

Ⅲ. 分担研究報告書

Ⅲ. テーマー I

細胞治療とその適正運用

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）

総括研究報告書

「骨髄等を利用した効率的な造血幹細胞移植の運用・登録と臨床試験
体制の確立に関する研究」班

分担研究課題：非血縁者間造血細胞移植と骨髄バンクの効率的運用に関する研究

分担研究者：小寺良尚

研究要旨：日本造血細胞移植学会との共同事業により、同種末梢血幹細胞ドナー2,784名の安全性を検討し、比較的軽篤な短期有害事象率1.7%、中長期有害事象率0.2%であることを示した。同事業より得た採取後30日報告を解析し、同種末梢血幹細胞提供に際してのリスク因子を示した。骨髄、末梢血ドナー双方の安全性に関する日欧共通調査を実施し中間解析を行った。

研究目的：非血縁者間造血細胞移植とそれを支える骨髄バンクの効率的運用に必要な技術開発の一つとして非血縁者間への末梢血幹細胞移植導入を目指し、末梢血幹細胞血縁ドナーの安全性（危険性）に関する情報の確立と、それらを予測する諸因子を明らかにするとともに骨髄、末梢血双方のドナーの安全性（危険性）に関する比較を海外施設とも協力しつつ行う。

研究方法：

1. 同種末梢血幹細胞血縁ドナーの短期、中、長期の安全性に関わる情報を日本造血細胞移植学会による全国集計データを基にラージスケールで後方視的に検討し、短期、中長期有害事象の発生頻度並びにその種類につき解析した。
2. 採取後30日報告に記載された有害事象とドナーの背景（年齢、性、体重、等）との相関を調べることにより有害事象発生予測因子を明らかにする。
3. 骨髄採取と末梢血幹細胞採取の安全性

（危険性）を比較検証する作業の一環として、日本造血細胞移植学会並びに European Blood and Marrow Transplantation Registry (EBMTR) 参加それぞれ約300施設、計600施設に対し、幹細胞採取後30日以内の死亡事例並びに採取後現在に至るまでの造血器系悪性腫瘍発生事例につき日欧共同調査を行う。

研究結果：

1. 2000年4月から2004年3月まで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補足率約100%をもって登録された血縁ドナー2,784名の内、末梢血幹細胞動員、採取に伴う重篤な有害事象としてセンターに緊急報告されたものは47件であり、重篤な短期有害事象率1.7%と計算された。採取後1年毎に5年間行われるドナーの健康診断はこの学会の事業に参加することを同意したドナーを対象に行われており、2000年度採取ドナー3回、2001年度ドナー2回、2002年度ドナー1回、計

1,746 例の健康診断結果が得られた。この内血液系悪性腫瘍 1 例、乳がん 1 例が採取後新たに発生した悪性腫瘍例であり、末梢血幹細胞採取、動員との関連性が否定できない有害事象率は 0.7%であった(図表—1~13)。

2. 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集約された採取後 30 日報告を解析した結果、有害事象の内、血小板減少、入院期間の延長、骨痛、倦怠感、不眠、食欲不振を予測し得る因子が示された(図表—14~19)。

3. 同種造血幹細胞採取(骨髄、末梢血)ドナーに関する日欧共同調査は 2003 年 10 月に開始され、2003 年 12 月現在回答施設は、ヨーロッパ側で 160 施設(回答率:47%)、日本側では 188 施設(回答率:50%)である。ヨーロッパ側では採取後 30 日以内の死亡事例 2 例(いずれも末梢血)のほか 18 例の短期重篤有害事象事例(骨髄:10 例、末梢血 8 例)が報告された。血液学的悪性腫瘍の発症は 18 例報告され、9 例が骨髄、9 例が末梢血採取事例であった。日本側では骨髄、末梢血とも死亡事例の報告は今のところ無く(但し、骨髄において 1 例の死亡事例があることは既に報告されている)、血液学的悪性腫瘍の発症は骨髄採取例 2 例、末梢血採取例 1 例であった(図表—20~23)。

考察:

1. 短期有害事象で頻度の高いものは血小板減少、肝機能異常、発熱等であったが、頻度は低いもののより重篤と考えられる間質性肺炎、くも膜下出血、胆のう炎の増悪等が散見され、これらの予測因子を明らかにすることが必要と思われる。

2. 骨髄、末梢血双方の採取法で、いずれも一定度の短期重篤有害事象並びに血液学的悪性腫瘍の発症例があり、安全性(危険性)という点で両者に差は無いものと思われた。只、本課題に関しては未だ調査途上であり最終集計を待って結論を出したいと考える。

結論:

同種末梢血幹細胞ドナーの安全性(危険性)に関する情報、リスク予測因子、骨髄との比較に関わる情報が蓄積された。

健康危険情報:

日本造血細胞移植学会との共同事業として行なわれている同種末梢血幹細胞ドナーフォローアップ事業の中で、血縁者末梢血幹細胞ドナーにおける比較的軽篤な短期有害事象率は 1.7%、中長期有害事象率は 0.2%であった。これら情報は逐一同学会のホームページ上に開示される(一般からもアクセス可能)。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Suzuki R., Murata M., Kami M., Ohtake S., Asou N., Kodera Y., Tomonoaga M., Masaki Y., Kusumoto S., Takeuchi J., Matsuda S., Hirai H., Yorimitsu S., Hamajima N., Seto M., Shimoyama M., Ohno R., Morishima Y., Nakamura S. :Prognostic Significance of CD7⁺CD56⁺Phenotype and Chromosome 5 Abnormalities for Acute Myeloid Leukemia M0. International Journal of Hematology. 77: 482-489,2003.
2. Fukuno K., Tsurumi H., Yamada T., Oyama

- M., Matsuyama T., Terakura S., Kodera Y., Moriwaki H. :Case reports: Lymphoid blast crisis of chronic myelogenous leukemia occurring more than 11 years after receiving an allogeneic bone marrow transplant for chronic myelogenous leukemia in myeloid blast crisis at onset. *Bone Marrow Transplantation*. 31: 211-213,2003.
3. Kanda Y., Chiba S., Hirai H., Sakamaki H., Iseki T., Kodera Y., Karasuno T., Okamoto S., Hirabayashi N., Iwato K., Maruta A., Fujimori Y., Fukukawa T., Mineishi S., Matsuo K., Hamajima N., Imamura M. :Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation from family members other than HLA-identical siblings over the last decade (1991-2000). *BLOOD*. 102(4):1541-1547,2003.
 4. Akatsuka Y., Nishida T., Kondo E., Miyazaki M., Taji H., Iida H., Tsujimura K., Yazaki M., Naoe T., Morishima Y., Kodera Y., Kuzushima K., Takahashi T. :Identification of a Polymorphic Gene, BCL2A1, Encoding Two Novel Hematopoietic Lineage-specific Minor Histocompatibility Antigens. *The Rockefeller University Press*. 197(11):1489-1500,2003.
 5. 小寺良尚:必携 造血細胞移植 —わが国のエビデンスを中心に— 医学書院 編集:小寺良尚、加藤俊一 2003.
 6. Iida H., Sao H., Kitaori K., Gotoh S., Yazaki M., Kojima S., Wakita A., Morishima Y., Kodera Y., Morishita Y. :Twenty Years' Experience in Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Philadelphia Chromosome-Positive Acute Lymphoblastic Leukemia in the Nagoya Blood and Marrow Transplantation Group. *International Journal of HEMATOLOGY*. 79:79-84,2004.
 7. Izutsu K., Kanda Y., Ohno H., Sao H., Ogawa H., Miyazaki Y., Kawa K., Kodera Y., Kato S., Morishima Y., Hirai H. :Unrelated bone marrow transplantation for non-Hodgkin lymphoma: a study from the Japan Marrow Donor Program. *BLOOD*. 103(5): 1955-1960,2004.
 8. Ozeki K., Kiyoi H., Hirose Y., Iwai M., Ninomiya M., Kodera Y., Miyawaki S., Kuriyama K., Shimazaki C., Akiyama H., Nishimura M., Motoji T., Shinagawa K., Takeshita A., Ueda R., Ohno R., Emi N., Naoe T. :Biologic and clinical significance of the FLT3 transcript level in acute myeloid leukemia. *BLOOD*. 103(5): 1901-1908,2004.
 9. Nishida T., Akatsuka Y., Morishima Y., Hamajima N., Tsujimura K., Kuzushima K., Kodera Y., Takahashi T. :Clinical relevance of a newly identified HLA-A24-restricted minor histocompatibility antigen epitope derived from BCL2A1,ACC-1 in patients receiving HLA genotypically matched unrelated bone marrow transplant. *British Journal of Haematology*. 124:629-635,2004.
 10. Kondo E., Akatsuka Y., Kuzushima K., Tsujimura K., Asakura S., Tajima K., Kagami Y., Kodera Y., Tanimoto M., Morishima Y., Takahashi T. :Identification of novel CTL epitopes of CMV-pp65 presented by a variety of HLA alleles. *BLOOD*. 103(2):630-638,2004.

2・学会発表

1. 小寺良尚 :造血幹細胞移植の多様性 第 26 回日本医学会総会 福岡 2003.4.
2. 蟹江匡治、矢部普正、松山孝治、高橋浩之、小林良二、直江知樹、小寺良尚 :同種骨髄移植における antithymocyte globulin の GVHD 予防効果と成績 (追跡調査の報告) 第 65 回日本血液学会総会・第 45 回日本臨床血液学会総会 大阪 2003.8.
3. 鬼塚真仁、稲本賢弘、杉本恭子、大庭 拓、寺倉精太郎、笠井雅信、北折健次郎、大林由明、小寺良尚 :移植後突発性間質性肺炎と ACE 遺伝子多形成の関連 第 65 回日本血液学会総会・第 45 回日本臨床血液学会総会 大阪 2003.8.
4. 伊藤仁也、森尾友宏、清水則夫、小寺良尚、関根暉彬 :移植後再発急性白血病に対する活性化ドナー CD4 輸注療法の治療成績 第 65 回日本血液学会総会・第 45 回日本臨床血液学会総会 大阪 2003.8.
5. 西田徹也、村山 徹、平井久丸、岡本真一郎、佐尾 浩、原 雅道、金森平和、小寺良尚 :HLA-A, B, DRB 1 遺伝子学的不適合非血縁者間骨髄移植に対する FK506 を用いた GVHD 予防法の臨床第 II 相試験 第 65 回日本血液学会総会・第 45 回日本臨床血液学会総会 大阪 2003.8.
6. 柳田正光、山本一仁、恵美宣彦、直江知樹、鈴木律朗、北折健次郎、森島泰雄、小寺良尚、佐尾 浩、森下剛久 (名古屋 BMT グループ) :同種造血幹細胞移植におけるガンシクロビルによる CMV 先行治療と予後、名古屋 BMT グループ 241 例の解析 第 65 回日本血液学会総会・第 45 回日本臨床血液学会総会 大阪 2003.8.
7. 伊豆津宏二、神田善伸、大野仁嗣、佐尾浩、小川啓恭、宮崎泰司、河 敬世、小寺良尚、加藤俊一、森島泰雄、平井久丸 (日本骨髄バンク NHL ワーキンググループ) :非ホジキンリンパ腫に対する日本骨髄バンク (JMDP) を介した非血縁者間同種骨髄移植の成績解析 第 65 回日本血液学会総会・第 45 回日本臨床血液学会総会 大阪 2003.8.
8. 杉本恭子、鍛塚八千代、辻村朱音、稲本賢弘、大庭 拓、寺倉精太郎、笠井雅信、北折健次郎、加藤剛二、松山孝治、小寺良尚 :当院における同種造血幹細胞移植後の再発白血病、難治ウイルス感染症に対する細胞治療の実態 第 65 回日本血液学会総会・第 45 回日本臨床血液学会総会 大阪 2003.8.
9. 大庭 拓、鍛塚八千代、辻村朱音、稲本賢弘、杉本恭子、寺倉精太郎、笠井雅信、北折健次郎、小寺良尚 :当院における同種末梢血幹細胞移植と同種骨髄移植の後方視的検討 第 65 回日本血液学会総会・第 45 回日本臨床血液学会総会 大阪 2003.8.
10. 稲本賢弘、原 朋子、鬼塚真仁、三田貴臣、寺倉精太郎、白方俊章、鍛塚八千代、辻村朱音、杉本恭子、大庭 拓、笠井雅信、北折健次郎、小寺良尚 :当院における成人臍帯血移植 7 例の検討会 第 65 回日本血液学会総会・第 45 回日本臨床血液学会総会 大阪 2003.8.
11. 辻村朱音、鍛塚八千代、稲本賢弘、杉本恭子、大庭 拓、寺倉精太郎、笠井雅信、

- 北折健次郎、清井 仁、小寺良尚 : mitoxantrone 中心の化学療法により 3 年無病生存をみとめる t (11 : 17) 陽性急性前骨髄性白血病の一例 第 65 回日本血液学会総会・第 45 回日本臨床血液学会総会 大阪 2003.8.
12. Morishima Y., Yabe T., Inoko H., Saji H., Juji T., Yamamoto K., Sasazuki T., Kodera Y., for the Japan Marrow Donor Program (JMDP) :Clinical Significance of Killer Ig-Like Receptor (KIR) on Acute GVHD, Rejection and Leukemia Relapse in Patients Transplanted Non-T Cell Depleted Marrow from Unrelated Donor; Roles of Inhibitory KIR Epitope Matching and Activating KIR Genotype. 45th Annual Meeting of the AMERICAN SOCIETY OF HEMATOLOGY, San Diego, 2003.12.
13. Ichinohe T., Uchiyama T., Shimazaki C., Tamaki S., Watanabe A., Hamaguchi M., Hino M., Adachi S., Endoh M., Uoshima N., Yoshihara T., Hatanaka K., Fujii H., Kawa K., Gondo H., Kawanishi K., Maruya E., Saji H., Kodera Y. :Outcome of Non-T-Cell-Depleted Hematopoietic Stem Cell Transplantation between HLA-Haploidentical Non-Inherited Maternal Antigen(NIMA)-Mismatched Family Members Linked with Long-Term Feto-Maternal Microchimerism. 45th Annual Meeting of the AMERICAN SOCIETY OF HEMATOLOGY, San Diego, 2003.12.
14. Izutsu K., Kanda Y., Ohno H., Sao H., Ogawa H., Miyazaki Y., Kawa K., Kodera Y., Kato S., Morisima Y., Hirai H. :Development of Grade II to IV Acute GVHD Is Associated with Lower Incidence of Disease Progression After Unrelated Bone Marrow Transplantation for Non-Hodgkin's Lymphoma. A Study from the Japan Marrow Donor Program (JMDP). 45th Annual Meeting of the AMERICAN SOCIETY OF HEMATOLOGY, San Diego, 2003.12.
15. Onizuka M., Oba T., Terakura S., Kasai M., Suzuki R., Atsuta Y., Kitaori K., Kodera Y., Hotta T. :Increased D Allele Frequency of the Angiotensin-Converting Enzyme Gene Is Associated with Idiopathic Pneumonia Syndrome after Hematopoietic Stem Cell Transplantation. 45th Annual Meeting of the AMERICAN SOCIETY OF HEMATOLOGY, San Diego, 2003.12
16. Inamoto Y., Nisida T., Suzuki R., Miyamura K., Sao H., Iida H., Morishita Y., Kohno A., Naoe T., Maruyama F., Hamaguchi M., Iseki T., Kodera Y. :Addition of High-Dose Cytarabine to Cyclophosphamide + Total Body Irradiation Regimen for Hematopoietic Stem Cell Transplantation Dose Not Improve the Outcome: Analysis of 219 Patients in Japan. 45th Annual Meeting of the AMERICAN SOCIETY OF HEMATOLOGY, San Diego, 2003.12.
17. Onizuka M., Oba T., Terakura S., Kasai M., Kitaori K., Kodera Y., Hotta T. :Predicting Transplant-Related Mortality from IL-10, IL-6, TNF- α , IFN- γ and C-Reactive Protein Levels after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. 45th Annual Meeting of the AMERICAN SOCIETY OF HEMATOLOGY, San Diego,

- 2003.12.
18. 小寺良尚 :特別企画 「ドナーの安全確保のために」: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事業の現況 第26回日本造血細胞移植学会総会 横浜 2003.12.
19. 小寺良尚 :ランチョンセミナー:How I prevent and treat GVHD 第26回日本造血細胞移植学会総会 横浜 2003.12.
20. 大庭 拓、鍛塚八千代、辻村朱音、稲本賢弘、笠井雅信、北折健次郎、宮村耕一、小寺良尚 :当院における reduced-intensity regimen としての前処置 fludarabine + melphalan の検討 第26回日本造血細胞移植学会総会 横浜 2003.12.
21. 赤塚美樹、西田徹也、笹月健彦、猪子英俊、石川善英、十字猛夫、佐治博夫、小寺良尚、高橋利忠 :HLA-A24 拘束性・血液系細胞特異的マイナー抗原 ACC-1 を用いた用紙免疫療法に向けての基礎的検討 第26回日本造血細胞移植学会総会 横浜 2003.12.
22. 熱田由子、谷本哲也、河野嘉文、上 昌宏、日野雅之、丸田老郎、宮腰重三郎、峯石 真、谷口修一、森 真一郎、原田実根、小寺良尚 :健常人ドナーにおける末梢血幹細胞の再動員 第26回日本造血細胞移植学会総会 横浜 2003.12.
23. 鍛塚八千代、辻村朱音、稲本賢弘、大庭拓、寺倉精太郎、笠井雅信、北折健次郎、宮村耕一、小寺良尚 :当院における非血縁者間骨髄移植(HLA class 1DNA 抗原タイプニング実施以降) 101例の後方視的検討 第26回日本造血細胞移植学会総会 横浜 2003.12.
24. 稲本賢弘、鍛塚八千代、辻村朱音、徳永正浩、大庭 拓、笠井雅信、北折健次郎、宮村耕一、市田静憲、小寺良尚 :透析併用下に低線量放射線レジメンで同種末梢血幹細胞移植を施行し得た多発性骨髄腫の一例 第26回日本造血細胞移植学会総会 横浜 2003.12.
25. 小寺良尚 :造血幹細胞移植の現状と将来 第192回日本内科学会東海地方会・第32回生涯教育講演会 名古屋 2004.3.
- H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)
1. 特許取得
なし
 2. 実用新案登録
なし
 3. その他
なし

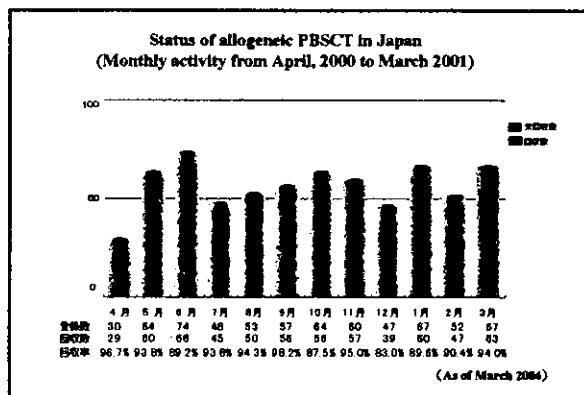
図表-1

平成15年度厚生労働科学研究ヒトゲノム、再生医療等研究事業
「骨髄などを利用した効率的な造血幹細胞移植の運用、登録と
臨床試験体制の確立に関する研究」班
平成15年度第二回班会議

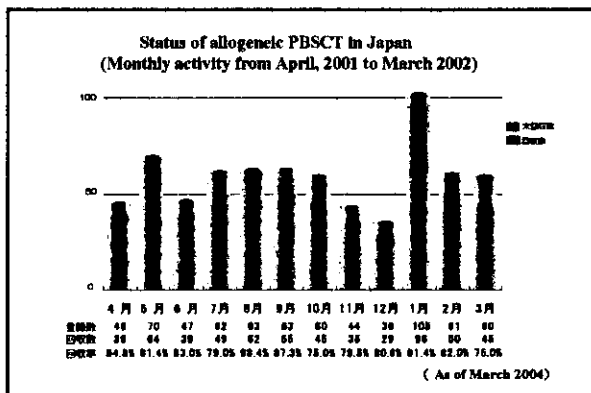
1. 日本造血幹細胞移植学会同種末梢血幹細胞
ドナーフォローアップ事業の現況

分担研究者
小寺良尚
平成16年2月27、28日
東京

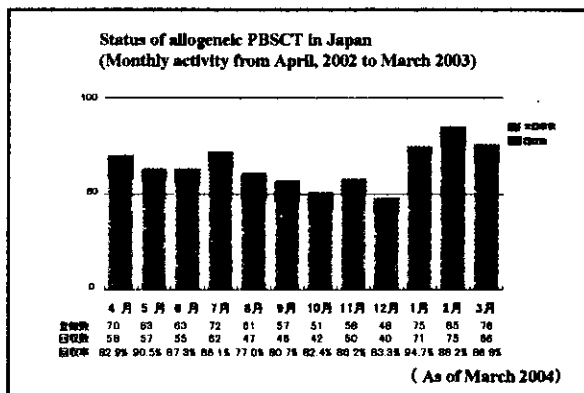
図表-2



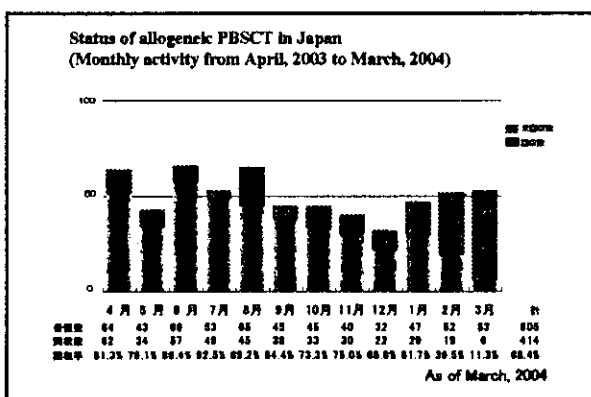
図表-3



図表-4



図表-5



図表-6

Status of PBSC donor registration

• Cumulative number
(As of March, 2004)

2,784 cases (including 85 cases of twice donation)
223 institutes

図表-7

Donor numbers registered to the center
(From April, 2000~March, 2004): 2,784
(Capture rate: 100%)

Relatively severe adverse events occurred
within 30 days of PBSCH and reported
to the center: 47

Rate of adverse events: 47/2,704=1.7%

図表-8

Adverse events which were urgently reported from
the corresponding institute and were informed to
the participated institutes in this system (1)

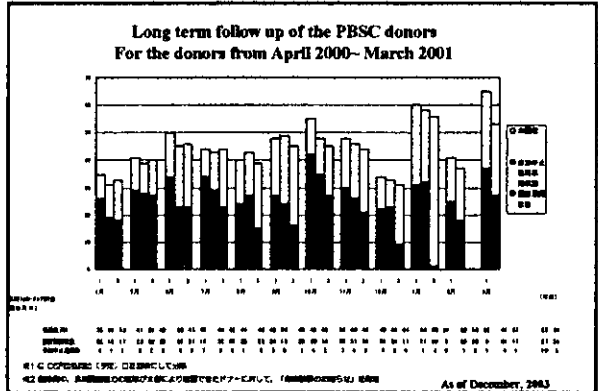
| Event | Case Numbers |
|-------------------------------|--------------|
| Thrombocytopenia | 12 (26%) |
| Liver damage | 9 (19%) |
| Fever, Infection | 7 (15%) |
| Vagovagal reflex | 2 (4%) |
| IP | 2 |
| Tetany | 1 (2%) |
| Ascites, Pericard effusion | 1 |
| General edema | |
| Precordial discomfort | 1 |
| Anorexia, Nausea, Vomiting | 1 |

図表-9

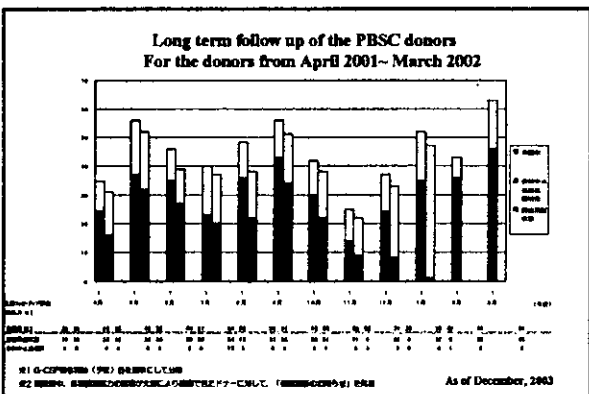
Adverse events which were urgently reported from
the corresponding institute and were informed to
the participated institutes in this system (2)

| Event | Case Numbers |
|----------------------------|--------------|
| Hypesthesia of extremities | 1 (2%) |
| Back pain | 1 |
| Hemorrhage of the leg | 1 |
| Headache | 1 |
| Angina | 1 |
| Disc herniation | 1 |
| GU | 1 |
| Hypoxemia | 1 |
| SAH | 1 |
| Cholangitis, goat attack | 1 |
| Hemoptum | 1 |

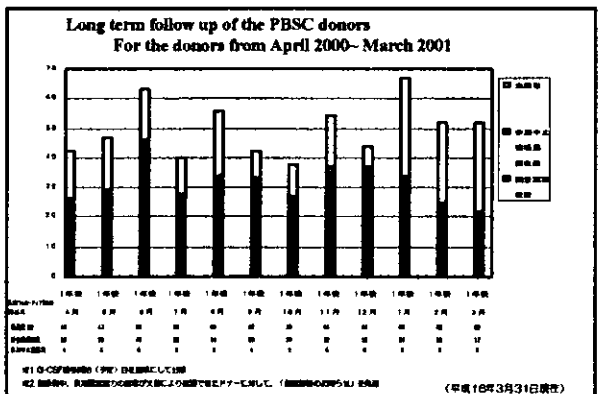
図表-10



図表-11



図表-12



図表-13

Numbers of annual health check for 5 years to which donors agreed with the cooperation
(From April, 2000-March, 2004): 1,746

Relatively severe adverse events which could not be denied the association with PBSCH: 3
AML
Breast cancer x 2

Rate of adverse event: 3/1,746=0.2%

図表-14

平成15年度厚生労働科学研究ヒトゲノム・再生医療等研究事業
「骨髄等を利用した効率的な造血幹細胞移植の運用・登録と臨床試験体制の確立に関する研究」班

2. 同種末梢血幹細胞ドナーフォローアップ調査
統計解析報告

日本造血細胞移植学会同種PBSCT小委員会
小寺良尚
先端医療振興財団臨床研究情報センター
福島雅典

平成16年2月27. 28日、東京

図表-15

2. 解析計画

2.1. G-CSF投与実態の要約
G-CSFの投与実態を探る。
ここでは、以下の項目について、G-CSF(a)-G-CSF(b)別に要約統計量を算出する:

- 1) 体重1kgあたりの1日平均投与量 [$\mu\text{g}/\text{kg}/\text{Day}$], 総投与量 [μg], 投与日数 [日], 入院期間 [日]
- 2) 末梢血幹細胞採取回数 [回], 投与開始後から末梢血幹細胞採取までの日数 [日]
- 3) ドナー体重1kgあたりのCD34+細胞数 [個]

図表-16

2.2. 問題事象の発生予測に関する単変量解析
問題事象と候補危険因子間の関連を個別に検討する。

ここでは、以下の問題事象に焦点をあてる:

- 1) G-CSF投与Day7の血小板減少 [$\times 10^4/\text{mm}^3$] (10未満/10以上)
- 2) G-CSF投与Day6~7の血小板数の最小値 [$\times 10^4/\text{mm}^3$] (10未満/10以上)*1)
- 3) 入院期間[日]の延長 (10未満/10以上)
- 4) 有害事象[骨髄/倦怠感/嘔吐/不眠/食欲不振/悪心嘔吐/腹痛]の重篤度 (無/軽微/中等度/重症)
- 5) CD34 [$\times 10^6/\text{kg}$] 不足 (2未満/2以上)
- 6) CD34 [$\times 10^6/\text{kg}$] 過剰 (8未満/8以上)

また、以下の候補危険因子に焦点をあてる:

- 1) 性別(男/女)
- 2) 年齢 [歳] (20未満/20以上30未満/30以上40未満/40以上50未満/50以上60未満/60以上)
- 3) 体重 [kg] (40未満/40以上50未満/50以上60未満/60以上70未満/70以上80未満/80以上)
- 4) G-CSF1日平均投与量*2)

図表-17

- 5) G-CSF総投与量*2)
- 6) 合併症(有/無)
- 7) 既往歴(有/無)
 - *1) 約半数の対象において、Day7の血小板数が欠損値であったため追加した。
 - *2) G-CSF(b)に対するG-CSF(a)の力価を考慮して、必要に於いてG-CSF(b)の投与量を1.2倍し、G-CSF(a)換算量に変換して用いた。

2.3. 問題事象の発生予測に関するロジスティック回帰解析
上記の問題事象の発生確率を応答変数、2.1節の単変量解析で各問題事象との関連が有意となった候補危険因子を説明変数としてロジスティック回帰解析を行う。
説明変数は後述法で選択する。説明変数の選択基準はWald検定において有意水準0.05以下とする。

図表-18

4.2. 問題事象に対するリスク因子

- 1) G-CSF投与後Day7で血小板数が10未満に減少することを予測する統計的に有意な因子、およびG-CSF投与後Day6~Day7で血小板数の最小値が10未満に減少することを予測する統計的に有意な因子は、G-CSF総投与量、年齢、G-CSFの種類の組み合わせが多くなるにつれて、また、年齢が高くなるにつれて、血小板減少のリスクが高くなっていた。
- 2) 入院期間が10日以上になることを予測する統計的に有意な因子は、G-CSF総投与量、合併症、年齢、体重であった。G-CSF総投与量が多くなり、合併症を有し、また、年齢が高く、体重が軽くなるにつれて、入院期間延長のリスクが高くなっていた。
- 3) 骨髄が発生することを予測する統計的に有意な因子は、体重であった。体重が増加するにつれて、骨髄発生リスクが高くなっていた。
- 4) 倦怠感を有することを予測する統計的に有意な因子は、性別および体重であった。女性で、また、体重が減少するにつれて、倦怠感を有するリスクが高くなっていた。

図表-19

5) 不眠となることを予測する統計的に有意な因子は、年齢および性別であった。年齢が上昇するにつれて、女性で、また、不眠となるリスクが高くなっていた。

6) 食欲不振となることを予測する統計的に有意な因子は、性別および体重であった。女性で、また、体重が軽いと、食欲不振となるリスクが高くなっていた。

4.3. CD34+細胞採取数不足/過多に影響を及ぼす因子

ドナー1kgあたりのCD34+細胞の採取数が不足することを予測する統計的に有意な因子は、年齢およびG-CSF投与量であった。年齢が高くなるにつれて、また、G-CSF投与量が増加するにつれて、ドナー1kgあたりのCD34+細胞の採取数が不足する傾向にあった。

ドナー1kgあたりのCD34+細胞の採取数が過多となることを予測する統計的に有意な因子は、性別および年齢であった。年齢が低くなるにつれて、また、男性で、CD34+細胞の採取数が過多となる傾向にあった。

図表-20

平成15年度厚生労働科学研究ヒトゲノム・再生医療等研究事業

「骨髄等を利用した効率的な造血幹細胞移植の運用・登録と臨床試験体制の確立に関する研究」班

3. 同種造血幹細胞ドナー(骨髄、末梢血)の安全性に関する日欧共同アンケート中間報告

JSHCT EBMT

図表-21

Participants
EBMT Activity Survey
19 September 2003 / AUSTRIA

Deaths and hematological malignancies in stem cell donors

Dear colleagues

Questions have arisen regarding the potential risks of stem cell donation for donors but there is currently very limited information available. Systemic treatment, vascular events and renal dialysis have been reported. With increasing patient age and increasing disease age more risks might be expected and more information is required. Of additional concern is the potential development of hematological malignancies after mobilization of the donors for stem cell harvesting. Our main aim is currently to assess and to record volunteer and public media attention in Japan.

Within the EBMT survey survey we have information on the number of allogeneic peripheral blood stem cell transplants performed throughout the years. However, we currently do not have any data relating to serious donor events. We would therefore like to ask you to fill in this brief questionnaire. It will provide valuable information on the incidence of fatal complications and long-term malignancies in the context of stem cell donation. We will keep all data anonymous, independent of type of stem cell source, bone marrow or peripheral blood. The aim of the survey is to obtain a rapid overview. We will keep you informed if or we need to have the data ready for the next EBMT meeting.

We do assure you that the individual data submitted in this form will be treated confidentially and will remain within the confines of the Activity survey office, which is a closed office. In order to maintain the privacy of confidentiality, if it is revealed that the questionnaire is sent directly to the office. If using the postal system, please use the following address:

H. Baldomero, EBMT Activity Survey
Division of Hematology
Euzeraystrasse 22
Kantonsspital Basel
CH-4003 Basel, Switzerland
If sending by fax: +41 61 265 27 73 or by E mail: baldomero@hsb.ch
Please do not hesitate to contact us if there are any outstanding questions.
Thank you very much.

Prof Dr A. Gratwohl Prof Dr H. Schmitz H. Baldomero

Questionnaire

CCC..... Principle Investigator
Start cell donors between 1993 and 2003

No. of deaths within 30 days of donation in your centre between 1993 and 2003

No. of donors with hematological malignancies

図表-22

Severe Donor Events Connected with Allogeneic Stem Cell Donation (EBMTR site, As of December, 2003)

Gratwohl, N. Schmitz, G. Favre, H. Baldomero, Y. Kodera, A. Urbano Ispizua
On behalf of the JACIE accreditation office and the Japan Society of Hematopoietic Cell Transplantation

The survey is restricted to the years 1990 to 2002. 160 teams (47% return rate)

There were a total of 2 deaths (both PB) and 18 SAE's (10 BM, 8 PB), corresponding to a death rate of 0.007% and a SAE rate of 0.07%.

A total number of 18 (9 BM, 9 PB) hematological malignancies in donors were observed during the same time period, corresponding to a rate of 0.07%.

図表-23

Temporary outcome of JSHCT-EBMTR common questionnaires (JSHCT site, As of December, 2003)

Questionnaires sent: 378 departments
Answered: 188 departments

Death case within 30 days after the stem cell harvest (both BMH and PBSCH): 0

SAE within 30 days
BMH: unknown
PBSCH: 47 (1.7%)

The cases suffered from any hematological malignancy:
BMH: 2 cases (Both were AML)
PBSCH: 1 case (AML which was previously reported.)

分担研究報告書

分担研究者 岡本 真一郎 慶應義塾大学医学部 内科 助教授

研究要旨 前回の検討で海外バンクドナーを用いた非血縁者間骨髄移植における移植片対宿主病予防として tacrolimus の有用性を明らかにしたが、今回は tacrolimus の至適投与方法について検討を加えた。慶應義塾大学病院で HLA 血清学的適合非血縁者ドナーからの骨髄移植を受け tacrolimus と methotrexate による免疫抑制を受けた 75 症例を対象とした。移植後 3 週間の tacrolimus の平均血中濃度および最低血中濃度は III-IV 度急性 GVHD の発症と有意に相関した。多変量解析においても tacrolimus の血中濃度が重症 GVHD 発症の唯一の危険因子であった。腎障害、高血糖などの tacrolimus による副作用の頻度とその血中濃度との間には相関は認められなかった。検討の結果移植後 3 週間は tacrolimus の血中濃度を 13-15ng/ml 以上に保つことにより、Grade III-IV 急性 GVHD の発症を効率よく予防できる事が明らかとなった。

A. 研究目的

非血縁者間骨髄移植後の急性移植片対宿主病は、その成功を妨げる主要因である。JMDPドナーおよび海外骨髄バンクドナーを用いた移植後の III-IV 度の急性 GVHD の発症頻度は約 20-25% である。HLA アリル適合ドナーを選定する事によりその頻度および重症度を低下し得る事が報告されているが、必ずしも全例にアリル適合ドナーが得られるわけではない。海外ドナーを用いた場合のアリル適合ドナーが得られる頻度は JMDP ドナーと比較して有意に低い。ドナー選

択以外に重症 GVHD の発症に関与する因子として移植後の免疫抑制が挙げられる。前回の報告では、tacrolimus が最も有用な免疫抑制剤である事を報告した。今回は tacrolimus の至適投与方法について検討を加えた。

B. 研究方法

1999 年から 2003 年までに慶應義塾大学病院で HLA 血清学的に一致非血縁者ドナー [JMDP ドナー 70、海外ドナー 5] からの骨髄移植を受けた症例で、生着前の死亡例を除いた 75 例を対象とした。全例 tacrolimus と短期

methotrexate (MTX) による移植後免疫抑制を受け、骨髄からの T 細胞除去を受けた症例はなかった。Tacrolimus が 1 週間にわたって中止された症例も解析から除外した。患者年齢中央値は 38 歳で男性が 64% を占めた。移植対象疾患は急性白血病などの造血器悪性腫瘍が 80% を占め、内 75% を high-risk 群 [第一寛解期以降の急性白血病、第一慢性期移行の慢性骨髄性白血病] が占めていた。移植前処置は 92% の症例で TBI が施行された。MTX の投与量はその時点での GVHD 予防に関する臨床研究プロトコールに従って施行され、シアトル方式の 4 回投与が 69%、3 回投与が 31% の症例で施行された。ドナーの平均年齢は 31 歳で性不一致ドナーが 29%、アレル不適合ドナーが 33% を占めた。

Tacrolimus は 0.03mg/kg/day を持続点滴で移植前日より投与開始した。血中濃度を週 3 - 4 回測定し、tacrolimus の血中濃度を 10 - 20ng/ml に維持するようにその投与量を調整した。経口が可能となった時点で tacrolimus は持続静注から経口投与 [1 日点滴量の三倍量を 1 日内服量とした] に切り替え移植後 50 日まで投与し、その後漸減を開始し移植 180 日で投与を中止とした。

急性 GVHD の grading は Consensus

Conference の基準に従った。

C. 研究結果

75 の評価可能症例の急性移植片対宿主病の発症頻度は II-IV 度が 48%、III-IV 度が 20% であった。Kruskal-Wallis test, Jonckheere trend test では、急性 GVHD の grade と移植後 3 週間の tacrolimus の平均血中濃度および最低血中濃度との間には有意な相関が認められた [表 1, 2]。多変量解析において急性 GVHD の発症の危険因子の解析を行った結果を表 3 に示した。II-IV 度の GVHD の発症はドナーの年齢と移植後 3 週間の tacrolimus の血中濃度最低値が 15ng/ml 以上である事が有意な因子であり、III-IV 度の GVHD の発症には移植後 3 週間の tacrolimus の血中濃度平均値が唯一に危険因子として同定された。MTX4 回投与では有意な傾向が認められた。性不一致ドナーからの移植および HLA アレル不適合移植は急性 GVHD 発症の有意な危険因子として同定されなかった。一方で、高血糖 [血糖値 200 mg/dl 以上]、腎障害 [血清クレアチニン移植前値 x 2 以上] と移植後 3 週間の tacrolimus の平均血中濃度および最低血中濃度の間には有意な相関は認められなかった。移植後 3 週以降においては tacrolimus の平均血中濃度あるいは最低血中濃度と

急性 GVHD 発症の間に有意な相関は認められなかった。これらの結果からは、移植後 3 週間の間は tacrolimus の血中濃度を 15ng/ml 以上に保つ事が中等度および重症の急性 GVHD の予防に有用である事が示唆された。しかし、この期間を通して tacrolimus の血中濃度を 15ng/ml 以上に保つ事が出来た症例は 10%にとどまった。そこで cut off 値を 13ng/ml に設定したところ、64%の症例で血中濃度の維持が可能であり重症の GVHD の頻度は 7.6%に抑えられる事が明らかとなり、この cut off 値の設定が妥当であると考えられた。

D. 考察

Tacrolimus が非血縁者間造血幹細胞移植における急性 GVHD の予防に有効である事は既に報告されている。予防のための至適血中濃度についても検討され、副作用を最低限に抑えて効率よく GVHD を抑制するためには 10-20ng/ml が therapeutic range である事が報告されている。しかし、本邦においての詳細な検討はなされていない。我々は 10-20ng/ml の狭い therapeutic range の中においても tacrolimus の濃度を細かく調整する事によって GVHD の頻度および重症度を低下させる事が出来るのではないかと考え今回の検討を行った。結果

として移植後早期 [3 週間以内] には tacrolimus の平均血中濃度と最低血中濃度が II-IV および III-IV の急性 GVHD の発症と有意に相関する最も重要な因子である事を見出した。また、tacrolimus による免疫抑制を受けた HLA アリル不適合移植症例の GVHD の頻度は適合症例のそれと同等であり、tacrolimus の血中濃度を注意深くモニターする事により、アリル不適合ドナーからの移植も比較的 safely 施行できる事が示唆された。この事は、HLA アリル不適合海外ドナーからの移植においても確認された。日常の臨床においては平均血中濃度ではなく最低血中濃度のほうがより practical である。解析の結果では、15ng/ml 以上に最低血中濃度を保つ事でほぼ 100%の確率で重症の GVHD の発症が予防できる事が示された。より頻回の血中濃度測定によってこの最低地を維持する事は不可能ではないと考えるが、現実的には 13ng/ml という cut off 値が妥当と考えられた。今後はこの値の妥当性を prospective に検討していく必要があると考える。

E. 結論

- 1) 非血縁者間移植において移植後 3 週間の tacrolimus の平均および最低血中濃度は中等症および重症

の急性 GVHD の発症頻度と有意に相関した。

- 2) HLA アリル不適合は tacrolimus の血中濃度が至適域に維持されていれば、急性 GVHD 発症の有意な危険因子とならない事が示唆された。
- 3) 移植後 3 週間で tacrolimus の血中濃度を 13ng/ml 以上に保つ事が、中等症および重症の急性 GVHD の発症に有用と考えられた。

F.健康危険情報

特になし。

G.研究発表

1. 論文発表

Matsuoka S., Okamoto S., Watanabe R., Mori T., Nagayama H., Hamano Y., Yokoyama K., Takayama N., Ikeda Y. : Granisetron plus dexamethasone versus granisetron alone in the prevention of vomiting induced by conditioning for stem cell transplantation: a prospective randomized study. *International Journal of Hematology* 77 : 86-90, 2003.

Tsukada Y., Nagayama H., Mori T., Shimizu T., Sato N., Takayama N., Ishida A., Handa M., Ikeda Y., Okamoto S. : Granulocyte transfusion as a treatment for enterococcal meningoencephalitis after allogeneic bone marrow

transplantation from an unrelated donor. *Bone Marrow Transplantation* 31 : 69-72, 2003.

Naito K., Mori T., Miyazaki K., Tsukada Y., Ikeda Y., Okamoto S. : Successful treatment of extramedullary blast crisis of chronic myelogenous leukemia with imatinib mesylate (STI571). *Internal Medicine* 42 (8) : 740-742, 2003.

Kanda Y., Chiba S., Hirai H., Sakamaki H., Iseki T., Kodera Y., Karasuno T., Okamoto S., Hirabayashi N., Iwato K., Marurta A., Fujimori Y., Furukawa T., Mineishi S., Matsuo K., Hamajima N., Imamura M. : Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation from family members other than HLA-identical siblings over the last decade (1991-2000). *Blood* 102 (4) : 1541-1547, 2003.

Mori T., Mori S., Kanda Y., Yakushiji K., Mineishi S., Takaue Y., Gondo H., Harada M., Sakamaki H., Yajima T., Iwao Y., Hibi T., Okamoto S. : Clinical significance of cytomegalovirus (CMV) antigenemia in the prediction and diagnosis of CMV gastrointestinal disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplantation* 33 : 431-434, 2004.

Zheng Y., Watanabe N., Nagamura-

Inoue T., Igura K., Nagayama H., Tojo A., Tanosaki R., Takaue Y., Okamoto S., Takahashi TA. : Ex vivo manipulation of umbilical cord blood-derived hematopoietic stem / progenitor cells with recombinant human stem cell factor can up-regulate levels of homing-essential molecules to increase their trans migratory potential. Experimental Hematology, 2004 (in press).

2. 学会発表

Mori T., Shimizu T., Aisa Y., Ikeda Y., Okamoto S. : Prevention of cytomegalovirus (CMV) reactivation by standard dose valacyclovir (VACV) after allogeneic bone marrow transplantation. Tandem BMT Meetings. Orlando, Florida, 2004.

H. 知的財産権の出願・登録状況

特に無し。

Risk Factors for Developing AGVHD

— Multivariate Analysis —

| Factors | Grade II-IV | Grade III-IV |
|------------------------------|-------------|--------------|
| FK 3C ≥ 15 ng/ml* | 0.008 | 0.007 |
| Recipient ≥ 30 year-old | N.S. | N.S. |
| Donor ≥ 30 year-old | 0.023 | N.S. |
| Standard-risk disease | N.S. | N.S. |
| HLA allele mismatch | N.S. | N.S. |
| Sex mismatch | N.S. | N.S. |
| No MTX on day 11 | 0.056 | 0.056 |

* Mean serum level of the first 3 weeks after SCT

Recommended Cutoff Level of Tacrolimus

- Maintain the level 13 ng/ml \leq for the first 3 weeks after SCT

| | Incidence of AGVHD | |
|-----------|--------------------|-------|
| | 0-I | II-IV |
| 13 > | 40.8 | 59.1 |
| 13 \leq | 73.0 | 26.9 |
| | | 7.6 |

Fisher's 0-I vs. II-IV P=0.015 0-I vs. III-IV P=0.07

- The rate of achieving the level 13 \leq is about 64%

Mean Serum Level of Tacrolimus

— According to the Grade of AGVHD —

| Grade | N | Mean serum level \pm SD* |
|-------|----|----------------------------|
| 0 | 23 | 17.5 \pm 2.3 |
| I | 16 | 16.6 \pm 1.4 |
| II | 21 | 16.1 \pm 1.8 |
| III | 8 | 15.9 \pm 2.5 |
| IV | 7 | 14.6 \pm 2.2 |

* Mean value for the first 3 weeks after SCT

Kruskal-Wallis Test P=0.04 Jonckheere's trend test : P=0.003

Incidence of AGVHD

— According to the Lowest Serum Level of Tacrolimus —

| Serum Level* (ng/ml) | Grade | | |
|----------------------|------------|--------------|---------------|
| | 0-I (N=39) | II-IV (N=36) | III-IV (N=15) |
| <10 (N=18) | 5 | 13 | 5 |
| 10 \leq <15 (N=54) | 31 | 23 | 10 |
| 15 \leq (N=3) | 3 | 0 | 0 |

* The lowest level for the first 3 weeks after SCT

Fisher's P=0.0148

厚生科学研究補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）

骨髄等を利用した効率的な造血幹細胞移植の運用・登録と臨床試験体制の確立に関する研究
平成15年度分担研究報告書

| | | | |
|-------|-------|--------------|----------|
| 分担研究者 | 一戸辰夫 | 京都大学大学院医学研究科 | 血液・腫瘍内科学 |
| 研究協力者 | 内山 卓 | 京都大学大学院医学研究科 | 血液・腫瘍内科学 |
| | 玉木茂久 | 山田赤十字病院 | 内科 |
| | 松尾恵太郎 | 愛知県がんセンター研究所 | 疫学予防部 |
| | 丸屋悦子 | NPO HLA 研究所 | |
| | 佐治博夫 | NPO HLA 研究所 | |

研究要旨： 2004年1月までに本研究班に登録された母子間・非遺伝母 HLA 抗原 (NIMA) 相補的同胞間移植 (NIMA 相補的血縁者間移植) 実施例から、(1) 原疾患が白血病・悪性リンパ腫である；(2) HLA-A, -B, -DR について GVH 方向に 2 または 3 抗原の不一致が存在するドナーから移植を実施されている；(3) ドナーにレシピエント型の母子間マイクロキメリズムが証明されている；(4) FK506 を用いた GVHD 予防が行われている；の 4 つの条件を満たす 35 例を抽出し、その移植成績を解析した。骨髄非破壊的前処置が用いられた 11 例を含め、全例において、移植後 3 週間以内に好中球の生着が認められた。III 度以上急性 GVHD の累積発症率は 24% であり、多変量解析では母親ドナーからの移植において重症 GVHD が出現しやすい傾向が認められた。移植後 100 日以内の非再発死亡を 7 例に認めたが、35 例中 14 例が無病生存中 (観察期間中央値 20 ヶ月) であり、全症例を対象とした予測 3 年粗生存率は 38% であった。以上より、T 細胞除去を用いない NIMA 相補的血縁者間移植は、重症 GVHD の発症リスクがやや高い可能性があるものの、標準的なドナーを見い出せない進行期造血器腫瘍症例に対して一定の長期生存をもたらす得る移植法であることが示された。現在、難治性白血病を対象として、GVHD 予防法を統一したプロトコールによる多施設前向き臨床試験が進行中である。

A・研究の背景と目的

近年、造血幹細胞移植の臨床現場においては、治療関連毒性の軽減化と原疾患治癒率の向上を目指して、急速に様々な新規技術の導入が行われている。特に骨髄非破壊的前処置方法の出現は同種移植の適応年齢・適応疾患に大きな変化をもたらしつつあり、今後一部の疾患においては、移植を実施できるか否かが、予後の決定因子になっていく可能性も想

定されている。このような背景の中、依然として組織適合性は、造血細胞移植における最も重要な予後因子のひとつであり、特に、公的な造血幹細胞バンクにもドナーを見い出せない症例に対する新たな代替ドナー選択方法を確立することが強く求められている。この問題への根本的解決を目指すものとして、成人への臍帯血移植も積極的に試みられてきているが、生着不全・移植後早期合併症の出現

率が高いことから、現時点では標準的移植方法として確立されるには至っていない。

最近、60～70%以上の成人において母由来あるいは児由来と推定される造血細胞のマイクロキメリズムが検出可能であることが見出され、このようなマイクロキメリズムを非自己 HLA に対する獲得免疫寛容の指標としたドナー選択を行うことにより、母子間あるいは父親由来ハプロタイプを共有する NIMA 不一致同胞 (NIMA 相補的同胞) 間においては、複数座の HLA の不一致が存在しても、拒絶や重症 GVHD を招くことなく、造血幹細胞移植が実施可能な場合があることが報告されている (NIMA 相補的血縁者間移植)。

本研究では、1) 本邦で実施された NIMA 相補的血縁者間移植例のデータベースの構築と移植成績の追跡調査、2) 難治性白血病を対象とした共通プロトコールによる前向き臨床試験、3) NIMA 相補的血縁者間における GVHD 発症危険因子の同定、4) 動物モデルを用いた新たな免疫寛容検出方法の開発等により、この新しいドナー選択方法の安全性を確立することを目的とする。

B. 研究方法

NIMA 相補的血縁者間造血幹細胞移植研究事務局 (京都大学医学部附属病院 血液・腫瘍科内) では、母子間・NIMA 相補的同胞間で実施された HLA 不一致移植の調査・登録事業を行っており、共通調査票を用いて、2004 年 1 月までに 37 施設から 72 例のデータセットが集積されている。現時点において、NIMA 相補的血縁者間移植の長期的安全性・有効性を検討する一助とするため、これらの登録例から、GVH 方向への HLA-A, B, DR1 抗原の不一致が 1 抗原以内、原疾患が非腫瘍

性疾患、ドナーにおける母子間マイクロキメリズムが確認されていないか陰性である、などの例を除き、(1) 原疾患が白血病または悪性リンパ腫である;(2) GVHD 方向に HLA-A, -B, -DR 抗原が 2 または 3 抗原の不一致が存在するドナーから移植を実施されている;(3) ドナーにレシピエント型の母子間マイクロキメリズムが証明されている;(4) FK506 を用いた GVHD 予防が行われている;(5) 2004 年 2 月までの全経過が追跡可能、の 5 つの条件を満たす症例を研究コホートとして選択し、2004 年 2 月まで longitudinal な追跡調査を行った。すべての解析は、2004 年 2 月 29 日を最終観察日として行い、急性 GVHD の累積発症率、Kaplan-Meier 法による予測生存率などを評価するとともに、III 度以上の急性 GVHD に影響する因子を、unconditional logistic regression model を用いて検討した。

C. 研究結果

1) 症例の背景因子

表 1 に解析対象となった 35 例の背景因子を示す。移植が実施された期間は、2000 年 5 月から 2003 年 6 月までであり、7 例では、過去における造血幹細胞移植の既往があった。移植前処置としては、TBI 6 Gy 以上、あるいは busulfan 8 mg/kg 以上を含むものを標準的な (standard-intensity) 強度の前処置と定義すると、11 例 (31%) においては、緩和的な (reduced-intensity) 前処置が用いられていた。なお、NIMA 相補的血縁者間移植における GVHD の標的 HLA 抗原は、母から子への移植では配偶者由来 HLA 抗原 (inherited paternal antigen, IPA)、子から母への移植あるいは NIMA 不一致同胞間の移植では、非遺伝母 HLA 抗原 (NIMA) と免疫遺伝学的に異