

200400074A

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

アレムツズマブを用いたHLA二座以上不一致血縁ドナーからの
同種造血幹細胞移植療法の開発に関する研究

平成16年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 神田 善伸

平成17年(2005)3月

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

アレルツズマブを用いたHLA二座以上不一致血縁ドナーからの
同種造血幹細胞移植療法の開発に関する研究

平成16年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 神田 善伸

平成17年(2005)3月

目 次

I.	総括研究報告	
	アテムツズマブを用いた HLA 二座以上不一致血縁ドナーからの同種造血幹細胞移植療法の開発に関する研究	
	東京大学医学部附属病院無菌治療部 神田善伸	1
II.	分担研究報告	
1.	アテムツズマブを用いた HLA 二座以上不一致血縁ドナーからの同種造血幹細胞移植療法の開発に関する研究	
	東京大学医学部附属病院無菌治療部 神田善伸	7
2.	末梢血幹細胞採取の安全性の検討	
	九州大学大学院医学研究院・臓器機能部門内科学講座・病態修復内科学分野 原田実根	11
3.	母子間免疫寛容を利用した 1 ハプロタイプ不適合移植後の重症 GVHD と拒絶の経験	
	金沢大学大学院医学系研究科細胞移植学 中尾眞二	16
4.	臓器障害を有する患者の HLA 不一致移植の安全性の検討	
	国家公務員共済組合連合会虎の門病院血液科 谷口修一	19
5.	小児患者の HLA 不一致移植の安全性の検討	
	独立行政法人国立病院機構臨床研究 岡村純	22
6.	HLA 不一致移植の移植診療	
	日本赤十字社医療センター血液内科 鈴木憲史	24
7.	高齢者 HLA 不一致移植の安全性の検討	
	国立がんセンター中央病院 臨床検査部細菌免疫検査室 森慎一郎	26
III.	研究成果の刊行に関する一覧表	29
IV.	研究成果の刊行物・別刷	35

I . 総括研究報告

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

アレムツズマブを用いた HLA 二座以上不一致血縁ドナーからの
同種造血幹細胞移植療法の開発に関する研究

主任研究者 神田 善伸
東京大学医学部附属病院 無菌治療部 特任講師（病院）

研究要旨

1960年代のHLAの概念の発見以降、同種造血幹細胞移植は科学的な治療法として発展し、HLA一致同胞ドナーからの移植は様々な難治性造血器疾患の標準治療となっている。しかし、日本を含め、少子化の進む先進国においてHLA一致同胞ドナーが得られる確率は30%程度にすぎない。HLA一致同胞ドナーが得られない場合には、HLA不一致血縁者間移植や非血縁者間移植、臍帯血移植などが候補に挙げられる。この中で、HLA不一致血縁者間移植のすぐれている点は、コーディネートに要する時間が短いことと、移植後にドナーリンパ球輸注などを行う際に速やかに細胞をえられることである。ドナーと患者の間にHLAの不一致が存在すると、お互いをより強く非自己であると見なすことによって、移植片拒絶と移植片対宿主病(graft-versus-host disease; GVHD)の頻度が増加する。そこで、本研究班ではアレムツズマブを用いた移植方法の開発を計画した。アレムツズマブはリンパ球などの細胞の表面に存在するCD52に対するモノクローナル抗体である。移植前処置と併用することによって、アレムツズマブはまず患者のリンパ球を抑制して移植片拒絶を抑制し、さらに移植後も有効血中濃度が維持されるため、ドナーのリンパ球も抑制してGVHDを予防するという方法である。東京大学医学部附属病院無菌治療部18症例のパイロット試験を行い、Grade III以上の重症急性GVHDの発症を1例のみに抑制することに成功した。そこで、アレムツズマブを用いたHLA不一致移植を改正GCP(good clinical practice)に則った医師主導治験として行うことにより、より信頼性の高いデータを得るとともに、本試験で品質保証されたデータに基づいて適応承認申請を行い、多くの国民に利益をもたらす。もし、HLAが二座以上異なる血縁ドナーからの同種造血幹細胞移植が可能になれば、ほとんどの患者が同種造血幹細胞移植療法の恩恵を受けることができるようになる。

平成16年度は臨床試験計画書、同意説明文書、症例報告書の作成(主任研究者および分担研究者大橋、原田、中尾、高上、谷口)、データベースの構築(日本臨床試験支援ユニットに委託)、医薬品機構への医師主導治験実施の相談、各施設の審査機関での試験の承認(主任研究者および分担研究者の原田、中尾、谷口、岡村、鈴木)、治験の届け出を行う予定であったが、実際に、東京大学医学部附属病院、金沢大学医学部附属病院、日本赤十字社医療センターの各審査委員会の承認を受け、平成16年11月5日に治験届けを提出した。平成17年1月に治験を開始し、平成20年4月に治験を終了する。治験は多施設共同で行われ、主任研究者および分担研究者の施設

が参加する。臨床治験の定期モニタリング、データ管理は日本臨床試験支援ユニットに委託する。平成 18 年度に施設訪問監査を行い、データの品質保証を行う(日本臨床試験支援ユニットに委託)。主任研究者は分担研究者大橋とともにデータの解析を行い、アレムツズマブを用いた HLA 二座以上不一致血縁者間移植の安全性、有効性が確認できた場合には、主任研究者はこれらのデータを用いて適応承認申請を行う。

分担研究者

原田 実根
九州大学大学院
病態修復内科学 教授
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 教授
中尾 眞二
金沢大学大学院医学系研究科
細胞移植学 教授
谷口 修一
国家公務員共済組合連合会
虎の門病院血液科 部長
岡村 純
国立病院九州がんセンター
臨床研究部 部長
鈴木 憲史
日本赤十字社医療センター
血液内科 部長
森 慎一郎
国立がんセンター中央病院
特殊治療部 医員
千葉 滋
東京大学医学部附属病院
無菌治療部 助教授
小川 誠司
東京大学医学部附属病院
造血再生医療講座 客員助教授

A. 研究目的

同種造血幹細胞移植の最大の合併症は移植片対宿主病(GVHD)である。特に HLA の不一致が存在する移植では致死的な GVHD の頻度が上昇する。そこで、我々はアレムツズマブに注目した。アレムツズマブはリンパ球などの細胞の表面に存在する CD52 に対するモノクローナル抗体である。移植前処置と併用することによって、拒絶と GVHD の両方を予防する薬剤としても注目されている。移植前処置とともに投与されたアレムツズマブはまずホストのリンパ球を抑制して拒絶を予防し、さらに移植後も 2 ヶ月程度有効血中濃度が維持されるため、ドナーのリンパ球を抑制して GVHD を予防する。本試験の目的は、他に有効な治療法を持たない造血器疾患患者で、かつ、HLA 適合または一座不一致の血縁・非血縁ドナーを有さない患者を対象とし、アレムツズマブを用いて移植片拒絶と重症の移植片対宿主病(graft-versus-host disease; GVHD)を防ぐことによって、HLA 二座以上不一致の血縁ドナーからの同種造血幹細胞移植を安全に行うことが可能であることを示すことである。また、アレムツズマブは本邦未承認薬であるため、本臨床試験は改正 GCP(good clinical practice)基準に則って医師主導治験として行う。アレムツズマブを用いた HLA 二座以上不一致血縁者間移植の安全性と有効性が証明された場合には、本試験で品質保証

されたデータに基づいてアレムツズマムの移植前処置薬としての適応承認申請を行い、多くの国民に利益をもたらすことを目的とする。分担研究としては、HLA 二座以上不一致血縁者間移植に必要な健常ドナーからの大量の末梢血幹細胞採取の安全性を検討するとともに(原田)、この移植方法がどのような患者に適応できるかを探索するため、小児患者における HLA 不一致の影響(岡村)、高齢患者に対する非血縁者間骨髄移植の移植成績(森)、母子間免疫寛容を利用した HLA 不一致移植の安全性(中尾)、臍帯血移植の安全性(谷口)について検討した。鈴木らは重篤な移植合併症のひとつである肝中心静脈閉塞症(VOD)の管理法について研究した。

B. 研究方法

対象となる患者は、他に有効な治療法を持たない造血器疾患を有するものの、HLA 一致または一座不一致の血縁・非血縁ドナーがいないうがために、根治的な同種造血幹細胞移植を行うことができない 16~65 歳の患者であり、HLA 二座以上不一致の二親等以内の血縁ドナーを有する患者である。各施設の担当医師は本試験に登録可能と判断される患者およびドナーがいる場合、患者およびドナーから同意を取得した後に定められた手順で登録を行う。

移植前処置は、自家移植の既往のない 55 歳未満の患者においては通常の移植で行われるシクロホスファミド(60 mg/kg を 2 日間)と全身放射線照射(2Gy を 1 日 2 回、3 日間)に加えてアレムツズマブを患者体重あたり 0.2 mg/kg を 6 日間併用(移植 8 日前から 3 日前まで)する。自家移植の既往のある患者あるいは 55 歳以上の高齢患者においては、リン酸フルダラビン(30 mg/m² を 6 日間)、ブスルファン

(4 mg/kg を 2 日間)、少線量全身放射線照射(2Gy を 1 日 2 回、1 日間)とアレムツズマブを併用する。ドナーから採取した末梢血幹細胞を前処置終了後に輸注する。移植後の免疫抑制はシクロスポリンとメトトレキサートの併用で行う。

主要評価項目は移植後 60 日以内の生着不全およびグレード III 以上の急性 GVHD の発症率とし、副次的評価項目として、移植後 1 年後の生存率、無増悪死亡率、移植前処置関連毒性、感染症発症率を評価する。

アレムツズマブの投与量は 0.20 mg/kg/day から開始し、分担研究者の大橋靖雄らが開発した方法により、連続再評価法に従って逐次投与量を変更し、推奨用量を決定する。

分担研究としては、原田らは 2 回の末梢血幹細胞採取を行った健常人ドナーの安全性、採取効率を、日本造血細胞移植学会のドナーフォローアップ事業に登録されたドナーの資料などを用いて調査した。岡村らは HLA 不一致移植を行った小児患者の治療成績を HLA 一致同胞間移植や HLA 一致非血縁者間移植の治療成績と比較した。森らは年齢の中央値が 55 歳の高齢者 17 例に対して非血縁者間同種骨髄移植を行い、その安全性を評価した。中尾らは母子間免疫寛容が成立しえる HLA 不一致造血幹細胞移植を通常の GVHD 予防法を用いて 5 症例に対して行った。谷口らは 150 例の臍帯血ミニ移植の治療成績の解析を行った。鈴木らは移植後肝 VOD に対して prostaglandin E₁(PGE₁) 0.3 μg/kg/hr を用いた治療を行った。

C. 研究結果

東京大学医学部附属病院無菌治療部で同治療法のパイロット試験を行った。18 症例に対して HLA 二座以上不一致血縁者間移植を行い、

グレード III 以上の急性 GVHD 発症頻度を 1 例のみに抑制することに成功した(同パイロット試験については英文専門誌に発表)。そこで、本試験では改正 GCP 基準に則った医師主導治験として行うことにより、アレムツズマブの適応承認申請を行う。

平成 15 年度から作成を開始した臨床試験計画書、同意説明文書について、平成 16 年 2 月 26 日に医師主導臨床試験の実行に関して、医薬品副作用被害救済・研究振興調査機構との治験相談を行い、指摘された事項について、平成 16 年度に試験計画書について必要な修正を加えた。その後、症例報告書の作成、データベースの構築(日本臨床試験支援ユニットに委託)、医薬品機構への医師主導治験実施の相談、各施設の審査機関での試験の承認を経て、平成 16 年 11 月に治験届を提出した。平成 17 年 1 月に治験を開始した。治験は多施設共同で行われ、主任研究者および分担研究者の施設が参加する。臨床治験の定期モニタリング、データ管理は日本臨床試験支援ユニットに委託する。平成 18 年度に施設訪問監査を行い、データの品質保証を行う。

分担研究では、原田らは 2 回目の採取時の有害事象の頻度・重症度は 1 回目の採取時と同程度であるが、CD34 陽性細胞の採取量が若干減少することを示した。岡村らは少数例の検討ながら小児領域では一座不一致血縁者間移植によって HLA 一致非血縁者間移植とほぼ同等の成績が得られることを示した。森らは高齢者に対する非血縁者間骨髄移植はドナー細胞の生着は得られるが、Grade II 以上の GVHD の出現頻度が 48%と高く、GVHD 予防法の改善の必要性が示唆された。中尾らは母子間免疫寛容に基づいた HLA 不一致造血幹細胞移植を 5 症例に行ったが、2 症例に

Grade III 以上の重症 GVHD、1 症例に移植片拒絶が認められ、母子間免疫寛容が成立していると想定される HLA 不一致移植においても、通常の免疫抑制療法だけでは不十分であると考えられた。谷口らは臍帯血ミニ移植によって 87.1%の患者に好中球の生着を確認し、2 年生存率は 32.4%であった。鈴木らは移植後中等症肝 VOD の 1 症例に対して PGE₁ を用いた治療を行い、肝 VOD の寛解を得た。

D. 考察

森、中尾らの解析結果から、アレムツズマブを用いた GVHD 予防が様々な造血幹細胞移植の局面において必要とされることが示された。本臨床試験は改正 GCP(good clinical practice)に則って医師主導治験として行うことにより、より信頼性の高いデータを得るとともに、本試験で品質保証されたデータに基づいて適応承認申請を行い、多くの国民に利益をもたらす。

E. 結論

本試験の結果として、アレムツズマブを用いることによって HLA 不一致同種造血幹細胞移植の安全性が高まることが示されれば、適切なドナーがいなかったために移植を受けることが出来ない多くの患者についても、同種造血幹細胞移植療法を適応することが可能となる。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

◆論文発表

1. Natsu Ogawa, Yoshinobu Kanda, Mari Matsubara, et al. Increased incidence of acute graft-versus-host disease with the continuous infusion of cyclosporine A compared to twice-daily infusion. Bone Marrow Transplantation

- 33:549-552,2004.
2. Mamiko Sakata-Yanagimoto, Yoshinobu Kanda, Masahiro Nakagawa, et al. Predictors for severe cardiac complications after hematopoietic stem cell transplantation. Bone Marrow Transplantation 33:1043-1047,2004
 3. Koji Izutsu, Yoshinobu Kanda, Hitoshi Ohno, et al. Unrelated bone marrow transplantation for non-Hodgkin's lymphoma. A study from the Japan Marrow Donor Program. Blood 103:1955-1960,2004
 4. Yoshinobu Kanda, Koji Izutsu, Hisamaru Hirai, et al. Effect of graft-versus-host disease on the outcome of bone marrow transplantation from an HLA-identical sibling donor using GVHD prophylaxis with cyclosporine A and methotrexate. Leukemia 18:1013-1019,2004
 5. Masahito Kawazu, Yoshinobu Kanda, Yasuhito Nannya, et al. Prospective comparison of the diagnostic potential of real-time PCR, double-sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for galactomannan, and a (1->3)-beta-D-glucan test in weekly screening for invasive aspergillosis in patients with hematological disorders. Journal of Clinical Microbiology 42:2733-2741,2004
 6. Akiko Hori, Yoshinobu Kanda, Susumu Goyama, et al. A prospective trial to evaluate the safety and efficacy of pravastatin for the treatment of refractory chronic graft-versus-host disease. Transplantation 79:372-374,2005
 7. Kunihisa Nakai, Yoshinobu Kanda, Shirou Fukuhara, et al. Value of chemotherapy before allogeneic hematopoietic cell transplantation from an HLA-identical sibling donor for myelodysplastic syndrome. Leukemia 19:396-401,2005
 8. Yoshinobu Kanda, Yutaka Komatsu, Masaaki Akahane, et al. Graft-versus-tumor effect against advanced pancreatic cancer after allogeneic reduced-intensity stem cell transplantation. Transplantation (in press)
 9. Yoshinobu Kanda, Kumi Oshima, Yuki Asano-Mori, et al. In vivo alemtuzumab enables haploidentical HLA-mismatched hematopoietic stem cell transplantation without ex vivo graft manipulation. Transplantation (in press)
- ◆学会発表
1. Yoshinobu Kanda. Strategy for HLA-mismatched transplantation. 1st International Workshop on Non-myeloablative Stem Cell Transplantation Japan. Atami February, 2004
- H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

II. 分担研究報告

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）
分担研究報告書

アレムツズマブを用いた HLA 二座以上不一致血縁ドナーからの同種造血幹細胞
移植療法の開発に関する研究

主任研究者 神田 善伸 東京大学医学部附属病院 無菌治療部 特任講師（病院）
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 教授
分担研究者 千葉 滋 東京大学医学部附属病院 無菌治療部 助教授
分担研究者 小川 誠司 東京大学医学部附属病院造血再生医療講座 客員助教授

研究要旨

東京大学医学部附属病院無菌治療部でアレムツズマブを用いた HLA 二座以上不一致血縁ドナーからの同種造血幹細胞移植療法のパイロット試験を行った。18 症例に対して HLA 二座以上不一致血縁者間移植を行い、グレード III 以上の急性 GVHD 発症頻度を 1 例のみに抑制することに成功した。そこで、改正 GCP 基準に則った医師主導治験として同治療法の臨床試験を行うことにより、アレムツズマブの適応承認申請を行うことを計画した。平成 16 年度には医薬品副作用被害救済・研究振興調査機構との治験相談を経て試験計画書について必要な修正を加えた。その後、症例報告書の作成、データベースの構築、医薬品機構への医師主導治験実施の相談、各施設の審査機関での試験の承認を経て、平成 16 年 11 月に治験届を提出し、平成 17 年 1 月に治験を開始した。治験は多施設共同で行われ、主任研究者および分担研究者の施設が参加する。

A. 研究目的

同種造血幹細胞移植の最大の合併症は移植片対宿主病 (GVHD) である。特に HLA の不一致が存在する移植では致死的な GVHD の頻度が上昇する。そこで、我々はアレムツズマブに注目した。アレムツズマブはリンパ球などの細胞の表面に存在する CD52 に対するモノクローナル抗体である。移植前処置と併用することによって、拒絶と GVHD の両方を予防する薬剤としても注目されている。移植前処置とともに投与されたアレムツズマブはまずホストのリンパ球を抑制して拒絶を予防し、さらに移植後も 2 ヶ月程度有効血中濃度が維持されるため、ドナーのリンパ球を抑制して GVHD

を予防する。本試験の目的は、他に有効な治療法を持たない造血器疾患患者で、かつ、HLA 適合または一座不一致の血縁・非血縁ドナーを有さない患者を対象とし、アレムツズマブを用いて移植片拒絶と重症の移植片対宿主病 (graft-versus-host disease; GVHD) を防ぐことによって、HLA 二座以上不一致の血縁ドナーからの同種造血幹細胞移植を安全に行うことが可能であることを示すことである。また、アレムツズマブは本邦未承認薬であるため、本臨床試験は改正 GCP (good clinical practice) 基準に則って医師主導治験として行う。アレムツズマブを用いた HLA 二座以上不一致血縁者間移植の安全性と有効性が証明

された場合には、本試験で品質保証されたデータに基づいてアレムツズマムの移植前処置薬としての適応承認申請を行い、多くの国民に利益をもたらすことを目的とする。

B. 研究方法

対象となる患者は、他に有効な治療法を持たない造血器疾患を有するものの、HLA 適合または一座不一致の血縁・非血縁ドナーがないがために、根治的な同種造血幹細胞移植を行うことができない 16~65 歳の患者であり、HLA 二座以上不一致の二親等以内の血縁ドナーを有する患者である。各施設の担当医師は本試験に登録可能と判断される患者およびドナーがいる場合、患者およびドナーから同意を取得した後に定められた手順で登録を行う。

移植前処置は、自家移植の既往のない 55 歳未満の患者においては通常の移植で行われるシクロホスファミド (60 mg/kg を 2 日間) と全身放射線照射 (2Gy を 1 日 2 回、3 日間) に加えてアレムツズマブを患者体重あたり 0.2 mg/kg を 6 日間併用 (移植 8 日前から 3 日前まで) する。自家移植の既往のある患者あるいは 55 歳以上の高齢患者においては、リン酸フルダラビン (30 mg/m² を 6 日間)、ブスルファン (4 mg/kg を 2 日間)、少線量全身放射線照射 (2Gy を 1 日 2 回、1 日間) とアレムツズマブを併用する。ドナーから採取した末梢血幹細胞を前処置終了後に輸注する。移植後の免疫抑制はシクロスポリンとメトトレキサートの併用で行う。

主要評価項目は移植後 60 日以内の生着不全およびグレード III 以上の急性 GVHD の発症率とし、副次的評価項目として、移植後 1 年後の生存率、無増悪死亡率、移植前処置関連毒性、感染症発症率を評価する。

アレムツズマブの投与量は 0.20 mg/kg/day から開始し、分担研究者の大橋靖雄らが開発した方法により、連続再評価法に従って逐次投与量を変更し、推奨用量を決定する。

C. 研究結果

東京大学医学部附属病院無菌治療部で同治療法のパイロット試験を行った。18 症例に対して HLA 二座以上不一致血縁者間移植を行い、グレード III 以上の急性 GVHD 発症頻度を 1 例のみに抑制することに成功した (同パイロット試験については英文専門誌に発表)。そこで、本試験では改正 GCP 基準に則った医師主導治験として行うことにより、アレムツズマブの適応承認申請を行う。

平成 15 年度から作成を開始した臨床試験計画書、同意説明文書について、平成 16 年 2 月 26 日に医師主導臨床試験の実行に関して、医薬品副作用被害救済・研究振興調査機構との治験相談を行い、指摘された事項について、平成 16 年度に試験計画書について必要な修正を加えた。その後、症例報告書の作成、データベースの構築 (日本臨床試験支援ユニットに委託)、医薬品機構への医師主導治験実施の相談、各施設の審査機関での試験の承認を経て、平成 16 年 11 月に治験届を提出した。平成 17 年 1 月に治験を開始した。治験は多施設共同で行われ、主任研究者および分担研究者の施設が参加する。臨床治験の定期モニタリング、データ管理は日本臨床試験支援ユニットに委託する。平成 18 年度に施設訪問監査を行い、データの品質保証を行う。

D. 考察

本臨床試験は改正 GCP (good clinical practice) に則って医師主導治験として行う

ことにより、より信頼性の高いデータを得るとともに、本試験で品質保証されたデータに基づいて適応承認申請を行い、多くの国民に利益をもたらす。

E. 結論

本試験の結果として、アレムツズマブを用いることによって HLA 不一致同種造血幹細胞移植の安全性が高まることが示されれば、適切なドナーがいないために移植を受けることが出来ない多くの患者についても、同種造血幹細胞移植療法を適応することが可能となる。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

◆論文発表

1. Natsu Ogawa, Yoshinobu Kanda, Mari Matsubara, et al. Increased incidence of acute graft-versus-host disease with the continuous infusion of cyclosporine A compared to twice-daily infusion. *Bone Marrow Transplantation* 33:549-552,2004
2. Mamiko Sakata-Yanagimoto, Yoshinobu Kanda, Masahiro Nakagawa, et al. Predictors for severe cardiac complications after hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplantation* 33:1043-1047,2004
3. Koji Izutsu, Yoshinobu Kanda, Hitoshi Ohno, et al. Unrelated bone marrow transplantation for non-Hodgkin's lymphoma. A study from the Japan Marrow Donor Program. *Blood* 103:1955-1960,2004
4. Yoshinobu Kanda, Koji Izutsu, Hisamaru Hirai, et al. Effect of graft-versus-host disease on the outcome of bone marrow transplantation from an HLA-identical sibling donor using GVHD prophylaxis with cyclosporine A and methotrexate. *Leukemia* 18:1013-1019,2004
5. Masahito Kawazu, Yoshinobu Kanda, Yasuhito Nannya, et al. Prospective comparison of the diagnostic potential of real-time PCR, double-sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for galactomannan, and a (1->3)- β -D-glucan test in weekly screening for invasive aspergillosis in patients with hematological disorders. *Journal of Clinical Microbiology* 42:2733-2741,2004
6. Akiko Hori, Yoshinobu Kanda, Susumu Goyama, et al. A prospective trial to evaluate the safety and efficacy of pravastatin for the treatment of refractory chronic graft-versus-host disease. *Transplantation* 79:372-374,2005
7. Kuniyoshi Nakai, Yoshinobu Kanda, Shirou Fukuhara, et al. Value of chemotherapy before allogeneic hematopoietic cell transplantation from an HLA-identical sibling donor for myelodysplastic syndrome. *Leukemia* 19:396-401,2005
8. Yoshinobu Kanda, Yutaka Komatsu, Masaaki Akahane, et al.

Graft-versus-tumor effect against advanced pancreatic cancer after allogeneic reduced-intensity stem cell transplantation. Transplantation (in press)

9. Yoshinobu Kanda, Kumi Oshima, Yuki Asano-Mori, et al. In vivo alemtuzumab enables haploidentical HLA-mismatched hematopoietic stem cell transplantation without ex vivo graft manipulation. Transplantation (in

press)

◆学会発表

1. Yoshinobu Kanda. Strategy for HLA-mismatched transplantation. 1st International Workshop on Non-myeloablative Stem Cell Transplantation Japan. Atami February, 2004

ℌ 知的財産権の出願・登録状況なし。

厚生科学研究補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）
分担研究報告書

末梢血幹細胞採取の安全性の検討

分担研究者 原田 実根

九州大学大学院医学研究院・臓器機能医学部門内科学講座・病態修復内科学分野 教授

研究要旨

同種末梢血幹細胞移植（PBSCT）は 2000 年 4 月に保険適応が認められて以来、急速に普及しているが、健常人ドナーのアフェレーシス時の安全性や G-CSF 投与後の短長期副作用に対する配慮が重要である。同一ドナーから 2 回目の末梢血幹細胞（PBSC）採取を行う時の安全性、動員効率などに関する報告は限られている。そこで 2000 年 4 月から 2003 年 3 月の間に日本造血細胞移植学会のドナーフォローアップ調査事業に登録された健常人ドナーおよび自主データの中から PBSC 採取を 2 回行った 52 例の検討を行った。2 回目の動員・採取時の短期の毒性は、1 回目の動員と同程度で軽度であった。2 回目の採取における CD34 陽性細胞の採取収率は、1 回目より減少することが多いが、その減少程度は軽度と考えられた。2 回目の採取にて設定した基準値（ 5.0×10^6 CD34+ cells / liter blood processed）以上の収率を得るためには、1 回目の採取から 100 日以上経過していることが寄与し、また 1 回目の採取時の収率がよいことも影響すると考えられた。

A. 研究目的

造血幹細胞移植は白血病やリンパ腫などの造血器腫瘍に対する治癒的治療法の一つであり、近年、幹細胞の採取源やドナーの違いによって多様化している。1980 年代後半より本格的に臨床応用が開始された末梢血幹細胞移植（peripheral blood stem cell transplantation: PBSCT）は、約 20 年を経た現在、骨髄移植に代わる造血幹細胞移植法として確立されつつある。わが国においては、1994 年 4 月より自家 PBSCT、次いで 2000 年 4 月には健常人ドナーからの同種 PBSCT の保険診療が認められた。アフェレーシス時の安全性や G-CSF 投与後の短長期副作用に対する配慮が必要であり、日本造血細胞移植学会・日本輸血学会の両学会合同の「同種末梢血幹細胞移植

のための健常人ドナーからの末梢血幹細胞の動員・採取に関するガイドライン」の改訂版（2000 年 7 月）が公表されている。さらに日本造血細胞移植学会は、同種 PBSCT のための健常人ドナーの G-CSF 投与後の短期、中長期（投与後 1, 2, 3, 4, 5 年）の安全性フォローアップ調査を実施している。

初回の末梢血幹細胞動員・採取後に、移植片の拒絶や原疾患の再発などのレシピエント側の原因により、G-CSF 投与による再動員、再採取が行われる場合があるが、この安全性、動員効率などに関する報告は限られている。そこで本分担研究では造血細胞移植学会の「末梢血幹細胞移植ドナーフォローアップ調査事業」よりのデータ、および調査事業開始前の自主データを用いて、末梢血幹細胞再動員、再採取

が行われた健常人ドナーに関する短期の安全性および 2 回目の幹細胞採取時の収量および収率を調査した。

B 研究方法

2000 年 4 月から 2003 年 3 月の間に造血細胞移植学会の同種 PBSCT ドナーフォローアップ調査事業に登録された延べ 2180 症例中、同一ドナーからの再登録例が 56 例あった。その中で短期調査票を回収済みの 43 例と、本調査事業開始前に調べた自主データ 9 例の計 52 例を今回の解析対象とした。3 段階の重症度に分けた短期の有害事象を、1 コース目と 2 コース目の PBSC 動員・採取で比較した。アフエレーシスの収率 (Apheresis yield [AY]) は $\times 10^6$ CD34+cells/liter blood processed と定義し、1 回目と 2 回目の採取時における AY を、Wilcoxon signed rank test にて検定した。また 2 回目の AY が 5.0 以上という基準を満たすために寄与する因子を、logistic regression を用いて多変量解析した。

C. 研究結果

G-CSF 投与量の間値は $10 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ で、1 回目と 2 回目の PBSC 動員の間隔は 19 日から 728 日 (中間値 140 日) であった (表 1)。

表 1 Donor characteristics

	1st mobilization N	2nd mobilization N
Median age (range), years	43 (12-69)	44 (12-69)
Sex (Male/Female)	29/23	29/23
G-CSF		
Filgrastim	37	35
Lenograstim	11	16
Nartograstim	4	1
G-CSF changed		12
Daily doses of G-CSF		
Single dose	20	20
Two divided doses	25	25
Median dose of	10.0	10.0 (4.2-12.9)

G-CSF (range), $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$	(3.6-13.0)	
Median body weight (range), kg	55.6 (39.9-85.0)	56.0 (39.7-85.0)
Median interval (range) between 1st and 2nd mobilization, days		140 (19-728)

短期の重篤な Adverse effect (AE) は認めず、1 回目と比較して 2 回目の採取時に AE が増加する傾向はなかった (表 2)。

表 2 Adverse effects

	1st mobilization		2nd mobilization	
	Slight / Moderate	N (%)	Slight / Moderate	N (%)
Bone pain	25/9	(48/17)	18/11	(35/21)
Fatigue	15/2	(29/4)	11/1	(21/2)
Headache	12/1	(23/2)	7/1	(13/2)
Insomnia	3/0	(6/0)	2/2	(4/4)
Anorexia	4/0	(8/0)	3/1	(6/2)
Nausea	2/0	(4/0)	0/0	(0/0)
Vomit	1/0	(2/0)	0/0	(0/0)
Splenomegaly	2/0	(4/0)	2/1	(4/2)
Others			Urticaria slight (1)	

処理血液量あたりの総有核細胞数 (TNC) と CD34 陽性細胞の採取量および採取効率は 1 回目と比較して 2 回目の方が有意に少なかった (表 3)。

表 3 Efficacy

	1st mobilization	2nd mobilization	P value
	Median (range)	Median (range)	
AY of CD34+ cells	9.35 (2.71-30.38)	8.14 (1.79-29.76)	0.015
CD34+ cells harvested	0.90 (0.14-3.24)	0.73 (0.15-3.87)	0.03
AY of nucleated cells	25.0 (2.6-57.9)	23.7 (10.0-52.9)	0.004
Nucleated cells harvested	2.38 (0.18-5.68)	2.06 (1.10-4.59)	0.008
Median highest WBC count (range), $/\mu\text{L}$	42950 (22900-62400)	39700 (20400-60500)	0.14
Total number of apheresis			
1	11	13	
2	28	31	
3	12	8	
4	1	0	

多変量解析の結果、2 回目の AY が 5.0 以上という基準を満たすため最も有意な因子は、2 回の動員採取間隔が

100 日以上経過している事と、1 回目の AY が 10.0 以上採取できていた例であった (表 4)。

表 4 Multivariate analysis by logistic regression

Analyzing variables attribute to AY2 *
 5.0×10^6 CD34+cells/liter
 N (AY1 ≤ 5.0) = 8, N (AY1 > 5.0) = 13

	Odds Ratio	95% CI	P value
Interval** 100days	7.84	1.07-57.4	0.04
AY (1) * 10.0	5.35	0.83-34.3	0.08
Sex	0.53	0.06-4.58	0.57
Age	1.00	0.95-1.06	0.89
Body weight	1.10	0.98-1.24	0.11

D. 考察

自家 PBSCT は、従来の自家骨髄移植に比べて、1) 移植後の好中球や血小板の生着が極めて速やかである、2) 造血幹細胞採取に全身麻酔を必要としない、など有利な点が指摘され、ほぼ 100% 自家骨髄移植にとって替わっている。同種 PBSCT も 2000 年 4 月の保険適用以来急速に普及し、2004 年 12 月の時点で 232 施設から 3143 例 (うち重複 73 例) がドナーフォローアップ調査に登録されている。

本分担研究は、2 回目の同種 PBSCT のために再動員、再アフエレーシスが行われた健常人ドナーの短期の毒性を検討した唯一のまとまった報告である。最も心配された 2 回目の動員・採取時の短期の毒性は、1 回目の動員・採取時と同程度で軽度であった。また CD34 陽性細胞の採取収率は 2 回目の方が 1 回目より減少することが多かったが、その減少程度は軽度と考えられた。2 回目の採取にて設定した AY の基準値 5.0×10^6 CD34+ cells / liter (処理血液量 10 リットルで 2 回採取することにより、50kg の患者に対して 2.0×10^6 /kg 以上の CD34 陽性細胞を採取できる量) 以上の収率を得

るためには、1 回目の採取から 100 日以上経過していることが重要で、また 1 回目の採取時の収率がよいことも影響すると考えられた。

移植学会が行った 3143 例のドナーフォローアップ調査のうち、短期の比較的重症な Adverse Effect (AE) を起こしたのは 52 例 (1.7%) と低率であった。内訳は血小板減少 13 例、肝障害 11 例、発熱・感染症 7 例、血管迷走神経反射 (VVR) 2 例、間質性肺炎 2 例、くも膜下出血などの出血が計 3 例などであった。長期合併症として、G-CSF 投与後の急性骨髄性白血病が 1 例、骨髄増殖性疾患が 1 例報告されており、また乳癌などの固形癌の合併も 9 例報告されている。G-CSF の長期毒性に関してはまだ十分に明らかにされておらず、PBSC 採取を 2 回行った健常人ドナーは、G-CSF の総投与量が通常約 2 倍となるため、今後も長期間の観察が必要である。

E. 結論

2 回目の PBSC 動員・採取時の短期の毒性は、1 回目の動員と同程度で軽度であった。2 回目の採取における CD34 陽性細胞の採取収率は 2 回目の方が 1 回目より減少することが多いが、その減少程度は軽度と考えられた。2 回目の採取にて設定した AY の基準値 (5.0×10^6 CD34+ cells / liter blood processed) 以上の収率を得るためには、1 回目の採取から 100 日以上経過していることが寄与し、また 1 回目の採取にての収率がよいことも影響すると考えられた。健常人ドナーにおける末梢血幹細胞採取の安全性の確保は、非血縁ドナーからの同種 PBSCT 実施に向けて大変重要な課題であり、

G-CSF投与後の長期フォロー調査の結果も含めて今後も継続調査が必要である。

G. 研究発表

◆ 論文発表

1. Yamadaki S, Iino T, Nakamura M, Henzan H, Ohshima K, Kikuchi M, Otsuka T, Harada M: Detection of human herpesvirus-8 in peripheral blood mononuclear cells from adult Japanese patients with multicentric Castlemans disease. Br J Haematol 120:471-477,2003
2. Kozuka T, Ikeda K, Teshima T, Yoshida C, Shinagawa K, Kojima K, Matsuo K, Bessho A, Sunami K, Hiramatsu Y, Maeda Y, Noguchi T, Yamamoto K, Fujii N, Imai T, Kusumoto-Kaneda K, Masuda K, Takenaka K, Ishimaru F, Niiya K, Koide N, Tanimoto M, Harada M : Peripheral blood circulating immature cell counts predict CD34+ cell yields in G-CSF-induced PBPC mobilization in healthy donors. Transfusion 44 : 526-532,2004
3. Nagafuji K, Aoki K, Henzan H, Kato K, Miyamoto T, Eto T, Nagatoshi Y, Ohba T, Obama K, Gondo H, Harada M : Cidofovir for treating adenoviral hemorrhagic cystitis in hematopoietic stem cell transplant recipients. Bone Marrow Transplant 34:909-914,2004
4. Gondo H, Himeji D, Kamezaki K, Numata A, Tanimoto T, Takase K, Aoki K, Henzan H, Nagafuji K,

Miyamoto T, Ishikawa F, Shimoda K, Inaba S, Tsukamoto H, Horiuchi T, Nakashima H, Otsuka T, Kato K, Kuroiwa M, Higuchi M, Shibuya T, Kamimura T, Kuzushima K, Tsurumi T, Kanda Y, Harada M : Reconstitution of HLA-A*2402-restricted cytomegalovirus-specific T-cells following stem cell transplantation. Int J Hematol 80 : 441-448,2004

◆ 学会報告

1. 長藤宏司、高瀬謙、平安山英穂、宮本敏浩、塚本浩、堀内孝彦、原田実根 : 難治性自己免疫性疾患に対する自己末梢血純化 CD34 陽性細胞移植、第 41 回日本臨床分子医学会学術集会、2004 年 7 月 17 日、福岡市
2. Tanimoto TE, Shimoda K, Yamaguchi T, Okuma T, Mizoguchi H, Omine M, Niho Y, Harada M : Prognostic Factors in Primary Chronic Myelofibrosis in Patients Aged Less Than 70 Years : A Report on 207 Patients with the Description of a Scoring system and Its Validation on 100 Other Patients. The 46th Annual Meeting of The American society of Hematology. December 4,2004, San Diego, U.S.A
3. Katagiri T, Shibata S, Furukawa T, Tsukada J, Nakao S, Wakano M, Muranaka E, Harada M . : Incompatibilities of HA-1 and

- CD62L Polymorphic Adhesion Molecule Induce Graft-Versus-Leukemia Effect Rather Than GVHD Resulting in Long-Term Survival in HLA Identical Myeloablative Stem Cell Transplantation. The 46th Annual Meeting of The American society of Hematology. December 4,2004, San Diego, U.S.A
4. Yoshimoto G, Nagafuji K, Miyamoto T, Kamimura T, Ohno Y, Taniguchi S, Harada M.: FLT3 Mutations in Normal Karyotype Acute Myeloid Leukemia in First Complete Remission Treated with Autologous Peripheral Blood Stem Cell Transplantation. The 46th Annual Meeting of The American society of Hematology. December 4,2004, San Diego, U.S.A
5. Kamezaki K, Shimoda K, Numata A, Yoshie M, Yamamoto M, Takeda K, Matsuda T, Akira S, Ogawa K, Harada M. : The Roles of Stat3 and ERK in G-CSF Signaling. The 46th Annual Meeting of The American society of Hematology. December 5,2004, San Diego, U.S.A
6. 熱田由子 谷本哲也 河野嘉文 上昌広 日野雅之 丸田老郎 宮腰重三郎 峯石真 谷口修一 森慎一郎 原田実根 小寺良尚 日本造血細胞移植学会：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ワークショップ 2003 年 12 月 20 日、横浜市
7. 福田隆浩、大野祐樹、衛藤徹也、谷本徹也、長藤宏司、青木健一、土持典子、下野信行、原田実根：同種造血幹細胞移植後の播種性トリコスポロン症の 5 例、第 27 回 日本造血細胞移植学会総会、2004 年 12 月 17 日、岡山市
- H. 知的財産権の出願・登録状況
予定も含めてなし

母子間免疫寛容を利用した1ハプロタイプ不適合移植後の重症GVHDと拒絶の経験

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

母子間免疫寛容を利用した1ハプロタイプ不適合ドナーからの造血幹細胞移植 (stem cell transplantation based on feto-maternal microchimerism: SCTFMM) は、HLA 一致ドナーの存在しない症例において、HLA バリヤーを克服する手段の一つとして近年注目され、臨床的な有用性が集積されつつある。当科ではHLA 一致ドナー不在の難治性血液疾患患者5例に対してSCTFMMを行った。5例のうち2例にgrade III以上の急性GVHDが移植後2日から8日の超早期に出現し、うち1例は急性GVHDにて死亡した。移植片の拒絶も1例で認めた。免疫寛容状態にあると考えられる血縁者間の不適合移植においても急性GVHDと移植片拒絶に対して十分な対策を講じることが必要と考えられる。

A. 研究目的

HLA 不一致ドナーからの造血幹細胞移植では、移植片対宿主病 (GVHD) や移植片拒絶に対する対策が移植成功の鍵を握る。この対策としては、T細胞除去、タクロリムスやメチルプレドニゾロンの併用による強力な免疫抑制剤の使用、大量の純化CD34陽性細胞移植などが存在するが、いずれも確立されたものでない。近年、母子間では胎盤を介して免疫担当細胞の交換が起こり、その結果母子間と、母由来のハプロタイプを共有しない同胞間において免疫学的寛容が成立していることを利用した、1ハプロタイプ不適合ドナーからの造血幹細胞移植 (SCTFMM) がHLA バリヤーを克服する方法の一つとして注目されるようになり有用性が集積されつつある。

今回我々は、SCTFMMにもかかわらず重症GVHDと移植片拒絶を来した症例を相次いで経験したので、その特徴と問題点を解析した。

B. 研究方法

2002年11月から2003年9月ま

で当科および石川県立中央病院で

SCTFMMを施行した5例のうち、grade III以上の急性GVHDを合併した2例と移植片拒絶を認めた1例を対象とした。

C. 研究結果

【症例1】27歳男性。1998年にCMLに対し非血縁骨髓移植を施行。2002年皮膚にCML再発。免疫抑制剤の中止、imatinib投与、DLIで治療したが増悪したため、2002年11月同胞よりSCTFMM (GVHD方向1座、拒絶方向2座)を行った。Day8より皮膚・肝にgrade IIIの急性GVHDが出現したためメチルプレドニゾロンとMMFを投与した。その後GVHDは軽快したが、2003年4月にCML再発、同6月死亡した。【症例2】21才女性。2002年2月にCMLが発症し、7月に急性転化となった。イマチニブは無効で、フルダラビンを併用した化学療法により芽球は消失したが、同種造血幹細胞移植の適応と判断。2002年12月に、HLA一致ドナー不在のため実母 (GVHD方向2座、拒絶方向3座) をドナーとした同種末梢血幹細胞移植を施行した。