

厚生労働科学研究費補助金
がん臨床研究事業

若年者骨髄性造血器腫瘍を対象とした
骨髄破壊的前処置と骨髄非破壊的前処置を用いた
同種末梢血幹細胞移植の比較検討に関する研究
(H16-がん臨床-019)

平成16年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 谷 口 修 一

平成17 (2005) 年 3 月

目 次

I. 総括(分担)研究報告

若年者骨髄性造血器腫瘍を対象とした骨髄破壊的前処置と骨髄非破壊的前処置を用いた同種末梢血幹細胞移植の比較検討に関する研究	1
	谷口 修一

II. 分担研究報告

1. 末梢血幹細胞を用いた通常移植とミニ移植の有用性の比較検討	5
	高上 洋一
2. 骨髄非破壊的同種造血幹細胞移植（ミニ移植）と従来の骨髄破壊的移植（フル移植）の比較	7
	中尾 眞二
3. 非血縁者からのミニ移植の安全性と有効性の検討	10
	原田 実根
4. 同種造血細胞幹移植後のGVHDの制御およびGVL効果誘導に関する研究	14
	今村 雅寛
5. 若年者骨髄性造血器腫瘍を対象とした骨髄破壊的前処置と骨髄非破壊的前処置を用いた同種末梢血幹細胞移植の比較検討に関する研究	16
	山下 卓也
6. 高齢者骨髄異形成症候群に対する骨髄非破壊的前処置を用いた同種末梢血幹細胞移植	17
	澤田 賢一
7. 移植前治療大量ブスルファンの投与量至適化に関する研究	19
	森下 剛久
8. 通常移植とミニ移植後の微小残存病変の比較検討に関する研究	22
	小川 啓恭
9. 骨髄非破壊的前処置を用いた非血縁者間同種骨髄移植の臨床的検討	25
	原 雅道
10. 若年者骨髄性造血器腫瘍を対象とした骨髄破壊的前処置と骨髄非破壊的前処置を用いた同種末梢血幹細胞移植の比較検討に関する研究	27
	河野 文夫
11. 若年者骨髄性造血器腫瘍を対象とした骨髄破壊的前処置と骨髄非破壊的前処置を用いた同種末梢血幹細胞移植の比較検討に関する研究	29
	豊嶋 崇徳
12. 通常移植とミニ移植後の生殖機能保存の検討	32
	武元 良整
13. 造血器幹細胞移植後の結核症についての臨床病理学的検討	34
	吉村 邦彦

III. 研究成果の刊行に関する一覧表	39
---------------------------	----

VI. 研究成果の刊行物・別刷	41
-----------------------	----

I . 総括 (分担) 研究報告

厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）

総括・分担研究報告書

「若年者骨髄性造血器腫瘍を対象とした骨髄破壊的前処置と骨髄非破壊的前処置を用いた同種末梢血幹細胞移植の比較検討に関する研究」

主任研究者 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

研究要旨：同種造血幹細胞移植は白血病などの難治性造血器悪性腫瘍に対する根治的な治療として行われてきた。従来型の同種移植は腫瘍細胞を絶滅させる目的にて、移植前に超大量の放射線や抗がん剤を投与するため(骨髄破壊的前処置、フル移植)、それに耐えうる臓器機能が維持された症例(通常 55 歳以下)だけがその対象であった。ミニ移植は、同種移植の高い非再発率は同種免疫反応による抗腫瘍効果が主体であるという考え方に基づいて(graft versus leukemia 効果；GVL 効果)、移植前治療は移植を成立させる目的だけの免疫抑制治療にとどめている(骨髄非破壊的前処置)。ミニ移植の登場により、従来型移植ではその対象となれなかった高齢者や臓器障害を持つ症例にも広く同種移植を受ける機会を提供し、既にその高い安全性と有効性が報告され、同種移植数は国内外とも飛躍的に増加している。次の段階として高齢者にミニ移植が有効であるならば、若年者でも前処置関連毒性の強いフル移植を受ける必要はないことが予想される。この仮説を検証するため、50 歳未満の若年者に対するフル移植とミニ移植を比較する多施設共同第Ⅲ相試験を企画した。研究班 1 年目の昨年度において全国の移植医によるプロトコル検討を数回行ったが、50 歳以下の年齢層ではミニ移植の有効性や非劣勢を証明するための症例数が確保できないことが判明した。そこで、ミニ移植の最大の特徴である移植後早期の QOL が維持される点、またそれに伴い移植後の平均の生存期間がミニ移植の方が長くなる点に着目し、QOL-adjusted life year(QALY)を主要評価項目とすることにより、必要な症例数を確保することとした。同種移植領域における適切な QOL 評価法がないため当研究班において移植前後の毒性から、特に移植後中後期の QOL に大きく寄与すると思われる移植片宿主病(GVHD)まで視野に入れた QOL 評価法を確立する。同時にミニ移植のより安全な移植前治療法を確立する目的にて、第Ⅱ相臨床試験として、大量の Cyclophosphamide(CY)の代わりに Fludarabine(Flu)を使用する Flu+Busulfan(BU) 16mg/kg の臨床試験を開始する。この二つの臨床試験の後に QALY を主要評価項目とする第Ⅲ相試験を行う。

A. 研究目的

本研究の目的は、16 歳以上 50 歳未満の若年者において、骨髄非破壊的前処置を用いた同種造血幹細胞移植（ミニ移植）が、標準的同種移植療法となりうるかを検証することである。本研究により、同種移植の強力な抗白血病効果は同種免疫反応によるものであり、前処置関連毒性が強く症例によっては死因ともなりうる骨髄破壊的な強力な前処置は不要であることを証明する。現在まで国内外で発表されたミニ移植に関する多くの feasibility study でも高齢者や臓器機能障害を持つ若い症例でのミニ移植の有効性が報告されている。しかし高齢者を対象とする場合、フル移植は施行困難な症例が多いためミニ移植との比較試験は不可能である。そこで通常のフル移植の対象となりうる若い

世代において第Ⅲ相比較試験によりミニ移植の有用性を検証することとした。

同種移植後は短期的な移植前処置に伴う毒性だけでなく、全身放射線照射や大量の抗がん剤投与に伴う成長障害や内分泌機能障害、不妊、また慢性 GVHD にともなう皮膚、角膜、肺、肝、骨筋肉系の障害など長期にわたる晩期障害を残すことが稀ではない。この研究班において移植に関する QOL の評価法も確立し、単なる生存率、生存期間の比較だけではなく QOL に基づいた評価法を確立することは今後登場してくる治療法を評価する上でも極めて重要である。またミニ移植では数多くの移植前治療法が報告されており、未だ確立した前処置法が存在しない。第Ⅲ相試験の前に、第Ⅱ相試験により、有効性の高い前処置法の確立も同

時に行う。また、ミニ移植が標準治療となった場合、単に同種移植の治療関連毒性を軽減することができるだけでなく、輸血必要量、入院必要日数、感染症も減少する事が予想され、医療経済の面でも大きく貢献できる。

B. 研究方法

まず平成 17 年度に同種移植領域における QOL の評価方法を確立する。具体的には、都立駒込病院、虎の門病院、国立がんセンター中央病院、東大病院においてフル移植、ミニ移植を受ける症例、各々 10 例を対象として、移植後 1 年間までの QOL 評価を行う。QOL 評価は、FACT-BMT、SF-36、EQ-5D、Time trade-off の 4 種類の異なった評価法を導入し、より多方面からの評価を行う。また実際の評価方法も客観性をより高める目的にて、治療を担当する医師、看護師以外の専門のインタビュアーが担当する。既に虎の門病院においては施設倫理委員会も通過し、この臨床研究が開始されている。この研究により、同種移植における適切な QOL 評価法を確立し、最終的には QOL-adjusted life year(QALY)を主要評価項目とした全国多施設共同第Ⅲ相臨床試験に入る。

また平成 17 年度中に臨床第Ⅱ相試験により移植前治療法を確立する。現在 BU 16mg/kg + CY120mg/kg がフル移植の一つの標準治療とされるが、CY 120 mg/kg の投与量は通常の化学療法での使用量の 10 倍近くに相当する。3L/m² の大量輸液を必要とする上に、投与後早期の致命的心障害や出血性膀胱炎も危惧され、また肝、腎、消化器毒性も強烈である。よって CY をより副作用に少ない Flu 150mg/m² に替える Flu+BU 16mg/kg の移植前処置の評価を行う臨床第Ⅱ相試験を先行して行う。Flu 150mg/m² の量は慢性リンパ性白血病等の通常の化学療法で高齢者にも安全に使用されている投与量である。

<倫理面への配慮>

患者本人に説明同意文書の内容を極力わかりやすい言葉で説明し、説明同意文書 2 部を作成して本人に渡したうえで文書による同意を得る。説明同意文書に本人の自由意志で同意の署名がなされた後に、この文

書の 1 部を本人に提供することで倫理性も確保する。ドナーに関しては、日本造血細胞移植学会の規定に沿って同意を得る。ドナーの安全性の調査は同学会のフォローアップ調査に登録することによって行う。このプロトコールは、参加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必要がある。

C. 結果と考察

最終的には QALY を主要評価項目とするフル移植とミニ移植の比較検討を 50 歳以下の症例で行うことを目的としているが、現段階では同種造血幹細胞移植において QOL 評価方法は確立していない。同種移植領域においては、移植前後は放射線や抗がん剤投与などの移植前処置に伴う毒性、移植後 30 日までは生着前の白血球減少期における感染症や出血傾向、生着前後(移植後 14-30 日)は下痢、黄疸、皮疹を 3 主徴とする急性 GVHD、移植後 30 日以降は高度の免疫不全に伴うウイルス感染症や移植後 100 日以降は慢性 GVHD の出現 (Sicca syndrome、閉塞性肺病変、肝障害、硬化性皮膚障害、口腔内扁平苔癬様変化など)、そして移植後数年の経過では成長障害、内分泌障害など同種移植独特の多くの合併症がある。対象疾患が白血病や悪性リンパ腫という悪性疾患であるとは言え、化学療法での治癒も期待できる時代であり、単に生存、非生存で評価するのではなく、QOL を考慮した上での生存を評価することは極めて重要である。まず第一段階として同種移植領域における QOL 評価方法を確立することは極めて重要である。

ミニ移植で移植前治療ではなく同種免疫反応で疾患の治癒を目指すとはいえ、実際の移植前処置法ではある程度抗腫瘍効果を持った薬剤がレシピエントの免疫抑制目的に投与されている。免疫抑制効果が弱すぎるとドナー細胞の拒絶に繋がることは明らかであり、逆に強くなると移植関連毒性が高まる。よって至適移植前処置法の開発も必要である。特に若年者層では従来型の移植法で既に高い長期生存率が保証されており、その世代で完全な全く移植前治療が抗腫瘍効果を持たない完全なミニ移植の導入は困難である。ミニ移植の開発とはより毒性の少ない移植前治療法の開発と言い換えることも可能であり、今回は臨床第Ⅱ相試験とし

て、Flu/BU16 の前処置法を評価することとした。BU16mg/kg でフル移植とほぼ同等の抗腫瘍効果は維持された上で、CY がはずれることでの移植前後の毒性は大きく軽減されることが期待される。この臨床試験での目的は、この前処置法で前処置関連毒性が軽減されること、かつ生着が遅延しないこと、および再発が増加しないことを確認することである。

D. 結論

50 歳以下の若年者でフル移植とミニ移植の臨床第 III 相比較試験の前段階として、同種移植領域における QOL 評価方法およびミニ移植の至適前処置方法を確立する。

E. 健康危険情報

該当なし

F. 研究論文

1. 論文発表

- 1) Hamaki T, Kami M, Kanda Y, Yuji K, Inamoto Y, Kishi Y, Nakai K, Nakayama I, Murashige N, Abe Y, Ueda Y, Hino M, Inoue T, Ago H, Hidaka M, Hayashi T, Yamane T, Uoshima N, Miyakoshi S, Taniguchi S. Reduced-intensity stem-cell transplantation for adult acute lymphoblastic leukemia: a retrospective study of 33 patients. *Bone Marrow Transplant.* 2005 Mar;35(6):549-562
- 2) 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.* 2004 ; 45:2513-6.
- 3) Maeda T, Kusumi E, Kami M, Kawabata M, Le Pavoux A, Hara S, Chizuka A, Murashige N, Tanimoto TE, Matsumura T, Yuji K, Wake A, Miyakoshi S, Morinaga S, Taniguchi S. Disseminated tuberculosis following reduced-intensity cord blood transplantation for adult patients with hematological

- diseases. *Bone Marrow Transplant.* 2005, 35: 321.
- 4) 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; Tokyo SCT Consortium. Regimen-related toxicity following reduced-intensity stem-cell transplantation (RIST): comparison between Seattle criteria and National Cancer Center Common Toxicity Criteria (NCI-CTC) version 2.0. *Bone Marrow Transplant.* 2004; 34: 787-94.
 - 5) 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.* 2004; 10: 645-52.
 - 6) 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 M, Hayashi T, Takaue Y, Taniguchi S; Tokyo Stem Cell Transplantation Consortium. Early central nervous system complications after reduced-intensity stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2004; 10:561-8.
 - 7) 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.* 2004; 10: 3586-92.
 - 8) Hamaki T, Kami M, Kishi A, Kusumi E, Kishi Y, Iwata H, Miyakoshi S, Ueyama J, Morinaga S, Taniguchi S, Ohara K, Muto Y. Vesicles as initial skin manifestation of disseminated fusariosis after non-myeloablative stem cell transplantation. *Leuk Lymphoma.* 2004; 45: 631-3.

- 9) 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.* 2004; 33: 891-900.
- 10) Kusumi E, Kami M, Yuji K, Hamaki T, Murashige N, Hori A, Kojima R, Kishi Y, Kim SW, Ueyama J, Miyakoshi S, Tanosaki R, Morinaga S, Mori S, Heike Y, Muto Y, Masuo S, Taniguchi S, Takaue Y. Feasibility of reduced intensity hematopoietic stem cell transplantation from an HLA-matched unrelated donor. *Bone Marrow Transplant.* 2004; 33: 697-702.
- 11) 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.* 2004 ;10 :65-72.

2. 学会発表

- 1) Fukuda T, Taniguchi S et al. Retrospective Analysis of 23 Cases with Human Herpesvirus -6 Associated Encephalitis after allogeneic hematopoietic stem cell Transplantation. American Society of Hematology, 46th Annual Meeting, Dec 4-7, San Diego CA, USA
- 2) Narimatsu H, Taniguchi S et al. Blood stream infection after reduced-intensity unrelated cord blood transplantation for Adults with hematologic Disease. American Society of Hematology, 46th Annual Meeting, Dec 4-7, San Diego CA, USA
- 3) Kusumi E, Taniguchi S, et al. Incidence of invasive fungal infection (IFI) after reduced -intensity unrelated cord blood transplantation (RICBT) for adults patients with hematological diseases. American Society of Hematology, 46th Annual Meeting, Dec 4-7, San Diego CA, USA
- 4) Myojo T, Taniguchi S, et al. Cytomegalovirus infection after unrelated cord blood transplantation (CBT) for adults with hematological diseases. American Society of Hematology, 46th Annual Meeting, Dec 4-7, San Diego CA, USA
- 5) Masuoka K, Taniguchi S, et al. Reduced intensity umbilical cord blood transplantation (RI-UCBT) in adult patients with graft failure or relapse after first allogeneic transplantation. American Society of Hematology, 46th Annual Meeting, Dec 4-7, San Diego CA, USA
- 6) Kishi Y, Taniguchi S, et al. Early immune reactions following reduced-intensity cord blood transplantation. American Society of Hematology, 46th Annual Meeting, Dec 4-7, San Diego CA, USA
- 7) Yuji K, Taniguchi S, et al. Improvement of concurrent autoimmune diseases following reduced-intensity stem cell transplantation (RIST) for hematological disorders: graft-versus autoimmunity (GVA) Effect. American Society of Hematology, 46th Annual Meeting, Dec 4-7, San Diego CA, USA
- 8) Yuji K, Taniguchi S, et al. Economic analysis of reduced-intensity cord blood transplantation. American Society of Hematology, 46th Annual Meeting, Dec 4-7, San Diego CA, USA
- 9) Teshima T, Taniguchi S, et al. Impact of HLA mismatch on the incidence of acute GVHD and rejection after reduced-intensity conditioning hematopoietic stem cell transplantation (RIST). American Society of Hematology, 46th Annual Meeting, Dec 4-7, San Diego CA, USA

G. 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

II. 分担研究報告

厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）

分担研究報告書

「末梢血幹細胞を用いた通常移植とミニ移植の有用性の比較検討」

分担研究者 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：従来は同種造血幹細胞移植の対象となりえなかった患者に対する根治療法として、骨髄非破壊的前処置療法を用いた末梢血幹細胞ミニ移植を開発した。その安全性と有効性を評価するために、国立がんセンター中央病院で55歳以上の各種疾患患者に対するミニ移植の第I相臨床試験を行い、得られた知見を本班研究で企画する若年層を対象とした多施設共同無作為比較第II相臨床試験に反映させる。我が国の移植領域における臨床試験体制の基盤を確立するためにデータ管理は厳正に行う。同時に、ミニ移植に伴う合併症に対する有効な治療開発も試みる。

A. 研究目的

移植前処置の抗がん剤を減量し、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。これまでの高齢者白血病を対象とした臨床試験においては、治療の安全性を保ちつつ難治性白血病の根治をもたらす可能性が強く示唆されている。これに基づき本班研究では、若年層の白血病患者におけるミニ移植の安全性と有効性を、厳正な多施設共同無作為比較第II相臨床試験を行って検証する。このためには、この企画と運用に役立てることのできる質の高い具体的なエビデンスを収集する必要がある。このため、本分担研究を行うものである。当院における第I相臨床試験を遂行し、ミニ移植臨床試験の問題点などを班研究に提議する。

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ビ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倫理審査委員会の承認を得た後に第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血縁/非血縁者間同種造血幹細胞移植を行うことができない患者である。ドナーは

HLA一致あるいは一座不一致の血縁ドナーとし、G-CSF 5 μ g/kg を1日2回連日皮下注射し、4日目からCD34陽性細胞として 3×10^6 個/kgの採取を目標にしてアフレーシスを行って末梢血幹細胞を採取し、移植支持療法は通常移植と同様に行った。移植後の造血回復過程を解析するとともに治療の安全性を高める目的で、免疫機能の評価や各種の合併症の発生についても検討した。また同時に、臨床試験に関する院内教育も実施し、データセンターの整備も試みた。

<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る。説明同意文書に本人の自由意志で同意の署名がなされた後に、この文書の1部を本人に提供することで倫理性も確保する。本研究は、施設倫理審査委員会の承認を受けて実施する。

C. 研究結果

国立がんセンター中央病院における第I相臨床試験は、2004年12月末の時点で合計265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、ミニ移植の安全性が高いことが示された。しかしながら、高齢患者を対象とした本研究においては、急性移植片対宿主病

(GVHD)、間質性肺炎を始めとする晩期合併症の発症率は通常移植と同程度であったことから、その改善のために GVHD 予防を強化した試験計画を立案する必要があることを示した。若年者においては、GVHD の頻度と重症度は低下することが期待される。同時に、若手研修医や clinical research coordinator を対象とした臨床試験に関する院内教育も実施し、データセンターの整備も行った。

D. 考察

最近に至り、同種造血幹細胞移植の治療効果は大量化学療法や放射線照射だけでなく、むしろ同種免疫効果、すなわちドナー由来のリンパ球が抗腫瘍効果を発揮することに由来することが判明した。そこで、移植前処置の抗がん剤を減量し、副作用を抑えつつドナー造血幹細胞の生着を図り、抗腫瘍効果は主として同種免疫効果に期待するというミニ移植の概念が提案された。本班研究では、ミニ移植を若年者に施行することで、白血病の再発を抑えつつ、移植関連合併症を減少させることが可能か否かを検証する。その前提となる国立がんセンター中央病院における第 I 相臨床試験において、高齢者においてもミニ移植の安全性が比較的高いことが示されたことは、今後、班研究を進めて若年者への適応拡大を検討するうえで貴重な知見になると考える。この試験を遂行するうえで行った臨床研究教育とデータセンター、データベースのインフラ整備は、今後行われる各種疾患に対する移植領域における臨床試験にも大きく寄与する。

E. 結論

高齢者においても、末梢血幹細胞ミニ移植後の短期合併症は通常の移植と比較して軽微であるため、若年者を対象として実施した場合の患者利益が高まる可能性が示された。今後、移植領域における臨床試験基盤を整備して、これを検証するための多施設第 II 相臨床試験を進めることが重要と提議できる。同時に、治療法のさらなる改善を目指して、合併症を克服するための臨床研究を継続する必要がある。このためには、移植領域においても臨床試験遂行基盤を構築することが重要である。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

- 1) Kojima R, Kami M, Hori A, Murashige N, Ohnishi M, Kim SW, Hamaki T, Kishi Y, Tsutsumi Y, Masuzaki 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.
- 2) Tanimoto TE, Saito A, Tanaka Y, Yamaguchi T, Tajima K, Karasuno T, Kasai M, Kishi K, Mori T, Maseki N, Morishima S, Miyakoshi S, Yamashita T, Ohno Y, Kim SW, Numata A, Kami M, Takaue Y, Mori S, Harada M: Graft-versus-host disease and clinical outcomes after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with bone marrow or blood stem cells. *Br J Haematol*, 125:480-493, 2004.
- 3) 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. *Bone Marrow Transplant*, 33:1173-1179, 2004.

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（がん臨床研究事業）

分担研究報告書

「骨髄非破壊的同種造血幹細胞移植(ミニ移植)と従来の骨髄破壊的移植(フル移植)の比較」

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：ミニ移植の有用性を明らかにするため、1999月から2004年4月の間、血液疾患のため当院で同種造血幹細胞移植を行ったミニ移植39例とフル移植44例を対象として、レトロスペクティブに比較・検討した。年齢の中央値はそれぞれ47歳・37歳と前者で有意に高齢例が多かった。移植90日までの完全キメラ率95%・100%、II度以上急性GVHD発症率46%・41%、慢性GVHD発症率59%・62%、非再発死亡率20%・23%と差はなかった。標準リスク群に対するミニ移植・フル移植後の4年再発率はそれぞれ14%・22%、4年生存率は83%・79%。高リスク群ではそれぞれ13%・57%、61%・51%であった。多変量解析上、ミニ移植は安全性・有効性の面で、フル移植と同等またはそれ以上の結果が示された。以上から、フル移植が施行できない高齢者にもミニ移植は安全に施行でき、長期生存が期待できる可能性が示唆された。

A. 研究目的

従来、同種造血幹細胞移植における前処置は、拒絶予防と腫瘍細胞の根絶のため超大量化学療法や放射線照射を用いてホストの血液細胞と腫瘍細胞を完全に破壊し尽くすことを目的としていた。しかし1990年、同種移植後の慢性骨髄性白血病再発が移植ドナーからのリンパ球輸注のみによって治癒することが示されて以来、同種造血幹細胞移植による強力な抗腫瘍効果は、移植の前処置効果よりも、ドナーのリンパ球が患者の白血病細胞を攻撃する graft-versus-leukemia (GVL)効果によってもたらされることがわかってきた。さらに、ホストの免疫を十分に抑制しさえすれば、移植片の生着が得られることが明らかとなったことから、免疫抑制を主眼とした比較的弱い前処置ののち、GVL効果により腫瘍の根絶を図る治療法として骨髄非破壊的造血幹細胞移植(ミニ移植)が考案された。従来の骨髄破壊的移植(フル移植)に比べミニ移植は治療関連毒性が少ないため、従来同種移植の適応外と考えられていた高齢者や臓器障害のある患者にまで移植の適応が拡大されつつある。その結果、ミニ移植の施行数は急激に増加している。しかし、治療関連死亡や再発・長期生存といった安全性・有効性の点で、ミニ移植がフル移植より優れているか否かは明らかではない。この点を明らかにするため、金沢大学医学部附属病院血液内科

(以後、当科とする)単一施設で施行された同種移植例を対象に、ミニ移植とフル移植の成績を比較・検討した。

B. 研究方法

当科でミニ移植を開始した1999年4月から2004年4月の間、血液疾患のため同種造血幹細胞移植を受けた全83例を対象として、レトロスペクティブに解析した。

83例の内訳はミニ移植39例・フル移植44例で、年齢の中央値はそれぞれ47歳・37歳と偏りがみられた($P=0.0020$)。男性患者の割合はそれぞれ46%・50%($P=0.45$)。自己移植歴はミニ移植群が5例(13%)、フル移植群が0例(0%)、同種移植歴はそれぞれ6例(15%)・1例(7%)($P=0.038$)。疾患の内訳は、ミニ移植群が、急性骨髄性白血病(AML)8例・急性リンパ性白血病(ALL)4例・慢性骨髄性白血病(CML)3例・骨髄異形成症候群(MDS)4例・非ホジキンリンパ腫(NHL)10例・重症再生不良性貧血9例・骨髄線維症1例、フル移植群がそれぞれ17例・8例・7例・6例・6例・0例・0例であった。急性白血病第1寛解期・CML第1慢性期・MDS-RA・MDS-RARS・悪性リンパ腫寛解期・再生不良性貧血を標準リスク、それ以外を高リスクと定義した場合、ミニ移植群・フル移植群は標準リスク群患者

をそれぞれ 18 例(46%)・21 例(48%)($P=0.53$)含んでいた。ドナーは、ミニ移植群の場合、HLA 一致同胞 20 例・その他の血縁者 6 例・HLA 一致非血縁骨髄 5 例・さい帯血 8 例。フル移植ではそれぞれ 15 例・7 例・21 例・1 例。移植ソースは、ミニ移植群では、骨髄 8 例・末梢血幹細胞 20 例・さい帯血 8 例、フル移植群ではそれぞれ 23 例($P=0.022$)・20 例($P=0.039$)・1 例($P=0.0089$)。ミニ移植群の移植前処置は、照射レジメンが 14 例、フルダラビンを含む非照射レジメンが 22 例、その他の非照射レジメンが 3 例。フル移植群では、ブスルファン+シクロフォスファミド 2 例、全身放射線照射+シクロホスファミド+シタラビンが 30 例、その他の照射レジメンが 12 例。移植片対宿主病(GVHD)予防は、ミニ移植群では、シクロスポリンを含むレジメンが 33 例・タクロリムスを含むレジメンが 5 例、フル移植群ではそれぞれ 28 例($P=0.027$)・16 例($P=0.013$)。

同種造血幹細胞移植の実施に際しては、匿名性を維持したまま後日研究発表に利用される点を十分に説明し、文書による同意を取得した。

C. 研究結果

(1) 生着・キメリズム・サイトメガロウイルス感染症・GVHD

移植後自己造血回復または生着不全を来した例は、ミニ移植群・フル移植群それぞれ 5 例(13%)・3 例(7%)であった($P=0.29$)。移植 90 日での完全キメラ率はそれぞれ 95%・100% ($P=0.088$)。サイトメガロウイルス抗原血症陽性率はそれぞれ 72%・55% ($P=0.088$)、サイトメガロウイルス病発症率はそれぞれ 3%・5% ($P=0.56$)。II 度以上急性 GVHD 発症率はそれぞれ 46%・41% ($P=0.36$)、慢性 GVHD 発症率はそれぞれ 59%・62% ($P=0.25$)と、差はみられなかった。

(2) 毒性

ミニ移植群 13 例(33%)・フル移植群 15 例(23%)が死亡した($P=0.87$)。死亡の主因に関しては、前処置関連毒性による死亡がそれぞれ 4 例(10%)・7 例(16%) ($P=0.33$)、感染症死亡 2 例(5%)・0 例(0%) ($P=0.22$)、再発関連死亡 5 例(13%)・5 例(11%)、急性 GVHD 関連死亡 2 例(5%)・1 例(2%)、慢性 GVHD 関連死亡 0 例(0%)・

2 例(5%)といずれも差はなかった。

全 83 例を対象とした多変量解析では、40 歳以上の症例・高リスク病は、非再発死亡を高める独立した予後不良因子であった。ハザード比はそれぞれ 5.6 ($P=0.0056$)・3.7 ($P=0.049$)。ミニ移植のハザード比は 0.56 ($P=0.53$)であった。

(3) 再発率・生存率

標準リスク群では、ミニ移植・フル移植後の 4 年再発率はそれぞれ 14%・22%と差はなかった($P=0.81$)。高リスク群に関しては、フル移植後の 4 年再発率 57%に対し、ミニ移植後は 13%と良好であった($P=0.077$)。

標準リスク群における 4 年全生存率(OS)は、ミニ移植群・フル移植群それぞれ 83%・79%であった($P=0.73$)。高リスク群においてもそれぞれ 61%・51%と差はなかった($P=0.94$)。

多変量解析上、OS 低下の危険因子として、40 歳以上の症例・高リスク病・前移植歴・骨髄ドナー・HLA 不一致ドナーが同定された。ハザード比はそれぞれ 3.1 ($P=0.023$)・5.3 ($P=0.0021$)・6.7 ($P=0.0087$)・4.9 ($P=0.019$)・7.7 ($P=0.0044$)。ミニ移植のハザード比は 0.57 ($P=0.42$)であった。

D. 考察

今回対象となった患者は、ミニ移植群の場合年齢はフル移植群と比べ約 10 歳高く、50 歳以上の患者割合も 59%とフル移植群(14%)に比べ有意に高かった($P=0.00004$)。高齢患者の場合、フル移植では、強力な前処置毒性に伴う移植後早期死亡の可能性が懸念されるため、移植の適用自体を躊躇するが多かった。今回の検討では、ミニ移植群・フル移植群間で死亡も含めた前処置関連毒性に差はみられなかった。したがって、ミニ移植であれば、高齢の患者にも安全に施行できるというミニ移植本来の利点が裏付けられた。

ミニ移植の場合、前処置による抗腫瘍効果はフル移植に劣るため、移植後高率に再発する可能性が危惧されていた。今回の検討では、ミニ移植後の 4 年再発率は標準リスク群・高リスク群で 14%・13%と良好であった。さらに、移植 4 か月以降の再発は皆無であった。高リスク群に関しては、フル移植後の再発率 57%をも

上回る傾向が認められた。一方、4年生存率に関しては、疾患リスクにかかわらずミニ移植群・フル移植群間に差はなかった。高リスク患者に対するフル移植後の非再発死亡の中央値は105日であったが、ミニ移植の場合、非再発死亡の全例が移植後4か月以内に集中していた。したがって、高リスク群へのミニ移植例の場合、移植後再発の危険性の高い患者の多くが移植後早期に死亡したため、再発率が低く見積もられている可能性は否定できない。

E. 結論

今回検討したミニ移植群中高齢例が多く含まれていることから、フル移植が施行できない高齢者にもミニ移植は安全に施行でき、長期生存が期待できる可能性が示唆された。今後は、多施設共同の前向き試験による検討が必要と考えられた。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 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.
- 2) 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.
- 3) Takami A, Asakura H, Koshida K, Namiki M, Nakao S. Reduced-intensity allogeneic stem cell

transplantation for renal cell carcinoma: in vivo evidence of a graft-versus-tumor effect. *Haematologica.* 2004 Mar;89(3):375-6.

- 4) Takami A, 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.
- 5) 高見昭良、中尾眞二. 接着分子多型とGVL効果. *臨床血液.* 2004;45(3):183-8.

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) Teshima T, Matsuo K, Nakao S, et al. Impact of HLA Mismatch on the Incidence of Acute GVHD and Rejection after Reduced-Intensity Conditioning Hematopoietic Stem Cell Transplantation (RICT). 46th ASH annual meeting and exposition. *Blood*, Volume 104, issue 11, November 16, 2004
- 3) 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
- 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（がん臨床研究事業）

分担研究報告書

「非血縁者からのミニ移植の安全性と有効性の検討」

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：他に有効な治療法を持たない難治性造血器疾患を有するにもかかわらず、根治療法としての通常の骨髄破壊的移植術が適応とはならない患者を対象とする。HLA 血清型完全一致非血縁ドナーから採取された骨髄幹細胞を使用し、従来の前処置療法と比較して治療強度を軽減した同種造血幹細胞移植（reduced-intensity stem cell transplantation; RIST）いわゆるミニ移植術を行い、その有効性と安全性を評価する。2005年2月現在で、目標症例25例に対して22例と順調な症例集積である。

分担研究者

原田実根	九州大学大学院医学研究院 病態修復内科	教授
長藤宏司	〃	助手
福田隆浩	〃	助手
宮本敏浩	〃	助手

象とする。HLA 血清型完全一致非血縁ドナーから採取された骨髄幹細胞を使用し、従来の前処置療法と比較して治療強度を軽減した同種造血幹細胞移植（reduced-intensity stem cell transplantation; RIST）いわゆるミニ移植術を行い、その有効性と安全性を評価する。

A. 研究目的

本研究では、他に有効な治療法を持たない難治性造血器疾患を有するにもかかわらず、根治療法としての通常の骨髄破壊的移植術が適応とはならない患者を対象とする。HLA 血清型完全一致非血縁ドナーから採取された骨髄幹細胞を使用し、従来の前処置療法と比較して治療強度を軽減した同種造血幹細胞移植（reduced-intensity stem cell transplantation; RIST）いわゆるミニ移植術を行い、その有効性と安全性を評価する。

本研究の特徴は、ミニ移植術で一般に用いられるHLA 一致血縁ドナー由来の末梢血幹細胞を用いずに、HLA 一致非血縁ドナーの骨髄幹細胞を用いた場合の成績を検討することである。

B. 研究方法

本研究では、他に有効な治療法を持たない難治性造血器疾患を有するにもかかわらず、根治療法としての通常の骨髄破壊的移植術が適応とはならない患者を対

主要評価項目（primary endpoint）

- (1) 移植後28日時点での生着
- (2) 造血回復までの期間、完全キメラ達成までの期間および割合（移植後 day 90±5 でドナー由来細胞が90%以上）

副次的評価項目（secondary endpoint）

- (1) 移植後100日時点の全生存率および無増悪生存率
- (2) 移植後1年の全生存率および無増悪生存率
- (3) 前処置・急性移植片対宿主病（graft-versus-host disease; GVHD）予防薬の毒性
- (4) GVHDの頻度・重症度
- (5) 感染症発症率

対象

難治性造血器疾患に罹患し、他の治療では治癒や長期生存が期待できないような病気や病状であるにもかかわらず、年齢制限（50歳以上）や臓器機能障害、大量化学（放射線）療法の既往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の適応にならない患者を本研究の対象とする。血清検査において、HLA の A/B/DR 座の全てが適合した 6/6 完全一致または 5/6 一致の血縁ドナーを有さず、HLA 完全一致血縁ドナーが存在し骨髄提供の同意を得ることができた患者において、説明同意書を用いて同意を得た者について行う。

C. 研究結果

血縁者間のミニ移植において早期の完全キメラ達成が確認されるようになり、複数のグループが非血縁者間におけるミニ移植の実行可能性について評価している。いずれも、通常、HLA 一致血縁者間で用いている前処置に加えて、なんらかの免疫抑制性の治療を追加している。ドイツおよびイスラエルのグループは、HLA 一致同胞間ミニ移植で用いるリン酸フルダラビンとブスルファンによる前処置にそれぞれウサギ ATG 2.5 mg/kg/day あるいはウマ ATG 10 mg/kg/day 投与を 4 日間加え、42 症例の HLA 一致非血縁者間移植を行った。ドイツのグループでは、1 次生着不全 1 例、2 次生着不全 8 例を認めた(21%)。イスラエルのグループは 10 歳から 27 歳(中央値 15 歳)の 16 例に HLA 一致非血縁移植を施行し中 15 例に生着を認めている。うち 4 例が死亡している(血小板減少と重篤な出血性膀胱炎 1、中枢神経毒性 1、grade IV の GVHD 1、再発 1)。

日本では非血縁者間造血幹細胞移植は骨髄移植に限定されており、allo-PBSCT は認められていない。これは、健常人への G-CSF の長期的な影響が不明であるためである。このため、本研究ではすべての患者が骨髄移植を受けている。また、2002 年 10 月現在、JMDP は、再発、移植後リンパ増殖性疾患以外の理由での DLI、及び非血縁ボランティアドナーから採取した骨髄の部分的な凍結保存を認めていない。このため、非血縁者ドナーからのミニ移植は生着不全のリスクが高くなる可能性があると考えなければならない。

このため、TBI 2 Gy alone のような一時的に混合キメラになる可能性が高い前処置ではなく、myeloablative な性質が強いレジメンを選択した。プリンアナログと busulfan の併用は、完全キメラの誘導が速やかで、かつ前処置関連毒性が少ないため、この

目的に好都合である。TBI はレシピエント由来細胞を抑制するが、ドナー由来細胞に影響を与えず、生着促進方向のみに働くと考えられる。TBI の線量については、シアトルにおける血縁者間のミニ移植の成績により TBI 200cGy 単独で生着には十分と考えられるが、混合キメラの頻度が高く DLI をしばしば必要としている。このためシアトルのグループにおいても非血縁者間移植の際には TBI にフルダラビンを加えるプロトコルを用いている。一方、Deeg らは再生不良性貧血における非血縁者間ミニ移植において TBI をエンドキサン/ATG に併用する試験を行った際に、TBI 600cGy 以上を併用した群では肺障害が増えることを示している。このため当院では確実に生着を誘導しかつ合併症を避けるために TBI の線量を 400cGy とした。2004 年 2 月の時点で、22 例の登録症例がある。

D. 考察

同種骨髄移植施行直前に行う大量抗癌剤療法や全身放射線照射の他の意義としては、ドナー由来の造血細胞が定着するための骨髄内の空間 (niche) 作りと免疫抑制にあると長い間考えられていた。しかし最近のいくつかの実験や臨床経験では、生着を起こさせるためには骨髄中に niche を作ることは必須ではなく、むしろ大量の造血幹細胞を移植するか、または十分な免疫抑制を行うだけで良いとの基礎データが多く示されて、骨髄移植時の治療関連毒性の主原因である強力術前療法や極量の全身放射線照射を避け得る方法が示唆されるに至った。この結果、臨床的には強力な免疫抑制効果を有するものの、その他の臓器毒性が少ないリン酸フルダラビンやクラドリピン (2-chlorodeoxyadenosine: 2-CdA) などのプリン誘導体を用いることで、従来の術前療法と比較しレジメン関連毒性を軽減した、reduced-intensity stem cell transplantation (RIST)、いわゆるミニ移植が登場した。臓器毒性が少ないことから、通常の骨髄破壊的同種造血幹細胞移植術が適応とならない、もしくはリスクが非常に高い患者も積極的に対象に含められるようになった。50 歳以上の高齢者や、心臓・肝臓などの重要臓器障害のある患者、2 回目以降の移植患者がミニ移植の対象と考えられている。

E. 結論

難治性造血器疾患に対する同種造血幹細胞移植の有用性は確立している。その適応は、ミニ移植の出現により、より高齢の患者および合併症のある患者にも拡大されつつある。しかし、非血縁ドナーからの骨髄非破壊的前処置による骨髄移植は、本邦で未だ未確立の分野である。本研究が、この分野における初めての前向き臨床試験であり、その研究結果がもたす影響は大きい。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 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, for Japanese group for blood and marrow transplantation: Allogeneic peripheral blood stem cell transplantation from two-or three-loci-mismatched related donors in adult Japanese patients with high-risk hematologic malignancies. *Bone Marrow Transplant* 33 : 279-289,2004
- 2) Kunisaki Y, Masuko S, Noda M, Inayoshi A, Sanui T, Harada M, Sasazuki T, Fukui Y, : Defective fetal liver erythropoiesis and T lymphopoiesis in mice lacking the phosphatidylserine receptor. *Blood* 103 : 3362-3364,2004
- 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
- 2) 原田実根 : 骨髄移植療法の近未来、日本内科学会北陸支部第 32 回生涯教育講演会、2004 年 6 月 6 日、金沢市
- 3) Harada M: Hematopoietic stem cell transplantation for treatment of solid tumors and autoimmune diseases. 2nd Annual Meeting of Asian Hematology Association, June 26,2004,Beijing, PR China
- 4) 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
- 5) Eto T, Tanimoto, 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
- 6) 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
- 7) 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
- 8) Kamezaki K, Shimoda K, Numata A, Yoshie M, Yamamoto M, Takeda K, Matsuda T, Akira S,

2. 学会発表

- 1) Harada M : Hematopoetic stem cell transplantation for treatment of acute myelogenous leukemia, solid tumors and autoimmune diseases. 25 Anniversary Seminar of Inje University Medical college, June 2,2004,Busan,Korea

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

- 9) 吉田周郎、石川文彦、下田和哉、原田実根 : ヒト臍帯血細胞によるインスリン産生の再生、第 66 回日本血液学会総会、第 46 回日本臨床血液学会総会、2004 年 9 月 17 日、京都市
- 10) 張華、石川文彦、吉田周郎、河野徳明、孔圓、深田光敬、下田和哉、大島孝一、安川正貴、原田実根 : 免疫不全マウスを用いたヒト臍帯血由来 T 細胞による異種 GVHD の作成、第 66 回日本血液学会総会、第 46 回日本臨床血液学会総会、2004 年 9 月 17 日、京都市
- 11) 牟田毅、榎藤久司、加藤光次、衛藤徹也、渋谷恒文、上村智彦、林真、長藤宏司、宮本敏浩、福田隆浩、下田和哉、原田実根 : HLA 不一致の

同種造血細胞移植後に合併した HHV-6 脳炎の 2 症例、第 66 回日本血液学会総会、第 46 回日本臨床血液学会総会、2004 年 9 月 17 日、京都市

- 12) 高瀬謙、沼田晃彦、山崎聡、福田隆浩、長藤宏司、下田和哉、原田実根 : 自己末梢血幹細胞移植後の再発に対し同種移植を施行した悪性リンパ腫の 9 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
- 13) 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
該当なし

厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）

分担研究報告書

「同種造血細胞移植後の GVHD の制御および GVL 効果誘導に関する研究」

分担研究者 今村 雅寛 北海道大学大学院医学研究科 血液内科学教授
研究協力者 田中 淳司、岩尾 憲明、東梅 友美、三浦 洋子、加藤 菜穂子、
重松 明男、平手 大輔 北海道大学大学院医学研究科 血液内科学

研究要旨：同種造血幹細胞移植後の移植片対宿主病（GVHD）の制御は、その治療成績の向上に欠かせない。種々の免疫制御細胞が見出されつつあるが、本研究では抑制性NK細胞受容体陽性細胞について解析を行った。この細胞は、同種造血幹細胞移植後に末梢血中で増加し、GVHDの制御に重要な役割を果たしていると考えられ、同時に移植片対白血病（GVL）効果も有していると思われる。

A. 研究目的

同種造血細胞移植後の移植片対宿主病（GVHD）抑制作用を有する細胞を同定し、その細胞を用いた細胞療法を目指す。私たちのこれまでの研究で、抑制性NK細胞受容体を有する細胞がGVHDの制御に重要であることが明らかとなってきたため、本研究では、細胞増幅効率の研究とそれらが移植片対白血病（GVL）効果をも併せ持つかどうか解析することを目的とした。

B. 研究方法

血縁者間同種造血細胞移植後のドナーより同意を得てG-CSFで刺激された4日目の末梢血を採取し、 10^5 個のT細胞を抗CD3モノクローナル抗体（ $1\mu\text{g/ml}$ ）およびIL-15（ 5 ng/ml ）あるいはIL-12（ 2.5 ng/ml ）存在下において24穴プレート中で7日間培養し抑制性NK細胞受容体のひとつであるCD94/NKG2A陽性T細胞のin vitro増幅を図った。CD94、NKG2A陽性細胞は該当するモノクローナル抗体を用いてフローサイトメトリーで解析した。CD94陽性T細胞の細胞傷害活性は4時間の ^{51}Cr 遊離試験にてK562を標的細胞として検討した。なお、当該研究は北海道大学大学院医学研究科の倫理委員会の審査を経て承認されたものであり、研究目的とその意義を説明した上で、いつでも同意の撤回が出来ること、1回の採血量も10～20mlと常識的な範囲のものであることなどを理解していただいた。

C. 研究結果

末梢血より回収されたCD3⁺/CD8⁺T細胞を抗CD3モノクローナル抗体で処理して7日間培養するとCD94/NKG2Aの発現率は約1%から10数%に亢進したが、抗CD3モノクローナル抗体+IL-12の処理で30～40%、抗CD3モノクローナル抗体+IL-15の処理で20～30%に亢進した。しかし、K562細胞に対する細胞傷害活性は、20:1のエフェクター：ターゲット比で抗CD3モノクローナル抗体+IL-15の処理で $40.7\pm 18.4\%$ 、抗CD3モノクローナル抗体+IL-12の処理で $15.1\pm 5.2\%$ であった。K562細胞のHLAクラスI分子の発現は低下しており、これが原因でNK細胞受容体を介した細胞傷害活性が誘導されていることが確認された。同種および自家のPHA刺激リンパ球を標的としてもHLAクラスI分子の発現は低下していないため、細胞傷害活性は誘導されなかった。一方、HLAクラスI分子の発現を誘導するIFN γ で処理したK562では細胞傷害活性が亢進した。HLA-Cのシグナル伝達に関与するHLA-Cw3ペプチドはHLA-Eと結合し、そのligandであるCD94/NKG2Aとの結合を阻害するため、HLAクラスI分子を発現したK562細胞に対する細胞傷害活性を抑制したが、関係のないB15ペプチドは抑制効果を発揮しなかった。

抗NKG2A抗体、抗HLAクラスI抗体はIFN γ で処理したK562に対するCD94/NKG2A陽性T細胞の細胞傷害活性を増強させ、抗NKG2D抗体はその細胞傷害

活性を減弱させた。

D. 考察

CD94/NKG2A の発現効率は抗 CD3 モノクローナル抗体+IL-12 の処理が抗 CD3 モノクローナル抗体+IL-15 の処理より優れていたが、細胞傷害活性は逆であった。この結果はCD94/NKG2A の発現が必ずしも、細胞傷害活性と相関していないことを示しているが、いかなる機序でこのような差が生じたのかは今後の課題である。

CD94/NKG2A の ligand である HLA-E は適当なモノクローナル抗体が存在せず、その発現量の検討は RT-PCR でなされ、IFN γ で処理した K562 にその存在が確認された。HLA-E は他の HLA クラス I 分子 (A, B, C, G) と結合し、その発現がこれら分子によって制御されているため、このような結果が誘導されたと考えられる。

HLA-Cw3 ペプチドによる細胞傷害活性の抑制は、今回得られた細胞傷害が HLA-E を介したものであることを示唆している。また、種々の抗体を用いた解析結果は細胞傷害に抑制性 NK 細胞受容体と刺激性 NK 細胞受容体の関与があることを示している。

E. 結論

同種造血細胞移植後に出現する CD94/NKG2A 陽性 T 細胞は K562 を破壊したことより、GVL 効果を有する可能性があると考えられた。この細胞は、抗 CD3 モノクローナル抗体+IL-15 の処理で効果的に増幅され、GVHD の制御および GVL 効果誘導に有用であると考えられる。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Tanaka J, et al.: Differential expression of natural killer cell receptors (CD94/ NKG2A) on T cells by the stimulation of G-CSF- mobilized peripheral blood mono- nuclear cells with anti-CD3 mono- clonal antibody and cytokines: A study in stem cell donors. Transplant Proc 36: 2511-2512, 2004
- 2) Tanaka J, et al.: Cytolytic activity and regulatory functions of inhibitory NK cell receptor-expressing T cells expanded from granulocyte col- ony-stimulating factor-mobilized peripheral blood mononuclear cells. Blood 104: 768-774, 2004

2. 学会発表

- 1) Tanaka J, et al: Killing activity of inhibitory natural killer cell receptor CD94- expressing CD8⁺ T cells against primary leukemic cells. Concurrent Ses- sion (Oral) 33rd Annual Meeting of International Society of Hematology, New Orleans, 2004
- 2) Tanaka J, et al: Expansion of inhibitory NK receptor (CD94/ NKG2A)-expressing CD8 T cells from vari- ous blood mononuclear cells with cytolytic activity against primary leukemic cells. 46th Annual Meeting of American Society of Hematology, San Diego, 2004

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（がん臨床研究事業）

分担研究報告書

「若年者骨髄性造血器腫瘍を対象とした骨髄破壊的前処置と骨髄非破壊的前処置を用いた同種末梢血幹細胞移植の比較検討研究」

分担研究者 山下 卓也 東京都立駒込病院 血液内科 医員

A. 研究目的

20歳から50歳の若年者骨髄性造血器腫瘍の患者を対象として、骨髄非破壊的前処置を用いた同種末梢血幹細胞移植が、骨髄破壊的前処置を用いた同種末梢血幹細胞移植に匹敵する治療法であることを明らかにすること。

B. 研究方法

上記の目的を達成するための臨床研究を計画し、そのプロトコルの検討を行った。特に骨髄非破壊的前処置を用いた同種末梢血幹細胞移植においては、移植後の患者のQOLが保たれる可能性に着目し、骨髄破壊的前処置を用いた同種末梢血幹細胞移植との比較を試みるプロトコルを検討した。併せて、当院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症例の移植後のQOLを後方視的に検討した。

<倫理面への配慮>

当該臨床研究プロトコルを作成するにあたっては、QOL調査における患者への身体的及び精神的な負担の軽減に主眼をおいた倫理面への配慮を重視した。後方視的な検討を行うにあたっては、倫理面を考慮した研究を行った。

C. 研究結果

当該臨床研究のQOL調査研究プロトコル検討会に参加し、プロトコルの作成に関与した。同プロトコルは現在当院倫理委員会にて審査中である。また、当院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症例におけるQOLに関する後方視的研究を基にして、日常臨床において、数例の骨髄非破壊的前処置を用いた同種末梢血幹細胞移植を実施した。

D. 考察

当該臨床研究のQOL調査研究プロトコル作成にあたっては、造血幹細胞移植領域におけるQOLの評価尺度の開発が必要であることが明らかになった。他の悪性腫瘍領域において使用されている評価尺度を参考として数種類の評価尺度にてQOLを調査することで、これらの評価尺度の有用性や信頼性も検証できると考えられる。こうした評価尺度の開発は、今後の造血幹細胞移植領域における臨床研究の展開にとって有用であると考えられた。日常臨床においては、骨髄非破壊的前処置を用いた同種末梢血幹細胞移植は、従来の同種移植に比して、移植後の患者のQOLが保たれるという印象があり、これを客観的に評価することによって、骨髄非破壊的前処置を用いた同種末梢血幹細胞移植の有用性を明らかにしようと感じられた。

E. 結論

骨髄破壊的前処置と骨髄非破壊的前処置を用いた同種末梢血幹細胞移植の比較を、移植後のQOLの面から検討する臨床研究は、骨髄非破壊的前処置を用いた同種末梢血幹細胞移植療法の開発のために必須である。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

該当なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし