

厚生労働科学研究費補助金
ヒトゲノム・再生医療等研究事業

<研究課題名>

骨髄非破壊的前処置療法を用いた
同種造血幹細胞移植の開発

平成14年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 高上 洋一
(所属機関 国立がんセンター中央病院)

平成 15 (2003) 年 4月

【 目 次 】

I. 総括研究報告

国立がんセンター中央病院 高上 洋一
骨髄非破壊的前処置療法を用いた同種造血幹細胞移植の開発 . . . P 1~ 4

II. 分担研究報告

金沢大学大学院 中尾 眞二
免疫学的効果に基づいた移植後ドナーリンパ球輸注の臨床ガイドライン策定
に関する研究～マイナー組織適合抗原としての多型接着分子～ . . . P 5~ 7

東京大学大学院 大橋 靖雄
造血幹細胞移植臨床試験検証システムの確立に関する研究 . . . P 8~15

鹿児島大学医学部 河野 嘉文
骨髄非破壊的移植後免疫機能回復と抗腫瘍効果に関する年齢因子の解析
～同種造血幹細胞移植後の免疫機能回復-移植片・年齢の影響～
. . . P16~21

名古屋第一赤十字病院 北折 健次郎
末梢血幹細胞移植の臨床ガイドライン策定に関する研究 . . . P22~29

九州大学大学院 権藤 久司
免疫学的治療としての末梢血幹細胞移植法の評価に関する研究
. . . P30~33

岡山大学医学部附属病院 豊嶋 崇徳
同種造血幹細胞移植における移植片対宿主病予防法開発に関する研究
. . . P34~35

東京大学医学部附属病院 神田 善伸
白血病、骨髄異形成症候群に対する適切な骨髄非破壊的前処置療法の開発
に関する研究 . . . P36~37

都立駒込病院 森 慎一郎
造血幹細胞移植に関する臨床試験体制の構築に関する研究
～研究者主導型臨床研究による市販後臨床試験の質確保に関する研究～
. . . P38~40

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 . . . P41~43

IV. 研究成果の刊行物・別刷

総括研究報告書

「骨髄非破壊的前処置療法を用いた同種造血幹細胞移植の開発に関する研究」

主任研究者 高上 洋一 国立がんセンター中央病院 薬物療法部医長

研究要旨

従来は同種造血幹細胞移植の対象とはならなかった 50 歳以上の患者を対象として、リン酸フルダラビンとブスルファンを併用した骨髄非破壊的前処置療法を用いたミニ移植の安全性と有効性を、多施設共同無作為比較第 II 相臨床試験を行って検討する。我が国の移植領域における臨床試験体制の基盤を確立するためにデータ管理は新 GCP に準拠して行い、登録開始後 12 か月で 25 名を登録した。本研究において治療の有用性が確認された場合には、薬剤の輸入販売会社に対して適応症申請を要請して社会への還元を図る。同時に、治療の安全性を高める目的から移植後の免疫能を解析し、サイトメガロウイルス感染症に対する特異的 T 細胞療法や、より安全性の高いドナー由来リンパ球輸注療法を開発する。

分担研究者氏名 (所属機関名・職名)

中尾眞二 (金沢大学医学部・教授)

大橋靖雄 (東京大学大学院・教授)

河野嘉文 (鹿児島大学医学部・教授)

北折健次郎

(名古屋第一赤十字病院・副部長)

権藤久司 (九州大学大学院・助手)

豊嶋崇徳 (岡山大学医学部附属病院・助手)

神田善伸 (東京大学医学部附属病院・助手)

森慎一郎 (都立駒込病院・医員)

A. 研究目的

本研究では、これまで同種移植を受けることができなかった高齢者などに対する画期的な治療として期待される、骨髄非破壊的前処置療法を用いたミニ移植法を開発する。その安全性を国立がんセンター中央病院単施設で行う第 I 相臨床試験で評価すると同時に、その有効性を評価する多施設共同無作為比較第 II 相臨床試験を行う。

その背景として、同種造血幹細胞移植は有効な治療法ではあるが、一方では治療関連合併症が多く発生する危険な治療でもある。特に患者の年齢が 50 歳を超える場合や移植前に既

に臓器の働きが低下している患者では、現在の方法で移植を行うと早期死亡率が著しく高くなる。このため根治的な治療を受けることができない患者は多い。これを克服するために、移植前処置の抗がん剤を減量し、免疫抑制力の強い薬剤を組み合わせることによって、副作用を抑えつつドナー造血幹細胞・リンパ球の生着を図り、抗腫瘍効果は主として同種免疫効果に期待するという考えに基づいて開発された移植法がミニ移植である。

本第 II 相臨床試験の最大の特徴は、質の高いエビデンスを得るために、公正で公開された班研究を行い、移植医療に適したデータベースを作成し、移植領域の医師主導研究としては世界でも初めて新 GCP に準拠した厳正な前方視的研究を実施することである。これにより、我が国の移植領域における臨床試験体制の基盤を確立すると同時に、得られたデータを用いて新規開発医薬品、適応外医薬品あるいは細胞治療法の臨床承認申請を可能とする道を開く。

ミニ移植の安全性と有効性を高めるために、付随研究として移植後のサイトメガロウイルス (CMV) 感染の発症頻度、および CMV 特

異的 T 細胞動態について経時的に検討し、ミニ移植の特徴を免疫学的側面から明らかにする。移植後再発白血病に対してドナー由来リンパ球輸注療法 (donor lymphocyte infusion: DLI) が注目されているが、その作用機序は不明であり、また合併症である重症の移植片宿主病 (GVHD) に対する対策も重要である。DLI の標的抗原を検索して、より特異的な免疫療法を行うことを目指す。

B. 研究方法

新たなプリン誘導体であるクラドリピンあるいはフルダラピンとブスルファンを併用するミニ移植を開発し、国立がんセンター中央病院において第 I 相臨床試験を行った。対象となったのは造血器腫瘍患者のうち、他の治療では治癒や長期生存を期待できないような疾患や病状であるにもかかわらず、年齢制限 (55 歳) や各種の臓器機能障害があるために通常血縁/非血縁者間同種造血幹細胞移植を行うことができない患者である。ドナーは HLA 一致あるいは一座不一致の血縁ドナーとし、G-CSF 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を 1 日 2 回連日皮下注射し、4 日目から CD34 陽性細胞として 3×10^6 個 / kg の採取を目標にしてアフエレーシスを行った。主要評価項目は、移植後 100 日以内の早期移植関連死亡とドナー型完全キメラの達成とした。またミニ移植における最適の GVHD 予防法を検討する目的で、同様の治療プロトコルを用いて多施設共同無作為比較第 II 相臨床試験を開始し、移植した後にシクロスポリン単剤と、シクロスポリンとメトトレキサートの併用による方法の 2 群に無作為に割り付ける (各群 30 例、計 60 例)。この試験は、ミニ移植に必要な薬剤の適応拡大承認を得る必要性からも新 GCP に準拠して行う。治療の安全性を高めるためにも、ミニ移植後の免疫機能の評価として同種移植で最も重要な感染症である CMV 感染を指標とし、その発症頻度および CMV 特異的 T 細胞の再構築について経時的に検討した。また graft-

versus-leukemia (GVL) 効果の標的抗原検索に関しては、同種骨髄移植後の CML 再発に対して DLI を受けて寛解を得た患者では、GVL 効果の出現に一致して一部の CD4 陽性 T 細胞の抗原特異的増殖がみられるため、T 細胞のクロナタイプからそのエピトープを推測するという新しい方法を考案して検討した。これらの所見は、ミニ移植に伴う免疫機能の特徴を明らかにするものでもあり、移植の安全性確保と抗腫瘍免疫の調整に重要である。

(倫理面への配慮)

対象患者については、いずれも患者本人に説明同意文書の内容を極力分かり易い言葉で説明し、説明同意文書 2 部を作製して本人に渡したうえで文書による同意を得た。説明同意文書に本人の自由意志で同意の署名がなされた後に、この文書の 1 部を本人に提供することで倫理性も確保した。本研究は、参加各施設の倫理審査委員会における審査を受けて承認されることが条件となる。

C. 研究結果・D. 考案

同種造血幹細胞移植は、超大量化学療法や全身放射線照射によって抗腫瘍効果を強め、その副作用として生じる壊滅的な骨髄傷害を、ドナーの造血幹細胞を輸注することによって補うという概念で始められた治療方法である。しかし最近に至り、移植の治療効果は大量化学療法や放射線照射だけでなく、むしろ同種免疫効果、すなわちドナー由来のリンパ球が抗腫瘍効果 (GVL あるいは graft-versus-tumor; GVT) を発揮することに由来することが判明した。そこで、移植前処置の抗がん剤を減量し、副作用を抑えつつドナー造血幹細胞の生着を図り、抗腫瘍効果は主として GVL/GVT 効果に期待するというミニ移植の概念が提案された。GVT 効果は抗がん剤耐性の固形がんにおいても観察されている。国立がんセンター中央病院における第 I 相臨床試験は 2003 年 2 月現在、合計 170 名の患者を登録した。高リスク患者が対象となったに

もかわらず、HLA 一致血縁者間移植の場合には移植後 1 年以内の移植関連死亡の発生は 5%以内に留まり、治療の安全性が高いことが示された。難治がん治療における本治療の意義は大きいと考える。しかし、急性 GVHD の合併率は通常移植と同程度であったことから、その改善を目指した第 II 相臨床試験を行うことの意義は大である。

多施設共同第 II 相臨床試験に関しては、移植領域における医師主導研究としては初めて、新 GCP に基づいた厳正で透明性のある臨床試験を遂行中であり、2003 年 3 月現在で計 25 名を登録している。このデータベースの基本構造は、今後行われる各種疾患に対する移植領域における臨床試験に汎用が可能であり、実際に、厚生労働科学研究の効果的医療技術の確立推進臨床研究事業における研究活動の推進に大きく寄与している(固形がんに対する同種細胞免疫療法を用いた標準的治療法の確立に関する研究)。

ミニ移植の安全性と有効性を高める目的で GVL 効果の標的抗原の検索を行い、T 細胞レセプター (TCR) β 鎖の CDR3 領域のアミノ酸配列を決定して標的となる新たな mHA を同定した。また、ミニ移植後の CMV 感染症の発症頻度、および CMV 特異的 T 細胞動態について経時的に検討し、ミニ移植の特徴を免疫学的側面から明らかにした。

E. 結論

ミニ移植後の副作用は通常の移植と比較して軽微であるため、根治的治療法を持たなかった多くの高齢患者を救済できる可能性が示された。今後、治療法のさらなる改善を目指した第 II 相臨床試験を進めて、その有効性を評価する。これにより、我が国の移植領域における臨床試験基盤の構築を目指すと同時に、医師主導臨床試験に基づいた適応外医薬品の申請も行う予定である。

F. 健康危険情報 特記すべきことなし

G. 研究発表

Shimokawa T, Takaue Y, et al. Successful umbilical cord blood transplantation in an infant with ALL who failed initial autologous peripheral blood stem cell transplantation. *Med Pediatr Oncol*, 38:60-61, 2002.

Watanabe T, Takaue Y, et al. HLA-identical sibling peripheral blood stem cell transplantation in children and adolescents. *Biol Blood Marrow Transplant*, 8:26-31, 2002.

Nakai K, Takaue Y, et al. Suspected delayed immune recovery against cytomegalovirus after allogeneic blood stem cell transplantation with a reduced-intensity regimen. *Bone Marrow Transplant*, 29:237-241, 2002.

Saito T, Takaue Y, et al. Therapeutic potential of a reduced-intensity preparative regimen for allogeneic transplantation with cladribine, busulfan and anti-thymocyte globulin against advanced/refractory acute leukemia/lymphoma. *Clin Cancer Res*, 8:1014-1020, 2002.

Ohnishi M, Takaue Y, et al. Limited efficacy of lamivudine against hepatitis B virus infection in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients. *Transplantation*, 73:812-815, 2002.

Kanda Y, Takaue Y, et al. Response-oriented pre-emptive therapy against cytomegalovirus disease with low-dose ganciclovir: a prospective evaluation.

Transplantation, 73:568-572, 2002.

Akiyama Y, Takaue Y, et al. Identification of HLA-A24-restricted CTL epitope encoded by the matrix protein pp65 of human cytomegalovirus. Immunol Lett, 83:21-30, 2002.

Nagatoshi Y, Takaue Y, et al. Hematopoietic and immune recovery after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation and bone marrow transplantation in a pediatric population. Pediatric Transplant, 6:319-326, 2002.

Kanda Y, Takaue Y, et al. Impact of stem cell source and conditioning regimen on erythrocyte recovery kinetics after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation from an ABO-incompatible donor. Br J Haematol, 118:128-131, 2002.

Hamaki T, Takaue Y, et al. Successful allogeneic blood stem cell transplantation for aplastic anemia in a patient with renal insufficiency requiring dialysis. Bone Marrow Transplant, 30:195-198, 2002.

Lee JJ, Takaue Y, et al. The role of PGE2 in the differentiation of dendritic cells: how do dendritic cells influence T cell polarization and chemokine receptor expression? Stem Cells, 20:448-459, 2002.

Nakai K, Takaue Y, et al. Chimerism induction and delayed onset of cytomegalovirus (CMV) infection after allogeneic reduced-intensity stem cell transplantation (RIST). Blood 100:2674-2675, 2002.

Nakai K, Takaue Y, et al. Primary cutaneous aspergillosis caused by *Aspergillus ustus* following reduced-intensity stem cell transplantation. Ann Hematol, 81:593-596, 2002.

Kami M, Takaue Y, et al. Use of an inactivated varicella vaccine in recipients of hematopoietic-cell transplants. N Engl J Med, 347:1624, 2002.

Nakai K, Takaue Y, et al. The feasibility of reduced-intensity allogeneic hematopoietic stem cell transplantation from a related donor with HLA one-antigen with or without one-allele mismatch. Haematologica, 88:115-117, 2003.

Watanabe T, Takaue Y, et al. Effect of granulocyte colony-stimulating factor on bone metabolism during peripheral blood stem cell mobilization. Int J Hematol, 77:75-81, 2003.

H. 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
3. その他 なし

分担研究報告

「免疫学的効果に基づいた移植後ドナーリンパ球輸注の臨床ガイドライン策定に関する研究」

～マイナー組織適合抗原としての多型接着分子～

分担研究者 中尾 眞二 金沢大学大学院医学系研究科 細胞移植学教授

研究要旨

CD31、CD49b、CD62Lなどの接着分子には分子多型があるため、マイナー組織適合抗原(mHa)として機能する可能性が示唆されてきた。これらの多型接着分子が実際にmHaとして機能するかどうかを明らかにするため、同種造血幹細胞移植を行った102例の造血器悪性腫瘍患者についてドナーと患者の各接着分子アレルを決定し、GVHD方向に不一致を認める例と認めない例との間でGVHDの発症率と再発率を比較した。その結果、CD62Lの不一致のみが低再発率と有意に関連していた。そこで、CD62Lの多型部位を含む9種類のペプチドを作成し、GVHD方向に不一致を示す2例の患者の骨髄T細胞を、このペプチドでパルスした樹状細胞で刺激したところ、一部のペプチドのみがインターフェロンの産生を誘導した。したがって、CD62Lの多型ペプチドはgraft-versus-leukemia効果をもたらすmHaとして機能している可能性が示唆された。

A. 研究目的

CD31、CD49bなどの接着分子は血液細胞によく発現されており、また分子多型が存在することから、mHaとして機能する可能性が検討されてきた。1999年、Maruyaraらは多数の接着分子の多型と移植片対宿主病(graft-versus-host disease, GVHD)との関係を検討した結果、CD31とCD62Lの不一致がGVHD発症と有意に関連することを報告した。CD31についてはその後も同様の報告が発表されている。しかしCD62L多型の役割については明らかにされていない。また、多型分子のうち、どのペプチドがmHaとして機能するかについては全く検討されていない。そこで、HLA一致ドナーから同種造血幹細胞移植を受けた造血器悪性腫瘍患者を対象として4種類の接着分子アレルを決定し、GVHD発症と再発との関係を検討した。さらにCD62Lについては、多型部位を含むどのペプチドがmHaとして機能しているかを検討した。

B. 研究方法

造血器悪性腫瘍のためHLA一致ドナーから同種造血幹細胞移植を受けた102例の患者と移植ドナーから同意を得て白血球を分離し、DNAを抽出後、CD31 codon 125、CD31 codon 563、CD49b、CD62Lの各々の多型部位をMaruyaraらの方法に準じて増幅し、RFLPによりアレル型を決定した。GVHD方向のアレルの不一致は、Maruyaraらが提唱したHLAクラスIの拘束分子を保有している場合にのみ「不一致あり」と判定した。

次に、CD62L分子の中でmHaとなりうるペプチドを同定するため、CD62Lのcodon 213の多型部位を含む9merのペプチド18種類を合成した。慢性GVHDを起こしている急性骨髄性白血病患者と、慢性骨髄性白血病の慢性期再発に対してドナーリンパ球輸注を行った患者の2例を対象として、ドナー由来の樹状細胞にペプチドをパルスしたのち、患者から採取した骨髄T細胞と16時間インキュベートした。培養上清中のインターフェロン γ 濃度をELISA法

により測定した。

C. 研究結果

GVHD 方向への不適合の有無と grade II 以上の GVHD の発症との関係を見たところ、どのアレルの不一致も急性 GVHD の発症には影響を与えなかった。一方、再発の有無との関係を見たところ、CD62L の不一致例の再発率 (6.0%) は、一致例の再発率 (33.3%) と比べて有意 ($p=0.03$) に低かった。他の接着分子ではこのような差はみられなかった。したがって、CD62L は GVHD を惹起せずに GVL 効果のみを誘導している可能性が示唆された。そこで、CD62L の不一致を認める 2 例の白血病症例について、骨髄 T 細胞を 9 種類のレシピエント型ペプチドで刺激したところ、2~3 種類の特定のペプチドによってのみ、明らかなインターフェロン γ 産生が誘導された。

D. 考察

多型性を持つ接着分子は、GVHD の標的臓器である血管内皮や血液細胞が高発現していることから、mHa として機能している可能性が指摘されてきた。今回のわれわれの検討では、4 種類の接着分子多型の不一致はいずれも GVHD 発症には影響しなかった。それにも関わらず、CD62L は低再発率と強い相関を示した。CD62L の発現は血液細胞に限られていることから、CD62L は GVL 効果のみを誘導する理想的な mHa の可能性がある。

これまでのわれわれの研究により、GVL 効果を担当する T 細胞は末梢血よりも骨髄中に集積していることが示されている。実際に、GVHD または GVL 効果を起こしている患者の骨髄 T 細胞は一部の CD62L ペプチドによって活性化された。これらのペプチドは患者固有の HLA 分子に提示されることによって mHa として機能している可能

性がある。現在、このペプチド特異的な T 細胞が患者の白血病細胞に対して細胞傷害活性を示すか否かを検討中である。

E. 結論

CD62L は GVL 効果を惹起しうる mHa の可能性がある。

F. 健康危険情報 特記すべきことなし

G. 研究発表

1. 論文発表

Miura Y, Thoburn CJ, Bright EC, Chen W, Nakao S, Hess AD. Cytokine and chemokine profiles in autologous graft-versus-host disease (GVHD): interleukin 10 and interferon gamma may be critical mediators for the development of autologous GVHD. *Blood*, 100 (7): 2650-2658, 2002.

Terasaki Y, Okumura H, Ohtake S, Nakao S. Accelerated telomere length shortening in granulocytes. A diagnostic marker for myeloproliferative diseases. *Exp Hematol.*, 30 (12): 1399-1404, 2002.

Nakao S. Identification of novel minor histocompatibility antigens responsible for graft-versus-leukemia (GVL) effect on chronic myeloid leukemia: usefulness of determining the clonotype of T cells associated with GVL effect after donor leukocyte infusion. *Int J Hematol.*, 76 (Suppl 1): 274-276, 2002.

Takami A, Ishiyama K, Asakura H, Shiobara S, Nakao S. Chronic graft-versus-host disease following allogeneic peripheral blood and bone marrow stem

cell transplants: a single center experience. *Haematologica*, 87 (6): 664-666, 2002.

2.学会発表

Kotani T, Murata R, Nakao S:
Overexpression of IDN4-GGTR14, a cancer-testis antigen, in granulocytes of chronic myelogenous leukemia patients: a possible target of graft-versus-leukemia effect. The American Society of Hematology 44th Annual Meeting and Exposition. December 6-10, 2002. Philadelphia, Pennsylvania

H. 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
3. その他 なし

分担研究報告書

「造血幹細胞移植臨床試験検証システムの確立に関する研究」

～骨髄非破壊的前処置療法の有用性、ならびに急性GVHDの予防方法に関する検討～

分担研究者 大橋 靖雄 東京大学大学院 医学系研究科 健康科学看護学専攻
生物統計学/疫学・予防保健学教授

研究協力者 斎藤 明子

研究要旨

本研究では、従来の前処置療法と比較して、治療関連毒性が軽い骨髄非破壊的前処置療法を用いて50歳以上70歳未満の患者を対象としたミニ移植術を行い、高齢者における本治療法の有用性(安全性・有効性)を検討する。又、GVHD予防法に関して、本研究の前処置で広く用いられるシクロスポリン単剤による方法とシクロスポリンとメソトレキサート併用による方法の2群で比較・検討する。日本臨床研究支援ユニット 血液データセンター(J-CRSUデータセンター)では、本研究における一切のデータマネージメント業務を請負う。本研究の有用性が確認された場合、前処置で用いた薬剤(リン酸フルダラビン)の適応症申請も想定しており、新GCPを遵守した高い質管理に重点を置くと共に、移植の特殊性を考慮した業務上の標準化を目指す。

A. 研究目的

従来の前処置療法と比較して、治療関連毒性が軽い骨髄非破壊的前処置療法を用いて 50 歳以上 70 歳未満の患者を対象としたミニ移植術を行い、高齢者における本治療法の有用性(安全性・有効性)を検討する。又、GVHD 予防法に関して、本研究の前処置で広く用いられるシクロスポリン単剤による方法とシクロスポリンとメソトレキサート併用による方法の 2 群で比較・検討する。本研究においてミニ移植の有用性が確認された場合、前処置で用いた薬剤(リン酸フルダラビン)の輸入販売会社に対し、適応症申請を要請し、社会への還元を図る。

B. 研究方法

1. 対象；他治療では治癒や長期生存の確率が低く、同種造血幹細胞移植の適応であると考えられる状態であるにも関わらず高齢であるが故に適応外となる患者である。対象疾患は、急性骨髄性・リンパ性白血病(第一・第二寛解期)、慢性骨髄性白血病

(第一・第二慢性期)、あるいは骨髄異形成症候群(FAB分類のRA, RARSのうち、好中球 500/ μ l未滿又は輸血依存性の症例、未治療で1ヶ月以上安定しているRAEB, RAEB又はRAEB-tで化学療法を行い、以下の基準を満たす症例(骨髄中の芽球が5%未滿、末梢血中の芽球無、骨髄低形成でない、髓外病変無を4週間以上維持していること)であり、HLA完全一致の同胞ドナーを有し、50歳以上70歳未滿の症例を対象とする。

2. 方法；

試験の対象者(ドナー・レシピエント)に、試験への参加に関する文書による同意を得る。

造血幹細胞移植は、ドナーより造血幹細胞を採取する作業と、採取した造血幹細胞をレシピエントへ輸注する作業の2つよりなる為、登録も仮・本登録の2段階登録制を用いる。仮登録後、ドナーより末梢血幹細胞を採取する。ここで、採取細胞数が必要細胞数(レシピエントの体内で生着する為に必要とされている細胞数)に到達した場合に、本登録可能となる。尚、本登録は、GVHD予防に関

するシクロスポリン単独群とシクロスポリン・メソトレキサート併用群の 2 群にランダムに割り付ける。本登録後、移植後 100 日間を短期観察期間、移植後 1 年を長期観察期間として、有効性及び安全性評価を行う。

3. 症例数；各群 30 症例、合計 60 症例である。

4. 研究期間；平成 13 年 7 月より平成 15 年 12 月まで。

5. 収集するデータ

問診；生年月日、性別、既往歴、家族歴、治療歴、使用中の薬剤など

身体所見；全身状態、身長、体重、体温、血圧、脈拍、食事摂取量、自覚所見

原疾患の評価；血液検査、骨髄検査

臓器機能評価；肝臓・腎臓、心臓、呼吸器などの臓器機能評価、活動性感染症の鑑別、血液検査

治療関連臓器毒性(前処置に伴う毒性の評価)；Bearman の毒性 grading に従い、心臓、膀胱、腎臓、肺、肝臓、中枢神経、胃腸、口腔粘膜の毒性を評価する。

有効性の評価；生着(血液検査による造血回復の評価)、キメリズム解析(造血細胞がドナー由来か、レシピエント由来かを評価する)、免疫能の推移、血液検査・骨髄検査などによる原疾患の評価。

移植に伴う合併症評価；急性・慢性 GVHD、VOD、感染症などを評価する。

安全性の評価；試験を通じて生じたあらゆる有害事象を評価する。

6. 試験の質管理(J-CRSU データセンターで担当)；

プロトコール作成段階から第三者機関としてのプロトコール review

調査票・データベース作成

登録・割付業務

業務手順書作成、及び試験実施施設における業務手順書作成支援

信頼性調査；試験説明会開催、試験説明用ビデオ作成、新 GCP など臨床試験を中心とした啓蒙活動、品質管理(不審確認・問合せ、進捗管理、施設訪問モニタリングなど)、品質保証(施設訪問監査)

有害事象ハンドリング

解析計画書作成、統計解析、報告書作成

C. 試験進捗状況

1. 研究開始時期、登録状況；平成 13 年 11 月より登録開始。平成 15 年 1 月末現在、試験審査委員会承認施設 30 施設。本登録症例数は 18/60 例。試験中止/終了症例は、移植関連毒性による死亡(間質性肺炎)の 1 例のみである。

2. プロトコール、調査票、データベースの改定；プロトコールの改定は最小限にとどめるべきであるが、移植医療領域における特殊性を加味したシステムを構築するのは、我が国でははじめての試みでもあり、その観点から、適切な手順を踏んでプロトコール、調査票、データベースの改定を行った。具体的には、試験説明会での質疑応答で生じた問題点、プロトコール運営途中で発生した問題点に関して、メーリングリストなどで意見を収集し、改定の必要性が明らかになった場合には、総括責任医師及びプロトコール委員が改定の是非について協議した。この際、J-CRSU データセンターもプロトコール改定の妥当性に関し検討を加えた。議案の経緯と最終的な決定事項に関する報告書の作成を行い、参加施設へ配布すると共に、その議事録を J-CRSU データセンターに保管した。調査票及びデータベースに関しても同様である。又、試験参加施設へ、改訂プロトコール及び改訂理由も付記した改訂一覧を配布し、各施設での試験審査委員会へ報告対応状況なども管理している。現在、試験期間や目標症例数に関する見直しを念頭においた中間解析の必要性・妥当性を検討中である。

3. 信頼性調査業務

試験参加施設への進捗状況報告、啓蒙活動；平成 14 年度 2 月 8 日、6 月 28 日、平成 15 年 2 月 7 日に行われた高上班・原田班合同班会議において、進捗状況説明、問題点の討議、注意喚起、臨床研究に関する質管理を中心とした啓蒙活動などを行った。

試験説明用ホームページ作成；症例のリクルートの目的、試験の公開、透明性の確保を目的として平成 13 年 1 月に開設している。以後、定期的に更新中である。

中央モニタリング；進捗管理、データの正確性確認、検査会社、製薬企業などと研究契約締結の上で連絡網を作成し、有害事象管理などを行って

る。

調査票 review；未施行であるが、調査票が回収できた段階で、定期的開催し、問題点の抽出につとめる予定である。

施設訪問モニタリング；平成 15 年 1 月 27 日に登録第一症例目(国立がんセンター中央病院)の source document verification；SDV を含めた施設訪問モニタリングを行った。施設へ調査結果を報告するとともに、他の試験参加施設への啓蒙的な講演を平成 15 年 2 月 7 日の高上班・原田班合同班会議にて行った。今後も引き続き同様の活動を継続する予定である。

施設訪問監査；各施設登録第 1 症例目の観察が終了した時点で全例行い、その状況に応じて、2 例目以降の監査の必要性を決定する予定である。

4. 有害事象の取り扱い；

有害事象、中でも前処置関連毒性の評価の扱いは、造血幹細胞移植領域における市販後の臨床試験を考える上で重要な課題である。造血幹細胞移植療法の有害事象を考える上での最大の特徴は、治療薬として複数の薬剤が組み合わされて用いられること、これまで造血幹細胞移植前処置薬で保険承認薬がメルファラン以外に一剤もないことである。この異常な状況の中で、「査定されない」がために、長きに渡り、この点が重要視されることなく移植医療が行われてきた背景がある。本試験では、この状況を打破することを目的の一つに掲げている。

(1) 問題点；使用する薬剤の添付書類に記載されている副作用を既知、それ以外は未知の有害事象として扱い、既知の有害事象に関しては、重篤なもの、未知中等度以上の有害薬物反応を緊急・詳細報告の対象と扱うことがプロトコール上、規定されている。これに従った場合、移植医療では、緊急報告の対象となる有害事象が莫大になり、システムが膠着してしまう可能性がある。本来、緊急的に有害事象報告を行う目的は、対象症例のリスクを最低限にするよう、試験継続の是非を決定する根拠を捉えることである。試験開始後、データセンターで受ける緊急有害事象報告は非常に多い一方で、移植前処置による毒性として予測可能であり重症度も高くないことが明らかとなってきた。移植前処置関連毒性として構築された Bearman の

毒性評価と、今回有害事象報告の指標として用いることになっている NCI-CTC ver2.0 JCOG 日本語版の毒性 grade の設定にずれがあることも明らかとなった(付表 1)。

(2) 問題解決の為の課題；

a. 既知・未知の定義

単剤の場合は、用いる薬剤の添付書類に記載があれば既知、それ以外は未知として扱うことが可能である。抗がん剤に代表されるように複数の薬剤を組み合わせると一つの治療法として評価する場合、発生した有害事象が単剤の薬剤に起因するものであることを証明することは極めて困難である。現時点では、既知・未知の定義は単剤に倣い、又、どの添付文書にも記載されていない項目は未知扱いとしてデータを収集する地道な作業が必要であると判断し、データを蓄積中である。

b. 造血幹細胞移植における有害事象の特徴；1988 年、Bearman SI らにより、移植前処置による毒性評価の為のシステムが構築された。これは、白血病に対し骨髄移植が施行された 195 症例の retrospective な解析に基づいており、移植に特有の 8 つの臓器・症状などに着目し、0(正常)~4(致命的なもの)の 5 段階に分類したものである。解析対象全症例で少なくとも 1 つの臓器に grade I の毒性を認め、30 以上に grade III-IV の致命的な有害事象を認めている。又、day100 での生存は、全体で 66%(128/195)、maximum toxicity が grade I/II/III で 84.8%/74.2%/10.5%であることが示されている。更に、この Bearman の毒性規準における grade I は、NCI-CTC version 2.0 (JCOG 日本語版)においては、概ね grade 2 に相当することが示された(付表 1)。以上より、移植前処置関連毒性として、NCI-CTC version 2.0 (JCOG 日本語版)の grade 2 以上の未知有害事象が移植領域ではほぼ全例で生じる可能性と、これが試験継続に関わる決定的な問題にはならない可能性が示された。但し、造血幹細胞移植にはいくつかの薬剤の組み合わせもあり、本試験を含め、今後予定されている試験を併せ、有害事象に関するデータを集積し、参照可能なデータベースを作り、社会への還元を図ることが重要であると思われる。

D. 今後の課題・予定

1. 登録奨励；登録開始後 2 年以上経過した時点で登録症例が 18/60 例と少ない。既に国立がんセンターの医師らが中心となり、症例のリクルート活動(施設説明会、班会議や学会を利用した説明会、患者団体への説明会、ホームページ公開など)を開始している。

但し、試験参加施設の増加や、症例紹介元の施設や移植後経過観察の為に転院などによる医療情報の授受の問題などを含めた倫理的な問題や、質管理の問題が生じてくる。これらに対応できるシステムを構築する必要がある。

2. プロトコルの見直し；現在の症例登録のペースでは、試験終了まで最低あと 2 年は必要である。一方、本試験の立案段階から既に 4 年以上が経過し、国内外のミニ移植を取巻く安全性・有効性の情報量が大きく変化してきている。試験を完遂させるという側面だけでなく、医学的観点からも、試験期間や例数設計に関するプロトコルの見直しの必要性、妥当性を再検討する時期に来ている。J-CRSU データセンターは、こういった試験計画の変更に対応するシステム整備を整える必要がある。

3. 信頼性調査；調査票 review や施設訪問モニタリング、施設訪問監査を行う必要がある。治験のような全例のモニタリングの必要性や実行可能性に関しては検討が必要である。医薬品の適応拡大を目的とした医師主導治験の質管理に関しては、平成 15 年 7 月より告示、施行される「医師主導の治験の実施の基準」の動向を把握すると共に、J-CRSU データセンターとして、これまでの経験を活かし、積極的に法制定に働きかけを行う予定である。既に、平成 15 年 2 月に本基準案に対するパブリックコメントを提出している。

4. 有害事象取り扱いに関するデータベースの構築

E. 研究発表 なし

分担研究報告書

「造血幹細胞移植臨床試験検証システムの確立に関する研究」

～非ホジキンリンパ腫を対象としたリン酸フルダラビンとブスルファンによる
前処置の安全性・有効性の検討～

分担研究者 大橋 靖雄 東京大学大学院 医学系研究科 健康科学看護学専攻
生物統計学/疫学・予防保健学教授

研究協力者 齋藤 明子

研究要旨

本研究では、従来の前処置療法と比較して、治療関連毒性が軽い骨髄非破壊的前処置療法を用いて50歳以上70歳未満の非ホジキンリンパ腫患者を対象としたミニ移植術を行い、高齢者における本治療法の有用性(安全性・有効性)を検討する。日本臨床研究支援ユニット 血液データセンター(J-CRSUデータセンター)では、本研究における一切のデータマネジメント業務を請負う。本研究の有用性が確認された場合、前処置で用いた薬剤(リン酸フルダラビン)の適応症追加申請も想定しており、新GCPを遵守した高い質管理に重点を置くと共に、移植の特殊性を考慮した業務上の標準化を目指す。

A. 研究目的

従来の前処置療法と比較して、治療関連毒性が軽い骨髄非破壊的前処置療法を用いて 50 歳以上 70 歳未満の患者を対象としたミニ移植術を行い、高齢者における本治療法の有用性(安全性・有効性)を検討する。前処置薬剤としてはリン酸フルダラビンとブスルファンを使用し、GVHD 予防薬としてシクロスポリンを用いる。本研究においてミニ移植の有用性が確認された場合、前処置で用いた薬剤(リン酸フルダラビン)の輸入販売会社に対し、適応症追加申請を要請し、社会への還元を図る。

B. 研究方法

1. 対象；

他治療では治癒や長期生存の確率が低く、同種造血幹細胞移植が有望であると考えられる状態であるにも関わらず、通常と同種造血幹細胞移植が適応にならない患者である。若年者の場合、ミニ移植が通常の方法よりも優れている、または同等であるかは明

らかになっていないことから、本試験ではミニ移植以外の選択肢が存在しない高齢者を対象とした。対象疾患は、組織学的に以下のいずれかの診断が確定している症例であり、HLA 完全一致の同胞ドナーを有する 50 歳以上 70 歳未満の症例とする。以下疾患の分類は WHO の分類に従う。組織型の略語解説は省略する。病期に関する略語解説を以下に示す。CR=complete response, PR=partial response, SD=stable disease)1) Mature B-cell neoplasms ① Indolent lymphoma group (組織型；B-CLL, SLL, LPL/WM, SMZL, MALT, NMZBL, FL grade1/2, SBL 病期；初回治療で SD、又は salvage 療法に対する反応性が PR/SD。) ② Aggressive lymphoma group (組織型；MCL, FL grade3, DLBL, MLBL, IVL, PEL, BL 病期；DLBL は初回治療で PR、又は salvage 療法で PR、salvage 療法で CR となったが主治医が自家造血幹細胞移植の適応外と判断した症例。MCL は初回治療で CR/PR、又は salvage

療法に対する反応性が CR/PR。
DLBL/MCL 以外は、初回治療で PR、又は salvage 療法に対する反応性が CR/PR。) 2) Mature T cell and NK-cell neoplasms (組織型；T-PLL, PTCL unspecified, AILD, ALCL 病期；初回治療で PR、又は salvage 療法に対する反応が CR/PR)。

2. 方法；

試験の対象者(ドナー・レシピエント)に、試験への参加に関する文書による同意を得る。造血幹細胞移植は、ドナーより造血幹細胞を採取する作業と、採取した造血幹細胞をレシピエントへ輸注する作業の 2 step よりなる為、登録も仮・本登録の 2 段階登録制を用いる。仮登録後、ドナーより末梢血幹細胞を採取する。ここで、採取細胞数が必要細胞数(レシピエントの体内で生着する為に必要とされている細胞数)に到達した場合に、本登録可能となる。本登録後、移植後 100 日間を短期観察期間、移植後 1 年を長期観察期間として、有効性及び安全性評価を行う。

3. 症例数；

30 症例(評価可能例として 23 症例)である。

4. 研究期間；

平成 14 年 10 月より平成 16 年 12 月まで。

5. 収集するデータ

- (1) 問診；生年月日、性別、既往歴、家族歴、治療歴、使用中の薬剤など
- (2) 身体所見；全身状態、身長、体重、体温、血圧、脈拍、食事摂取量、自他覚所見
- (3) 原疾患の評価；血液検査、骨髄検査、各種画像評価(病期判定の評価)
- (4) 臓器機能評価；肝臓・腎臓、心臓、呼吸器などの臓器機能評価、活動性感染症の鑑別、血液検査
- (5) 治療関連臓器毒性(前処置に伴う毒性の評価)；Bearman の毒性 grading に従い、心臓、膀胱、腎臓、肺、肝臓、中枢神経、胃腸、口腔粘膜の毒性を評価する。
- (6) 有効性の評価；生着(血液検査による造血回復の評価)、キメリズム解析(造血細胞がドナー由来か、レシピエント由来かを評価する)、免疫能の推移、血液検査・骨髄検査、原疾患に対するミニ移植

の抗腫瘍効果判定に必要な病期評価を目的とした各種画像診断など

- (7) 移植に伴う合併症評価；急性・慢性 GVHD、VOD、感染症などを評価する。
 - (8) 安全性の評価；試験を通じて生じたあらゆる有害事象を評価する。
- ## 6. 試験の質管理(J-CRSU データセンターで担当)；
- (1) プロトコル作成段階から第三者機関としてのプロトコル review
 - (2) 調査票・データベースの作成
 - (3) 各種手順書作成、援助(放射線中央診断、病理中央診断などのシステム整備)
 - (4) 登録業務
 - (5) 信頼性調査；班会議等での試験説明、医薬品の申請を目的とした新 GCP 準拠の医師主導治験を中心とした啓蒙講演など、品質管理業務(正確性チェック、不審確認・問合せ、進捗管理など中央モニタリング業務、及び施設訪問モニタリングなど(SDV=source document verification も含む))、及び品質保証業務(施設訪問監査)
 - (6) 有害事象ハンドリング
 - (7) 解析計画書作成、統計解析、報告書作成

C. 試験進捗状況

1. 研究開始時期/登録状況；

平成14年11月より登録開始。平成15年1月末現在、試験審査委員会承認施設8施設。本登録/目標症例数は0/30例。

2. 中央診断システムの整備、手順書作成；

2a. 病理中央診断；本試験における病理組織学的適格性の判定を科学的に行うことを目的として、病理中央診断システムを導入することとした。まず、病理パネルとして、悪性リンパ腫の病理診断を専門とする 3 名の病理専門医を選定した。提出すべき標本の定義、提出方法、提出時期、搬送手順などを整備した。その際、被験者の機密保護に関する事項も考慮した。病理中央診断は、客観的な評価を行うために、3 名の病理パネルが独立して診断し、最後に病理中央診断会議を開催して、コンセンサスを得るこ

ととした。尚、病理中央診断結果は、最終的に試験実施施設へ報告し、試験実施施設全体の質向上をはかることとした。

2b. 放射線中央診断；ミニ移植による抗腫瘍評価を適正に行うことを目的として、放射線中央診断システムを導入することとした。放射線パネルとして、悪性リンパ腫の画像診断を専門とする3名の放射線専門医を選定した。提出すべき画像の定義、画像上の効果判定に用いた病変のマーキングの方法、提出時期、搬送手順などを整備した。その際、被験者の機密保護に関する事項も考慮した。放射線中央診断会議では、まず3名の放射線パネルにより病変部位の選択を行った後に評価病変の計測を行うことにより画像コンセンサスを得、その後、骨髄評価などを含めた最終的な効果判定コンセンサスを得ることとした。尚、放射線中央診断結果も、最終的に試験実施施設へ報告し、試験実施施設全体の質向上をはかることとした。

尚、病理中央診断、放射線中央診断のために提出された試料の保管に関する事項も規定した。両者の手順書の作成も行った。

3. プロトコール、調査票、データベースの作成；

試験実施予定施設への各種試験関連資料配布後に、病理/放射線中央診断の手順を定めたため、整合性をはかるために若干のプロトコール改訂が必要になった。この際、J-CRSU データセンターもプロトコール改訂の妥当性に関し検討を加えた。議案の経緯と最終的な決定事項に関する報告書の作成を行い、参加施設へ配布すると共に、その議事録を J-CRSU データセンターに保管すると共に、試験参加施設へ改訂プロトコール及び改訂内容及び改訂理由を記載した改訂一覧を作成・配布すると共に、各試験実施施設における対応状況の把握も行っている。

4. 信頼性調査業務；

(1) 試験参加施設への進捗状況報告、啓蒙活動；平成14年度2月8日、6月28日、平成15年2月7日に行われた高上班・原田班合同班会議において、試験

の進行状況説明、及び各種問題点の討議、注意喚起、医師主導治験に関する啓蒙講演などを行った。その後も本試験のために開設されたミニ移植関連のメーリングリスト (minitransplant@umin.ac.jp) を通じて問題点に関する議論や各種業務連絡を行っている。

- (2) 試験説明用ホームページ作成；症例のリクルート目的、及び試験の公開、透明性の確保を目的として、平成13年1月にホームページを開設した。以後、現在も定期的に更新中である。
- (3) 中央モニタリング；進捗管理、データの正確性確認、不審確認・問合せ、検査会社、製薬企業などと契約締結した上で、連絡網を整備し、有害事象管理などを行っている。
- (4) 調査票 review；未施行であるが、調査票が回収できた段階で、定期的に開催し、問題点の抽出につとめる予定である。
- (5) 施設訪問モニタリング；調査票が回収された段階で、SDVを含めたモニタリング業務を行う予定である。全例調査とするか、抜き取りとするかは、今後の「医師主導の治験の実施の基準」省令制定の動向による。
- (6) 施設訪問監査；各施設登録第1症例目の観察が終了した時点で全例行い、その状況に応じて、2例目以降の監査の必要性を決定する予定である。これも今後の「医師主導の治験の実施の基準」省令制定の動向による。

5. 有害事象の取り扱い；

有害事象、中でも前処置関連毒性の評価の取り扱いは、造血幹細胞移植領域における市販後の臨床試験を考える上で重要な課題である。造血幹細胞移植療法の有害事象を考える上での最大の特徴は、治療薬として複数の薬剤が組み合わさって用いられること、これまで造血幹細胞移植前処置薬で保険承認薬がメルファラン以外に一剤もないことである。この異常な状況の中で、「査定されない」がために、長きに渡り、この

点が重要視されることなく移植医療が行われてきた背景がある。

我々は、既に高上班班研究の一つである、骨髄非破壊的前処置療法を用いた同種造血幹細胞移植に関する研究～骨髄非破壊的前処置療法の有用性、ならびに急性 GVHD の予防方法に関する検討～において、多剤併用療法あるいは集学的治療法における既知・未知の定義や、中等度の定義に関する様々な問題点を明らかにしてきている(詳細は、平成 14 年度の当該報告書を参照のこと)。本試験では、この状況を打破すること、及び造血幹細胞移植領域における利用可能な有害事象データベースの構築も目的の一つに掲げている。

D. 今後の課題・予定

1. 登録奨励；

登録開始後3ヶ月が経過した段階で登録症例が0/30例という状況である。この間に中央診断システムを整備するため、登録を一時停止したといういきさつがあるものの、本試験を適切に行うためにも、今後は積極的な症例登録が必要不可欠である。既に国立がんセンターの医師らが中心となり、症例のリクルート活動(施設説明会、班会議や学会を利用した説明会、患者団体への説明会、ホームページ公開など)を開始している。J-CRSUとしては、症例リクルート活動に協力すると共に、節度ある活動という観点から今後も継続して監視していく。

また、試験参加施設の増加や、症例紹介元の施設や移植後経過観察の為に転院などによる医療情報の授受の問題などを含めた倫理的問題や、質管理の問題が生じてくる。これらに対応できるシステムを今後も継続して構築する努力が必要である。

2. 信頼性調査；

調査票reviewや施設訪問モニタリング、施設訪問監査を行う必要がある。今後医師主導治験においても、治験と同様の全例モニタリングの必要性があるかどうか、また、その場合の実行可能性に関しては検討が必要である。現在、「医師主導の治験の実施の基準(案)」に対するパブリックコメントを提出中である。

今後も、法規制の動向把握に努めるとともに、J-CRSUデータセンターのこれまでの経験を活かし、法制定に対する積極的な働きかけを行っていく予定である。

3. 有害事象取り扱い；

システム及びデータベースの構築

E. 研究発表 なし

分担研究報告書

「骨髄非破壊的移植後の免疫機能回復と抗腫瘍効果に関する年齢因子の解析」

～同種造血幹細胞移植後の免疫機能回復 —移植片・年齢の影響— ～

分担研究者 河野 嘉文 鹿児島大学医学部 小児科教授

研究要旨

骨髄非破壊的前処置法を用いた同種造血幹細胞移植術は、高齢者などにおいて軽度の臓器障害のために通常の移植が適応できない場合と、免疫療法として固形腫瘍患者に同種造血細胞移植術を実施する場合とが想定される。免疫療法として実施される同種造血細胞移植術は主に固形腫瘍患者が対象であり、移植後の免疫機能回復が抗腫瘍効果発現のために重要な要素となる。移植後の免疫機能回復は移植片の種類やドナー・患者の年齢に大きく左右される。本研究では、骨髄非破壊的前処置法による同種造血細胞移植術で採用されることが多い同種末梢血幹細胞移植術と骨髄移植術における移植後免疫機能回復を比較検討した。

A. 研究目的

健康人ドナーに G-CSF を投与して動員された末梢血幹細胞(PBSC)をアフレーションで採取し、移植術に用いる同種末梢血幹細胞移植術(PBSCT)は、その移植片に CD3 陽性細胞が骨髄移植(BMT)の 10 倍量含まれるという理由で、移植後の免疫機能回復はより迅速であろうと予測されてきた。しかし、造血機能回復速度については PBSCT が BMT や臍帯血移植より迅速なことが証明されているが、免疫機能回復についての報告はまだ少ない。PBSCT 後の免疫機能回復を評価することは、移植細胞源を骨髄、末梢血、臍帯血のいずれに求めるかの判断基準として重要である。特に固形腫瘍に対する免疫療法としての造血細胞移植術においては、移植後免疫機能の迅速な回復は必須事項であると考えられる。本研究では、小児患者における PBSCT 後の造血免疫機能回復過程を BMT 後のそれと比較検討した。

B. 研究方法

当該分担研究者が所属していた徳島大学医学部小児科、国立病院九州がんセンター

小児科、および鹿児島大学医学部小児科で移植を施行した症例を対象とした。HLA 一致同胞ドナーから PBSCT を受けた小児患者 16 名、同じく HLA 一致同胞ドナーから BMT を受けた 24 名について、移植後のリンパ球数、リンパ球サブセット(CD3, CD4, CD8, CD20, CD56)の変動を経時的に比較検討した。対象患者の背景は表 1 に示した。患児の年齢中央値は BMT 群 6 (0.7-14)歳、PBSCT 群 9 (1-13) 歳であった。疾患は ALL が多いが、移植後免疫機能回復を正確に評価するため、いずれも完全寛解期で移植した症例である。両群ともに HLA 一致同胞からの移植であり、移植に関係する他のリスクファクターは認められない患児であった。

移植前処置は BMT 群が 15 例で TBI を組み入れているのに対し、PBSCT 群では 1 例のみであった。GVHD 予防は PBSCT 群は主に Cyclosporin A (CSA) + methylprednisolone (12/16) で、BMT 群は CSA もしくは MTX 単独で実施した。

腎癌で骨転移を有した 70 歳男性で、フルダラビン、抗ヒトリンパ球グロブリンを用いた骨髄非破壊的前処置法で、HLA 一致同胞から同種末梢血幹細胞移植術を施行し

た症例も参考データとして解析した。

C. 研究結果

移植された細胞数は、PBSCT 群は単核球として $5.5 (2.7-16.0) \times 10^8/\text{kg}$, BMT 群は骨髓有核細胞数として $4.1 (1.3-5.8) \times 10^8/\text{kg}$ であり、有意に PBSCT 群が多かった ($P < 0.005$)。全例で移植片の生着が確認された。移植後 1 ヶ月以内の有熱期間についての検討では、BMT 群の 92% (22/24) に発熱が認められ、有熱期間の中央値は 7 日間であったのに対し、PBSCT 群では 39% (7/16) に中央値 3 日間の発熱が観察された。造血機能回復速度を好中球数 $500/\mu\text{l}$ および血小板数 5 万/ μl に達するのに要した日数で比較すると、両者ともに PBSCT 群が有意に速かった。末梢血中リンパ球数は健常児と同レベルに回復するのに両群ともに約 8 ヶ月を要し、有意差は認められなかった (図 1)。また、リンパ球サブセットの変化も両群間に有意差は認めなかった。末梢血中の CD3 および CD4 陽性細胞は健常児レベルに回復するのに 1 年を要し、CD8 および CD56 陽性細胞は移植後 3 ヶ月で健常児レベルに回復した。これらの変動を 0-5 歳、5-10 歳、10-15 歳に分けて検討したが、差は認められなかった。

急性 GVHD の発症頻度は PBSCT 群 50% (8/16), BMT 群 70% (16/23) と同等であったが、慢性 GVHD 発症率は PBSCT 群 47% (7/15) が BMT 群 10% (2/20) に比較し有意に高かった ($p = 0.005$)。

70 歳の転移性腎癌の男性は、 $1.8 \times 10^6/\text{kg}$ の CD34 陽性細胞を移植され、day7 に白血球数が $100/\mu\text{l}$ になったが、day16 に好中球数が $500/\mu\text{l}$ に達した。移植後のリンパ球数の回復過程は図 2 に示したが、2 ヶ月後から末梢リンパ球数が増加し始め、3 ヶ月すぎに移植前値に達した。免疫抑制剤は移植後 1 ヶ月の時点で減量開始し、2 ヶ

月の時点で中止されたが、以後も GVHD は観察されなかった。

D. 考察

PBSCT 後の造血機能回復は、BMT 後に比較して迅速であること、移植片に含まれるリンパ球数が BMT 時の 10 倍以上であるにも関わらず、急性 GVHD の発症頻度は BMT と同等であることが最近の成人例を対象とした臨床研究で証明された。慢性 GVHD については個々の施設で BMT 施行患者より高頻度に発症することが確認されているが、前方視的な臨床研究での証明には至っていない。同様に、PBSCT 後の長期的な免疫機能回復については未だ証明されていない。

本研究で示されたように、移植後末梢血リンパ球数の変動は両群間で差がないにもかかわらず、慢性 GVHD は PBSCT 群に明らかに多いことから、移植後のリンパ球数の推移やリンパ球サブセットの変動と、急性・慢性 GVHD の発症率とは相関しないことが判明した。PBSCT 後の造血機能回復は有意に迅速であるものの、免疫機能回復は両群に差がなかった。ただし、PBSCT 後の症例では慢性 GVHD の治療 (免疫抑制剤投与) を継続している症例が多いため、免疫機能回復を薬剤で遷延させている可能性も大きいと考えられた。

一方、自験例である 70 歳の同種移植術症例では 3 ヶ月で末梢血リンパ球数が移植前値に戻っており、骨髓非破壊的前処置による前処置の方が回復が早い可能性が示唆された。

これらの知見より、免疫療法として固形腫瘍を対象に同種造血細胞移植術を行う場合には、いずれの年齢であっても骨髓非破壊的前処置で同種末梢血幹細胞移植術を実施した方が、慢性 GVHD による抗腫瘍効果の発現を期待できるのではないかと考え

られた。ただし、骨髄移植術が末梢血幹細胞移植術に比較して免疫機能回復が遅いわけではなく、ドナーの希望によっては骨髄移植が選択されることも問題はないと思われた。

E. 結論

移植片として骨髄および末梢血のいずれであっても、移植後の免疫機能回復に差は認められない。免疫療法として骨髄非破壊的前処置を用いた造血幹細胞移植術を実施する場合には、慢性 GVHD の頻度が高い末梢血幹細胞移植術が効果が高いのではないかと予測される。

F. 健康危険情報 特記すべきことなし

G. 研究発表

1. 論文発表

Watanabe T, Takaue Y, Kawano Y, Koike K, Kikuta A, Imaizumi M, Watanabe A, Eguchi H, Ohta S, Horikoshi Y, Iwai A, Makimoto A, Kuroda Y and the PBSCT study group of JAPAN. HLA-identical sibling peripheral blood stem cell transplantation in children and adolescents. *Biol Blood Marrow Transplant*, 8: 26-31, 2002.

Nagatoshi Y, Kawano Y, Watanabe T, Abe T, Okamoto Y, Kuroda Y, Takaue Y, Okamura J. Hematopoietic and immune recovery after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation and bone marrow transplantation in a pediatric population. *Pediatr Transplant*, 6: 319-326, 2002.

2. 学会発表

Yuki Koga, Yoshihisa Nagatoshi, Yoshifumi Kawano, Jun Okamura: Methotrexate and cyclosporin A for graft versus host disease prophylaxis in pediatric patients: a single center analysis in Japan. The 29th World Congress of the International Society allogeneic stem cell transplantation by quantitative PCR using short tandem repeat polymorphisms and fluorescence detection. The 29th World Congress of the International Society of Hematology, Seoul, Korea, August 24-28, 2002.

H. 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
3. その他 なし