disorders ;
Molecular Aspects of Pathogenesis**

Program / Abstracts

Keio Plaza Hotel
Tokyo, Japan
August 28 (Tue) - 29 (Wed), 2001

Japan Intractable Diseases Research Foundation

ORGANIZING COMMITTEE

Chairman:	Mitsuhiro Omine, MD	Professor Division of Hematology, Showa University Fujigaoka Hospital Yokohama
Members: (in alphabetical order)	Hisamaru Hirai, MD	Associate Professor Department of Hematology and Oncology University of Tokyo, Tokyo
	Yuzuru Kanakura, MD	Professor Department of Hematology and Oncology Osaka University, Osaka
	Akihisa Kanamaru, MD	Professor The 4 Department of Medicine Kinki University, Osaka
	Taroh Kinoshita, PhD	Professor Department of Immunoregulation Research Institute for Microbial Diseases Osaka University, Osaka
	Hideaki Mizoguchi, MD	Professor Department of Hematology Tokyo Women's Medical University, Tokyo
	Shinji Nakao, MD	Professor The 4 Department of Internal Medicine Kanazawa University, Kanazawa
	Keiya Ozawa, MD	Professor Division of Hematology, Department of Medicine, Jichi Medical School, Tochigi
	Masao Tomonaga, MD	Professor Department of Hematology, Atomic Bomb Disease Institute, Nagasaki University Nagasaki
	Takashi Uchiyama, MD	Professor Department of Hematology/Oncology Kyoto University, Kyoto
	Akio Urabe, MD	Director Division of Hematology NII Kanto Medical Center, Tokyo
Advisor:	Fumimaro Takaku, MD	President Jichi Medical School, Tochigi Acting President Japan Intractable Diseases Research Foundation
Symposium Secretariat	Shukue Azuma, Ms	Japan Intractable Diseases Research Foundation

Program

First Day, August 28 (Tuesday), 2001

12:00 - 14:00	Registration	(Room Ohgi, 4 th floor)
14:00 - 14:10	Opening	
14:10 - 15:30	Session-1 ; Overview of PNH Chairpersons: Akio Urabe (Tokyo, Japan) Wendell E. Rosse (Durham, USA)	
	1. Taroh Kinoshita (Osaka, Japan)	13 Overview of PNH : Molecular Genetics
	2. Charles J. Parker (Salt Lake City, USA)	14 An Overview of the Development of Specific Inhibitors of Complement : Opportunities for Therapy of Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria (PNH)
15:30 - 17:25	Session -2 ; Pathogenesis and Animal Models of PNH Chairpersons: Taroh Kinoshita (Osaka, Japan) Lucio Luzzatto (Genova, Italy)	
	3. Monica Besler (St. Louis, USA)	15 Mice with Blood Cells Deficient in GPI-Linked Proteins - the Generation of a Murine Model to Investigate the Pathogenesis and Pathophysiology of Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria (PNH)
	4. Russell E. Ware (Durham, USA)	16 A Multistep Model for the Pathogenesis and Evolution of PNH
	5. Tsutomu Shichihima (Fukushima, Japan)	17 Some New Viewpoints of Molecular Pathogenesis in Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria (PNH)
17:25 - 17:40	Break	
17:40 - 19:00	Evening Seminar; Clinical Pathology and Natural History of PNH Co-Sponsored by Sankyo Co.,Ltd. and Kirin Brewery Co., Ltd.	
	Evening Seminar -1 Chairperson: Fumimaro Takaku (Tochigi, Japan)	
	6. Wendell E. Rosse (Durham, USA)	18 Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria: History and Pathology
	Evening Seminar -2 Chairperson: André Tichelli (Basel, Switzerland)	
	7. Gerard Socié (Paris, France)	19 Long-term Outcome in PNH; the French Society of Hematology Experience
19:10 -	Reception Party	(Concord Ball Room, 5 th floor)

1

2

Second Day, August 29 (Wednesday), 2001

(Room Ohgi, 4th floor)

9:00 - 10:50	Session -3 ; Mechanism of Clonal Expansion in PNH Chairpersons: Yuzuru Kanakura (Osaka, Japan) Neal S. Young (Bethesda, USA)	
	8. Hideki Nakakuma (Kumamoto, Japan)	20 PNH Clone Acquires Both Survival and Growth Advantage ?
	9. Lucio Luzzatto (Genova, Italy)	21 The Role of T-lymphoid Cells in the Pathogenesis of PNH
	10. Norimitsu Inoue (Osaka, Japan)	22 A Possible Intrinsic Mechanism for Clonal Expansion of PNH Abnormal Cells
10:50 - 11:05	Break	
11:05 - 13:00	Session -4 ; PNH Clones under Bone Marrow Failure Chairpersons: Keiya Ozawa (Tochigi, Japan) Gerard Socié (Paris, France)	
	11. Shinji Nakao (Kanazawa, Japan)	23 Clinical Significance of Increased PNH-Type Cells in the Peripheral Blood of Patients with Aplastic Anemia and Refractory Anemia
	12. Masao Tomonaga (Nagasaki, Japan)	24 Incidence and Clinical Significance of PNH Clones in Myelodysplastic Syndromes (MDS)
	13. Neal S. Young (Bethesda, USA)	25 The Enigmatic Relationship of Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria and Acquired Aplastic Anemia
13:00 - 14:30	Lunch	
14:00 - 14:30	Poster Viewing	
14:30 - 16:30	Session -5 ; PNH, Aplastic Anemia, Myelodysplastic Syndromes (1) Pathology Chairpersons: Takashi Uchiyama (Kyoto, Japan) Andrea Bacigalupo (Genova, Italy)	
	14. E.C. Gordon-Smith (London, UK)	26 Does PNH Ever Arise De Novo ?
	15. Junko Ohyashiki (Tokyo, Japan)	27 Telomeres in Myelodysplastic Syndromes
	16. André Tichelli (Basel, Switzerland)	28 Immunosuppressive Treatment of Patients with Aplastic Anemia
16:30 - 16:45	Break	
16:45 - 18:05	Session-6 ; PNH, Aplastic Anemia, Myelodysplastic Syndromes (2) Clinical Aspects Chairpersons: Hisamaru Hirai (Tokyo, Japan) Akihisa Kanamaru (Osaka, Japan)	
	17. Gerard Socié (Paris, France)	29 MDS/leukemia and PNH After Immunosuppressive Therapy for Severe Aplastic Anemia
	18. Andrea Bacigalupo (Genova, Italy)	30 Bone Marrow Transplantation for Acquired Severe Aplastic Anemia (SAA) and PNH: Diversities and Similarities
18:05 - 18:15	Summing-up Remarks	E.C. Gordon-Smith (London, UK)
18:15	Closing	

3

4

分 担 研 究

I 再生不良性貧血

骨髓不全患者における微少 PNH
細胞の臨床的意義：多施設共同研究

中尾 眞二、王 紅波、中条 達也
(金沢大学大学院細胞移植学)
小峰 光博 (昭和大学藤が丘病院 内科血液)

[はじめに]

われわれは、多くの再生不良性貧血患者において少数 (<1%) の GPI アンカー膜蛋白陰性血液細胞 (PNH 細胞) が検出されることをこれまで報告してきた。ただ、この PNH 細胞の増加は、発症後間もない再生不良性貧血患者ではほとんどの患者でみられるため、非増加例との臨床的な比較が困難であり、このため微少 PNH 細胞の臨床的意義は不明であった。骨髓異形成症候群 (MDS) は再生不良性貧血に比べてより雑多な病態を含んでいるため、MDS 患者を対象として PNH 細胞を検出し、臨床像との関係を調べれば、微少 PNH 細胞の臨床的意義を明らかにできる可能性がある。そこで、多施設共同研究により、多数の MDS 患者について PNH 細胞を検出するとともに、変異 glycoprotein A (GPA) 遺伝子に由来する赤血球を検出することにより、PNH細胞の増加と、臨床像およびゲノムの不安定性との関係を検討した。

[対象と方法]

MDS 患者148例の末梢血顆粒球と赤血球について CD55⁺CD59⁻細胞 (PNH 細胞) の占める割合を、フローサイトメトリーを用いて決定した (表1)。顆粒球については、ヘパリン加血を塩化アンモニウム緩衝液で溶血後、PE 標識抗 CD11b 抗体、および FITC 標識抗 CD55 抗体・CD59抗体とインキュベートし、顆粒球ゲート内の CD11b⁺ 細胞10万個を検索した。赤血球については、CD11b の代わりに PE 標識抗 GPA 抗体を用い、赤血球ゲート内の GPA⁺ 細胞100万個を検索した。GPA が MN 型の MDS 患者については、抗M抗体と FITC 標識抗 MN 抗体を用いて、変異型の NN・NO 赤

血球の割合を決定した。

表1 対象患者

Total no. of patient	148
M : F	76 : 72
Age	17-91 (median 66)
FAB subtype	
RA	108
RARS	4
RAEB	28
RAEB-t	8

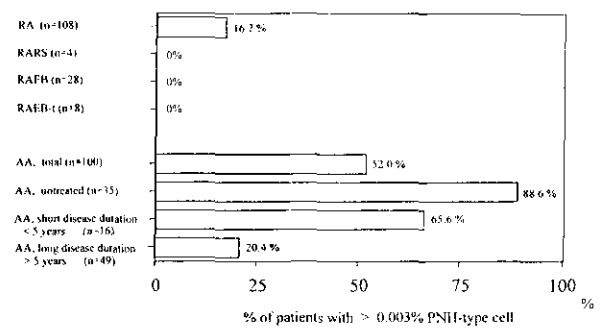


図1 PNH 細胞 増加例の割合

[結 果]

MDS 患者のうち、PNH 細胞の増加 ($\geq 0.003\%$) がみられたのは不応性貧血 (RA) 110例中の18例 (16.4%) に限られていた (図2)。これらの患者の背景を表2に示す。この割合は、再生不良性貧血患者における陽性率 (52.0%) と比べて明らかに低値であった。PNH 細胞の増加がみられた RA (PNH+RA) 症例における PNH 細胞の割合は、大多数 (78%) が 1% 以下であった。PNH-RA 群では全体の33%に染色体異常がみられたのに対して、PNH+RA 群では全例が正常核型であった。骨髓中の偽ベルゲル核異常を持つ好中球の割合は、PNH-RA 群の方が PNH+RA 群 より有意に高かった (図2)。シクロスポリン療法を受けた14例のうち、改善した4例はいずれも PNH+RA 患者であった。

HLA-DRB1 アレルを決定したところ、PNH+RA 群の11例はいずれも DRB1*1501か DRB1*1502を有していたが、PNH-RA 群13例中 DR15のアレルを有していたのは2例のみであった。2年の観察