

厚生労働科学研究費補助金
ヒトゲノム・再生医療等研究事業

〈研究課題名〉
骨髄非破壊的前処置療法を用いた同種造血幹細胞移植の
確立と普及に関する研究

平成16年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 高上 洋一
(所属機関 国立がんセンター中央病院)

平成17(2005)年4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

<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 16 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 17 (2005) 年 4 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

<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 16 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 17 (2005) 年 4 月

【 目 次 】

I. 総括研究報告

- P 1~7 高上 洋一 / 国立がんセンター中央病院
『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』

II. 分担研究報告

- P 8~10 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 11~14 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 15~18 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 19~20 武元 良整 / シーピーシークリニック
『骨髄非破壊的移植後のウイルス感染症と GVHD 病態の解明』
- P 21~22 神田 善伸 / 東京大学医学部附属病院
『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おける
至適GVHD予防法の確立』
- P 23~25 長藤 宏司 / 九州大学病院
『骨髄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 26~28 宮腰 重三郎 / 虎の門病院
『臍帯血を用いた骨髄非破壊的造血幹細胞移植の検討』
- P 29~31 林 邦雄 / 星ヶ丘厚生年金病院
『悪性リンパ腫に対する骨髄非破壊的移植の確立』
- P 32~34 松井 利充 / 神戸大学医学部附属病院
『移植前処置関連毒性の検討』

III. 研究成果の刊行に関する一覧

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 部長

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、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ビンとブスルファンを併用する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、単一施設の第I相あるいは多施設共同無作為比較第II相臨床試験を行って検討した。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った。特に多施設共同研究は新GCPに準拠して行って55名を登録し、中間解析を行った30症例のデータを用いて臨床承認申請を行うことを検討中である。国立がんセンター中央病院における第I相臨床試験には計280名を登録し、また班員施設では若年者に対してミニ移植を施行して治療の安全性を確認した。同時に、治療の安全性を高める目的からリンパ球輸注療法(DLI)の適正化を検討し、移植後の免疫能を解析した。全国の施設からの研修医あるいは見学者を積極的に受け入れ、移植治療の均てん化と国民医療におけるがん医療水準の向上に寄与した。

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 (シーピーシークリニック・副院長)
神田 善伸 (東京大学医学部附属病院・特任講師)
長藤 宏司 (九州大学病院・助手)
宮腰 重三郎 (虎の門病院・医員)
林 邦雄 (星ヶ丘厚生年金病院・嘱託医)
松井 利充 (神戸大学医学部附属病院・講師)

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相臨床試験などで評価し、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相臨床試験を行った。

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ョンを行った。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 DLI の適正化を行い、また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 部を本人に提供し、個人情報厳重に保護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 相臨床試験には、2004 年 12 月末現在で合計 280 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、治療の安全性が確認された。しかし、急性 GVHD の合併率は通常移植と同程度であったことから、その改善を目指した第 II 相臨床試験を行うことの意義は大である。

多施設共同第 II 相臨床試験に関しては、移植領域における医師主導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、2005 年 3 月現在で計 55 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た(「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」)。小児患者におけるミニ移植の妥当性を検証した。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。また、臍帯血を用いたミニ移植を受けた 30 名のデータや基礎研究成果などを、2004 年 12 月に開催された全米血液学会で 6 題を発表するなどして注目を集めた。全国の施設からの研修医あるいは見学者を積極的に受け入れ、移植治療の均てん化と国民医療におけるがん医療水準の向上に寄与した。

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、その有効性を評価した。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んだ。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Hori S, Heike Y, Takei M, Maruyama M, Inoue Y, Lee JJ, Kim HJ, Harada Y, Kawai H, Shimosaka A, Kami M, Tanosaki MD, Wakasugi H, Saito S, Takaue Y, Kakizoe T: Freeze-thawing procedures have no influence on the phenotypic and functional development of dendritic cells generated from peripheral blood CD14+ monocytes. *J Immunother*, 27:27-35, 2004.
2. Hori A, Kami M, Kim SW, Murashige N, Sakiyama M, Kojima R, Hamaki T, Makimoto A, Miyakoshi S, Masuo S, Taniguchi S, Kunitoh H, Takaue Y: Urgent need for a validated tumor response evaluation system for use in immunotherapy. *Bone Marrow Transplant*, 33:255-256, 2004.
3. Kawano Y, Chan LL, Watanabe T, Abe T, Okamoto Y, Makimoto A, Nakagawa R, Watanabe H, Suzuya H, Takaue Y: Cryopreservation of mobilized blood stem cells at a higher cell concentration without the use of a programmed freezer. *Ann Hematology*, 83:50-54, 2004.
4. Yamasaki S, Ohno Y, Taniguchi S, Yoshida T, Hayashi S, Ogawa H, Shimazaki C, Takahashi S, Kasai M, Wake A, Nishimura M, Tokunaga K, Gondo H, Takaue Y, Harada M, Mineishi S: 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.
5. Kamitsuji Y, Mori S, Kami M, Yamada H, Shirakawa K, Kishi Y, Murashige N, Kim SW, Heike Y, Takaue Y: Fatal deep vein thrombosis after allogeneic reduced-intensity hematopoietic stem-cell transplantation for the treatment of metastatic gastric cancer. *Ann Hematol*, 83:533-535, 2004.
6. Harashima N, Kurihara K, Utunomiya A, Tanosaki R, Hanabuchi S, Masuda M, Ohashi T, Fukui F, Hasegawa A, Masuda T, Takaue Y, Okamura J, Kannagi M: 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*, 64:391-399, 2004.
7. Hori A, Kami M, Kim SW, Chizuka A, Kojima R, Imataki O, Sakiyama M, Hamaki T, Onishi Y, Usubuchi N, Kishi Y, Murashige N, Tajima K, Miyakoshi S, Heike Y, Masuo S, Taniguchi S, Takaue Y: 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*, 10:65-72, 2004.
8. 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 Transplant*, 33:431-434, 2004.
9. Kusumi E, Kami M, Yuji K, Hamaki T, Murashige N, Kim SW, Heike Y, Ueyama J, Miyakoshi S, Tanosaki R, Morinaga S, Mineishi S, Muto Y, Takaue Y: Feasibility of reduced-intensity hematopoietic stem cell transplantation from an HLA-matched unrelated donor. *Bone Marrow Transplant*, 33:697-702, 2004.
10. Hamaki T, Kami M, Kim SW, Onishi Y, Kishi Y, Murashige N, Hori A, Kojima R, Sakiyama M, Imataki O, Heike Y, Tanosaki R, Masuo S, Miyakoshi S, Taniguchi S, Tobinai K, Takaue Y: Reduced-intensity stem cell transplantation from an HLA-identical sibling donor in patients with myeloid malignancies. *Bone Marrow Transplant*, 33:891-900, 2004.

11. Lee JJ, Nam CE, Nam JH, Lee HC, Chung JJ, Park MS, Choi BH, Song WH, Lee IK, Park KS, Kook H, Hwang TJ, Takei M, Takaue Y, Kim HJ: Generation of cytotoxic donor CD8+ T cells against relapsing leukemic cells following allogeneic transplantation by stimulation with leukemic cell- or leukemic lysate pulsed donor cell-derived dendritic cells. *Leuk Res*, 28:517-524, 2004.
12. Shimizu A, Sasaki H, Aoyagi K, Yoshida M, Kato K, Heike Y, Ikarashi Y, Shirakawa K, Takaue Y, Miyajima A, Terada M, Nagai H, Wakasugi H: The mouse natural killer T cell-associated antigen recognized by USA2-13 monoclonal antibody is intercellular adhesion molecule-1. *Immunol Lett* 92:227-235, 2004.
13. Imataki O, Kim SW, Kami M, Gotoh M, Komaba S, Kasai M, S Hashino S, Naito K, Masuda M, Anan K, Teshima H, Togitani K, Inoue T, Nishimura M, Adachi Y, Fukuhara T, Yamashita T, Uike N, Kobayashi Y, Hamaguchi M, Higuchi M, Kawakami K, Takaue Y: A nationwide survey of deep fungal infections and fungal prophylaxis after hematopoietic stem cell transplantation in Japan. *Bone Marrow Transplant*, 33:1173-1179, 2004.
14. Tanimoto TE, Yamaguchi T, Tanaka Y, Saito A, Tajima K, Karasuno T, Kasai M, Kishi K, Mori T, Maseki N, Morishima S, Miyakoshi S, Kasai M, Ohno Y, Kim SW, Numata A, Kami M, Takaue Y, Mori S, Harada M: Comparative analysis of clinical outcomes after allogeneic bone marrow transplantation versus peripheral blood stem cell transplantation from a related donor in Japanese patients. *Br J Haematol*, 125:480-493, 2004.
15. Hori A, Kami M, Kim SW, Makimoto A, Tanosaki R, Takaue Y: Balance between acute graft-versus-host disease and graft-versus-tumor effect after reduced-intensity transplantation for metastatic renal cell carcinoma. *Hematol J*, 5:276-278, 2004.
16. Miyakoshi S, Yuji K, Kami M, Kusumi E, Kishi Y, Kobayashi K, Murashige N, Hamaki T, Kim SW, Ueyama J, Mori S, Morinaga S, Muto Y, Masuo S, Kanemaru M, Hayashi T, Takaue Y, Taniguchi S: Successful engraftment after reduced-intensity umbilical cord blood transplantation for adult patients with advanced hematological diseases. *Clin Cancer Res*, 10:3586-3592, 2004.
17. Sekiguchi N, Nishimoto J, Tanosaki R, Kubota N, Yokota Y, Kobayashi Y, Watanabe T, Kami M, Takaue Y, Matsuno Y, Tobinai K: EBV-positive Burkitt lymphoma as a late-onset posttransplantation lymphoproliferative disorder after allogeneic stem cell transplantation. *Int J Hematol*, 79:387-389, 2004.
18. Nakagawa T, Kami M, Hori A, Kim SW, Murashige N, Hamaki T, Kishi Y, Fujimoto H, Matsuoka N, Okajima E, Komiyama M, Tobisu K, Wakayama T, Uike N, Tajima K, Makimoto A, Mori S, Tanosaki R, Takaue Y, Kakizoe T: 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*, 32:599-606, 2004.
19. Kishi Y, Miyakoshi S, Kami M, Ikeda M, Katayama Y, Murashige N, Kusumi E, Yuji K, Kobayashi K, Kato D, Hamaki T, Matsumura T, Kim SW, Morinaga S, Mori S, Kanemaru N, Hayashi T, Takaue Y, Taniguchi S: Early central nervous system complications after reduced-intensity stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*, 10:561-568, 2004.
20. Kojima R, Kami M, Nannya Y, Kusumi E, Sakai M, Tanaka Y, Kanda Y, Mori S, Chiba S, Miyakoshi S, Tajima K, Hirai H, Taniguchi S, Sakamaki H, Takaue Y: Incidence of invasive aspergillosis after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with a reduced-intensity regimen compared with transplantation with a conventional regimen. *Biol Blood Marrow Transplant*, 10:645-652, 2004.
21. Sakiyama M, Kami M, Hori A, Imataki O, Hamaki T, Murashige N, Kobayashi K, Kishi Y, Kojima R, Kim SW, Kusumi E, Yuji K, Miyakoshi S, Mori S, Tanosaki R, Taniguchi S, Takaue Y: Regimen-related toxicity following reduced-intensity stem-cell transplantation: comparison between Seattle criteria and National Cancer Center Common Toxicity Criteria

- (NCI-CTC) version 2.0. Bone Marrow Transplant, 34:787-794, 2004.
22. Kami M, Makimoto A, Heike Y, Takaue Y: Reduced-intensity hematopoietic stem cell transplantation (RIST) for solid malignancies. Jap J Clin Oncol, 34:707-716, 2004.
 23. Hori A, Kanda Y, Goyama S, Onishi 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: 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, 2004.
 24. Miyakoshi S, Kami M, Kishi Y, Murashige N, Yuji K, Kusumi E, Matsumura T, Onishi Y, Kobayashi K, Kim SW, Hamaki T, Takaue Y, Taniguchi S: Fatal hepatic failure associated with graft rejection following reduced-intensity stem-cell transplantation for chronic idiopathic myelofibrosis (CIMF). Leuk Lymphoma, 45:2513-2516, 2004.
 25. Kojima R, Kami M, Hori A, Murashige N, Ohnishi M, Kim SW, Hamaki T, Kishi Y, Tsutsumi Y, Masauzi N, Heike Y, Mori S, Kobayashi K, Masuo S, Tanosaki R, Takaue Y: Reduced-intensity allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation as an immunotherapy for metastatic colorectal cancer. Transplantation, 78:1740-1746, 2004.
 26. Kishi Y, Kami M, Murashige N, Tanaka Y, Fujisaki G, Kusumoto S, Mori S, Takaue Y, Tanosaki R: Hyperacute GVHD and emergence of peripheral CD3+CD56+ T-cells and activated natural killer cells are useful markers for early diagnosis of post-transplant hemophagocytic syndrome. Bone Marrow Transplant, 35:415-417, 2005.
 27. Hori A, Kanda Y, Goyama S, Onishi 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; Japan Hematology and Oncology Clinical Study Group. 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.
 28. Chizuka A, Kami M, Kanda Y, Murashige N, Kishi Y, Hamaki T, Kim SW, Hori A, Kojima R, Mori SI, Tanosaki R, Gomi H, Takaue Y: Value of surveillance blood culture for early diagnosis of occult bacteremia in patients on corticosteroid therapy following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. Bone Marrow Transplant, 35:577-582, 2005.
 29. Akiyama Y, Tanosaki R, Inoue N, Shimada M, Hotate Y, Yamamoto A, Yamazaki N, Kawashima I, Nukaya I, Takesako K, Maruyama K, Takaue Y and Yamaguchi K: Clinical response in Japanese metastatic melanoma patients treated with peptide cocktail-pulsed dendritic cells. J Transl Med, 3:4, 2005.
 30. Kobayashi K, Kami M, Ikeda M, Kishi Y, Murashige N, Tanosaki R, Mori S, Takaue Y: Fulminant septicemia caused by Bacillus cereus following reduced-intensity umbilical cord blood transplantation. Haematologica, 90:ECR06, 2005.
2. 学会発表
1. Suzuya H, Watanabe T, Kawano Y, Nakagawa R, Wakata Y, Onishi T, Kaneko M, Watanabe H, Okamoto Y, Kuroda Y, Takaue Y: Analysis of factors associated with G-CSF induced PBSC yield in healthy donors. 10th Congress of The International Society of Hematology, Asian-Pacific Division. Nagoya, September 2-4, 2004.
 2. Saito AM, Takaue Y, Ohashi Y: Reassessment of current measures for collecting safety data in autologous hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) for non-Hodgkin's lymphoma (NHL). The 46th American Society of Hematology Annual Meeting, San Diego, December 4-7, 2004 (abstr #2194).
 3. Ohnishi M, Sakurai T, Heike Y, Kanda Y, Takaue Y, Mizoguchi H, Kawakami Y: Measurement of functional cytomegalovirus (CMV)-specific T cells by Interferon-gamma-Enzyme-Linked Immunospot (IFN- γ ELISPOT) assay specific for a single immunodominant epitope enables the sensitive evaluation of immune recovery for CMV in patients after allogeneic stem cell transplantation (HSCT)

- with a reduced-intensity regimen (RIST). The 46th American Society of Hematology Annual Meeting, San Diego, December 4-7, 2004 (abstr #3157).
4. Imataki O, Heike Y, Iizuka A, Kuwatani M, Ikarashi Y, Takaue Y, Wakasugi H: Efficient *ex vivo* expansion of V α 24+NKT cells from G-CSF-mobilized PBMC. The 46th American Society of Hematology Annual Meeting, San Diego, December 4-7, 2004 (abstr #2865).
 5. Morita M, Hosokawa M, Heike Y, Sasaki T, Ebisawa M, Mori S, Tanosaki R, Kami M, Nosaka K, Ohnishi M, Tobinai K, Takaue Y: Evaluation of cytomegalovirus (CMV)-specific cytotoxic T lymphocyte (CTL) monitoring procedures with tetramer and intracellular IFN- γ assay after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. The 46th American Society of Hematology Annual Meeting, San Diego, December 4-7, 2004 (abstr #3161).
 6. Morita M, Hosokawa M, Heike Y, Mori S, Tanosaki R, Kami M, Nosaka K, Ohnishi M, Takaue Y: Follow-up of WT1-specific cytotoxic T lymphocytes (CTL) with tetramer-based analysis after allogeneic stem cell transplantation (SCT) in patients with renal cell carcinoma (RCC). The 46th American Society of Hematology Annual Meeting, San Diego, December 4-7, 2004 (abstr #2122).
 7. Teshima T, Matsuo K, Matsue K, Kawano F, Taniguchi S, Hatanaka K, Nakao S, Tanimoto M, Hara M, Eto T, Wake A, Abe Y, Ohno Y, Takemoto Y, Harada M, Takahashi S, Ishida Y, Kanda Y, Imamura M, Kasai M, Takaue Y: Impact of HLA mismatch on the incidence of acute graft-versus-host disease and rejection after reduced-intensity conditioning hematopoietic stem cell transplantation. The 46th American Society of Hematology Annual Meeting, San Diego, December 4-7, 2004 (abstr #2758).
 8. Kojima R, Heike Y, Narumi J, Yamagata S, Chizuka A, Nosaka K, Kami M, Mori S, Tanosaki R, Tobinai K, Takaue Y: Analysis of chimerism induction following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) with a reduced-intensity regimen. The 46th American Society of Hematology Annual Meeting, San Diego, December 4-7, 2004 (abstr #5027).
 9. Tanosaki R, Hotate Y, Shimada M, Inoue N, Onishi Y, SW Kim, Makimoto A, Hosono A, Kami M, Mori S, Tobinai K, Takaue Y: Collection of autologous peripheral blood stem cells (PBSC): Safety evaluations during the peri-apheresis period. The 46th American Society of Hematology Annual Meeting, San Diego, December 4-7, 2004 (abstr #5038).
 10. Kusumoto S, Tanosaki R, Onishi Y, Akahane D, Sugimoto K, Terada Y, Kim SW, Kami M, Mori S, Heike Y, Takaue Y, Tobinai K: High frequency of engraftment fever (EF) in patients with malignant lymphoma (ML) after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) with a reduced-intensity conditioning regimen. The 46th American Society of Hematology Annual Meeting, San Diego, December 4-7, 2004 (abstr #5039).
 11. Onishi Y, Mori S, Kusumoto S, Akahane D, Sugimoto K, Terada Y, Kim SW, Heike Y, Tanosaki R, Tobinai K, Takaue Y: Attenuated preemptive therapy against cytomegalovirus (CMV) reactivation/disease consisting of a higher cutoff point and a lower initial dose of ganciclovir after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) with an HLA-identical sibling donor. The 46th American Society of Hematology Annual Meeting, San Diego, December 4-7, 2004 (abstr #5068).
 12. Terada Y, Onishi Y, Kim SW, Kami M, Mori S, Heike Y, Takaue Y, Tanosaki R: Clinical Significance of Positive Clostridium Difficile (CD) Toxin in the stool of patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT). The 46th American Society of Hematology Annual Meeting, San Diego, December 4-7, 2004 (abstr #5078).
 13. Akahane D, Onishi Y, Kim SW, Kami M, Mori S, Heike Y, Takaue Y, Tobinai K, Tanosaki R: Hematopoietic recovery after allogeneic transplantation using G-CSF-mobilized and cryopreserved peripheral blood stem cells. The 46th American Society of Hematology Annual Meeting, San Diego, December 4-7, 2004 (abstr #5078).

Meeting, San Diego, December 4-7, 2004 (abstr #5142).

14. Sugimoto K, Onishi Y, Kusumoto S, Kim SW, Kami M, Mori S, Heike Y, Takaue Y, Tobinai K, Tanosaki R: Reduced-intensity stem cell transplantation (RIST) for non-Hodgkin lymphoma (NHL): A single-institute experience of 52 patients. The 46th American Society of Hematology Annual Meeting, San Diego, December 4-7, 2004 (abstr #5145).
15. Yuji K, Kami M, Kato D, Miura Y, Myojo T, Kusumi E, Narimatsu H, Kishi Y, Hamaki T, Matsumura T, Miyakoshi S, Ueyama J, Morinaga S, Takaue Y, Taniguchi S: Improvement of concurrent autoimmune diseases following reduced-intensity stem cell transplantation (RIST) for hematological disorders: Graft-versus-autoimmunity (GVA) effect. The 46th American Society of Hematology Annual Meeting, San Diego, December 4-7, 2004 (abstr #5183).
16. Onishi Y, Mori S, Kusumoto S, Sugimoto K, Akahane D, Kim S, Heike Y, Tanosaki R, Tobinai K, Takaue Y: Conditioning with fludarabine and busulfan combined with 4 Gy of total body irradiation for unrelated bone marrow transplantation. The 31st Annual Meeting of the European Group for Blood and Marrow Transplantation, Prague, Czech Republic, March 20-23, 2005. (abstr. 165)

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

『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』

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 平成13年9月から実施してきた「急性白血病再発に対するドナーリンパ球輸注 (DLI)」に関する臨床試験を閉じ、その結果を解析した。計13例が登録され、評価可能12例のうち4例に3ヶ月以上の寛解が得られた。ほとんどの例で、患者体重あたり 2×10^8 /kg 以上の大量の CD3 陽性細胞が輸注されたにもかかわらず、急性 GVHD、慢性 GVHD が誘導されたのはそれぞれ4例 (33%)、3例 (25%) のみであった。寛解例は全例が GVHD 発症例であった。しかし、寛解例4例のうち3例が骨再発をきたした。大量 DLI は GVHD を発症した一部の急性白血病再発においては有用な治療ではあるが、GVHD の誘導率を高め、髄外再発を防ぐ工夫をしていく必要があると思われた。

A. 研究目的

DLIは、同種造血幹細胞移植後の慢性骨髄性白血病 (CML) 再発に対する有効な治療法であるが、急性白血病再発に対しては一般に無力とされている。しかし、急性骨髄性白血病 (AML) や骨髄異形成症候群 (MDS) の再発においても、急性移植片体宿主病 (GVHD) が誘導された例では長期寛解が得られやすいことがヨーロッパ骨髄移植グループ (EBMT) の検討により示されている。われわれが集計したわが国におけるDLIの治療成績においても、GVHD発症例の方が非発症例に比べて急性白血病再発例の寛解導入率が高い傾向がみられた。しかし、日本人は欧米の人種に比べて移植後のGVHDの発症率が低いことが問題であり、この検討でもDLI後の急性GVHDの発症率は高々30%であった。アメリカのDLIに関する過去の報告では、短期間に大量のリンパ球を輸注することによってGVHDが高率に誘導され、それによって治療抵抗性白血病に寛解が得られることが示されている。一方、GVHDはそれ自身が致死的な合併症ではあるが、重症GVHDが発症したとしても、発症後早期にタクロリムスとプレドニゾロンで治療すればGVHD死亡は回避でき、難治性の血液腫瘍に寛解が得られることが、免疫抑制療法を使用しない末梢血幹細胞移植の経験から示されている。したがって、わが国の急性白血病再発患者においても、化学療法によって白血病細胞を可能な限り減少させたのちに、移植ドナーから大量の

DLIを繰り返し行うことによって、白血病の長期寛解が得られる可能性がある。そこで本臨床試験では、急性白血病再発に対して高用量のシトシンアラビノシド (ara-C) を投与したのち、短期間に大量のDLIを繰り返すことによって効率よくGVHDが誘導されるか否か、またそれによって寛解が得られるか否かを検討した。

B. 研究方法

DLIは、同種造血幹細胞移植後の慢性骨髄性白血病 (CML) 再発に対する有効な治療法であるが、急性白血病再発に対しては一般に無力とされている。しかし、急性骨髄性白血病 (AML) や骨髄異形成症候群 (MDS) の再発においても、急性移植片体宿主病 (GVHD) が誘導された例では長期寛解が得られやすいことがヨーロッパ骨髄移植グループ (EBMT) の検討により示されている。われわれが集計したわが国におけるDLIの治療成績においても、GVHD発症例の方が非発症例に比べて急性白血病再発例の寛解導入率が高い傾向がみられた。しかし、日本人は欧米の人種に比べて移植後のGVHDの発症率が低いことが問題であり、この検討でもDLI後の急性GVHDの発症率は高々30%であった。アメリカのDLIに関する過去の報告では、短期間に大量のリンパ球を輸注することによってGVHDが高率に誘導され、それによって治療抵抗性白血病に寛解が得ら

れることが示されている。一方、GVHDはそれ自身が致死的な合併症ではあるが、重症GVHDが発症したとしても、発症後早期にタクロリムスとプレドニゾロンで治療すればGVHD死亡は回避でき、難治性の血液腫瘍に寛解が得られることが、免疫抑制療法を使用しない末梢血幹細胞移植の経験から示されている。したがって、わが国の急性白血病再発患者においても、化学療法によって白血病細胞を可能な限り減少させたのちに、移植ドナーから大量のDLIを繰り返し行うことによって、白血病の長期寛解が得られる可能性がある。そこで本臨床試験では、急性白血病再発に対して高用量のシトシンアラビノシド (ara-C) を投与したのち、短期間に大量のDLIを繰り返すことによって効率よくGVHDが誘導されるか否か、またそれによって寛解が得られるか否かを検討した。

<倫理面への配慮>

本臨床試験は倫理委員会において承認が得られた施設のみが参加可能であった。安全性を確保するため第1段階の7例が登録された時点で登録を一時中止し、成功例が3例以下の場合研究の中止を予定した。実際には成功例が4例以上であったため登録を続けた。症例は登録の段階で連結可能匿名化し、事務局では患者が特定できないように配慮した。

C. 研究結果

5施設から計12症例が登録された。11例はHLA一致同胞ドナー、1例はHLA1座不一致血縁ドナーからの移植例であった。原疾患の内訳は6例がALL、5例がAML、1例がMDSであった。移植から再発までの期間は61日から2240日(中央値185日)であった。DLI①によって投与されたCD34陽性細胞は $0.9\sim 6.4$ (中央値 2.9) $\times 10^6$ /kg、CD3陽性細胞数は $1.0\sim 4.2$ (中央値 2.2) $\times 10^8$ /kgであった。DLI①は全例に施行され、DLI②は8例、DLI③は5例に施行された。DLI①～③によって輸注されたCD3陽性細胞の総数は $1.0\sim 6.2$ (中央値 3.1) $\times 10^8$ /kgであった。

4例がそれぞれ敗血症(2例)、化学療法による多臓器不全(1例)、脳出血(1例)のためDLI後10週以内に死亡した。4例がグレードⅡ以上の急性GVHD、3例(2例がde novo、1例がprogressive)が広範型の慢性GVHDを発症した。予想GVHD発

症率は急性が40%、慢性が37%、急性または慢性のいずれかを発症する確率は58%であった。1例を除く5例のGVHDはメチルプレドニゾロンとタクロリムスによる治療に反応して改善した。GVHDの発症と輸注されたCD3陽性細胞との間には相関は見られなかった。

4例(33%)が20週目に寛解を維持していた。これらはすべてGVHD発症例であった。このうち3例はその後骨再発を来し、うち1例はその後全身再発を来して死亡した。他の2例は局所の放射線療法後無病生存中である。ALLの1例のみがその後の再発なく2年4ヶ月無病生存中である。2年予想無病生存率は25%、総生存率は29%であった。

D. 考察

EBMTの解析結果と同様に、今回の臨床試験においても、GVHDの発症が予後不良の急性白血病再発に対して移植片対白血病(GVL)効果を示すことが示唆された。しかし、ara-C大量療法後に大量DLIを繰り返すという思い切った試みであったにもかかわらずGVHDの発症率は急性33%、慢性25%に留まった。移植後にGVHDを起こさなかった患者においては、患者のマイナー組織適合抗原に特異的なドナー由来Tリンパ球の働きを妨げる何らかの寛容が成立しており、これはara-C大量程度の化学療法では克服できなかった可能性がある。したがって、急性白血病再発を同じドナーからのDLIで治療する場合には、インターフェロンやインターロイキン2の併用などのGVHD発症率を高める工夫が必要と考えられる。

DLI後に寛解が得られたとしても、急性白血病再発ではその後に髄外再発を来しやすいことが以前から知られていた。今回の研究でも、寛解が得られた4例のうち3例に骨再発が見られた。そのうち2例は局所の放射線治療と全身的な化学療法の追加、および再度のDLIにより寛解が維持されているが、観察期間が短いため、これらの例で寛解が長期にわたって維持されるかどうかは不明である。したがって、急性白血病再発においてはDLIによって寛解が得られたとしても、その後の髄外再発に備えた後療法が必要と思われる。

これらの問題点を考慮すると、造血幹細胞移植後に急性白血病が再発した場合、移植ドナーの免疫に期待したDLIは有効な治療とは言い難い。今後、再発

例に対しては、臍帯血やHLA1ハプロタイプ一致血縁ドナーを用いることにより、別のドナーの同種免疫に期待した再移植の有用性を検討すべきと考えられる。また、急性白血病再発であっても分子再発の段階であれば GVL 効果によって高率に寛解が得られるという報告があることから、移植後再発のリスクが高い患者に対しては、WT1 遺伝子発現のような分子再発マーカーを指標とした preemptive DLI の有用性も検討すべきであろう。

E. 結論

移植後急性白血病再発に対して高用量 ara-C 後に大量の DLI を繰り返すという試みは、GVHD 発症時の強力な免疫抑制療法により致死的な GVHD を招くことなく安全に施行された。しかし、患者の体重あたり $2 \times 10^8/\text{kg}$ という大量の DLI を行っても GVHD を発症する例は一部に限られていた。一方、20 週以上にわたって寛解が維持された例は全例が GVHD 発症例であることから、GVHD が GVL 効果を持つことが確認された。ただし、寛解が維持された4例のうち3例に骨再発がみられたことから、DLI 後に寛解が得られたとしても髄外再発の克服が大きな問題である。したがって、移植後に急性白血病の再発を来した患者に対しては、臍帯血や HLA 不適合血縁者などの初回移植とは異なるドナーからの移植の有用性を検討すべきであろう。また、移植後再発のリスクが高い予後不良白血病に対しては、分子再発の段階で preemptive な同種免疫療法の有用性を検討すべきと思われる。

F. 健康危機情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 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. Takami A, Sugimori C, Feng X, Yachie A, Kondo Y, Nishimura R, Kuzushima K, Kotani T, Asakura H, Shiobara S, Nakao S. Expansion and activation of minor histocompatibility antigen HY-specific T cells

associated with graft-versus-leukemia response. *Bone Marrow Transplant*. 2004 Oct;34(8):703-9.

3. Ishiyama K, Takami A, Shiobara S, Koizumi S, Nakao S; Kanazawa University Hospital Haematopoietic Stem Cell Transplantation group. Graft-versus-leukemia effect of allogeneic stem cell transplantation; a Japanese single center study. *Haematologica*. 2004 Jul;89(7):887-9.
4. Takami A, Asakura H, Takamatsu H, Yamazaki H, Arahata M, Hayashi T, Shibayama M, Orito M, Yoshida T, Namiki M, Nakao S. Isolated hyperkalemia associated with cyclosporine administration in allogeneic stem cell transplantation for renal cell carcinoma. *Int J Hematol*. 2005 Feb;81(2):159-61.

2. 学会発表

1. Takami A, Nakao S. Reduced-intensity allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for hematologic malignancies: a single center experience. Abstract #17. Xth Congress of The International Society of Hematology, Asian-Pacific Division 2004
2. 高見昭良、中尾眞二. 当院におけるミニ移植. 第66回日本血液学会総会・第46回日本臨床血液学会合同総会. *臨床血液*. 2004;45(8):240a
3. 高松博幸、中尾眞二. 腎細胞癌に対する臍帯血を用いた骨髄非破壊的同種造血幹細胞移植. 第27回日本造血幹細胞移植学会総会. 2004年 #PS2-14
4. 高見昭良、中尾眞二. 同種造血幹細胞移植後サイトメガロウイルス感染に関する検討. 第27回日本造血幹細胞移植学会総会. 2004年 #PS19-8

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
分担研究報告書

『造血幹細胞移植臨床試験検証システムの確立』

～骨髄非破壊的前処置療法の有用性、ならびに急性 GVHD の予防方法に関する検討～
分担研究者 大橋靖雄 東京大学大学院医学系研究科生物統計学/疫学・予防保健学 教授

研究要旨：本研究では、従来の前処置療法と比較して、治療関連毒性が軽い骨髄非破壊的前処置療法を用いて50歳以上70歳未満の患者を対象とした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トトレキサート併用による方法の2群で比較・検討する。日本臨床研究支援ユニット 血液データセンター(J-CRSUデータセンター)では、本研究における一切のデータマネージメント、統計解析、報告書作成に関わる業務を請け負う。本研究の有用性が確認された場合、1999年2月に発布された審査管理課長通知『適用外使用に係る医療用医薬品の取扱いについて（医薬審第104号）』に従い、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、新GCPを遵守した高い質管理に重点を置くと共に、移植の特殊性を考慮した業務上の標準化を目指す。

A. 研究目的

従来の前処置療法と比較して、治療関連毒性が軽い骨髄非破壊的前処置療法を用いて 50 歳以上 70 歳未満の患者を対象としたミニ移植術を行い、高齢者における本治療法の有用性(安全性・有効性)を検討する。又、GVHD 予防法に関して、本領域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ト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、1999 年 2 月に発布された審査管理課長通知『適用外使用に係る医療用医薬品の取扱いについて（医薬審第 104 号）』に従い、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、急性骨髄性・リンパ性白血病(第一・第二寛解期)、慢性骨髄性白血病(第一・第二慢性期)、又は骨髄異形成症候群(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(骨髄中の芽球が 5%未満、末梢血中の芽球無、骨髄低形成でない、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。適格性が確認された症例について仮登録を行った後、ドナーより造血幹細胞を採取する。ドナーから採取された造血幹細胞数が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、再度適格性を確認し本登録を行う。本登録適格症例に対しては、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 群への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、有効性及び安全性評価を行う。

3. 症例数；各群 30 症例、合計 60 症例

4. 研究期間；平成 13 年 7 月より平成 17 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
- (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
- (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)、免疫回復能の推移、血液検査・骨髄検査などによる原疾患の評価
- (7) 移植特有の合併症評価；急性・慢性 GVHD、VOD、感染症などを評価
- (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

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(試験薬剤に関連する製薬企業との連携・協力)
- (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月より登録を開始した。平成16年11月末現在、本登録症例数は38/60例。このうち、移植関連毒性や再発に伴う、11例の死亡(いずれも移植後100日以降)が確認されている。

2. プロトコル、調査票、データベースの改訂；プロトコルの改訂は最小限にとどめるべきであるが、移植医療領域における新 GCP に準拠した形の前向き試験は国内初であり、試験運営途中で発生した問題点に関して、適切な手順を踏んでプロトコル、調査票、データベースの改訂を行うことは必須であると考え、数回の改訂を行ってきた。平成 15 年度、ミニ移植が既に世界中で検討が進められてきており、プロトコル立案の段階より様々な知見；(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造血幹細胞移植の主流になりつつあるという状況 (2) 治療の安全性に関しても良好な成績であることが国立がんセンターの feasibility study より明らかになったこと (3) 一部の都道府県では、ミニ移植の増加に伴いリン酸フルダラビ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こと (4) 早期の完全キメラ達成が移植の成功に必須ではない可能性が示されてきており、早期キメラの到達を目的とすることにより重度の GVHD を意図的に誘導してしまう懸念が生じたこと 等が示され、目標症例数の半数が集まった段階で、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の考えから、効果安全性評価委員会の承認と意見を踏まえ、中間レビューの導入が決定し、これに伴うプロトコール及び関連文書の改訂を行った。その後、各試験参加施設において、試験審査委員会による承認を受け、試験を継続している。

3. 中間レビュー検討会

本研究における目標症例数の半数(30 例)に対する移植後 100 日までの中間成績の検討を行い、治療が安全に実施されているか否かを医学的に評価することを目的として、平成 16 年 10 月 25 日に国立がんセンターに於いて中間レビュー検討会が開催された。主要評価項目については、本試験は成功とも失敗とも結論出来ないことが確認され、又安全性の面からは移植後 100 日以内の死亡が 0%、かつ同時期に発現した有害事象は、いずれも適切かつ速やかな対処が可能な医療施設及び医師の下で治療される限り、問題なく、前処置の動態・薬理作用を勘案すると、前処置の早期安全性については問題なく、高齢者にも十分適用可能な治療法であることが確認された。今後の方針としては、(1) 本試験は目標通り 60 例まで試験を継続し、(2) 移植後 100 日以降の安全性情報を含めた評価を継続して行い、これを総合的に評価する必要がある と判断された。

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 16 年度 2 月 5、6 日、7 月 1、2 日、平成 17 年 2 月 3、4 日に行われた原田・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) 症例・調査票検討；平成 16 年 10 月 25 日の中間レビュー検討会に先立ち、9 月 22 日に症例検討会を施行した。前処置療法に用いる薬剤の投与量、使用方法に関する問題、適格・除外基準に関する問題、割り付け違反症例に関する問題、各種検査施行時期（許容範囲）に関する問題、ドナーからの末梢血幹細胞採取に関わる問題などを中心に医学的・統計学的見地から検討され、解析対象集団を決定した。
- (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、その後中間解析の解析対象集団となる 30 症例全例の施設訪問モニタリングを行った。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、その後の原田・谷口・高上班合同班会議毎に施行した。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試験終了後に予定している。

4. 安全性情報ハンドリングに伴う問題点：有害事象、併用薬剤情報収集に関する問題点の抽出と解決策；

安全性情報の取り扱いは、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臨床試験を行う場合には、単剤の評価に代り、多剤併用療法・集学的治療法を評価することになる為、有害事象情報及び併用薬情報など安全性に関わる情報量が膨大化し、これらのデータが科学的に信頼性に足るものであることを保証するために行われる信頼性調査にかかる人件費が大きく臨床試験のコストを高騰化させる原因になっ

ているとされている。その一方で、これらの情報について、その利用頻度や有用度の解析は行われていないという現状がある。医学的な安全性を保ったまま収集すべき情報量を軽減させられる可能性があれば、非常に有用である。

我々は、これまでに本試験を通じて、急送報告制度における既知・未知の取扱いに関する問題、移植領域における毒性の考え方の他領域との違いなどに対する意見を提示してきた。その後、これらの問題点を基に、企業で行われた造血幹細胞移植領域の治験の安全性データを集計し、造血幹細胞移植領域における臨床試験で得られる膨大な有害事象、併用薬情報の中には報告させる必要のない情報も多く含まれており、これらの情報収集を省略することにより、安全性収集を最適化できる可能性を示してきた

(2004年12月アメリカ血液学会にて報告)。これが実際の臨床試験に適用可能となれば、臨床試験にかかる膨大なコストを削減できる可能性があると考えている。

このように、造血幹細胞移植領域における医師主導の臨床試験を、質を保ち、安全性を確保したまま適切かつ効率的に運営するための安全性情報管理システムの確立を目指し、これまで努めてきた。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3年以上経過した時点で、目標症例数：60例中、本登録症例がようやく38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)を開始しているが、疾患の特殊性、本領域における被験者側の臨床試験に対する啓蒙活動の遅れ、質管理のための

膨大な調査内容・有害事象ハンドリングに関わる試験参加施設側の負担度の増加など、様々な問題が絡み、非常に難航しているという事実がある。今後も継続して節度ある登録奨励活動を行っていく必要があると考える。

2. 信頼性調査；引き続き、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。施設訪問モニタリング施行により、データの質は比較的高いことが示された。中間レビュー後の症例に対するSDVも含めた施設訪問モニタリングの方法論や体制については、検討を加える必要がある。

3. 安全性情報取り扱い；適切かつ効率的なデータベースの構築を進める必要がある。

4. 全般的評価；平成14年10月25日に施行された中間レビューの結果より、主要評価項目については、本試験は成功とも失敗とも結論できないことが確認されたものの、安全性の面からは、移植後100日以内の死亡が0%であり、同時期に出現した有害事象が、いずれも適切かつ速やかな対処が可能な医療施設及び医師の下で治療される限り問題なく、前処置の動態・薬理作用を勘案し、前処置の早期安全性については問題ないと判断された。以上より、本治療法は高齢者にも十分適用可能であると考えられた。但し、移植後100日以降の慢性期に関する安全性情報が不足しており、継続してこれらの情報を観察・収集し、最終的な評価を行う予定である。慢性期に関する評価も含めた中間報告書を平成16年度3月末までに作成予定であり、その後の質管理を含めた試験進行については、効果安全性評価委員の意見も踏まえ、再検討の必要があると考えている。

E. 研究発表

未発表

『若年者における骨髄非破壊的前処置療法を用いた同種末梢血幹細胞移植の意義』

分担研究者 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 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。本法は重症再生不良性貧血などの非悪性血液疾患の晩期障害の少ない前処置として、また免疫療法として固形腫瘍患者で実施される同種造血細胞移植術の場合には、強力な免疫抑制療法として実施する。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、小児固形腫瘍の免疫療法としての HLA 不適合ドナーからの造血細胞移植に本法を用いるべきである。

A. 研究目的

高齢者の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)を確認されている。骨髄非破壊的前処置では臓器障害が軽度なことを利用した免疫療法である。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。本法を利用した造血細胞移植術による免疫療法では、従来のがん免疫療法として試みられてきた治療法より迅速な効果発現が期待できる。一方、各種血液疾患の移植術時の前処置としての有用性は確立されていない。

免疫療法目的で造血細胞移植術を実施する難治性小児固形腫瘍患者では、通常の外科学術方法、化学療法を施行しながら、どのタイミングで少ない毒性で確実に造血細胞移植術を成功させるかということが重要である。一般的に小児例では、GVT効果発現の一つの目安であるGVHDはHLA一致ドナーからの移植では重篤化しないことも知られている。1990年代の臨床研究から、小児進行神経芽腫の同種造血細胞移植術による治療ではGVT効果を得られず、早期に再発死亡することが確認された。したがって、このような疾患では輸中リンパ球数が多く慢性GVHDの発現頻度が高い末梢血幹細胞移植術の有用性を検証しなければならない。

一方、白血病を中心とした小児血液腫瘍疾患患者においては、従来の前処置法では臓器障害が強すぎ

て移植適応にならない場合や、移植術を施行できるものの晩期障害が必発であること、つまり性腺機能障害や成長障害の発現と引き替えに造血細胞移植術を受けている現状を打開する必要がある。これ打開するためには、移植前処置で残存腫瘍を壊滅してHLA一致ドナーから移植するという現在の造血細胞移植術の基本理念の正否を検証しなければならない。

以上のような経過から、骨髄非破壊的前処置療法を用いた同種造血幹細胞移植術の小児患者における適応および造血・免疫機能再構築について検討し、同療法の小児患者における有用性と限界を明確にすることを目的とした。

B. 研究方法

小児患者における骨髄非破壊的造血細胞移植術：免疫療法としての有効性を検討するため、従来の化学療法・放射線療法などに抵抗する進行性横紋筋肉腫、骨肉腫、ユーイング肉腫、神経芽腫の患児を対象として検討した。患児および家族からインフォームドコンセントを得た後、倫理的側面も含めたすべての面で研究的移植術を施行できる患児は研究期間中1名だけであった。血液免疫疾患では、急速に進行した重症再生不良性貧血、分類不能型の先天性免疫不全症候群、骨髄異形成症候群の急性白血病転化に血球貪食症候群を合併した症例、以上3例においてキ

ードラッグであるフルダラビン含む骨髄非破壊的前処置法で造血細胞移植術を実施した。そのうち、末梢血幹細胞移植術は1例で、骨髄移植術2例、臍帯血移植術1例であった。骨髄移植例と臍帯血移植例はHLA不適合であった。また、急性リンパ芽球性白血病の再発症例2例において、リンパ芽球に発現しないCD133抗原を利用して、純化CD133陽性細胞自家移植術を強化療法として実施し、その後骨髄非破壊的前処置法を用いて同種移植術を行うダブルトランスプラント療法を施行した。

HLA不適合ドナーからの移植における骨髄非破壊的前処置法の有用性：上記の重症再生不良性貧血患者は診断から1週間で急激に最重症型に進行し、敗血症を克服できない可能性が大きかったために、血縁非適合ドナーを選択して骨髄非破壊的前処置を用いて移植術を実施した。また、ダブルトランスプラント療法を実施した再発ALLの一例も母親からのHLA不適合移植を行った。これらの経過と、従来実施していたHLA不適合血縁ドナー(PMRD)から骨髄破壊的前処置法を用いた造血細胞移植症例を比較して解析した。

<倫理面への配慮>

すべての治療は鹿児島大学医学部・歯学部附属病院臨床倫理委員会の審査を経て実施した。また、患者およびその家族には研究的な面を有する治療法であることを説明し、文書による同意をえた後に実施した。

C. 研究結果

固形腫瘍における骨髄非破壊的前処置を用いた同種末梢血幹細胞移植患者(11歳女児)では、 $2.64 \times 10^6/\text{kg}$ のCD34陽性細胞を採取して移植した。骨髄非破壊的前処置として、フルダラビン $30\text{mg}/\text{m}^2$ を含む前処置開始後(フルダラビン投与終了日)から発熱し、移植日には右胸水の貯留およびそれに伴う左肺の圧迫を認め、移植後3日目に胸腔穿刺および持続的吸引を施行した。胸水は血性であり細胞診でクラスVであることが確認され、癌性胸膜炎の診断となった。この経過から、腫瘍病勢の強い小児がん症例では抗腫瘍効果が小さく免疫抑制作用の強いフルダラビンの使用によって病勢の進行が示唆された。造血免疫系疾患では、拒絶が多い再生不良性

貧血と免疫不全症患者であったが、ともに各種感染症を併発しながらの移植であったが、感染症の増悪をみることなく生着まで順調に経過した。また、制癌剤の投与歴が長い再発ALL患者におけるダブルトランスプラント療法では、残存腫瘍を根絶するための治療を2回に分散させることになり、結果として同種移植術の合併症を軽減できた。

HLA不適合血縁ドナーからの移植術においても、フルダラビンを含む骨髄非破壊的レジメンは有用であった。従来の方法では最低4-6Gyの全身放射線照射を必要としていた、HLA不適合血縁ドナーからの移植をフルダラビン+シクロフォスファミドで施行可能であることが判明した。再発ALL症例では慢性GVHDが発症しているが、QOLは保たれている。

D. 考察

難治性小児腫瘍患者におけ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は、成人例同様に施行可能であった。特にこの方法でHLA不適合ドナー(親子間1-2座不一致)からの移植が問題ないという結果から、本法は臍帯血移植だけでなく、通常骨髄や末梢血細胞の血縁不適合ドナーからの移植を可能にすると考えられた。しかし、成人腫瘍と小児腫瘍の特性の違いは明らかで、腫瘍細胞の増殖速度の違いで小児固形腫瘍例では免疫療法としての造血細胞移植術には限界があると思われた。この点では、免疫学的なGVT効果の発現は否定的であった難治性神経芽腫症例における通常の前処置を用いた造血細胞移植術の後方視的解析の結果を裏付ける結果となった。しかし、従来のデータはHLA一致同胞からの造血細胞移植術であり、免疫療法としての移植ではなかったため、HLA不適合ドナーからの移植で比較する必要がある。

一方、小児血液腫瘍においてはフルダラビンを使用した本法は有用であり、特に骨髄異形成症候群や再生不良性貧血患者のHLA不適合ドナーからの移植術に応用できることが判明した。従来は少量と全身放射線照射を併用していたので、晩期障害の観点から極めて有用と思われる。移植細胞の生着およびGVHD発症頻度の観点から、小児患者の場合はHLA一致ドナーからの移植で免疫学的GVT効果を求めることは無理である可能性が高い。移植術そのものを治療と考える難治性固形腫瘍患者には、HLA不