

目次

0. シェーマ及び概要	4
1. 目的	6
2. 背景と根拠	6
3. 薬剤情報及び増幅 CD34 陽性細胞について	12
4. 診断規準および病期・病系分類.....	21
5. 適格規準	22
6. 登録	23
7. 治療計画	24
8. 有害事象の評価・報告・対応.....	31
9. 観察・検査・報告項目とスケジュール.....	36
10. 目標症例数と研究実施期間.....	40
11. エンドポイントの定義.....	40
12. 統計学的考察	41
13. 症例報告書の記入と提出.....	44
14. モニタリング	46
15. 倫理的事項	47
16. 試験の費用負担	50
17. プロトコルの改訂.....	50
18. 試験の終了と早期中止.....	51
19. 研究成果の帰属と結果の公表.....	51
20. 研究組織	52
21. 記録等の保存	55
22. 参考文献	56
付録 1.1 説明・同意文書	
付録 1.2 同意撤回書	
付録 2. 医薬品添付文書	
付録 3. Performance Status (ECOG)	
付録 4. 体表面積換算表	
付録 5. 倫理審査委員会承認連絡書	
付録 6. 臨床検査値施設規準域表	
付録 7. 試験分担医師一覧	
付録 8. 症例登録票	
付録 9. 臍帯血送付表	

付録 10. 重篤な有害事象発生時の報告・対応マニュアル

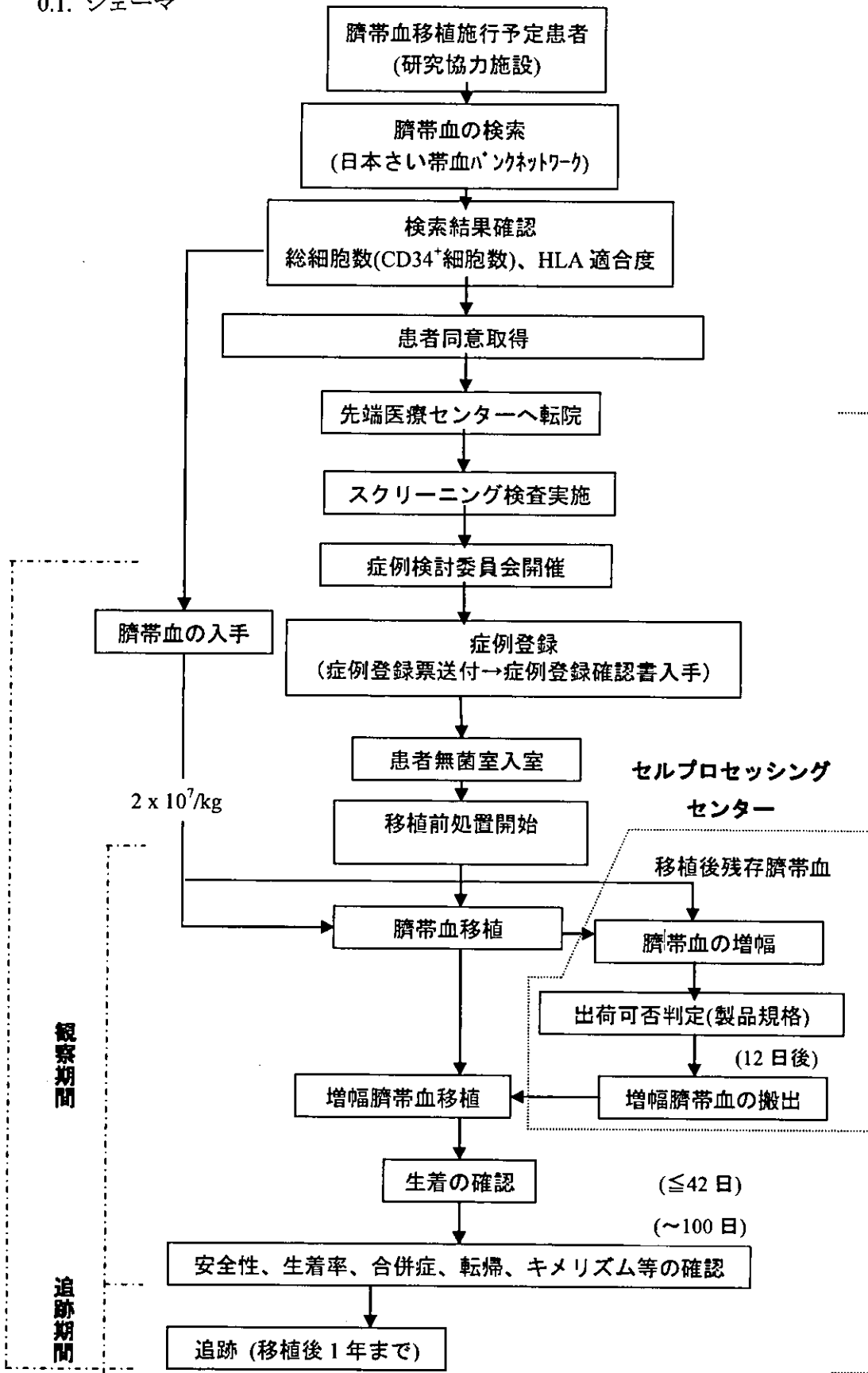
付録 11. 造血幹細胞移植における複合的有害事象の評価規準

付録 12. FAB 分類

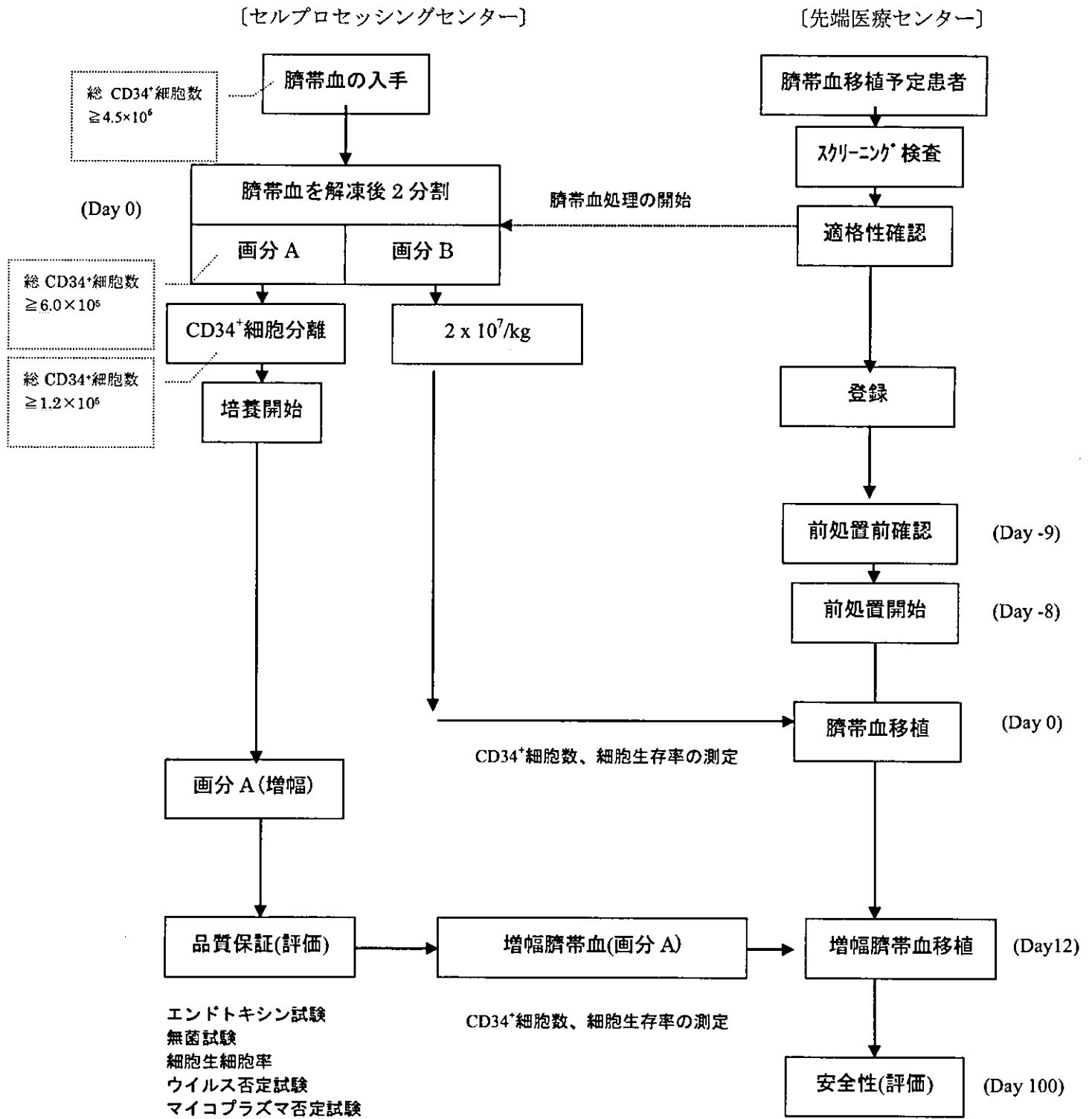
付録 13. 造血幹細胞移植の適応ガイドライン 2002 年版（抜粋）

0. シェーマ及び概要

0.1. シェーマ



0.2. 臍帯血の移植および増幅 CD34 陽性細胞の製造・移植



1. 目的

本研究では、日本造血細胞移植学会の「造血幹細胞移植のガイドライン」に合致する患者で、骨髄移植および末梢血幹細胞移植において適切なドナーを得ることができない急性骨髄性白血病を対象として、臍帯血内の CD34 陽性細胞の一部を *ex vivo* 増幅して臍帯血移植を実施し、その安全性・効果を検討する。さらに、臍帯血内の CD34 陽性細胞および増幅培養した CD34 陽性細胞における輸注細胞数と生着率の相関を検討する。

2. 背景と根拠

2.1. 白血病の治療成績の現状

白血病の治療の基本は化学療法であるが、白血病の各病型ごとに標準的化学療法による予後因子が明らかになってきている。白血病における造血幹細胞移植と化学療法の優劣に関する治療成績は我が国においても海外においてもまだ病型、病期、危険因子毎に層別化された前方視的比較試験が行われておらず、十分にエビデンスが得られているとはいえない状況ではある。ただし、いくつかの試験は行われている。急性骨髄性白血病に対しては、Zittoun らが、同種骨髄移植と自家骨髄移植と化学療法の治療成績を前方視的に比較した。その結果、同種骨髄移植が 4 年無病生存率、再発率とも他の治療群より有意に優れていた¹⁾。急性リンパ性白血病においては、未だに前方視的臨床比較試験は実施されていないが、IBMTR(the International Bone Marrow Transplant Registry)の同種移植成績と JALSG(Japan Adult Leukemia Study Group)の化学療法を比較した検討においては、30 歳以下では同種移植の成績がよく、30 歳以上では同等であったと報告されている²⁾。しかし、成人の急性リンパ性白血病の化学療法による長期寛解率は約 30%しかなく、造血幹細胞移植が必要と考えられている³⁾。慢性骨髄性白血病においては、IFN- α の登場により、化学療法の成績が格段に向上したが、IFN- α の反応性による予後との関連も明らかになってきており、反応が悪い例では造血細胞移植は有用な手段と考えられている⁴⁾。このような現状をふまえ、造血細胞移植学会では白血病の各病型ごとに移植適応規準を設けて 2002 年に移植適応ガイドラインを作成した。本邦では 1980 年代より骨髄移植が施行されるようになったが、1994 年に末梢血幹細胞移植が保険適応となったのに引き続き、1998 年には臍帯血移植も保険適応となったことで造血幹細胞移植の選択肢が広がっている。現在では各々の移植の特性を考慮して患者に適した移植が実施されている。

どの移植幹細胞ソースを用いるかについては、現時点において治療成績を評価するには十分臨床データが蓄積されているわけではないが、最適な時期に移植できる点や移植片対宿主病(Graft Versus Host Disease: GVHD)や他の移植関連合併症が少ない点でヒト白血球抗原(Human Leucocyte Antigen: HLA)一致血縁者間移植が全ての病型、病期において第一適応になると考えられる。HLA 一致血縁者によるドナーがない場合には、骨髄バンク登録

非血縁者ドナーからの骨髄移植が行われることが一般的である。これらのドナーが見つからないとき、あるいはドナーコーディネートに時間がかかり、最適な移植時期である寛解維持が困難である場合などは、臍帯血移植が行われている。

2.2. 臍帯血移植について

臍帯血中には未分化で増殖能力の高い造血幹細胞が多数含まれていることが 1980 年代前半に明らかにされていたが、1988 年にフランスの Gluckman らのグループにより世界最初の臍帯血移植が Fanconi 貧血患者に対し実施された⁵⁾。一方、本邦においては 1994 年に東海大学の Hattori らのグループにより第 1 例目の臍帯血移植が急性骨髄性白血病(Acute Myeloma Leukemia: AML)患者に対して実施された⁶⁾。

2.3. 臍帯血移植の現状

骨髄移植では、血縁者にドナーを見出せない場合は公的機関である骨髄バンクにて非血縁者ドナーを検索する。ただし、骨髄バンクにおいても必ずしもドナー候補が見つかるわけではないのが現状で、いまだ十分なドナー登録者数が確保されているとはいえない。さらに、末梢血幹細胞移植は現時点においてドナーは血縁者のみに限られていることから、ドナーの負担が全くない臍帯血移植への期待は大きい。

臍帯血移植は、日本さい帯血バンクネットワークを通じ、予め臍帯血バンクに保存されている臍帯血を検索し、患者の HLA と一致または 1 ないし 2 抗原不一致までの臍帯血が選択され移植が実施されている。日本さい帯血バンクネットワークによると、平成 16 年 3 月 30 日現在、全国 11 バンクに保存され検索対象となっている臍帯血数は 18,419 個であり、平成 16 年度中には 2 万個を超えることが予想されている⁷⁾。また、平成 14 年度の臍帯血移植数は 294 例であり骨髄移植及び末梢血幹細胞移植が平成 13 年度をピークに減少に転じたのに反して年々増加傾向にあり、平成 15 年には累計で 1,000 例を超え、近年では移植の約 8 割が 16 歳以上の成人を対象に実施されている。

表 1. 本邦における移植の種類別件数の年次推移^{7,8)}

平成(年度)	10	11	12	13	14	15*
同種移植(総数)	1094	1181	1364	1560	1288	—
骨髄	940	989	972	943	713	—
末梢血	81	109	289	520	461	—
骨髄+末梢血	26	20	9	13	3	—
臍帯血移植	77	114	169	221	294	105
(累計)	(97)	(211)	(380)	(601)	(895)	(1000)

同種移植：平成 15 年度 日本造血細胞移植学会 全国調査報告書より，臍帯血移植：日本さい帯血バンクネットワーク HP より

*6 月 30 日現在の集計結果(臍帯血移植のみ)

2.4. 臍帯血移植の特徴

臍帯血移植の長所としては、ドナーの直接的負担がないことは言うまでもないが、ドナー検索から移植までの期間が短いことも大きな特徴の一つとしてあげられる。これは、臍帯血が凍結保存されている各臍帯血バンクがすでにネットワーク化されており、HLA の適合度について随時検索できるシステムが構築されていることによるものが大きい。さらに移植後は、急性 GVHD の程度が軽く重症 GVHD の頻度が低いこと⁹⁾、HLA1 及び 2 抗原不一致移植が可能である¹⁰⁾ことなどがあげられるが、これは臍帯血中のリンパ球や Natural Killer(NK)細胞、抗原提示細胞などの免疫担当細胞が骨髄中の細胞に比べ未熟であるため¹¹⁾、免疫応答が低いことが原因と考えられる。特に T 細胞で特徴的なことは、臍帯血では抗原刺激を受けたことのないナイーブ T 細胞が大半を占めており、多くのサイトカインを産生するメモリー T 細胞の割合が極めて低値を示すとされている^{12,13)}。Saito ら¹⁴⁾は、臍帯血移植後の免疫学的再構築が個体発生に従って起こるとすれば、良好な抗体産生は移植後 3 年、T 細胞サブセットである Th1 細胞の正常化に移植後 5 年程度必要としており、Knutesn ら¹⁵⁾も同様に臍帯血移植後の NK 活性は移植後 180 日までに回復していると報告しており、新生児免疫能の回復とほぼ同様の所見が得られている。

一方、臍帯血移植では保存されている細胞数の問題から体重の重い患者には適応とならない場合が多く、主に 30kg 以下の小児患者が対象とされてきた。また、移植後の造血回復は一般的に遅く、特に血小板の生着が骨髄移植と比べ顕著に遅延すること¹⁶⁻¹⁸⁾が知られている。さらには臍帯血に由来する遺伝性疾患及び感染症が患者に伝搬する可能性もあることから、児の生後 6 ヶ月以上経過した時点の健康調査と母親の感染症情報を調査することを規定している¹⁹⁾。

臍帯血は分娩後の胎盤中の臍帯血管に残る胎児血液を採取したものであるため、採取血液量や細胞数には限度がある²⁰⁾。臍帯血移植実施のための技術指針によると、臍帯血移植に用いられる臍帯血は、原則として保存細胞数が患者体重(kg)あたり 2×10^7 個以上含むものとしており²¹⁾、本邦での成人に対する臍帯血移植はごく少数に限られていた²²⁾。ただし、成人患者においても十分量の臍帯血を移植すれば、その治療成績は骨髄移植と遜色ないとの報告²³⁾もあり、今後臍帯血バンクにおける保存臍帯血数が増加すれば、成人患者への適応が増え、移植数も多くなることが予想される。

臍帯血移植後の造血回復が遅い理由としては、臍帯血中には胎生期最後の造血幹細胞が多数含まれるため、成人の骨髄や末梢血と比べ、より未分化な造血幹細胞の比率が高い¹¹⁾ことに起因すると考えられている。造血回復の中でも特に血小板の回復が遅延することは知られており、臍帯血移植後の血小板数の回復に、Rubinstein ら²⁴⁾は 50,000/ μ L 以上までに 16-250 日(中央値 90 日)、Gluckman ら²⁵⁾は 20,000/ μ L 以上までに 9-180 日(中央値 56 日)、50,000/ μ L 以上までに 1-8 ヶ月(中央値 2.4 ヶ月)、Kato ら¹⁸⁾は 50,000/ μ L 以上までに 21-96 日(中央値 46 日)を要したと報告している。また、Rubinstein らは多変量解析の結果、血小板数の回復は移

植有核細胞数に相関し、移植有核細胞数の少ない患者ほど血小板数の回復が遅れる傾向にあると報告している(図 1)。

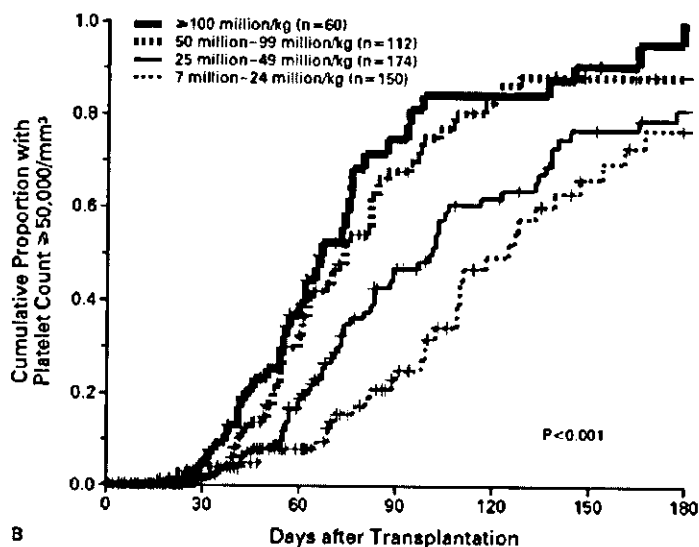


図 1. 非血縁者間臍帯血移植における移植有核細胞数と血小板数の回復²⁴⁾

2.5. *ex vivo* 増幅した臍帯血幹細胞について

これらの問題点を解決するため、凍結保存されている臍帯血幹細胞を *ex vivo* 増幅した後患者に移植する方法が検討されるようになった。これまでの基礎研究の結果により、NOD/SCID マウス中で長期に再構築される、ヒト臍帯血中に含まれる造血幹細胞は、サイトカインを用いることにより数倍に増幅することが可能であることがわかり、これらは表面抗原、コロニー形成能などから造血幹細胞であることが確認されている。臍帯血から分離した CD34 陽性細胞の増幅効果は幾つかのサイトカインの組み合わせにより検討されたが、IL-6/sIL-6R、SCF、TPO、FL の組み合わせが最も効率よく増幅できることが明らかとなり²⁶⁾、これらのサイトカインの組み合わせにより 1 週間培養した細胞と培養しなかった細胞をそれぞれ別々の NOD/SCID マウスに移植した結果、培養した細胞を移植したマウスの方が明らかに血液細胞の頻度が高いという結果が得られた²⁷⁾。また、これらのサイトカインの組み合わせにより 1 週間培養することにより SRC(SCID repopulating cells)は 4 倍以上に増幅され、これらの細胞を移植されたマウスでは移植後 6 ヶ月以上経過しても末梢血中のヒト細胞の頻度が低下する傾向は認められなかった²⁸⁾ことから、臨床においても同様の効果が得られることが期待された。

ex vivo 増幅した臍帯血幹細胞が移植に応用可能となれば、従来臍帯血移植の対象とならなかった体重の重い患者も対象となるばかりでなく、生着不全の減少や生着日数の短縮が期待され、これにより無菌室入室期間の短縮や感染症治療薬の減量、輸血回数の軽減が見込まれている。

2.6. 移植細胞数と造血回復能及び予後との関係について

Magliaccio ら²⁹⁾は、2 抗原不一致までの臍帯血移植施行例 204 例において移植細胞数(総有核細胞数: Total Nuclear Cells (TNC)、コロニー形成細胞数: Colony Forming Cells(CFC)による造血回復能、及び移植関連合併症について検討したところ、移植細胞数が多くなるほど好中球数及び血小板数の回復が早くなる傾向にあり、TNC は $25 \times 10^6/\text{kg}$ 以上、CFC は $50 \times 10^6/\text{kg}$ 以上で有意に移植関連合併症の頻度が低下したと報告した。また、移植細胞数で予後を検討したところ、Wagner ら³⁰⁾は CD34 陽性細胞数として $1.7 \times 10^5/\text{kg}$ 以上、Laughlin³¹⁾らは $1.2 \times 10^5/\text{kg}$ 以上移植した場合、それ以下の細胞数を移植した群に比べて有意に生存率が高いと結論付けている。これらのことより、移植細胞数が多いほど造血回復能が高く、予後も良好である可能性が示唆された。

2.7. *ex vivo* 増幅臍帯血移植の成績について

Shpall ら³²⁾は、37 名(成人 25 名、小児 12 名)の血液腫瘍(34 名)もしくは乳癌(3 名)患者に対して、保存された臍帯血の 40%あるいは 60%の画分から CD34 陽性細胞を分離後、SCF、G-CSF、及び MGDF で 10 日間培養した細胞と、増幅しなかった残りの画分の細胞とを合わせて移植する臨床試験を実施した。増幅に関するデータを表 2 に示す。移植した有核細胞数及び CD34 陽性細胞数は $0.99 \times 10^7/\text{kg}$ 及び $10.4 \times 10^4/\text{kg}$ で、それぞれ 56 倍及び 4 倍に増幅が可能であった。移植後、好中球数 $500/\mu\text{L}$ までの回復日数は 28 日(15-49 日)で、血小板数 $20,000/\mu\text{L}$ までの回復日数は 106 日(38-345 日)であった。また、Grade III 以上の急性 GVHD が 40%、慢性 GVHD が 63%に認められたが、1 年生存率は 13/37(35%)であった(観察期間の中央値: 30 ヶ月)。

表 2. CD34 陽性細胞の増幅効果³²⁾

	有核細胞数($\times 10^7/\text{kg}$)		CD34 陽性細胞数($\times 10^4/\text{kg}$)	
	中央値	最小値-最大値	中央値	最小値-最大値
増幅率(倍)	56	1.03-278	4	0.1-20
解凍前	1.60	0.67-9.44	—	—
解凍後	1.19	0.56-8.86	7.35	0.55-109.0
輸注時	0.99	0.28-8.50	10.4	0.97-311.0

Jaroscak ら³³⁾は、28 名の血液腫瘍患者に対して Astrom Replicell System を用いて臍帯血を

増幅し、増幅しない臍帯血とともに移植する第 I 相試験を実施した。臍帯血を 10%ウシ及びウマ血清を含む PIXY321、FL、EPO により 12 日間培養したところ、総細胞数は 2.4 倍(1.0-8.5 倍)に増幅されたのをはじめ、CFU-GM は 82.7 倍(4.6-266.4 倍)、CD34⁺lin⁻細胞は 0.5 倍(0.09-2.45 倍)となったが、CD3⁺細胞は増幅されなかった。Day0 に増幅しない臍帯血が有核細胞数として $2.05 \times 10^7/\text{kg}$ 移植され、Day12 に増幅した臍帯血が有核細胞数として $2.05 \times 10^7/\text{kg}$ 、CD34 陽性細胞数として $0.78 \times 10^5/\text{kg}$ 移植された。移植後、好中球数 500/ μL までの回復日数の中央値は 22 日(13-40 日)であったが、Day42 までに好中球数が 500/ μL に到達しなかった(生着不全)症例は 3 例で、生着前に死亡した症例を 2 例認めた。また、血小板数 50,000/ μL までの回復日数の中央値は 94 日(41-370 日)であり、Day100 及び Day200 時点での回復率は、それぞれ 64%、87%であった。また、評価可能症例 22 例中 GradeIII 以上の急性 GVHD が 6 例(27.3%)に認め、Day100 時点での生存率は 65%、EFS (Event free survival) は 39%であった(観察期間の中央値：41 ヶ月)。

以上のように、造血幹細胞移植は多様化しており、種々の条件を考慮して患者にとって最適の移植が選択されるようになってきたが、本研究も含め未だ実験段階にある移植法が幾つかある。トランスレーショナルリサーチとして本研究を遂行するには、Good Manufacture Practice に準拠して増幅した細胞の品質管理規準を確立し、前臨床試験としての NOD/SCID マウスの系での細胞動態、造血能の評価を行うとともに、Good Clinical Practice に準拠した医師主導型の臨床研究において本研究の治療法の安全性・効果及び実施可能性を証明し、患者に還元する必要がある。このような背景から本研究が計画された。

2.8. 移植前処置について

造血細胞移植前処置法としてシクロフォスファミド(Cyclophosphamide: CY)+全身照射(Total Body Irradiation: TBI)が標準的方法として行われてきた。標準法との無作為化臨床比較試験は乏しく評価は困難であるが、シタラビン(Ara-C: CA)($2\text{g}/\text{m}^2 \times 4$)+CY+TBI による方法は急性白血病の初回寛解期および慢性骨髄性白血病の慢性期で良好な結果が報告され、比較的安全な前処置法である³⁵⁾。Ooi らは急性骨髄性白血病の前処置法として CA 投与 12 時間前より G-CSF $5 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ を持続投与し、白血病細胞の細胞周期を S 期に導入することで CA の効果を増強させる前処置の方法を 17 例の急性骨髄性白血病患者の臍帯血移植に行った。2 年無病生存率は 76.6%で非常に良好な成績であった³⁶⁾。

2.9. 先端医療センターの造血細胞移植実績

当先端医療センターでは開所以来(2003 年 6 月以降)現在までに成人 29 例(急性骨髄性白血病 7 例、急性リンパ性白血病 5 例、骨髄異形成症候群 10 例、慢性骨髄性白血病 4 例、非ホジキンリンパ腫 2 例、重症再生不良性貧血 1 例)を対象に造血幹細胞移植が行われている(血縁者間 12 例、非血縁者間 17 例(うち臍帯血移植 2 例))。症例数が少なく観察期間が短いため統計解析には到っていないが、5 例が死亡(GVHD2 例、腫瘍死 2 例、生着不全 1 例)、

24/29(82.7%)の粗生存率を得ている。

3. 薬剤情報及び増幅 CD34 陽性細胞について

本試験に用いる薬剤情報の要約を以下に記載する。薬剤の詳細については「付録2 医薬品付文書」を参照のこと。

3.1. シクロフォスファミド(cyclophosphamide、注射用エンドキサン)

1) 概要：ナイトロジェンマスタード系抗悪性腫瘍剤

造血幹細胞移植の前治療を目的として使用し、生体内で活性化後、悪性腫瘍細胞の核酸代謝阻害による抗腫瘍作用を示す。

2) 有害事象：「8.3 予測される有害事象」参照。

3) 薬物動態(外国人)

各種の悪性腫瘍患者 8 例に 20 mg/kg(活性代謝物測定のために承認外の高用量を投与)静脈注時の血漿中活性代謝物の薬物動態パラメータは C_{max} が 1.31 ± 0.73 ng/mL、 AUC_{0-12} が 4.66 ± 1.2 ng・時/mL。主としてヒト肝ミクロソーム中チトクローム P-450 2B6 により代謝を受け、大部分は不活性代謝物として尿中に排泄される。

4)禁忌(次の患者には投与しないこと) 1.ペントスタチンを投与中の患者 2.本剤の成分に対し重篤な過敏症の既往歴のある患者 3.重症感染症を合併している患者 [特に造血幹細胞移植の前治療に本剤を投与する場合は、感染症が増悪し致命的となることがある。]

5)併用禁忌・併用注意

併用禁忌：ペントスタチン(コホリン)

併用注意：1. 他の抗悪性腫瘍剤、アロプリノール、放射線照射 2.フェノバルビタール 3.副腎皮質ホルモン、クロラムフェニコール 4.インスリン 5.オキシトシン 6.パソプレシン 7.チオテパ

3.2. シタラビン(cytocide、注射用キロサイド)

1) 概要：代謝拮抗性抗悪性腫瘍剤

DNA 合成過程における CDPreductase レベルと DNApolymerase レベルでの阻害による代謝拮抗作用を有しており、造血幹細胞移植の前治療を目的として使用する。

2) 有害事象：「8.3 予測される有害事象」参照。

3) 薬物動態(外国人)

3H-シタラビンの $67-3,000\text{mg/m}^2$ を癌患者に単回静脈内注射した場合、血漿中のシタラビン濃度は二相性を示し、第一相 10-20 分、第二相 2-3 時間の半減期で消失した。シタラビン (Ara-C) を癌患者に静脈内注射あるいは持続点滴静脈内注射すると 90%以上が肝臓、血液中などで uracil arabinoside (Ara-U) に代謝され、その大部分が 24 時間以内に尿中に排泄された。

4)禁忌(次の患者には投与しないこと)本剤に対する重篤な過敏症の既往歴のある患者

5)併用禁忌・併用注意

併用禁忌：特記なし

併用注意：1.他の抗悪性腫瘍剤 2.放射線照射 3.他剤併用療法（5-フルオロウラシル，マイトマイシンC，副腎皮質ホルモン等）

3.3. シクロスポリン(Cyclosporin、サンディミュン注射液)

1) 概要：免疫抑制剤(カルシニューリンインヒビター)

造血幹細胞移植の拒絶反応及び移植片対宿主病の抑制を目的として使用し、ヘルパーT細胞においてシクロフィリンと複合体を形成、カルシニューリンに結合し、その活性化を阻することでサイトカインの産生を抑制することにより、免疫抑制作用を示す。

2) 有害事象：「8.3 予測される有害事象」参照。

3) 薬物動態(外国人)

重症腎不全患者4例に1回点滴静注[高速液体クロマトグラフ(HPLC)法]で、全血中濃度は注入終了時に最高値769～2,331 ng/mL(3.5 mg/kgを投与した3例の平均1,801 ng/mL)。平均全血中半減期(時間)は α 相0.1、 β 相1.08、 γ 相15.8。主としてチトクロームP450 3A系で代謝され、主として胆汁を介して排泄される。

4) 禁忌

1.本剤の成分に対し過敏症の既往歴のある患者、2.タクロリムス投与中の患者、3.妊婦、妊娠している可能性のある婦人又は授乳婦、4.ピタバスタチン投与中の患者。

5) 併用禁忌・併用注意

併用禁忌：1.生ワクチン、2.タクロリムス(プログラフ)、3.ピタバスタチン(リバロ)、その他多くの薬剤との相互作用が報告されているが、可能性のあるすべての組み合わせについて検討されているわけではないので、他剤と併用したり、本剤又は併用薬を休薬する場合には注意すること。特に、本剤は主に代謝酵素チトクロームP4503A(CYP3A)系で代謝されるので、本酵素の活性に影響する医薬品・食品と併用する場合には、可能な限り薬物血中濃度を測定するなど用量に留意して慎重に投与すること。

併用注意：1.免疫抑制剤(ムロモナブCD3(OKT3)、抗胸腺細胞免疫グロブリン(ATG)製剤等)、2.ホスカルネット、アムホテリシンB、アミノ糖系抗生物質(ゲンタマイシン、トブラマイシン等)スルファメトキサゾール・トリメトプリム、シプロフロキサシン、バンコマイシン、ガンシクロビル、非ステロイド性消炎鎮痛剤(ジクロフェナク、ナプロキセン、スリダク、インドメタシン等)、3.アミオダロン、カルシウム拮抗剤(ジルチアゼム、ニカルジピン、ベラパミル)マクロライド系抗生物質(エリスロマイシン、ジョサマイシン等)、キヌプリスチン・ダルホプリスチン、クロラムフェニコール、アゾール系抗真菌剤(フルコナゾール、イトラコナゾール等)ノルフロキサシン、HIVプロテアーゼ阻害剤(リトナビル、サキナビル等)、卵胞・黄体ホルモン剤、ダナゾール、プロモクリプチン、アロプリノール、フルボキサミン、イマチニブ、4.メトクロプラミド、5.胆汁酸製剤、6.アセタゾラミド、7.グレープフル

ーツジュース、8.リファンピシン、チクロピジン、トログリタゾン、抗てんかん剤(フェノバルビタール、フェニトイン、カルバマゼピン)、9.オクトレオチド、プロブコール、10.セイヨウオトギリソウ(St.John's Wort,セント・ジョーンズ・ワート)含有食品、11.副腎皮質ホルモン剤、12.ドセタキセル、パクリタキセル、13.コルヒチン、14.HMG-CoA還元酵素阻害剤(シンバスタチン、プラバスタチン等)、15.ジゴキシン、16.テオフィリン、17.不活化ワクチン(不活化インフルエンザワクチン等)、18.ニフェジピン、19.カリウム保持性利尿剤(スピロラクトン等)、20.利尿剤(チアジド系利尿剤、フロセミド等)

3.4. メトトレキサート(Methotrexate、メソトレキセート注射液)

1) 概要：葉酸代謝拮抗剤

移植片対宿主病の予防を目的として使用し、葉酸を核酸合成に必要な活性型葉酸に還元させる酵素 DHFR(dihydrofolatereductase)の働きを阻止し、チミジル酸合成及びプリン合成系を阻害することで細胞増殖抑制作用を示す。

2) 有害事象：「8.3 予測される有害事象」参照。

3) 薬物動態(アメリカ)

メトトレキサート通常療法において腎機能正常な悪性腫瘍患者延べ98例に5、10、25、50 mgを単回静注後の血中濃度は、投与1～2時間後をピークに徐々に減少、24時間後でいずれの投与量でも 5.5×10^{-8} mol/L以下。同時測定した尿中排泄率は、投与後4時間で平均65%、24時間で平均90%又はそれ以上。

4) 禁忌(次の患者には投与しないこと)

1. 本剤の成分に対し重篤な過敏症の既往歴のある患者、2. 肝障害のある患者、3. 腎障害のある患者、4. 胸水、腹水等のある患者

5) 併用禁忌・併用注意

併用禁忌：特記薬剤なし

併用注意：1. サリチル酸等の非ステロイド性抗炎症剤 2.スルホンアミド系薬剤,テトラサイクリン,クロラムフェニコール,フェニトイン,バルビツール酸誘導体 3.スルファメトキサゾール・トリメトプリム 4.ピペラシリンナトリウム 5.ポルフィマーナトリウム

3.5. G-CSF 製剤(Filgrastim、グラン注射液)

1) 概要：G-CSF 製剤

造血幹細胞移植時の好中球数の増加促進を目的として使用し、マウス骨髄細胞、ヒト好中球に対する受容体結合試験で、好中球前駆細胞から成熟好中球までの細胞の受容体に特異的に結合し、好中球前駆細胞の分化・増殖を促進,成熟好中球の機能を亢進すると推察される。

2) 有害事象：「8.3 予期される有害事象」参照。

3) 薬物動態

健常成人男子に 1 μ g/kg 30 分単回点滴静注後の消失半減期 1.4 時間、AUC 21.6 ng \cdot 時/mL、皮下注後の消失半減期 2.15 時間、AUC 11.7 ng \cdot 時/mL、バイオアベイラビリティ 0.54。6 日間連日点滴静注又は皮下注時の血漿中濃度推移は、いずれも初日と 6 日目で著明な差を認めず、蓄積性は認められなかった。健常成人男子に 3 μ g/kg 点滴静注又は 1 μ g/kg 皮下注 24 時間後までの尿中濃度は、すべて測定限界以下であった。

4) 禁忌

1. 本剤の成分又は他の顆粒球コロニー形成刺激因子製剤に過敏症の患者、2. 骨髄中の芽球が十分減少していない骨髄性白血病の患者及び末梢血液中に骨髄芽球の認められる骨髄性白血病の患者[芽球が増加することがある]。

5) 併用禁忌・併用注意

特記薬剤等なし

3.6. ウロミテキサン注(メスナ、JAN)

1) 概要：イホスファミド、シクロホスファミド泌尿器系障害発現抑制剤

ウロミテキサンはシクロホスファミド投与(造血幹細胞移植の前治療)に伴う泌尿器系障害(出血性膀胱炎、排尿障害等)の発現抑制を目的として投与し、シクロホスファミド尿中代謝物の二重結合に結合し、縮合体を形成することによりシクロホスファミドの膀胱障害を抑制する。

2) 有害事象：「8.3 予測される有害事象」参照

3) 薬物動態

健常人成人男子 4 例に 400mg を単回静脈内投与時、メスナは生体内で容易に酸化されて二量体であるジメスナを形成する。メスナの血漿中濃度は速やかに消失し、投与 1 時間以降ではほぼ定量限界(1 μ g/ml)以下になった。代謝物ジメスナは投与直後から検出され、約 20 分以降ではメスナより高濃度に推移したが、1.5 時間以降では定量限界以下となった。排泄経路は尿中であり、消失半減期は約 10 分と短く、単回投与時及び 1 回 400mg を 1 日 3 回(4 時間ごと)、3 日間反復静脈内投与時においても血漿中の蓄積は認められなかった。

4) 禁忌

本剤の成分又は他のチオール化合物に対し過敏症の既往歴のある患者。

5) 併用禁忌・併用注意

併用禁忌：特記薬剤なし

併用注意：イホスファミド

3.7. ジフルカン静注液 0.1%(フルコナゾール)

1) 概要：アゾール系抗真菌薬

カンジダ属、クリプトコッカス属及びアスペルギルス属による感染症(真菌血症、呼吸器真菌症、消化管真菌症、尿路真菌症、真菌髄膜炎)に対し投与し、真菌細胞において膜成分の

エルゴステロール生合成を抑制することにより抗菌作用を示す。また真菌の酵母型発育相及び菌糸型発育相のいずれに対しても発育抑制を示す。

2) 有害事象：「8.3 予測される有害事象」参照

3) 薬物動態

健康成人に本剤 25mg 又は 50mg を単回静脈内投与した場合、血漿中濃度は用量に比例し、それぞれ 0.76 μ g/ml、1.33 μ g/ml であり、血漿中濃度半減期はいずれの用量でも約 30 時間であった。本剤は主に腎臓で代謝され、尿中フルコナゾール濃度は用量に対応して増加し、いずれの用量においても投与 5 日目までの未変化体の尿中排泄率は投与量のほぼ 70%であった。組織内移行に関しては、静脈内投与により髄液中への良好な移行が認められ、髄液中のフルコナゾール濃度は血漿中濃度の約 50%であった。

4) 禁忌

1.次の薬剤を投与中の患者：トリアゾラム、シサプリド、テルフェナジン、2.本剤に対して過敏症の既往歴のある患者、3.妊婦又は妊娠している可能性のある患者。

5) 併用禁忌・併用注意

併用禁忌：1.トリアゾラム(ハルシオン等)、2.シサプリド(アセナリン等)、3.テルフェナジン(トリルダン)

併用注意：1.ワルファリン、2.タクロリムス水和物、シクロスポリン、3.フェニトイン、4.スルホニル尿素系血糖降下薬(クロルプロパミド、グリベンクラミド、トルブタミド等)、5.ナテグリニド、6.リトナビル、7.ミダゾラム、8.テオフィリン、9.経口避妊薬、10.ジドブジン、11.リファンピシン

3.8. バクタ錠(スルファメトキサゾール/トリメトプリム)

1) 概要：合成抗菌剤

大腸菌、シトロバクター、クレブシエラ、エンテロバクター、プロテウス、腸球菌、インフルエンザ菌、赤痢菌、チフス菌、パラチフス菌に抗菌スペクトルを有する合成抗菌薬で、スルファメトキサゾールは微生物体内での葉酸生合成を阻害し、トリメトプリムは葉酸の活性化を阻害して抗菌作用を示す。両薬の併用により細菌の葉酸代謝の連続した 2 ヶ所を同時に阻害するため相乗的な抗菌作用の増大が認められる。

2) 有害事象：「8.3 予測される有害事象」参照

3) 薬理薬物動態

健康成人に 2 錠を食直後単回経口投与したときのスルファメトキサゾール、トリメトプリム各々の血漿中濃度及び薬物動態パラメータは、[SMX] C_{max} : 46.8 \pm 3.9(μ g/ml)、 T_{max} : 3.4 \pm 0.9(hr)、 AUC_{0-12} : 352.83 \pm 53.09(μ g \cdot hr/ml)、 $T_{1/2}$: 27.8 \pm 0.8(hr)、[TMP] C_{max} : 1.46 \pm 0.31(μ g/ml)、 T_{max} : 3.3 \pm 0.7 (hr)、 AUC_{0-12} : 11.10 \pm 2.30(μ g \cdot hr/ml)、 $T_{1/2}$: 6.8 \pm 1.2(hr)であった。SMX は一部 N4-アセチル-SMX、グルコニル-SMX に代謝される。TMP は一部 3-デメチル-TMP、4-デメチル-TMP のグルクロン酸抱合体及び TMP N-オキシド等に代謝される。尿中排泄率は、

投与後24時間以内にはSMX、TMP共に投与量の約60%前後であり、48時間以内には70~85%であった。蛋白結合率はSMX：50~60%(血漿、限外ろ過法)、TMP：約42%(血清、セロファン透析法)であった。

4) 禁忌

1.本剤の成分又はサルファ剤に対し過敏症の既往歴のある患者、2.妊婦又は妊娠している可能性のある婦人、3.低出生体重児、新生児、4.グルコース-6-リン酸脱水素酵素(G-6-PD)欠乏患者[溶血を起こすおそれがある]

原則禁忌(次の患者には投与しないことを原則とするが、特に必要とする場合には慎重に投与すること)、1.血液障害又はその既往歴のある患者[血液障害を悪化させることがある]、2.本人又は両親、兄弟が気管支喘息、発疹、蕁麻疹等のアレルギー症状を起こしやすい体質を有する患者又は他の薬剤に対し過敏症の既往歴のある患者。

5) 併用禁忌・併用注意

併用禁忌：特記薬剤なし

併用注意：1.メトトレキサート、2.スルファドキシシン・ピリメタミン、3.ジアフェニルスルホン、4.スルホニルアミド系及びスルホニルウレア系経口糖尿病用剤、グリクラジド、グリベンクラミド等、5.クマリン系抗凝血剤、ワルファリンカリウム、6.フェニトイン、7.シクロスポリン、8.ジドブジン、9.ラミブジン、10.ジゴキシン製剤、11.三環系抗うつ剤等、塩酸クロミプラミン、塩酸イミプラミン、塩酸アミトリプチリン等。

3.9. 増幅 CD34 陽性細胞

3.9.1. 使用臍帯血

原料の臍帯血は、日本さい帯血バンクネットワークに所属するさい帯血バンクから供給される凍結臍帯血を用いる。

3.9.2. 製造施設

増幅 CD34 陽性細胞の製造を行う先端医療センター セルプロセッシングセンターの衛生管理は、製造衛生管理規準書に従って実施される。

3.9.3. 製造方法

臍帯血バンクから供給された臍帯血は、先端医療センター セルプロセッシングセンターにて、標準作業手順書に従って解凍され、全量のうち被験者体重当たり 2×10^7 個/kg に相当する量が被験者にそのまま移植される。増幅 CD34 陽性細胞の製造は、移植後の残存臍帯血を原料として実施される。まず、原料である臍帯血について受け入れ時品質検査を実施し、受け入れ規格規準を満たしていることを確認する。次に臍帯血を洗浄処理後、CliniMACS 磁気細胞分離システム(概要書第6版参照)により CD34 陽性細胞を分離し、得られた CD34 陽性細胞を4種のサイトカインを含む培地を用いて12日間培養することにより、CD34 陽性細胞を増幅させる。培養後、サイトカイン、培地成分等を自動細胞洗浄装置により洗浄除去し、ヒト血清アルブミン添加生理食塩液に懸濁して、増幅 CD34 陽性細胞の最終製品を

得る。なお、全ての操作は定められた標準操作手順書に記載の方法に従って実施され、全ての操作内容が記録書に記録される。

(1) 凍結臍帯血の解凍、分割

① 凍結臍帯血の解凍

臍帯血の解凍はセルプロセッシングセンターで実施される。凍結臍帯血は、37℃前後の温浴を用いて急速解凍する。

② 未処理臍帯血の投与

解凍した臍帯血から被験者体重当たり 2×10^7 個/kg に相当する量を分割し、未処理臍帯血として直ちに患者に急速投与する。

(2) 残存臍帯血の洗浄

原料となる残存臍帯血は、ニューヨーク血液センターにおいて Rubistein らが確立した方法³⁴⁾に準じて、Dextran 40 及びヒト血清アルブミンを含む生理食塩液を用いて洗浄する。なお、原料となる残存臍帯血が「3.9.4. 品質管理 表3」に定める規格を満たさない場合には、この段階で製造を中止し、洗浄後臍帯血を被験者に投与する。

(3) CD34 陽性細胞の分離

洗浄臍帯血からの CD34 陽性細胞の分離には CliniMACS 磁気細胞分離システムを用いる。洗浄臍帯血中の CD34 陽性細胞を CliniMACS の CD34 試薬と反応させ、磁気標識した後、CliniMACS 装置にかけて、自動分離プログラムを作動させる。分離された CD34 陽性細胞は無菌的に輸液バッグに回収され、次の *ex vivo* 増幅培養に用いる。なお、CD34 陰性画分は α MEM に浮遊し、CP-1 とアルブミンを等量混合した細胞保護液を添加、プログラムフリーザーで 1 分 2 度づつ -80 度まで降下させた後に液体窒素タンクに凍結保存しておく。

(4) CD34 陽性細胞の *ex vivo* 増幅培養

分離した CD34 陽性細胞の *ex vivo* 増幅培養は、SCF、TPO、FP6、FL をそれぞれ 100ng/ml 添加した QBSF-60 培地を用いて行う。培養は、ガス透過性のテフロン製バッグを使用し、CD34 陽性細胞数で 1.0×10^4 個/mL 前後の濃度から開始する。1 バッグあたり 15mL の培養液から開始(Day0)し、培養 4 日目(Day4)に 2 倍、7 日目(Day7)に 2 倍、10 日目(Day10)に 2 倍に培養の拡張を行い、最終的に 120mL の培養液量とする。1 回の製造で培養に使用するバッグの数は、CD34 陽性細胞数に合わせて設定する。細胞の培養方法の概略は以下の通りである。

① 培地：SCF、TPO、FP6、FL をそれぞれ 100ng/ml 含有する QBSF-60 培地

② 細胞継代条件

1) 培養開始時：細胞播種濃度 10,000 個/ml、培地量 15mL

2) 拡張培養（培養 4 日目；Day4）に 2 倍、10 日目(Day10)：培地 15mL 添加（総量 30mL）

3) 拡張培養（培養 7 日目；Day7）に 2 倍、10 日目(Day10)：培地 30mL 添加（総量 60mL）

4) 拡張培養（培養 10 日目；Day10）に 2 倍、10 日目(Day10)：培地 60mL 添加（総量 120mL）

③ 培養条件：37℃、マルチガスインキュベーター（炭酸ガス濃度：5%、酸素濃度：5%）

(5) CD34 陽性細胞の洗浄及び製剤化

培養細胞は輸注用バッグに集められ、自動細胞洗浄装置セルウォッシャーACP215 を使用して余剰のサイトカインや培地成分を除去する。最終的に 0.5% ヒトアルブミン含有生理食塩液 100mL に懸濁し、輸注用バッグに充填して製品とする。

3.9.4. 品質管理

増幅用臍帯血(残存臍帯血)品質規格、CD34 陽性画分の品質規格、培養 7 日目培養液の品質規格、および増幅 CD34 陽性細胞の製品規格はそれぞれ表 3、表 4、表 5、表 6 の通りである。各品質管理試験は、標準操作手順書に従って実施される。

増幅用臍帯血の品質規格は、製造で必要となる最低限の原料を担保する目的で設定している。CD34 陽性細胞数の測定値は凍結前と凍結後で差異が認められることから、解凍後の臍帯血を対象に受け入れ試験を実施し、製造に使用する CD34 陽性細胞数を最終確認する。また、感染症伝播防止の観点から、培養 7 日目培養液の工程内規格として無菌試験を設定した。また、CD34 陽性画分の品質規格は、安定な培養に必要となる最低限の細胞数として設定した。

製品規格として、細胞生存率、無菌試験、エンドトキシン否定試験、ウイルス否定試験、マイコプラズマ否定試験を設定した。細胞生存率については、*ex vivo* 増幅 CD34 陽性細胞の 8 時間後の安定性試験結果が 80~90% の範囲内であったことから、70%以上を製品規格として設定した。無菌試験、エンドトキシン否定試験、ウイルス否定試験、マイコプラズマ否定試験は、感染症伝播防止の観点から実施し、無菌試験は被験者への投与前に結果を得ることが困難なため、無菌性確認の補助的な試験としてエンドトキシン否定試験を加えている。May-Giemsa 染色では原材料となる臍帯血に異型細胞がモノクローナルに増殖していないことを確認する。なお、参考試験として CD34 陽性細胞数の測定を実施するが、製品の効能、効果を示す指標として実施するものであり、規格値を設定しない。

表 3. 増幅用臍帯血の品質規格

試験検査項目	規格値
CD34 陽性細胞数	6×10^5 個以上 (解凍後、ISHAGE 法による)
細胞形態	異型性細胞のモノクローナルな増幅を認めない

表 4. CD34 陽性画分の品質規格

試験検査項目	規格値
CD34 陽性細胞数	1.2×10^5 個以上 (ISHAGE 法による)

表 5. 培養 7 日目培養液の品質規格

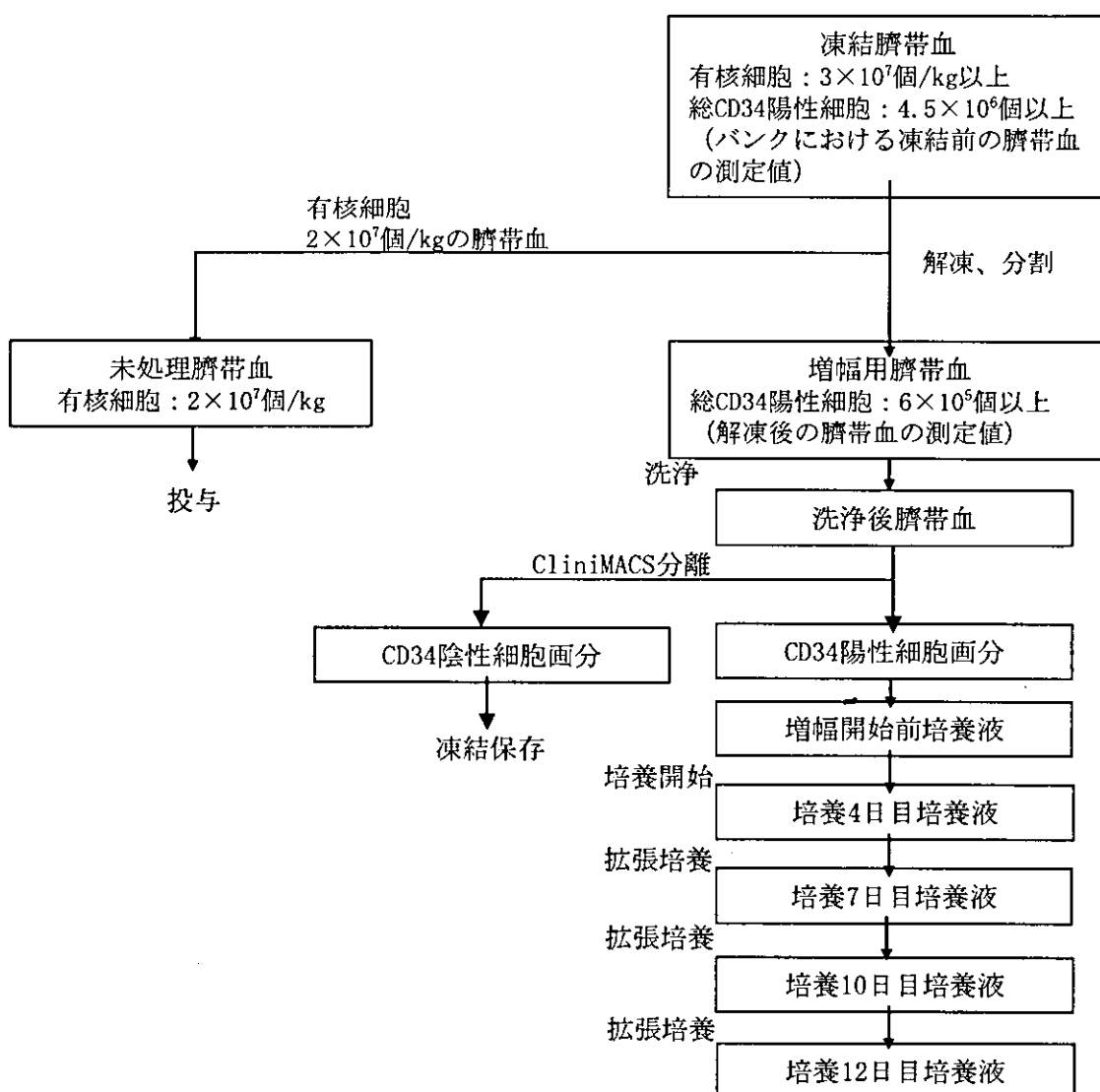
試験検査項目	規格値
--------	-----

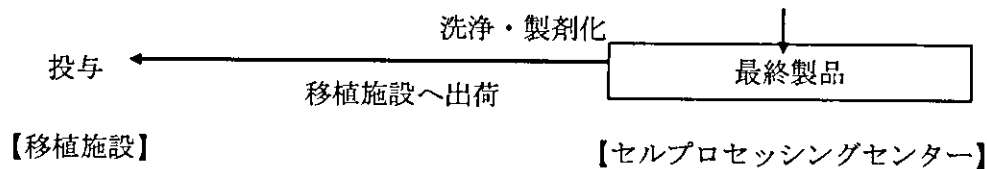
無菌性	菌の発育を認めない
-----	-----------

表 6. 増幅 CD34 陽性細胞の製品規格

試験検査項目	規格値
細胞生存率	70%以上 (総細胞数あたり)
無菌性 (結果判定は 14 日後)	菌の発育を認めない
エンドトキシン	0.12EU/mL 未満
ウイルス (PCR 法)	HBV、HCV、HIV、HTLV、パルボウイルス B19、 CMV を認めない
マイコプラズマ (PCR 法)	マイコプラズマを認めない

図 2 に製造の全体スキームを示す。





4. 診断規準および病期・病系分類

4.1. 診断規準

急性骨髄性白血病の診断規準、病型は FAB (付録 11 参照) (1976 年 Bennett) に従い、細胞組織学的に確定する。

4.1.1. 急性骨髄性白血病の診断規準

骨髄における芽球の割合が 30%以上で MPO(myeloperoxidase)染色陽性芽球が 3%以上あるもの(M0-M7 に分類される。ただし M0 は MPO 陽性芽球が 3%以下であるが、電顕 MPO で陽性芽球 \geq 3%あるいは、骨髄系抗原 (CD13, CD33) が陽性であるものと定義される)。また初診時骨髄異型性症候群と診断され、骨髄の芽球が 20%以上となった例も含まれる。

4.2. 病期・リスク分類

4.2.1 病期分類

第 1 寛解期：発症後、治療により骨髄中の芽球が 5%以内に減少し、保たれている病期

第 1 再発期：第 1 寛解期後に再発し、骨髄中の芽球が 5%以上存在する病期

第 2 寛解期：第 2 再発期後、治療により骨髄中の芽球が 5%以内に減少し、保たれている病期

第 2 再発期：第 2 寛解期後に再発し、骨髄中の芽球が 5%以上存在する病期

*非寛解期：寛解期 (骨髄中の芽球が 5%以内) 以外の再発期

4.2.2 危険度分類 (リスク群) ³⁷⁾⁻³⁹⁾

High risk 群

染色体異常が unfavorable(abn(11q), abn(5), and/or abn(7), hypodiploidy, abn(3q), t(6;9), t(9;22) etc)である場合、もしくは染色体が正常核形を含む場合は複数の予後不良因子(初診時白血球数 \geq 50,000/ μ L、寛解到達までのコース数 \geq 2、二次性白血病)が存在する場合。

Standard risk 群

High risk 群に属さず、染色体異常が favorable(Good risk)群以外で、他の予後不良因子がないか一つの場合。

Favorable(Good risk)群

(t(8;21), abn(16), t(15;17))で、他の予後不良因子がないか一つの場合。