

厚生労働省付研究費 さいづん-再生医療等研究費補助金補助金を利用した国際APB造血細胞移植学会の連携・監視に国際移植ネットワークの確立に関する研究(規)

## まとめ

- 統合システムによって、登録率の向上、登録の効率化、追跡調査の簡易化、移植データの有効利用を図る

平成19年度第二回報告書  
(平成17年1月20日、東京) 7

厚生労働省付研究費 さいづん-再生医療等研究費補助金補助金を利用した国際APB造血細胞移植学会の連携・監視に国際移植ネットワークの確立に関する研究(規)

## 日本造血細胞移植学会データ管理委員会WG

- 東海大学医学部 加藤 俊一
- 茨城県立こども病院 土田 昌広
- 愛知県がんセンター 森島 泰雄
- 愛知県がんセンター 川瀬 孝和
- 神奈川県立こども医療センター 気賀沢 寿人
- 神奈川県立こども医療センター 田淵 健
- 名古屋第一赤十字病院 加藤 剛二
- 名古屋大学予防医学教室 浜島 信之
- 名古屋大学予防医学教室 熱田 由子

平成19年度第二回報告書  
(平成17年1月20日、東京) 8

厚生労働省付研究費 さいづん-再生医療等研究費補助金補助金を利用した国際APB造血細胞移植学会の連携・監視に国際移植ネットワークの確立に関する研究(規)

## Asia Pacific BMT Registry

- 7th APBMTC (Bangkok,2000): 構想の提案と合意
- 8th APBMTC (Mumbai,2002): Business meeting
- 10th ISH-APD (Nagoya,2004): 各国のSCTの現状報告
- 9th APBMTC (Teheran,2004): Business meeting

平成19年度第二回報告書  
(平成17年1月20日、東京) 9

厚生労働省付研究費 さいづん-再生医療等研究費補助金補助金を利用した国際APB造血細胞移植学会の連携・監視に国際移植ネットワークの確立に関する研究(規)

## APBMTRの目的

- アジア地域におけるHSCTの現状と移植成績の把握
- アジア地域におけるHSCTに特有な問題の把握と理解
- アジアにおけるHSCTデータの共有と利用
- APBMTRの象徴として位置づける

平成19年度第二回報告書  
(平成17年1月20日、東京) 10

厚生労働省付研究費 さいづん-再生医療等研究費補助金補助金を利用した国際APB造血細胞移植学会の連携・監視に国際移植ネットワークの確立に関する研究(規)

## アジア各国の現状

Country	HSCT 開始年	移植例数	UR	CB	National Registry
Taiwan	1984	774	○	○	○
HongKong	1990	1270	○	○	○
India	1983	1122	×	○	○
Thailand	1986	834	○	○	×
Malaysia	1987	697	—	—	○

平成19年度第二回報告書  
(平成17年1月20日、東京) 11

厚生労働省付研究費 さいづん-再生医療等研究費補助金補助金を利用した国際APB造血細胞移植学会の連携・監視に国際移植ネットワークの確立に関する研究(規)

## まとめ

- 構想の推進
- 各国の登録システム、JSHCTとの整合性
- IBMTR, EBMTRとの整合性

平成19年度第二回報告書  
(平成17年1月20日、東京) 12

## 海外における造血幹細胞移植に関する Regulation – update-

慶應義塾大学医学部血液内科  
岡本真一郎

## Regulation for Hematopoietic Stem/Progenitor Cells

- Internal (Self) regulation  
FDA Council of Europe, TGA  
Canadian Standard Association Z90...
- External regulation (Guideline)  
WMDA WHO

## Regulations FDA

	<u>Final</u>	<u>Draft</u>
Establishment Registration	Effective 1/04	—
Good Tissue Practice	—	Effective 5/05
Donor Eligibility	Effective 5/05	—
Donor Eligibility Guidance	—	Effective 5/05

## Donor Eligibility Determination (1271.50)

- Donor is eligible if free from risk factors for and clinical evidence of relevant communicable diseases, free from risks associated with xenotransplantation, and tests negative or nonreactive
- A responsible person (one who is trained, qualified, and authorized) must determine and document the eligibility of a donor

## Xenotransplantation

- Defer persons who are xenotransplantation product recipients or intimate contacts of xenotransplantation product recipients
  - Intimate contact means a person who has engaged in activities that could result in intimate exchange of body fluids, including blood or saliva
  - Examples - sexual partners, household members who share razors or toothbrushes, healthcare workers with repeated percutaneous, mucosal, or other direct exposure

## Definition of Relevant Communicable Disease Agent or Disease (1271.3(r))

- For all HCT / Ps
  - HIV, types 1 and 2
  - HBV
  - HCV
  - Human TSE, including CJD
  - Treponema pallidum
- For viable, leukocyte - rich HCT / Ps
  - HTLV, types I and II
- Additional agents for reproductive HCT / Ps

**Another Disease / Agent That Meets These Criteria (taken together):**

- May be a risk of transmission to recipient or those who come into contact with HCT / P
  - Disease agent has sufficient incidence and / or prevalence to affect the potential donor population,
  - or
  - Disease agent has been released accidentally or intentionally in a manner that could place potential donors at risk of infection
- Life - threatening; permanent impairment of body function; medical intervention
- Appropriate screening methods and / or FDA - licensed, approved or cleared tests

**Other Relevant Communicable Disease Agents and Diseases**

- West Nile Virus
- Sepsis
- Vaccinia (Smallpox vaccination)
- Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS)

**Donor Testing (1271.80)**

- For relevant communicable diseases required
  - Specimen from birth mother if 1 month or younger
- Timing - 7 days before or after donation
  - For donors of peripheral blood, HPC, within 30 days before donation
- Tests - appropriate FDA - licensed, approved or cleared donor screening tests, in accordance with the manufacturer's instructions, in a laboratory that is CLIA - certified or has met equivalent requirements as determined by CMS

**HCT / Ps from Ineligible Donors (1271.65)**

- Storage - physically separate area or other procedures to prevent improper release
- Limited uses not prohibited (relevant to unrelated donor HPCs):
  - Documented urgent medical need;
  - Special labeling: Biohazard label; "Warning: Advise patient of communicable disease risks"; "Warning: Reactive test results for ..."
  - Document that you notified physician of results

**World Marrow Donor Association (WMDA)**

**— Current Activities —**

1. Accreditation of donor registries
  - France, U.S., and Wales Registries have already accomplished the accreditation
  - JMDP is planning to submit the documents next year
2. Guidelines for subsequent donations following initial marrow or PBSC donation
3. International working group on donor safety and donor follow-up
4. SEARs
5. Donor as a research subject

**World Health Organization**

Ethics, access and safety in tissue and organ transplantation issues of global concern (Spain 2003)

Global consultation on regulatory requirements for human cells and tissues for transplantation (CTTx) (Canada 2004)

General discussion regarding consensus points has shifted to

**Harmonization of international regulation**  
**Outcome evaluation (outcome research)**  
**Traceability**

# 児母間移植後に後期生着不全を認め、 別の児より再移植を行った MDS overt leukemiaの一例

淵田真一 島崎千尋  
京都府立医科大学血液内科

Kyoto Prefectural University of Medicine

## 背景

Case	Age	Sex	Diagnosis	Donor	HLA disparity GVHD/HVG	Survival
1	17	M	CML	Mother	3/2	756
2	55	F	CML	Daughter	2/2	1190+
3	25	F	NHL	Mother	3/2	67
4	23	M	ALL(L2)	NIMA-mis. sibling	3/3	117
5	17	M	NHL	Mother	3/3	905+
6	19	M	NHL	Mother	3/1	290
7	20	F	LBL	NIMA-mis. sibling	2/1	103
8	22	M	AML(M2)	NIMA-mis. sibling	3/3	14+
9	48	M	MM	NIMA-mis. sibling	3/3	829+
10	53	M	PCL	NIMA-mis. sibling	2/2	352
11	62	F	MDS/OL	Son	2/3	603+
12	41	F	PCL	NIMA-mis. sibling	3/3	554+
13	53	F	MDS/OL	Daughter	3/3	72
14	24	F	NHL	Mother	3/3	107

Kyoto Prefectural University of Medicine

## 症例

症例 : 62歳 女性

病型 : MDS overt leukemia

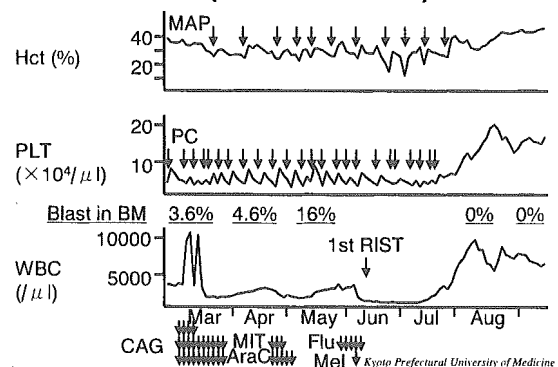
ドナー : 次男

HLA 不一致 (GVH 方向) : 2 座不一致  
(HVG 方向) : 3 座不一致

マイクログリズム : ドナー・レシピエント双方に(+)

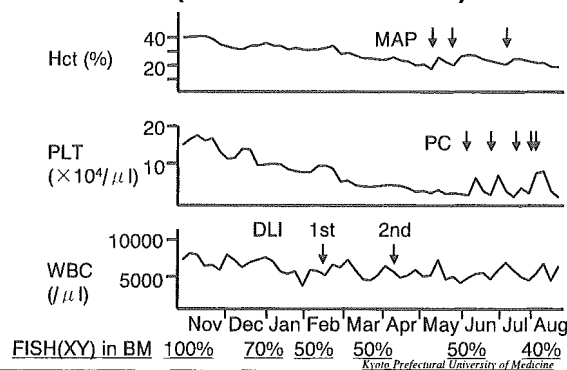
Kyoto Prefectural University of Medicine

## 経過 (発症~1st RIST)



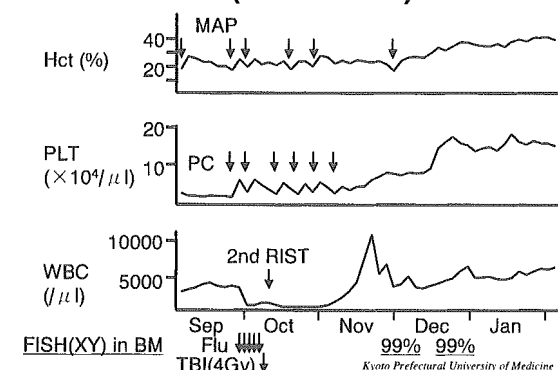
Kyoto Prefectural University of Medicine

## 経過 (1st RIST~2nd RIST)



Kyoto Prefectural University of Medicine

## 経過 (2nd RIST ~)



Kyoto Prefectural University of Medicine

## まとめ

	Patient	1st SCT	2nd SCT
Sex	female	male	male
ABO blood type (Rh)	A (+)	O (+)	A (+)
HLA typing	A	26,2	26,33
	B	51,48	51,44
	C	8,14	14,-
	DR	8,-	8,13
		8,9	8,9
conditioning regimen		Flu + Mel	Flu + TBI
CD34 + cell (/kg)		$2.45 \times 10^6$	$2.63 \times 10^6$
neutrophil > 500/ $\mu$ l		day13	day11
platelet > 20000/ $\mu$ l		day15	day12
acute GVHD		grade I	none
chronic GVHD		none	none

Kyoto Prefectural University of Medicine

## 考察(1)

1. secondary graft failure
  1. stem cell numbers
  2. HLA class I disparity (特にHLA-C)
  3. ABO mismatch
  4. anti-HLA antibodies
  5. conditioning (RIST, TCD)
  6. residual recipient NK cells
  7. infections, GVHD, relapse
2. maintained complete remission
  - effective conditioning chemotherapy (Flu+Mel)?
  - graft versus leukemia effect ?

Kyoto Prefectural University of Medicine

## 考察(2)

3. donor lymphocyte infusion
  - 1st DLI:  $1.0 \times 10^7$ /kg CD3+ T-cells
  - 2nd DLI:  $5.0 \times 10^7$ /kg CD3+ T-cells
    - DLI might be safely performed after non-TCD HLA haploidentical SCT
    - not effective treatment for graft failure
4. second allogeneic stem cell transplantation
  - second RIST was performed safely and successfully
  - what donor and what conditioning are better ?

Kyoto Prefectural University of Medicine

## 結 語

後期生着不全は重要な移植後合併症であるが、その原因、治療については未だに一定した見解はない。

HLA不一致移植やRIST、CBTの増加に伴い生着不全の頻度も増加すると思われる。

今後症例の集積を行うとともにHLA抗体など原因についての考察及びDLI、再移植など最適な治療法についての検討が必要である。

Kyoto Prefectural University of Medicine

## 謝 辞

特定非営利活動法人 HLA研究所

佐治 博夫 先生  
丸屋 悦子 先生

Kyoto Prefectural University of Medicine

平成16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適用・登録と  
臨床試験体制の確立に関する研究班」 第二回班会議(2005年1月28-29日)

## FK506をGVHD予防に用いた NIMA相補的血縁者間造血幹細胞移植 に関する臨床第I-II相試験

一戸 辰夫

京都大学医学部附属病院 血液・腫瘍内科

## NIMA-complementary SCT:

a nationwide prospective study

対象疾患: 進行期白血病 (AML, ALL, CML, & ATL)

適格年齢: 登録時10歳~55歳

目的: FK506+MTXをGVHD予防に用いたHLA-2, 3抗原不一致

NIMA相補的血縁者間T細胞非除去造血幹細胞移植の  
実施可能性と有効性の検討。(第I-II相試験)

主評価項目: \*移植後100日以内死亡(第I相)

\*移植後1年以内死亡(第II相)

実施可能性(安全性)の基準: \* III度以上急性GVHD ≤ 25%

\* Day 100生存率 ≥ 70%

有効性の基準: \* 1年生存率 = 40 ± 15%

## 試験の進捗状況

2003年2月~2005年1月

仮登録 12例

京都大学医学部附属病院(4例)、浜の町病院(3例)、  
松下記念病院、済生会前橋病院、名古屋第一赤十字病院、  
名古屋医療センター、京都府立医科大学病院(各施設1例)

本登録 10例

移植実施例 10例

全移植実施例のday 100 survivalの評価をもって、  
第I相部分を終了の予定とする。

## Characteristics of patients

NIMA-complementary SCT: a nationwide prospective study

Median age (range): 23 (14~49)

Sex (male/female): 5/5

Diagnosis	
AML	8
CML	1
ATL	1

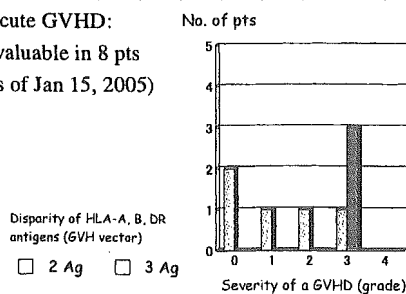
Disease status at SCT

Primary induction failure	3
Chemoresistant relapse	6
Blastic phase	1

## Acute GVHD (1): 2 Ag vs 3 Ag

NIMA-complementary SCT: a nationwide prospective study

■ Acute GVHD:  
evaluable in 8 pts  
(as of Jan 15, 2005)



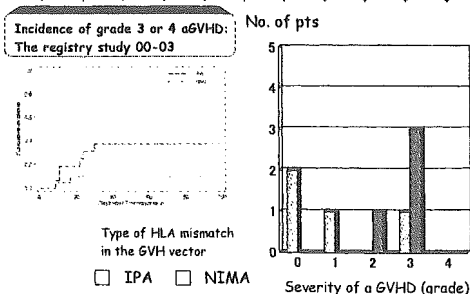
Disparity of HLA-A, B, DR  
antigens (GVH vector)

□ 2 Ag □ 3 Ag

## Acute GVHD (2): IPA vs NIMA

NIMA-complementary SCT: a nationwide prospective study

Incidence of grade 3 or 4 aGVHD:  
The registry study 00-03



Type of HLA mismatch  
in the GVH vector

□ IPA □ NIMA

## Early mortality (by day 100)

NIMA-complementary SCT: a nationwide prospective study

- ※ Disease-related (N=1)  
Relapse of leukemia
- ※ Transplantation-related (N=1)  
Pulmonary infection

No early death directly attributable to  
therapy-resistant GVHD

## Severe adverse events other than grade 3 or 4 acute GVHD

NIMA-complementary SCT: a nationwide prospective study

- ※ R-007 HHV-6 encephalopathy  
→Recovered
- ※ R-009 Pseudomonas aeruginosa pneumonia  
→Succumbed

## Survival

NIMA-complementary SCT: a nationwide prospective study

- ※ Five of 9 pts are alive in complete remission  
with a median f/u of 436 (range, 72~632) days.  
(as of Jan. 15, 2005)

Estimated OS at 1-yr: 48%

## 第II相試験開始へ向けての検討課題

- ※ 2005年4月15日まで第II相部分開始準備のため新規登録を一時中止する。
- ※ 実現可能性は？(第II相部分目標登録数=41例. 第I相部分の登録速度: 10例/25ヶ月)
- ※ 対象疾患→難治性白血病・ATLに限定するべきか？
- ※ 除外基準→臍帯血移植の選択可能性を加えるべきか？

## T細胞非除去 HLA-haploidentical NST

大阪大学大学院医学系研究科  
分子病態内科学  
小川啓恭

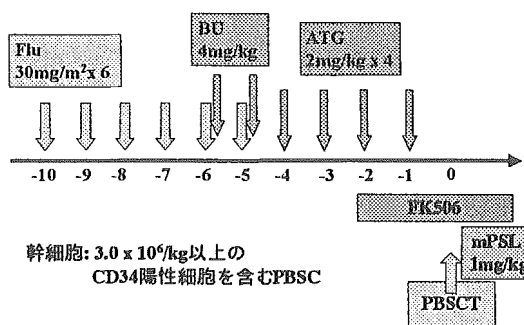
## 対象

予後不良造血器腫瘍であって、血縁者に HLA1 抗原不適合までのドナーが存在せず、骨髓バンクに HLA 適合ドナーが存在しないか、存在しても、時間的余裕がない症例。

以下のいずれかの理由により、通常の myeloablative な前処置を行えない患者

1. 40 歳から 60 歳 (35-39 歳は optional)
2. 通常の骨髓破壊的前処置に耐えられないと判断される合併症を有する。

## Protocol for HLA- haploidentical minitransplantation

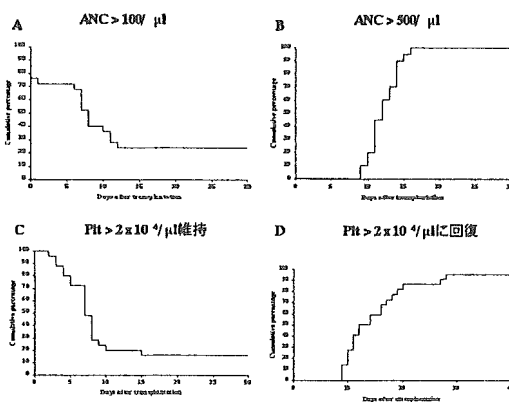


## T細胞非除去HLA半合致移植 (初回の同種移植症例)

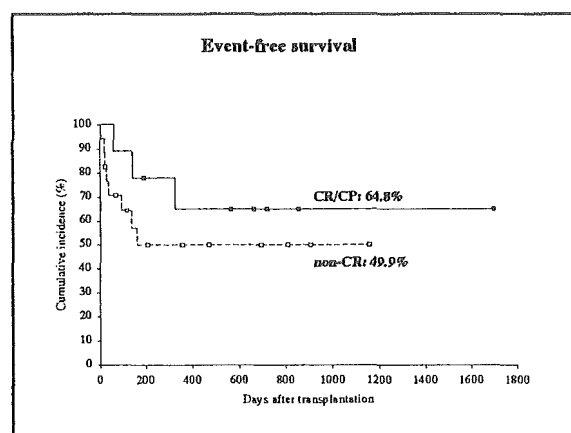
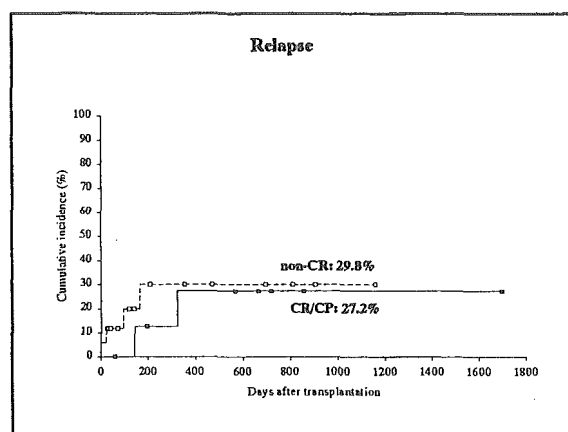
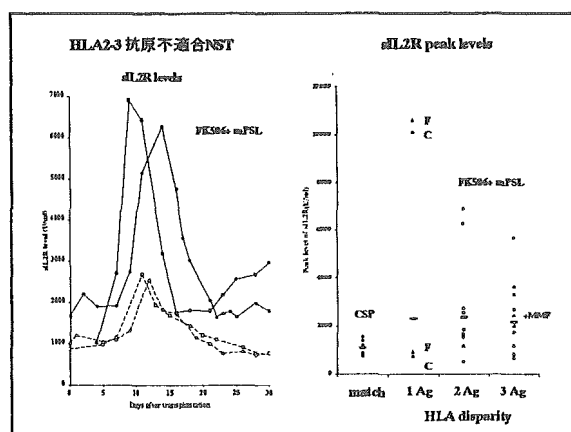
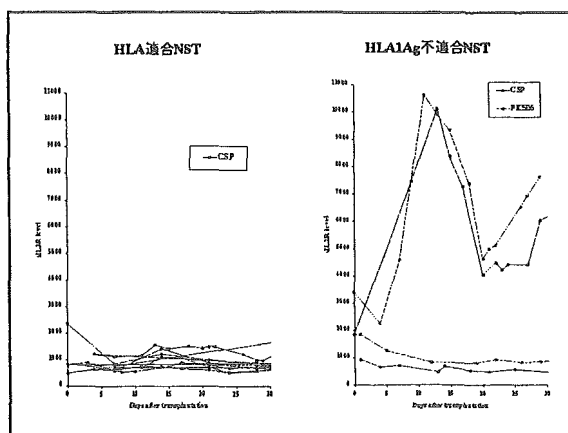
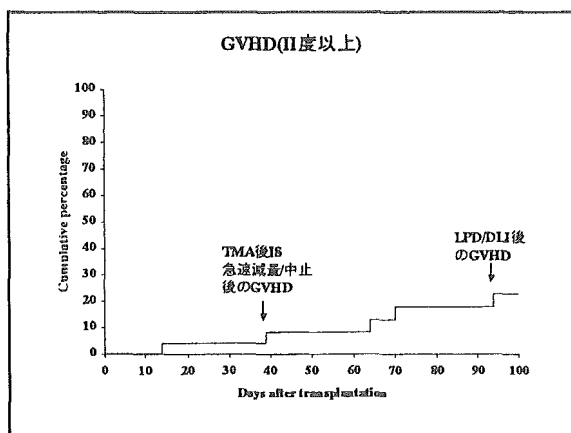
患者内訳(n=26)		移植病期	
AML	7	CR1(Ph1+)	3
ALL	3	CR2	4
CML	2	CP2	2
MDS	5	PR	2
NHL	7	non-CR	15
Myeloid NK	1	(autoPBSCTの再発)	4
ATL	1		

## T細胞非除去HLA半合致移植

年齢	中央値 49.5 歳 (range, 27-59 歳)		
ドナー		sibling(NIMA)	4
		sibling(NIPA)	2
		sibling(unknown)	1
		offspring	19
HLA disparity	GVH 方向	2抗原不適合	14
		3抗原不適合	12
	HVG 方向	1抗原不適合	4
		2抗原不適合	13
		3抗原不適合	9







**Adverse events (%) (N=26)**

<b>Infection</b>		<b>Liver dysfunction</b>	13 (50.0)
bacteria		PCI	1 (3.8)
bacteremia	0 (0)	Paralytic ileus	2 (7.7)
others	2 (7.7)	Nephrotic syndrome	0 (0)
fungus	1 (3.8)	(HD 必要)	
virus		Hyperglycemia	12 (46.2)
cytomegalovirus	1 (3.8)	(insulin > 30U/day)	
others	2 (7.7)	Hypertension	4 (15.4)
Pneumocystis carinii	0 (0)	Arrhythmia	1 (3.8)
Hemorrhagic cystitis	11 (42.3)	Venous thrombosis	2 (7.7)
LPD	1 (3.8)	Aspic necrosis	1 (3.8)
FK506 encephalopathy	0 (0)	Bone fracture	1 (3.8)
TMA	2 (7.7)		
VOD	0 (0)		

小寺班

HLA2、3抗原不一致血縁者間  
同種造血幹細胞移植に関する研究

～CD34陽性細胞純化法を用いたHLA2、3抗原不一致血縁者  
ドナーからの同種末梢血幹細胞移植の安全性及び有効性の検討～

虎の門病院・血液科  
谷口 修一

本臨床試験の全体図

治験

ドナー

CliniMACSを用いた  
CD34陽性細胞の分離

【評価項目】  
CD34陽性細胞の純度/回収率  
Tリンパ球除去能  
不具合

班研究

レシピエント  
AML・ALL(non CR)/CML(AP or BC)  
[1≤year≤50、放射線/移植既往なし]

移植  
(～Day100)

【評価項目】  
生着率(主要評価項目)  
uGVHD、前処置関連毒性、感染症発現頻度  
生存率・無病生存率・非再発死亡率・  
原疾患の再発又は増悪・染色体キメラズム  
有害事象

・目標症例数:19例

移植前処置

	Day	-10	-9	-8	-7	-6	-5	-4	-3	-2	-1	0
Fludarabine 30mg/m <sup>2</sup>						↓	↓	↓	↓	↓		
Thiotepa 5mg/kg × 2						↓	↓					
ATG 2.5mg/kg								↓	↓	↓	↓	
TBI *) 1,200cGy (0) (0) ↓ ↓												
(4ないし6分割)												
PBSCT												↓

\*) 肺ブロックは肺線量が800cGy以下になるように設定する

★Flu, ATGは無償提供される。

★移植細胞数:  
CD34陽性細胞数 ≥ 4.0 × 10<sup>6</sup>個/kg・患者体重以上

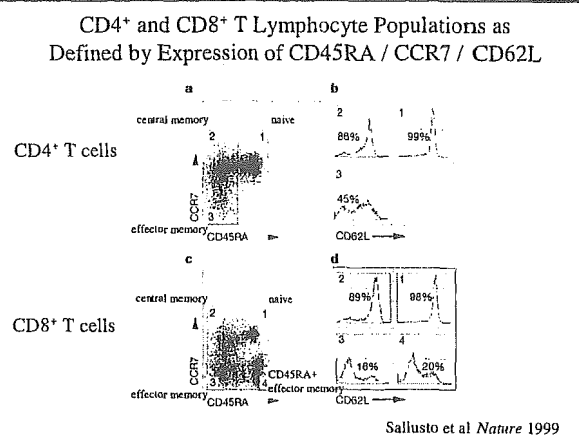
AM9802治験登録状況表

No.	施設名	一次登録日	CD34陽性 細胞数 (10 <sup>6</sup> )	二次登録日	移植日	生存日	備考
1	大森母子保健医療センター (昭和-昭三)	2004/10/23	8.68E+08	2004/1/14	2004/1/20		Day102時呼吸のショックにより死亡
2	国立がんセンター (昭一-昭三)	2004/1/16	2.42E+08	2004/3/29			移植後不足
3	富山県立中央病院 (昭一-昭三)	2004/4/23	8.91E+08	2004/6/13	2004/5/27	2004/6/6 (Day10)	Day178 肝臓転移により死亡
4	国立がんセンター (昭一-昭三)	2004/4/27	5.71E+08	2004/7/12	2004/7/23	2004/8/2 (Day10)	Day132 肝臓 Day183 肺 C
5	大森母子保健医療センター (昭一-昭三)	2004/4/28	4.58E+08	2004/6/20	2004/6/23	2004/6/14 (Day13)	Day 43 閉塞
6	大森母子保健医療センター (昭一-昭三)	2004/4/17	1.72E+07	2004/7/23			CR未達成、二次登録せず
7	東京慈恵会医科大学 (昭一-昭三)	2004/4/23					再発後・移植後により、一次登録不評価
8	東京慈恵会医科大学 (昭一-昭三)	2004/4/16	1.45E+08	2004/6/25			移植後不足
9	九州がんセンター (昭一-昭三)	2004/4/16	1.42E+07	2004/6/29	2004/6/24	2004/6/27 (Day13)	Day21で再発
10	東京慈恵会医科大学 (昭一-昭三)	2004/4/10	2.74E+08	2004/6/21			移植後不足
11	富山県立中央病院 (昭一-昭三)	2004/4/18	5.07E+07	2004/10/6	2004/10/14	2004/10/23 (Day13)	Day93 CR(2004/1/14観測)
12	富山県立中央病院 (昭一-昭三)	2004/4/22					ドナーとして一次登録時に不評価と判断
13	富山県立中央病院 (昭一-昭三)	2004/4/13					レシピエントが一次登録不評価と判断
14	富山県立中央病院 (昭一-昭三)	2004/4/28					レシピエントが一次登録不評価と判断
15	東京慈恵会医科大学 (昭一-昭三)	2004/4/18	1.71E+08				移植後不足
16	虎の門病院 (昭一-昭三)	2004/4/17					レシピエントが一次登録不評価と判断

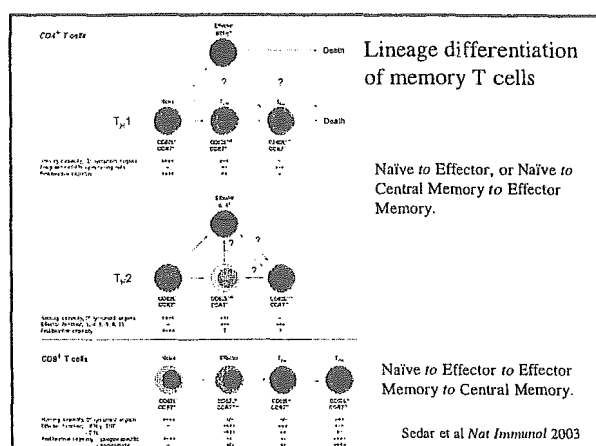
研究実施施設

1. 国立がんセンター中央病院 薬物療法部
2. 国家公務員共済組合連合会 虎の門病院 血液科
3. 東京都立駒込病院 血液内科
4. 東京医科歯科大学医学部附属病院 小児科
5. 富山県立中央病院 内科
6. 名古屋第一赤十字病院 第四内科
7. 大阪府立母子保健総合医療センター 小児内科
8. 九州大学病院 第一内科
9. 国立病院九州がんセンター 小児科
10. 国家公務員共済組合連合会 会津の町病院 内科
11. 北九州市立医療センター 内科
12. 医療法人原三信病院 血液内科

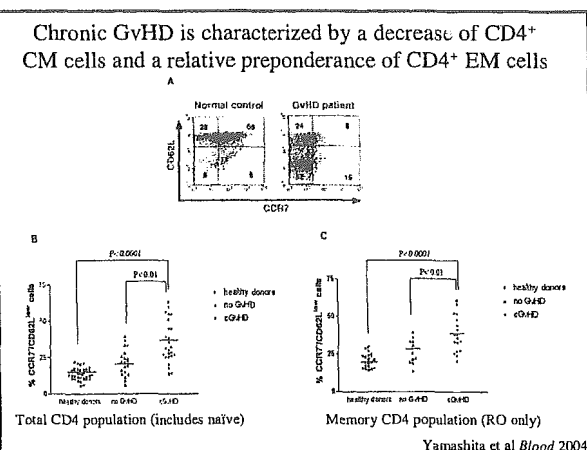
## 山下 浩平



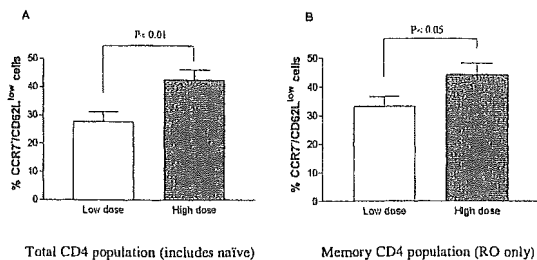
- 1) Not well understood
  - late onset of the disease after allogeneic stem cell transplant
  - mouse models, e.g. DBA/2 T-cells into (DBA/2 x B6)F1
- 2) Importance of donor-typed, alloreactive memory T-cells
- 3) Recognition by donor T-lymphocytes of non-self
  - mismatched MHC
  - matched but polymorphic MHC
  - minor histocompatibility complexes



Effector memory T lymphocytes ( $T_{em}$ ) are CCR7<sup>-</sup> CD62L<sup>low</sup>:  $T_{em}$  are polarized (Th1/Th2, Tc1/Tc2) secreting high levels of those cytokines consistent with their polarity (e.g. IFN- $\gamma$  or IL-4, IL-5, IL-10) early after re-stimulation.  $T_{em}$  generally express  $\beta$ 1 and  $\beta$ 2 integrins as well as receptors for inflammatory chemokines.

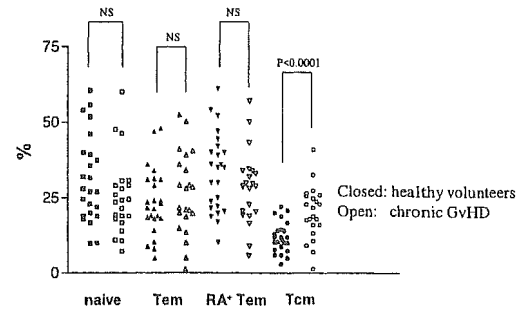


Comparison of CCR7<sup>+</sup>CD62L<sup>low</sup> population CD4<sup>+</sup> T effector memory cells in patients with mild (low dose prednisone) and severe (high dose) chronic GvHD



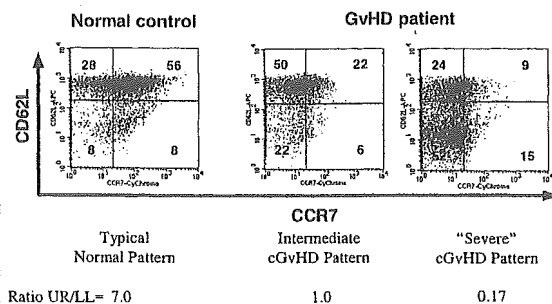
Yamashita et al *Blood* 2004

Analysis of CD8<sup>+</sup> T-cell subpopulations in chronic GvHD patients

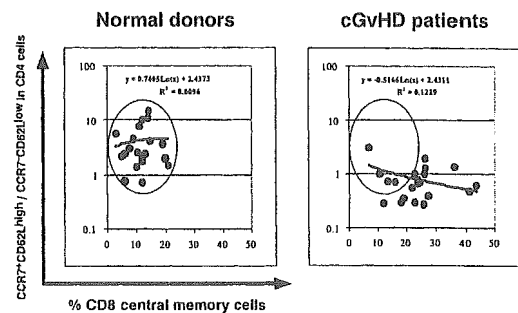


Note that with CD8<sup>+</sup> T cells cGvHD is associated with an increase in  $T_{cm}$ , while with CD4<sup>+</sup> T cells cGvHD is associated with a decrease in  $T_{cm}$ .

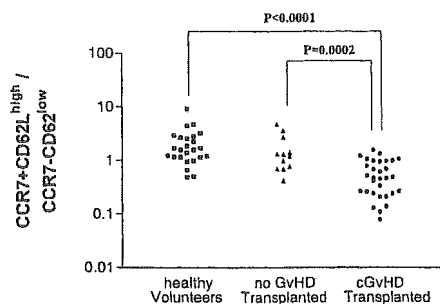
Representative dot plots of CD4<sup>+</sup> T-cells from normal control and 2 chronic GvHD patients



Two-dimensional dot plots of normal vs cGvHD



Decreased ratio of CCR7<sup>+</sup>CD62L<sup>high</sup> / CCR7<sup>+</sup>CD62L<sup>low</sup> (UR/LL) CD4<sup>+</sup> T-cells in patients with chronic GvHD



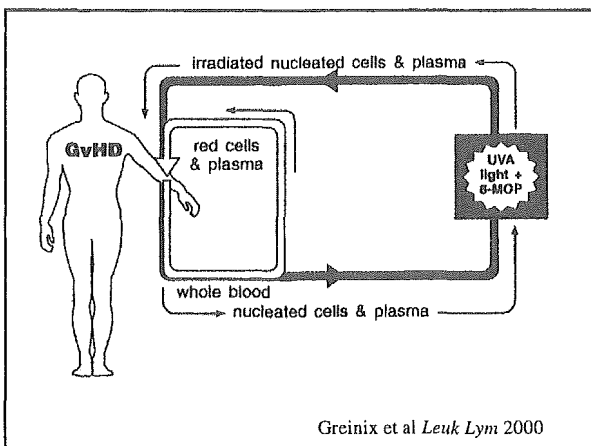
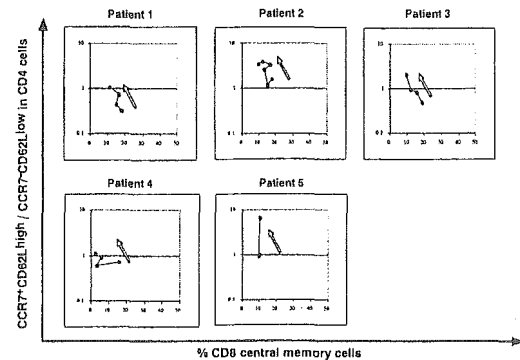
Summary: cGvHD is Characterized By:

1. Deficiency of CD4<sup>+</sup>  $T_{cm}$  and CD4<sup>+</sup> naïve with a preponderance of CD4<sup>+</sup>  $T_{em}$ .
2. Increase in CD8<sup>+</sup>  $T_{cm}$ .
3. Could these parameters be a useful measure of disease activity, response to treatment and/or have prognostic utility?

## Chronic GvHD Treatment

- First-line treatment:  
corticosteroid (+ calcineurin inhibitor)
- Mycophenolate mofetil (MMF)
- Rapamycin
- PUVA, extracorporeal photopheresis (ECP)
- Thalidomide
- New generation immunosuppressives
  - Pentostatin, infliximab (monoclonal anti-TNF $\alpha$  antibody), daclizmab (monoclonal anti-CD25 antibody) et.al

## Progressive normalization of CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T<sub>CM</sub> in 5 patients with cGvHD treated for 3-6 months with ECP



## Summary: Treatment of cGvHD with ECP

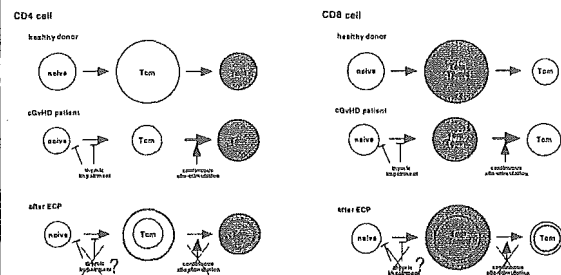
1. ECP therapy results in progressive normalization of the abnormal number of CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T<sub>CM</sub> associated with clinical improvement.
2. This may not be a primary effect, but rather might be secondary to induction of tolerance through primary changes in regulatory T-cells.

## Characteristics of 5 NIH patients with cGvHD treated with ECP

Patient	Age/Sex	Disease	Type of cGvHD	Onset of ECP after SCT	Involvement sites	Immunosuppressive treatment at enrollment
1	19/F	ALL	quiescent (extensive)	2.5 years	skin, mouth, musculoskeletal	Pred/CSA
2	37/F	NHL	quiescent (extensive)	3 years	skin, mouth, lung eyes, musculoskeletal	Pred/FK506
3	43/M	NHL	quiescent (extensive)	10 years	skin, mouth, lung eyes, musculoskeletal	Pred
4	32/F	CML	quiescent (extensive)	1.5 years	skin, mouth, liver musculoskeletal	Pred/FK506
5	19/M	HD	quiescent (extensive)	8 months	skin, lung	Pred/FK506/MMF

ALL: acute lymphoblastic leukemia, NHL: non-Hodgkin lymphoma, CML: chronic myelogenous leukemia, HD: Hodgkin disease, Pred: prednisone, CSA: cyclosporine A, FK506: tacrolimus, MMF: Mycophenolate mofetil

## Proposed mechanism of action of ECP treatment



「骨髓等を利用した効率的な造血幹細胞移植と臨床試験体制の確立に関する研究」班（班長 小寺良尚）

## 6. 活性化 CD4 陽性リンパ球による DLI のための臨床試験体制の確立と実施に関する研究

分担研究者：伊藤 仁也 先端医療センター再生医療研究部主任研究員

DLI 前 cyto-reduction chemotherapy の検討－各種抗癌剤の免疫担当細胞に与える影響について－

神戸先端医療センター 再生医療研究部 小林健一郎、鹿村真之、伊藤仁也

京都大学大学院医学研究科発達小児科学 中畑龍俊

### 要旨

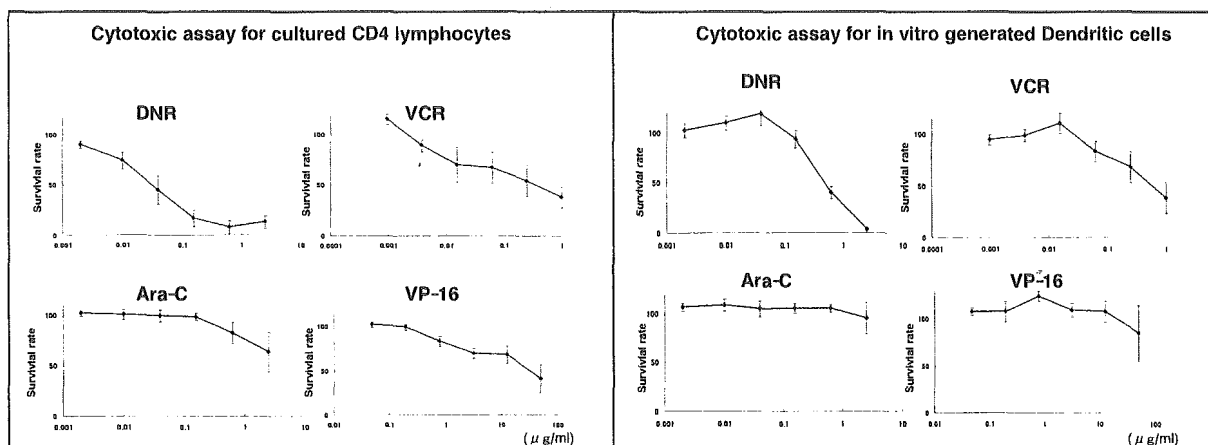
造血幹細胞移植後の再発急性白血病では DLI に先行して化学療法の併用を余儀なくされることが少なくない。DLI 施行した自験例の検討では、先行する化学療法は DLI のもつ本来の免疫療法の効果発現に抑制的に働いていることが示された。今回、適切なる pre-DLI 化学療法のレジメンの検討を行うべく、各種抗癌剤(DNR,VCR,VP-16,Ara-C)の免疫担当細胞への検討を行ったところ、Ara-C を軸とした Pre/Post DLI chemotherapy はホストの免疫応答への影響をミニマイズできる可能が示唆された。

### 1) 造血幹細胞移植後再発の急性白血病に対する DLI 治療戦略

急性白血病に対するDLI療法の問題点	急性白血病に対する活性化CD4リンパ球によるDLI療法のstrategy
(1) Growthが早いいためDLIの効果発現(3-6W)に間に合わない	(1) 体外で活性化させることにより、効果発現期間を短縮させる。
(2) 再発時 tumor bulkが大きすぎ、誘導されるCTLが効果を発揮するための十分なE/T ratioが確保されない	(2) 大量の活性化T細胞を輸注する。
(3) 再発時すでにfull relapseの状態と診断されることが多いため、免疫担当細胞の割合がきわめて低くなり免疫不全状態であることが多い。	(3) 有効なcytoreduction chemotherapy を併用する。
(4) 腫瘍抗原性が低い？	

### 2) 免疫担当細胞に対する抗癌剤感受性

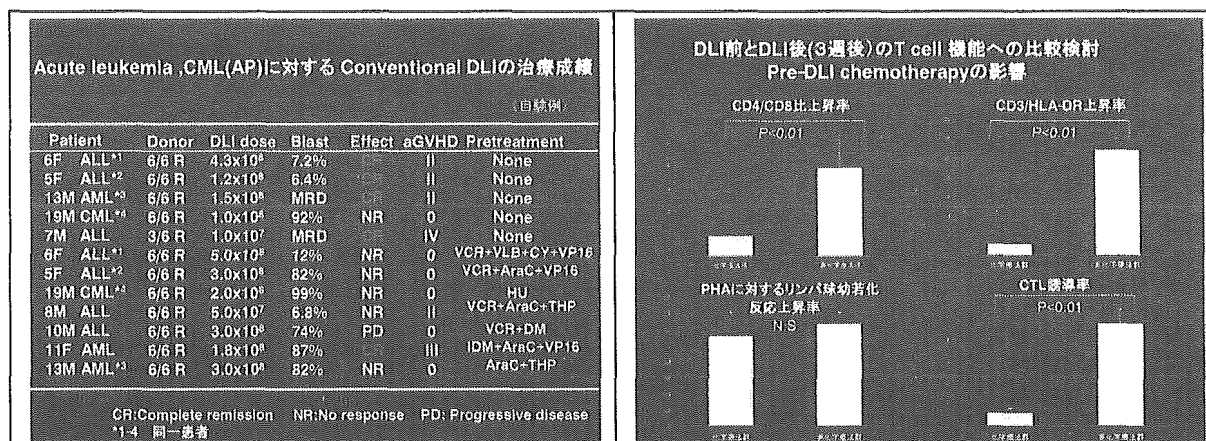
目的	方法
急性白血病に対する次世代DLIの治療戦略の開発のため Pre-DLI化学療法レジメンを検討すべく抗癌剤の免疫系細胞への影響を検討する。	培養後のリンパ球およびDCsを各々 $50 \times 10^4/\text{ml}$ 、 $20 \times 10^4/\text{ml}$ の細胞密度で各種薬剤* Cytosine arabinoside (Ara-C)、Daunomycin hydrochloride (DNR)、Vincristine sulfate salt (VCR)、Etoposide(VP-16)とともに1時間共培養を行う。 洗浄回収後、基本培地で3日間培養した後ATP assayを行った。
方法	* 薬剤kineticsの臨床データに基づき、1時間点滴ないしbolus shotによる投与をsimulationした薬剤濃度を設定した。
1) T細胞: 成人末梢血から分離した単核球を抗CD3抗体固着化 フラスコで10%FCS、IL-2 700U/mlを添加したRPMI1640+7 で活性化培養を開始。10日目にMACSでCD4に分離した。	ATP アッセイ: 細胞増殖/毒性試験
2) 樹状細胞(Dendritic cells: DCs): 臍帯血から分離したCD34 陽性細胞をGM-CSF(50 ng/ml)、IL-4(20ng/ml)、TNF- $\alpha$ (20ng/ml)、10%FCS添加した $\alpha$ MEM培地で2週間培養を行った。	代謝活性のある細胞由来のATPを定量することで生細胞数を測定。 比色法では困難な浮遊細胞、リンパ球を用いる場合に有効。



## 結果

DNR、VCR では活性化培養で得られた CD4 リンパ球および臍帯血 CD34 陽性細胞から誘導した樹状細胞に対して濃度依存性に殺細胞作用を認めたが、一方で Ara-C は他の薬剤と比べて中等量に相当する濃度(0.1~1  $\mu\text{g/ml}$ )では cell-viability への影響は軽微であった。Ara-C を軸とした化学療法はホストの免疫応答への影響をミニマイズできる可能性が示され再発後の DLI 前の cyto-reduction chemotherapy としての意義が示された。

## 3) DLI 施行した自験例の検討



DLI症例で DLI 前と DLI 後(3 週後)で経時的に T cell 機能への比較検討を行ったところ、Pre-DLI chemotherapy の併用群と非併用群とでは Pre-DLI chemotherapy 併用群で CD3/HLA-DR 上昇率・CD4/CD8 比上昇率が低下しており、自己の白血病細胞を target cell とした CTL 誘導率も抑制されていた。

平成16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」第  
第二次委員会 2005年1月28日、29日（東京）

## 造血幹細胞移植後難治性感染症に対する 活性化CD4DLI療法

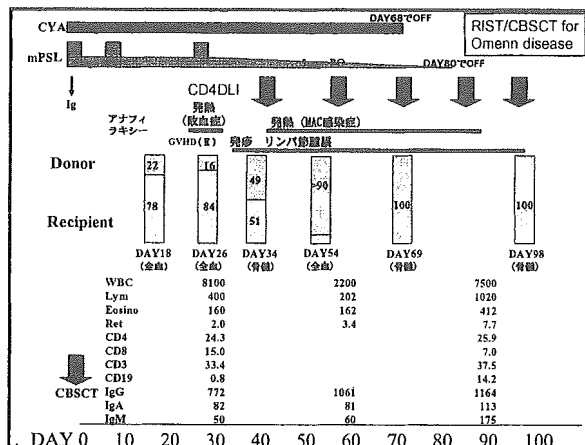
### 臨床試験実施案と症例報告

森尾友宏<sup>1,3</sup> 清水則夫<sup>2,3</sup>

1. 東京医科大学・大学院・発達病態小児科学分野
2. 同・難治疾患研究所・ウイルス感染学分野
3. 同・医学部附属病院・細胞治療センター

## 新規症例

1. CD4リンパ球減少症、間質性肺炎、多発性軟骨炎、血管炎 11歳  
脾帯血幹細胞移植 d257  
・リンパ球減少(200/mm<sup>3</sup>)、低γグロブリン血症  
・Norovirus感染症、EBV(+), HHV6 (+)  
→ CD4DLI開始
2. Ph1 positive ALL 39歳  
HLA2座不一致BMT d169  
・CMV肺炎 d164(DHPG開始) 人工呼吸器管理 FCoV開始 d167 呼吸不全進行  
DLI d171 deceased on d173  
・CD4T細胞を診断後5日目から用意開始したが、検体到着後5日目に逝去。
3. Omenn病 10ヶ月  
脾帯血幹細胞移植 (RIST-CBSCT)  
・移植後混合キメラ d18、MAC感染症 d40  
・CD4DLI 投与



## 造血幹細胞移植後CMV感染症、 Adenovirus感染症に対する 活性化CD4DLI療法 に関する臨床第I-II相試験

### 対象症例

#### CMV

造血幹細胞移植後のCMV感染症で:

DHPG (Gancyclovir)及び/またはFoscarnetにて2週間治療した時点で

- (1)CMVコピー数が3,000コピー/ml全血以上 あるいは
- (2)CMV抗原血症が10/50,000細胞以上、かつCMVコピー数が測定限界以上

細胞調製に約2週間要するためDHPG及び/またはFoscarnetにて2週間治療した時点で登録し、上記の基準を満たした時点で治療を開始する。

#### Adenovirus

造血幹細胞移植後のAdenovirus感染症で:

診断後2週間経過した時点で

- (1)AdenovirusがPCR法で検量線範囲内に検出され、かつ
- (2)Adenovirus感染症の症状・所見が存在

細胞調製に約2週間要するためAdenovirus感染症と診断された時点で登録を行なう。

\*骨髄移植、末梢血幹細胞移植、脾帯血移植のいずれかを問わない。  
また前処置の方法、GVHD予防方法などの種類を問わない。

### 治療目標、登録数

#### (治療目標)

全症例の30%が最終投与2週後にCMVコピー数0、Adenovirusコピー数0となること。

#### (登録数)

- ・血縁間造血幹細胞移植後の難治性CMV、アデノウイルス感染症 それぞれ10症例
- ・非血縁間造血幹細胞移植後の難治性CMV、アデノウイルス感染症 それぞれ10症例

### 臨床研究の目的

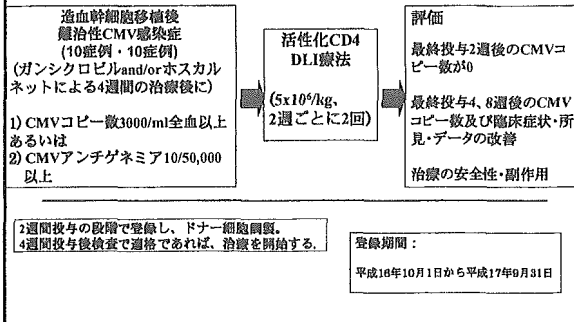
血縁者間造血幹細胞移植後の難治性(薬剤抵抗性)CMV、Adenovirus感染症に対する治療としての活性化CD4DLI療法の有効性、安全性を評価する。

### 主たる評価項目

- CMV・AdenovirusリアルタイムPCR定量 (主評価項目)
- CMV抗原、(アデノウイルス抗原)
- 臨床症状
- 臨床所見
- 有害事象



## 治療の流れ



1. プロトコルに関して  
東京医科歯科大学医学部附属病院細胞治療センター  
TEL&FAX: 03-5803-4583  
email: [cpc.ped@tmd.ac.jp](mailto:cpc.ped@tmd.ac.jp)
2. IRB申請
3. SRL検体依頼書・SRL検体容器確認
4. CMV分離(感受性試験、遺伝子型頻度、変異解析用)  
などを含むプロトコル改訂

近日中に改訂版を送付

不適格(緊急)症例に対してはできるだけ対応

## 高度先進医療承認

平成16年11月1日

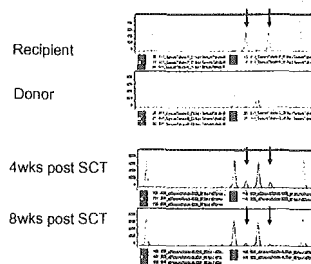
### 「活性化Tリンパ球移入療法」

適応症： 原発性・続発性免疫不全症の  
難治性日和見感染症

慢性活動性EBウイルス感染症

## 個人識別

### -Short tandem repeat-



## 高感度網羅的迅速ウイルス検査

難治疾患研究所: 清水則夫助教授、渡邊 健、水上英樹  
リンフォテック:

HSV1	BKV	HIV1
HSV2	JCV	HIV2
VZV	Parvovirus B19	HTLV1
EBV	Adenovirus	HTLV2
CMV		Norovirus (SRSV)
HHV6	HBV	Cryptosporidium
HHV7	HCV	Pneumocystis carinii
HHV8	GBV	Mycoplasma sp.

複数以上のウイルスが検出

培養後にウイルスが検出

## CMV分離・薬剤抵抗試験

⇒ 遺伝子変異解析

尿 10ml  
血液(ヘパリン加) 2ml  
(4℃宅急便)

〒960-1295 福島市光が丘1番地  
福島県立医科大学 医学部 微生物学講座  
Tel: 024-547-1157 Fax: 024-548-5072  
E-mail: [suzutani@fmu.ac.jp](mailto:suzutani@fmu.ac.jp)

錫谷 達夫先生

## 「マイナー抗原を用いた養子免疫療法の現状と問題点」

愛知県がんセンター研究所・腫瘍免疫学部 赤塚美樹 ([yakatsuk@aichi-cc.jp](mailto:yakatsuk@aichi-cc.jp))

### 1. 新規マイナー抗原の同定

同種移植後の GVHD と GVL 効果を引き出すには、レシピエントの抗原提示細胞が必要であり、GVL 効果のみを有効に引き出すためには抗原提示細胞が造血細胞に特異的に発現するマイナー抗原を提示する必要がある。これまでに我々は HLA-A\*2402、-B44、および A\*3303 によって提示されるマイナー抗原エピートプ (ACC-1、ACC-2、ACC-3) を決定してきた。その後 HLA-A\*3303 および-A\*3101 拘束性の *Catepsin H* によってコードされる ACC-4、ACC-5 を同定した。*Catepsin H* の発現は造血細胞特異的でないが、固形腫瘍での異所性発現が報告されており、GVT 効果が期待できないか検討をしている。

### 2. 養子免疫療法のプロトコルの進捗状況と問題点

上記 ACC-1、ACC-2 に HA-1 を標的抗原とした同定済みマイナー抗原を用いた養子免疫療法と、抗原は未同定であるがクローン化造血細胞特異的 CTL を用いる養子免疫療法の 2 種類の臨床試験を平成 16 年 4 月より開始している。現在までに照会のあった患者・ドナーペア 6 組中の 5 組目は MM 再発後に本研究に参加したが、造血細胞特異的クローン化 CTL を樹立している最中に原病死した。7 組目は HLA-A\*2402 陽性、ACC-1 不適合のある CMML 症例で、移植後に本研究に参加した。しかし移植後 Day 31, 45, 100 に得た末梢血中に A24/ACC-1 テトラマーに染色される分画がなく、現在 ACC-1 ペプチドを用いた CTL 株の誘導と平行して、造血細胞特異的 CTL のクローン化を試みている。

前臨床試験を行って判明したことは、CTL のクローニングの際に自家 (ドナー) の PBMC+CD3 抗体だけでは不十分で、pool した PBMC を用いるか、CD3 抗体に代わる抗原が必要であることである。また、Rapid Expansion Protocol も pool PBMC を用いれば EBV-LCL を使用する必要が無いが、自家の PBMC+CD3 抗体だけでは増殖も細胞傷害活性も十分得られないことである。現在 GMP グレードのものはまだ入手不可能であるが、サイトカインの組み合わせ等によりこれらの問題を克服する努力を行っている。

また CTL をフィーダー細胞なしで培養することは現状では困難であるが、将来的には無血清培地の開発、人工抗原提示細胞の利用等も考慮する。

なお、対象はハイリスク造血器腫瘍の移植後再発であるが、再発率は 20～40% の範囲であるので、年間 15～25 例より CTL を準備し、数例に対して CTL の投与を実施できるものと試算される。本年度は施設の立ち上げ、各種書類の準備で症例の集積ができなかったが、4 月以降は順次集積率を高める予定である。

### 3. 細胞プロセッシングシステムの整備

平成 16 年 6 月に愛知県がんセンター研究所の臨床研究室内にクラス 10,000 の培養室 1 室よりなる細胞プロセッシングシステム (モニター室を除く総面積 48m<sup>2</sup>) が竣工し、ほぼ装備等が完成した。現在、基準書・手順書・記録書等の整備を進めつつあるが、最終的にどのようなガイドライン、規制が適応されるかを見極めながら、体制の確立を進める。

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

平成16年度 第二回研究班会議

細胞療法の実施に向けた基盤整備

名古屋大学大学院医学系研究科小児科学  
谷ヶ崎 博、小島勢二

目的：より安全で効率的な養子免疫療法の確立のため、  
健常ドナー由来のCMV特異的CTLを体外増幅する



既に、細胞処理施設（cell processing center；CPC）が完成しており、現在ISO 13485に準拠した品質マニュアルと各種手順書の策定を進めている。実際の施設を用いた実製造試験は2005年の早い時期に開始する予定である。

背景

移植後のウイルス感染症に対する養子免疫療法の開発

Bリンパ球増殖性疾患（BLPD）

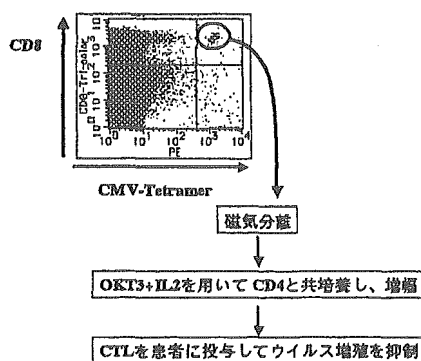
- ・EBV-transformed B lymphoblast に対する特異的CTLを誘導・増殖させ、臨床応用されていると報告

CMV感染症

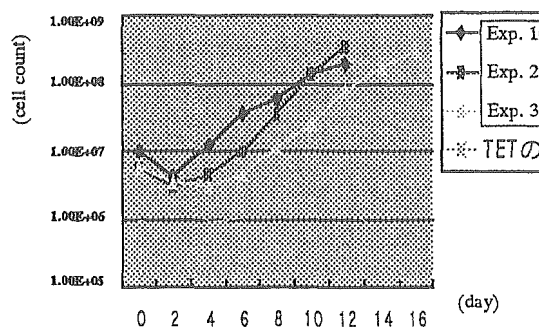
- ・CMVを感染させた線維芽細胞を用いてCMV特異的CTLを誘導させた報告
- ・CMVペプチドをパルスした樹状細胞を用いてCMV特異的CTLを誘導した報告

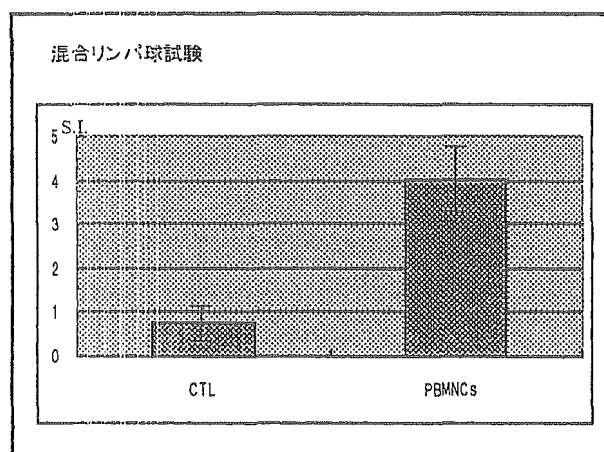
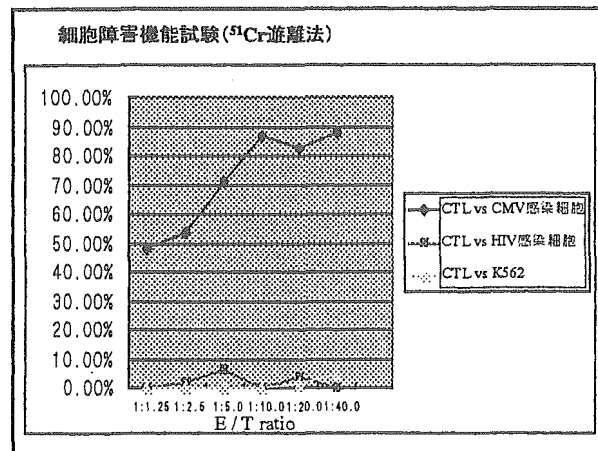
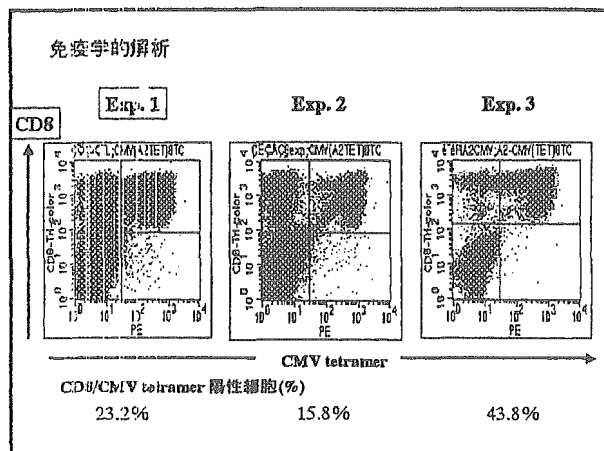
→ いずれも生物学的危険（バイオハザード）の問題や作成に要する時間が臨床応用への制約となっている。

テトラマー法を用いた養子免疫療法の概略



CMV特異的CTLの増幅効率





#### 基礎的検討のまとめ

- ・ドナーから採取した単核球をHLA A0201-CMVテトラマーで染色後、抗PE beadsによりCMV特異的CTLを分離した。
- ・この細胞と、別に分離したCD4陽性T細胞をプラスコに固相化したOKT3、IL2、自己血清を用いて共培養した。
- ・CMV特異的CTLを37 114倍に増幅することができ、臨床応用に十分な増幅倍率と考えられる。
- ・in vitroで増幅したCTLは、(1)MHC拘束性にCMV感染細胞を認識し、抗CMV活性をもち、(2)GVHDを誘発しない、ことが確認された

#### 現在検討している課題

- ・閉鎖系のシステムをもちいた増幅方法の確立
- ・さらに効率のよい増幅系の開発
- ・EBウイルスに対するCTLの増幅系の確立
- ・pheresisにより採取したリンパ球から、テトラマー陽性細胞を選択後、増幅せずに輸注する場合との効果・安全性の比較

#### 薬事法

医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性のために必要な規制等を行うことにより保健衛生の向上を図る  
→製造・輸入販売に対する承認許可規制、安全性対策を規定  
→安全対策に関する医療機関における業務等に対する規制

#### 省令

医療機器及び体外診断用医薬品の製造管理及び品質管理の基準に関する省令 (GMP)

#### 第二章 医療機器製造業者等の製造所における製造管理及び品質管理

通則  
品質管理監督システム  
管理監督者の責任  
資源の管理監督  
製品実現  
測定、分析及び改善

ISO 13485

顧客要求事項及び規制要求事項を満たした製品を一貫して提供する能力を裏証する、マネジメントシステムの規格

- 1) 人為的な誤りを最小限にして
- 2) 高い品質を保証する