

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（再生医療分野）

〈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
確立と普及に関する研究

平成 15 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 16 (2004) 年 4 月

【目次】

I. 総括研究報告

P 1～5 高上 洋一 / 国立がんセンター中央病院

『骨髓非破壊的前処置療法を用いた同種造血幹細胞移植の確立と普及に関する研究』

II. 分担研究報告

P 6～8 中尾 眞二 / 金沢大学大学院

『ドナーリンパ球輸注による白血病再発の治療と予防に関する研究』

P 9～17 大橋 靖雄 / 東京大学大学院

『造血幹細胞移植臨床試験検証システムの確立』

P 18～20 河野 嘉文 / 鹿児島大学医学部

『造血幹細胞の加齢と造血・免疫機能再構築に関する検討』

P 21～22 武元 良整 / 慈愛会今村病院分院

『骨髓非破壊的移植後のウイルス感染症とGVHD病態の解明』

P 23～24 神田 善伸 / 東京大学医学部附属病院

『骨髓非破壊的前処置療法を用いた同種造血幹細胞移植における
至適GVHD予防法の確立』

P 25～27 長藤 宏司 / 九州大学病院

『骨髓非破壊的前処置を用いた同種造血幹細胞移植における
免疫能回復と抗腫瘍効果の機構解明』

P 28～35 宮腰 重三郎 / 虎の門病院

『臍帯血を用いた骨髓非破壊的造血幹細胞移植の検討』

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

IV. 研究成果の刊行物・別刷

『 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確立と普及に関する研究 』

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 本班研究においては、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、リン酸フルダラピ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、データ管理は厳正に執り行う。特に多施設共同研究は新GCPに準拠して行い、現在までに白血病試験に44名、悪性リンパ腫試験に7名の計51名を登録した。また、国立がんセンター中央病院における第Ⅱ相臨床試験には計196名を登録し、その1年生存率は56%である。本研究においてミニ移植治療の有用性が確認された場合には、当該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（CMV）感染症に対する特異的T細胞療法を開発する。

分担研究者名（所属機関名・職名）

中尾眞二（金沢大学大学院・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）
武元良整（慈愛会今村病院分院・部長）
神田善伸（東京大学医学部・助手）
長藤宏司（九州大学病院・助手）
宮腰重三郎（虎の門病院・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独で行う第Ⅰ相臨床試験で評価し、そのデータも参考にして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量を減量し、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、公正で公開された厳正な新GCP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）感染の発症頻度と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。

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の血縁/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 μ g/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に準拠して行う必要がある。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。

<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. 研究結果及び D. 考察

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12月末までに合計196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、1年生存率は56%であった。予後不良の患者群を対象とした試験結果としては良好と考えるが、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試験としては初めて、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、2004年3月現在で計51名を登録している。このデータベースの基本構造の開発を本分担研究の主業務としたが、これは、今後行われる移植領域における各種の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」)。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解明する手がかりを提供した。

E. 結論

我々が推進した第I相臨床試験では、ミニ移植後の副作用は通常移植と比較して比較的軽微であるため、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。しかし、移植後期に発生するGVHDやCMV感染の率は、依然として高い。この結果に基づいて、厳正な臨床試験に必須の標準手順を開発し、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、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. 健康危機情報

現在までのところ、試験の中止に関わるような重大な有害事象の発生は認めていない。医薬品の適応拡大を目的とした医師主導臨床試験を計画・実施するうえでは、安全性情報の取扱いが最も重要な課題となる。このような質の高い臨床試験で得られる安全性情報は、将来的に国内の共有情報としてデータベース化することにより、規制当局への報告の際の重要なデータソースになると共に、我々自身に重要な意味を持って還元される貴重なデータとなり得る。また、これは、抗癌剤を含めた医薬品、医療機器、及び生物由来製品などの臨床開発、適正使用に大きく寄与すると考えられ、海外との情報交換も可能な形式での蓄積が必要不可欠であるため、本研究の重要課題の一つとして取り組む。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 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.
2. 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.
3. Matsubara H, Takaue Y. *et al.* Possible benefits of high-dose chemotherapy as intensive consolidation in patients with high-risk rhabdomyosarcoma who achieve complete remission with conventional chemotherapy. *Pediatr Hematol Oncol*, 20:201-210,2003.
4. Kim SW, Takaue Y. *et al.* Feasibility of Acute Physiology and Chronic Health Evaluation (APACHE) II and III score-based screening in patients receiving allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transplantation*, 75:566-570,2003.
5. Kami M, Takaue Y. *et al.* Allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation for the treatment of adult T-cell leukemia/lymphoma. *Br J Haematol*, 120:304-309,2003.
6. Matsubara H, Takaue Y. *et al.* Successful treatment of meningoencephalitis caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with intrathecal vancomycin in an allogeneic peripheral blood stem cell transplant recipient. *Bone Marrow Transplant*, 31:65-67,2003.
7. Kato K, Takaue Y. *et al.* U5A2-13, an antigen originally found on mouse NK-like T cells, is an early inducible cell surface antigen during lymphoid activation. *Cell Immunol*, 221:27-36,2003.
8. Asada-Mikami R, Takaue Y. *et al.* Increased expansion of Va24⁺ T cells derived from G-CSF-mobilized peripheral blood stem cells as compared to peripheral blood mononuclear cells following α -galactosylceramide stimulation. *Cancer Sci*, 94:383-388,2003.
9. Mineishi S, Takaue Y. *et al.* Impact of GVHD in reduced-intensity stem cell transplantation for patients with hematological malignancies. *Br J Hematol*, 121:296-303,2003.
10. Tanimoto T, Takaue Y. *et al.* High complete response rate after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with reduced-intensity conditioning regimens in advanced malignant lymphoma. *Bone Marrow Transplant*, 32:131-137,2003.
11. Kojima R, Takaue Y. *et al.* Induction of graft-versus-autoimmune disease (GVA) effect against refractory psoriasis by complete donor-type chimerism and graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*, 32:439-442,2003.
12. Saito T, Takaue Y. *et al.* Immune reconstitution following reduced-intensity transplantation with cladribine, busulfan, and anti-thymocyte globulin: serial comparison with conventional myeloablative transplantation. *Bone Marrow Transplant*, 32:601-608,2003.
13. Urahama N, Takaue Y. *et al.* Transfusion-related acute lung injury (TRALI) after the infusion of bone marrow cells in a patient with acute lymphoblastic leukemia. *Transfusion*, 43:1553-1557,2003.
14. Kami M, Takaue Y. *et al.* Development of reduced-intensity hematopoietic stem cell transplantation (RIST) in the National Cancer Center Hospital, Japan. *Therapeutic Apheresis Dialysis*, 7:318-328,2003.
15. Yamamoto R, Takaue Y. *et al.* Late hemorrhagic cystitis after reduced-intensity hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*, 32:1089-1095, 2003.
16. Hamaki T, Takaue Y. *et al.* Non-myeloablative hematopoietic stem-cell transplantation for the treatment of adult T-cell lymphoma in a patient with advanced hepatic impairment. *Leuk Lymphoma*, 44:703-708, 2003.
17. Imataki O, Takaue Y. *et al.* Life-threatening hypothyroidism associated with administration of cyclosporine in a patient treated with reduced-intensity hematopoietic stem cell transplantation for metastatic renal cell carcinoma. *Transplantation*, 75:898-907, 2003.

18. Nakai K, **Takaue Y.** *et al.* Anti-thymocyte globulin affects the occurrence of acute and chronic graft-versus-host disease after a reduced-intensity conditioning regimen by modulating mixed chimerism induction. *Transplantation*, 75:2135-2143, 2003.
19. Kim SW, **Takaue Y.** *et al.* Effects of selective decontamination of digestive tract on mortality and acquisition of resistant bacteria in intensive care: a randomized controlled trial. *Lancet*, 362:2118-2120, 2003.
20. Kusumi E, **Takaue Y.** *et al.* Successful reduced-intensity stem cell transplantation (RIST) with mismatched cord blood in a 70-year-old patient with severe aplastic anemia. *Bone Marrow Transplant*, 32:1111-1112, 2003.
21. Zheng Y, **Takaue Y.** *et al.* 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 transmigratory potential. *Exp Hematol*, 31:1237-1246, 2003.
22. Hori A, **Takaue Y.** *et al.* Urgent need for a validated tumor response evaluation system for use in immunotherapy. *Bone Marrow Transplant*, 33:255-256, 2004.
23. Kawano Y, **Takaue Y.** *et al.* Cryopreservation of mobilized blood stem cells at a higher cell concentration without the use of a programmed freezer. *Ann Hematology* 83:50-54, 2004.
24. Yamasaki S, **Takaue Y.** *et al.* Allogeneic peripheral blood stem cell transplantation from 2- or 3-loci-mismatched related donors in adult Japanese patients with high-risk hematologic malignancies. *Bone Marrow Transplant*, 33:279-289, 2004.
25. Kamitsuji Y, **Takaue Y.** *et al.* Fatal deep vein thrombosis after allogeneic reduced-intensity hematopoietic stem-cell transplantation for the treatment of metastatic gastric cancer. *Ann Hematol* (2003 Dec 19 [E-pub ahead of print]).
26. Kami M, **Takaue Y.** *et al.* Gastrointestinal tract is a common target of invasive aspergillosis in patients receiving cytotoxic chemotherapy for hematological malignancy. *Clin Inf Dis*, *in press*.
27. Hamaki T, **Takaue Y.** *et al.* Sustained molecular remission in a patient with CML in blastic crisis receiving dose-reduced hematopoietic stem-cell transplantation followed by early withdrawal of cyclosporine and prophylactic use of interferon-alpha. *Am J Hematol*, *in press*.
28. Hori S, **Takaue Y.** *et al.* Freeze-thawing procedures have no influence on the phenotypic and functional development of dendritic cells generated from peripheral blood CD14⁺ monocytes. *J Immunother*, *in press*.
29. Kusumi E, **Takaue Y.** *et al.* Feasibility of reduced-intensity hematopoietic stem cell transplantation from an HLA-matched unrelated donor. *Bone Marrow Transplant*, *in press*.
30. Hori A, **Takaue Y.** *et al.* Development of early neutropenic fever, with or without bacterial infection, is still a significant complication after reduced-intensity stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*, *in press*.
31. Hamaki T, **Takaue Y.** *et al.* Reduced-intensity stem-cell transplantation from an HLA-identical sibling donor in patients with myeloid malignancies. *Bone Marrow Transplant*, *in press*.
32. Mori T, **Takaue Y.** *et al.* Clinical significance of cytomegalovirus (CMV) antigenemia in the prediction and diagnosis of CMV gastrointestinal disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*, *in press*.
33. Harashima N, **Takaue Y.** *et al.* Graft-versus-human T-cell leukemia virus type-I response in adult T-cell leukemia patients following non-myeloablative hematopoietic stem cell transplantation. *Cancer Res*, *in press*.
34. Hori A, **Takaue Y.** *et al.* Balance between acute graft-versus-host disease and graft-versus-tumor effect after reduced-intensity transplantation for metastatic renal cell carcinoma: Report of two cases. *Hematology Journal*, *in press*.
35. Imataki O, **Takaue Y.** *et al.* A nationwide survey of deep fungal infections and antifungal prophylaxis for patients undergoing hematopoietic stem-cell transplantation (HSCT): Revisit of the Guidelines

from the Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Bone Marrow Transplant, *in press*.

36. Nakagawa T, **Takaue Y**. *et al*. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with a reduced-intensity conditioning regimen for the treatment of metastatic renal cell carcinoma: single institution experience with a minimum 1-year follow-up. *Exp Hematol, in press*.
37. Tanimoto TE, **Takaue Y**. *et al*. Graft-versus-host disease and clinical outcomes after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with bone marrow or blood stem cells. *Br J Haematol, in press*.

2. 学会発表

1. Hori A, Kanda Y, Goyama S, Ohnishi Y, Komeno Y, Mitani K, Kishi Y, Ogawa S, Imataki O, Chiba S, Kojima R, Hamaki T, Sakiyama M, Kami M, Makimoto A, Tanosaki R, **Takaue Y**, Hirai H: Pravastatin for the treatment of refractory chronic GVHD: Prospective clinical and immunological evaluation from the Japan Hematology Oncology Clinical Study Group (J-HOCS). 45th American Society of Hematology Annual Meeting, San Diego, December 6-9, 2003 (abstr #2664).
2. Kojima R, Kami M, Tanaka Y, Kusumi E, Kanda Y, Mori S, Yoshioka S, Tajima K, Fujisawa S, Kanamori H, Morishima S, Sao H, Kasai M, Taniguchi S, Sakamaki H, Hirai H, Harada M, **Takaue Y**: Comparison of the outcomes following conventional hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) vs. reduced-intensity stem cell transplantation (RIST) in older patients with hematologic malignancies. 45th American Society of Hematology Annual Meeting, San Diego, December 6-9, 2003 (abstr #2707).
3. Sakiyama M, Kim SW, Kami M, Mori S, Makimoto A, Mineishi S, **Takaue Y**, Tanosaki R: Feasibility of collecting granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF)-mobilized peripheral blood stem cells (PBSC) from donors aged over 50 years. 45th American Society of Hematology Annual Meeting, San Diego, December 6-9, 2003 (abstr #3569).
4. Kojima R, Kami M, Nannya Y, Kusumi E, Sakai M, Tanaka Y, Kanda Y, Miyakoshi S, Tateishi U, Kusumoto M, Mori S, Kato K, Mori T, Okamoto S,

Taniguchi S, **Takaue Y**: Evaluation of late occurring invasive pulmonary aspergillosis (IPA) after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo-HSCT) by high-resolution computed tomography (HR-CT). 45th American Society of Hematology Annual Meeting, San Diego, December 6-9, 2003 (abstr #3629).

5. Kusumi E, Tanimoto TE, Kami M, Hamaki T, Kim SW, Mori T, Etoh T, Tamaki T, Taniguchi S, **Takaue Y**: Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with a reduced-intensity regime for non-Hodgkin lymphoma: A retrospective survey of 112 adult patients in Japan. 45th American Society of Hematology Annual Meeting, San Diego, December 6-9, 2003 (abstr #2696).
6. Katayama Y, Kami M, Kusumi E, Katoh D, Yuji K, Miyakoshi S, Uchida N, Kamituji Y, Ohnishi Y, Murashige N, Kim SW, Mori S, Taniguchi S, **Takaue Y**: The central nerve system complications in the early course of reduced-intensity stem cell transplantation. 45th American Society of Hematology Annual Meeting, San Diego, December 6-9, 2003 (abstr #2628).

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
該当なし
2. 実用新案登録
該当なし
3. その他
該当なし

『分担研究課題名：ドナーリンパ球輸注による白血病再発の治療と予防に関する研究』
中尾 眞二 金沢大学大学院医学系研究科／機能再生学講座細胞移植学 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。HLA-A24 陽性例のみの解析でも同様の結果が得られた。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 HLA-A24 陽性患者 5 例の移植後 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、一部のペプチドにおいてインターフェロンの産生が誘導できた。その一つ CD62L^{206-214S} を用いて骨髓 T 細胞を繰り返し刺激することにより、ペプチド特異的な細胞傷害活性を有する CD8 陽性 T 細胞株を樹立した。フローサイトメトリー法により確認したところ、このような CD8 陽性 T 細胞の多くは CD62L ペプチド・HLA-A24 テトラマー陽性分画に含まれていた。以上から、CD62L の多型ペプチドは graft-versus-leukemia 効果をもたらす HLA-A24 拘束性の 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、Maruya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に関して、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。その際、日本人の約6割がHLA-A24を保持していることに着目し、A24拘束性のmHaの同定を試みた。

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 Maruya 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、Maruya 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 HLA-A24 拘束性 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 9 mer のペプチド 18 種類を合成した。HLA-A24 を保有し CD62L アレルに GVHD 方向の不一致を有していた 5 例（急性骨髄性白血病 3 例、リンパ芽球性リンパ腫 1 例、慢性期慢性骨髄性白血病 1 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髓 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。さらに、インターフェロン γ の誘導能が認められたペプチドを用いて、T細胞を繰り返し刺激することにより、細胞傷害性T細胞株の樹立を試みた。T細胞株のペプチド特異性に関しては、種々の標的細胞に対する細胞傷害活性とCD62Lペプチド・HLA-A24テトラマーを用いたフローサイトメトリー法により検討した。また、ペプチドとHLA-A24分子との親和性に関しては、MHC stabilization法により検討した。

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の不一致を認める血液腫瘍5症例を対象に、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、一部のペプチドにおいて、インターフェロン γ 産生が誘導された。この現象は、急性GVHD発症例1例・慢性GVHD発症例2例を含む4例で認められたが、GVHDを発症しなかった残りの1例では認められなかった。さらに、インターフェロン γ 産生の誘導が認められた患者(慢性GVHDを発症した急性骨髄性白血病症例)の骨髄T細胞を用いて、陽性ペプチドの一つCD62L^{206-214S}で繰り返し刺激することにより、ペプチド特異的CD8陽性T細胞株を樹立した。このT細胞株は、CD62L^{206-214S}でパルスしたHLA-A24陽性細胞株(T2-A24)細胞やCD62L^{206-214S}陽性・A24陽性のリンパ芽球性B細胞株(LCL)細胞、CD62L^{206-214S}の発現ベクターを遺伝子導入したA24陽性LCL細胞に対して細胞傷害活性を示した。この細胞傷害活性は抗HLA-class I抗体の添加により、完全に抑制された。一方、自己CD62LペプチドCD62L^{206-214P}でパルスしたT2-A24細胞やCD62L^{206-214S}またはA24陰性のLCL細胞、CD62L^{206-214P}の発現ベクターを遺伝子導入したA24陽性のLCL細胞に対して細胞傷害活性は誘導されなかった。CD62L^{206-214S}のHLA-A24分子に対する親和性をMHC stabilization法により検討したところ、高

い親和性が認められた。次に、CD62L^{206-214S}・HLA-A24テトラマーを用いてフローサイトメトリーを行ったところ、CD8陽性T細胞株細胞の多くは、CD62L^{206-214S}・HLA-A24テトラマー陽性であった。

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、CD31、CD49b、CD62Lといった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は発現が血液細胞に限られているだけでなく、CD34陽性細胞を含む造血前駆細胞や胸腺細胞にも発現がみられる。さらに、急性リンパ性白血病や急性骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病、成人T細胞性白血病の細胞上にも発現している。このことは、CD62LはGVL効果のみを誘導する理想的なmHaである可能性を示している。

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。さらに、その内の一つCD62L^{206-214S}が、HLA-A24分子拘束性のmHaとして機能する可能性が示された。CD62L^{206-214S}特異的なT細胞が、実際に患者の流血中でGVL効果を発揮しているか否かを検証するため、CD62L不一致移植後の患者を対象として、CD62L^{206-214S}・HLA-A24テトラマーのフローサイトメトリーを用いて移植後患者のT細胞を定期的に調べ、GVL効果のモニタリングを行っている。

E. 結論

CD62L^{206-214S}はGVL効果を誘導できるHLA-A24拘束性mHaの可能性がある。

F. 健康危機情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Miura Y, Ueda M, Takami A, Shiobara S, Nakao S, Hess AD. Enhancement of cyclosporin A-induced autologous graft-versus-host disease after peripheral blood stem cell transplantation by utilizing selected CD34(+) cells. *Bone Marrow Transplant*. 2003 Oct;32(8):785-90.
2. Ishiyama K, Chuhjo T, Wang H, Yachie A, Omine M, Nakao S. Polyclonal hematopoiesis maintained in patients with bone marrow failure harboring a minor population of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria-type cells. *Blood*. 2003 Aug 15;102(4):1211-6
3. Chuhjo T, Yachie A, Kanegane H, Kimura H, Shiobara S, Nakao S. Epstein-Barr virus (EBV)-associated post-transplantation lymphoproliferative disorder simultaneously affecting both B and T cells after allogeneic bone marrow transplantation. *Am J Hematol*. 2003 Apr;72(4):255-8.
4. Zhu J, Okumura H, Ohtake S, Nakamura S, Nakao S. The molecular mechanism of arsenic trioxide-induced apoptosis and oncosis in leukemia/lymphoma cell lines. *Acta Haematol*. 2003;110(1):1-10.
5. Takami A, Namiki M, Koshida K, Asakura H, Nakao S. Reduced-intensity allogeneic stem cell transplantation (RIST) for renal cell carcinoma: in vivo evidence of graft-versus-tumor effect. *Haematologica*. 2004 Mar;89(3): 372-4.

2. 学会発表

1. Akiyoshi Takami, Chiharu Sugimori, Xingmin Feng, Honbo Wang, Yoshiki Akatsuka, Kiyotaka Kuzushima, Shintaro Shiobara, Shinji Nakao: Identification of HLA-A*2402-Restricted Polymorphic Peptides Derived from CD62L that May Mediate Graft-Versus-Leukemia Effect. The American Society of Hematology 45th Annual Meeting and Exposition. December 6-9, 2003. San Diego, California
2. Tatsuya Chuhjo, Wang Hongbo, Ken Ishiyama, Shinji Nakao: Genomic Instability Is Less Accelerated in Bone Marrow Failure Patients with a Minor Population of Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria

- (PNH)-Type Blood Cells Than in Those without Such PNH-Type Cells. The American Society of Hematology 45th Annual Meeting and Exposition. December 6-9, 2003. San Diego, California
3. Chiharu Sugimori, Tatsuya Chuhjo, Honbo Wang, Xingmin Feng, Shinji Nakao: Roles of HLA-DR15 Alleles in the Immune Mechanisms of Acquired Aplastic Anemia: Methods of Contribution Differ Between DRB1*1501 and DRB1*1502. The American Society of Hematology 45th Annual Meeting and Exposition. December 6-9, 2003. San Diego, California
 4. Xingmin Feng, Tatsuya Chuhjo, Takeharu Kotani, Hiroyuki Takamatsu, Chiharu Sugimori, Akiyoshi Takami, Hirohito Yamazaki, Shinji Nakao: Diazepam-Binding Inhibitor Related Sequence-1 (DRS-1): A Candidate Autoantigen in Acquired Aplastic Anemia. The American Society of Hematology 45th Annual Meeting and Exposition. December 6-9, 2003. San Diego, California

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
該当なし
2. 実用新案登録
該当なし
3. その他
該当なし

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（再生医療分野）
分担研究報告書

『分担研究課題名：造血幹細胞移植臨床試験検証システムの確立』

大橋 靖雄 東京大学大学院 医学系研究科 生物統計学/疫学・予防保健学 教授

骨髓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
～骨髓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～

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髓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同種造血幹細胞移植（ミニ移植）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）の輸入販売会社に対して適応症追加申請を行うよう要請し、本研究成果の社会への還元を図ることを念頭においており、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髓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、適応症追加申請を要請し、本研究成果の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を対象とする。対

象疾患は、急性骨髓性・リンパ性白血病（第一・第二寛解期）、慢性骨髓性白血病（第一・第二慢性期）、又は骨髓異形成症候群（FAB分類のRA, RARSのうち、好中球 $500/\mu\text{l}$ 未満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（骨髓中の芽球が5%未満、末梢血中の芽球無、骨髓低形成でない、髄外病変無を4週間以上維持していること）とし、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過程と、採取した造血幹細胞をレシピエントへ輸注する過程の2つの過程より構成される為、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、本登録では、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 群へ、ランダム割り付けを行う。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、有効性及び安全性の観点から評価を行う。

3. 症例数；全 60 症例(各群 30 症例)

4. 研究期間；平成 13 年 7 月より平成 15 年 12 月まで(→C の 2 参照；平成 17 年 12 月までに変更)

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
- (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・骨髄検査などによる原疾患の評価。
- (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レビュー
- (2) 調査票・データベース作成
- (3) 登録・割付業務
- (4) 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
- (5) 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)

(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、結果

1. 研究開始時期、登録状況；平成13年11月より登録開始し、平成16年1月末現在、仮登録症例数、本登録症例数は目標60症例中、各々39例、30例である。試験中止/終了症例は、移植関連合併症による死亡(間質性肺炎1例、アデノウイルス感染症1例、閉塞性細気管支炎増悪に対する呼吸器管理中の感染症1例、敗血症2例)の5例である。

2. プロトコル、調査票、データベースの改定；プロトコルの改定は最小限に留めるべきであるが、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、我が国では本試験がはじめての試みでもあり、その観点からプロトコルなどの改定を行う必要が生じ、適切な手順を踏んでプロトコル及び関連資料の改訂を行ってきた。本年度の最も重要な改訂は、試験期間の延長と、中間レビューシステムの導入に関するものである。登録開始から現時点までの登録数の推移から、登録・観察期間の延長の可能性について検討が必要となった。又、ミニ移植は現在でも世界中で検討が進められており、プロトコル立案の段階から、様々な知見が明らかにされつつあり、以下に示す理由から、評価方法などの見直しの必要性についても検討が必要となった。(1) リン酸フルダラビンなどプリン誘導体を用いたミニ移植療法自体が、本試験開始以降、短期間のうちに適応の有無と無関係に末梢血幹細胞移植の主流になりつつあるという状況(メーリングリストを用いたアンケート調査結果に基づく)が明らかになった。(2) 治療の安全性に関しても、良好な成績である事が国立がんセンターの feasibility study の結果より明らかになった。更に 50 歳以下の骨髄破壊的移植と遜色ない成績が得

られつつあることも報告され、既に日常診療として定着しつつある現状が明らかになってきている。(3)一部の都道府県では、このようなミニ移植の増加に伴い、前処置薬のリン酸フルダラピンが既に保険償還されており、医療の不平等が問題になっている。(4)試験開始前の予測と異なり、ミニ移植の場合には、早期の完全キメラ達成(造血細胞が完全にドナー由来のものに置き換わる状態)が必須ではないことが分かってきた。部分キメラ状態(造血細胞が完全にドナー由来のものに置き換わらず、レシピエント由来の細胞が残存する状態)であっても、多くの患者は特に処置することなく、やがて完全キメラを達成する。臨床経験の蓄積の無い段階で企画された当該試験のプロトコールに従って患者管理を施した場合、体力の弱い高齢者に無理を強いてGVHDを意図的に誘導してしまっている懸念が生じた。以上より、目標症例数の約半数例が集まった段階で、移植後100日までの中間成績について医学的見地から安全性・有効性を評価することの意義が大きいと考えられたため、総括責任医師より、効果安全性評価委員に提議書を提出し、これが了承された。

3. 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15年度2月7日、6月13日、平成16年2月6、7日に行われた高上班・原田班合同班会議、原田・谷口・高上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。
- (2) 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、以後、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、中央検査を担当する検査会社、及び安全性情報を共有する製薬企業などと研究契約を締結した上で、連絡網や検体搬送システム、有害事象取扱いシステムを確立・運用してきている。

(4) 調査票検討；未施行であるが、調査票を回収した後、調査票検討を行い、問題点の抽出と啓蒙につとめる予定である。

- (5) 施設訪問モニタリング；平成15年1月27日に登録第1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い、その後合計6症例の施設訪問モニタリングを行ってきた。これらのモニタリング作業内容及び問題点などに関する、他施設への啓蒙を兼ねた講演を、平成15年度2月7日、6月13日、平成16年2月6、7日に行われた高上班・原田班合同班会議、原田・谷口・高上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。
- (6) 施設訪問監査；J-CRSU データセンターとは独立した監査部門による調査を今後予定している。

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れて用いられており、毒性が強くなること、未承認医薬品が多く使用されていること等である。このような状況下で、「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。

これまでの検討において、以下の問題点を明らかにしてきた。

- (1) 急送報告すべき報告対象が、未承認医薬品を用いる治験と、既承認医薬品を用いる市販後臨床試験では異なる為、両医薬品が混在する多剤併用療法・集学的治療法を評価する事の多い医師主導臨床試験を実施する場合には、いずれの基準に従うべきかという点がこれまで不明瞭であったという問題点を示した。十分なデー

タに基づく根拠が無い場合、現時点ではより被験者にとり安全な方法を採用し、市販後の規定に倣い、地道にデータを蓄積していく作業が必要であることを示した。

- (2) 副作用の予見性を判断する際の資料について、治験と市販後臨床試験では規定が異なり、両者の情報量が大きく異なること、未・既承認医薬品が混在する場合の対応が不明瞭であることの2つの問題を示した。被験者にとり安全な市販後の規定を採用し、医薬品の添付文書情報を用いてデータを蓄積する作業の必要性を示した。
- (3) 副作用の程度を表す指標で、厚生労働省から示されている重篤度分類基準は、評価者の主観によるものであること、また日本独自の指標であることなどから、より客観的で海外との共有可能な毒性基準の導入が必要であることを示した。又、抽出すべき毒性の程度の設定には、患者背景情報や治療内容などを加味する必要があることを示した。
- (4) 急送報告の手順や、部門間の協力体制がこれまで未確立であったという問題を示した。各部門毎の役割の明確化と、部門間の利害関係を含めた契約の問題、及び連絡網とその具体的な安全性情報の流れを示した。これについては、今後、運用の実施可能性と適切性でその妥当性を判断することとしている。
- (5) 有害事象通常報告に関して、医師主導臨床試験の特性や、実際の運用を通じて、情報量の膨大化の問題と、その中に医学的に重要とならない事象が含まれている可能性を示した。企業主導の治験で得られたデータの転帰調査を行い、報告すべき事象の閾値を設定することが、医学的に問題なく行えることを示した。これに

より、情報量の軽減も期待でき、効率性の面からも有効である可能性が示された。

- (6) 併用薬情報収集に関して、医師主導臨床試験の特性や、実際の運用を通じて、情報量の膨大化の問題と、その中に医学的に重要とならない事象が含まれている可能性を示した。企業主導の治験で得られたデータの特性を詳細に分析し、報告除外医薬品の設定や、報告すべき医薬品の設定を行う事が医学的に問題なく行える可能性を示した。これにより、情報量の軽減の可能性があるが、効率性の面からも有効であることが示された。

以上、造血幹細胞移植領域における医師主導の臨床試験を、既存のシステムを適用して実施した場合の、安全性情報収集に関する問題点を明らかにし、それに対する具体的な解決策を示した上で、同じ造血幹細胞移植領域の患者を対象とし、質の保たれた企業主導の治験を通じて得られた安全性情報に関するデータを詳細に分析した参考資料を以って、より適切な安全性情報管理システムの確立を目指し努めてきた。本研究は、近年、新たに確立された概念である、医師主導の治験を行う上で重要な、臨床試験実施体制の整備に多大な貢献をなすと考えられ、J-CRSU データセンターとしてもこれに協力していく予定である。

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ようやく30例に到達したところである。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。今後も継続する必要がある。試験参加施設の増加、症例紹介元の施設や移植後経過観察の為の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きており、これらに対

応可能なシステムの構築も必要である。

2. 信頼性調査；調査票レビュー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。方法論や体制についても検討を加える必要がある。

3. 適切かつ効率的な有害事象取り扱いに関するデータベースの構築を進める必要がある。

E. 研究発表

未発表

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（再生医療分野）
分担研究報告書

『分担研究課題名：造血幹細胞移植臨床試験検証システムの確立』

大橋 靖雄 東京大学大学院 医学系研究科 生物統計学/疫学・予防保健学 教授

骨髓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
～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～

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髓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)の適応症追加申請を想定しており、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髓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、通常の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、ミニ移植が通常の移植法よ

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, MBL, 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 療法に対する反応性が 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 つの過程よりなる為、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(I-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検討
- (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、結果

1. 研究開始時期/登録状況;

平成14年11月より登録を開始し、平成15年12月末現在、試験審査委員会承認施設25施設。本登録/目標症例数は6/30例である。

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。両者の手順書を作成も行った。

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。又、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・配布し、各試験実施施設での対応状況についても把握するよう努めている。

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15年度2月7日、6月13日、平成16年2月6、7日に行われた高上班・原田班合同班会議、原田・谷口・高上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等を行っている。

(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) 調査票検討；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。

(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。全例全項目調査を行うか否かについては、現在検討中である。

(6) 施設訪問監査；施設訪問モニタリングやSDVの結果等も含め、監査の内容、時期については、現在検討中である。

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。

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 15 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1年以上経過した段階で登録症例が6/30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データセンターとしては、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の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事が予測されるため、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

と考えている。

2. 信頼性調査；

調査票検討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。昨今、医師主導の治験の実施の基準が策定された。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も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

未発

『分担研究課題名：造血幹細胞の加齢と造血・免疫機能再構築に関する検討』
河野 嘉文 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科／小児発達機能病態学分野 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を想定して開発研究されている。本研究は小児例での骨髄非破壊的前処置法を用いた同種幹細胞移植術の確立を目指している。免疫療法として実施される同種造血細胞移植術は、小児固形腫瘍では頻度、化学療法感受性、予後などを考慮して骨肉腫、横紋筋肉腫をはじめとする骨軟部腫瘍が対象の中心となる。難治性神経芽腫例に施行された従来の移植法の結果では、HLA 不適合ドナーからの移植例しか長期生存できていない。小児例では腫瘍増殖が速いことと移植後の免疫寛容が成立しやすいことから、同種移植術後の抗腫瘍免疫が得られにくいのではないかと考えられた。成人例と異なり小児例では HLA 不適合ドナーからの移植が臨床応用されつつあり、その合併症の軽減のためには骨髄非破壊的前処置法は有用である。小児固形腫瘍の免疫療法としては HLA 不適合ドナーからの造血細胞移植が有用でありと予測され、今後はドナーの選別方法と免疫学的効果の関係を科学的に証明することが重要である。

A. 研究目的

難治性の転移性固形腫瘍患者において同種造血細胞移植術による抗腫瘍効果(GVT 効果)を確認した報告が相次いでいる。しかしながら、その効果持続期間や効果が発現しやすい疾患が確立されたわけではない。従来、がん免疫療法として試みられてきた治療法の結果と比較すると、本法は極めて迅速な効果発現が期待できるが、施行時の合併症は大きいと考えておく必要がある。

免疫療法の目的で難治性の小児固形腫瘍患者に同種末梢血幹細胞術(PBSCT)または同種骨髄移植術(BMT)を施行することを最終目的とし、同種造血細胞移植術後の免疫機能回復や小児ドナーからの末梢血幹細胞動員効率などを研究してきた。GVT 効果発現のためにはレシピエントの免疫機能再構築が問題になるが、PBSCT と BMT では再構築過程に差がないことも確認した。一方、若年者における造血細胞移植術では、GVT 効果発現の一つの目安である GVHD は一般的に重篤化しないことも知られ、従来から同種造血細胞移植術が実施されてきた神経芽腫においては、GVT 効果をえられないという否定的な報告が

なされてきた。しかしながら、これは従来の造血細胞移植術の基本理念である HLA 一致同胞ドナーからの移植術を前提としているため、必ずしも同種造血細胞移植術の GVT 効果を否定するものではない。

以上のような背景で、小児難治性固形腫瘍患者における骨髄非破壊的前処置を用いた同種造血細胞移植術について、その有用性の検証と将来的な臨床研究立案のためのデータ蓄積を本研究の目的とした。

B. 研究方法

1) 小児固形腫瘍患者における骨髄非破壊的造血細胞移植術:平成 15 年 4 月 1 日より平成 16 年 2 月 29 日までの間に、鹿児島大学病院小児科で治療している神経芽腫を除く難治性固形腫瘍患者 7 例において、再発が確認された段階で免疫療法としての本法を提示して説明した。7 例中 4 例では HLA 検索までに承諾がえられないか、病勢の進行によって対象外となった。残り 3 例で兄弟間の HLA 検索を実行し、提供に同意する HLA 一致同胞ドナーが得られた骨肉腫例において同種 PBSCT を施行した。症例は左