

厚生労働科学研究費補助金
ヒトゲノム・再生医療等研究事業

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

平成17年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 神田 善伸

平成18年(2006)3月

目 次

総括研究報告

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

東京大学医学部附属病院無菌治療部 神田善伸 1

分担研究報告

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

東京大学医学部附属病院無菌治療部 神田善伸 7

2. 多発性骨髄腫に対する自己 $\gamma\delta$ T 細胞療法

日本赤十字社医療センター血液内科 鈴木憲史 11

3. 臓器障害を有する患者の HLA 不一致移植の安全性の検討

国家公務員共済組合連合会虎の門病院血液科 谷口修一 14

4. 骨髄低形成を呈した非寛解期 AML/RAEB に対する骨髄非破壊的前処置による臍帯血移植

金沢大学大学院医学系研究科細胞移植学 中尾眞二 18

5. HLA 一致血縁ドナー以外のドナーから同種造血幹細胞移植の開発

九州大学大学院医学研究院 病態修復内科学分野 原田実根 22

6. 高齢者 HLA 不一致移植の安全性の検討

国立がんセンター中央病院臨床検査部細菌免疫検査室 森慎一郎 25

研究成果の刊行に関する一覧表 27

研究成果の刊行物・別刷 29

I . 総括研究報告

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

主任研究者 神田 善伸
東京大学医学部附属病院 血液・腫瘍内科 講師

研究要旨

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

平成16年度は臨床試験計画書、同意説明文書、症例報告書の作成(主任研究者および分担研究者大橋、原田、中尾、高上、谷口)、データベースの構築(日本臨床試験支援ユニットに委託)、医薬品機構への医師主導治験実施の相談、各施設の審査機関での試験の承認(主任研究者および分担研究者の原田、中尾、谷口、岡村、鈴木)、治験の届け出を行う予定であったが、実際に、東京大学医学部附属病院、金沢大学医学部附属病院、日本赤十字社医療センターの各審査委員会の承認を受け、平成16年11月5日に治験届けを提出した。平成17年1月に治験を開始し、平成20年4月に治験を終了する。治験は多施設共同で行われ、主任研究者および分担研究者の施設が参加する。臨床治験の定期モニタリング、データ管理は日本臨床試験支援ユニットに委託する。平成18年度に施設訪問監査を行い、

データの品質保証を行う(日本臨床試験支援ユニットに委託)。主任研究者は分担研究者大橋とともにデータの解析を行い、アレムツズマブを用いたHLA二座以上不一致血縁者間移植の安全性、有効性が確認できた場合には、主任研究者はこれらのデータを用いて適応承認申請を行う。

平成17年に順調に3症例が登録され、観察期間、データ固定期間となり、登録を一旦中止した。最終的にこの3症例がいずれも治療の成功基準を満たしていることが確認されたため、効果安全性評価委員会の諮問の上、アレムツズマブの投与量を0.16 mg/kg/dayに減量し、患者登録を再開した。

分担研究者

原田 実根 九州大学大学院 病態修復内科学 教授
大橋 靖雄 東京大学大学院医学系研究科 健康科学・看護学専攻 教授
中尾 眞二 金沢大学大学院医学系研究科 細胞移植学 教授
谷口 修一 国家公務員共済組合連合会 虎の門病院血液科 部長
鈴木 憲史 日本赤十字社医療センター 血液内科 部長
森 慎一郎 国立がんセンター中央病院 細菌免疫検査室 医長
千葉 滋 東京大学医学部附属病院 無菌治療部 助教授
小川 誠司 東京大学医学部附属病院 造血再生医療講座 客員助教授

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

A. 研究目的

同種造血幹細胞移植の最大の合併症は移植片

置薬としての適応承認申請を行い、多くの国民に利益をもたらすことを目的とする。

分担研究としては、HLA適合非血縁者からのミニ移植の安全性を検討するとともに(原田)、この移植方法がどのような患者に適應できるかを探索するため、ミニ移植における非再発死亡率を予測するモデルの検討(森)、高齢者に対する臍帯血ミニ移植の安全性の検討(中尾、谷口)について検討した。鈴木らは多発性骨髄腫に対する自己 $\gamma\delta T$ 細胞輸注療法研究した。

B. 研究方法

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

移植前処置は、自家移植の既往のない55歳未満の患者においては通常の移植で行われるシクロホスファミド(60 mg/kgを2日間)と全身放射線照射(2Gyを1日2回、3日間)に加えてアテムツズマブを患者体重あたり0.2 mg/kgを6日間併用(移植8日前から3日前まで)する。自家移植の既往のある患者あるいは55歳以上の高齢患者においては、リン酸フルグラビン(30 mg/m²を6日間)、ブスルファン(4 mg/kgを2日間)、少線量全身放射線照射(2Gyを1日2回、1日間)とアテムツズマブを併用する。ドナーから採取した末梢血幹細胞を前

処置終了後に輸注する。移植後の免疫抑制はシクロスポリンとメトトレキサートの併用で行う。

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

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

分担研究としては、原田らはHLA適合非血縁ドナーからのミニ移植の安全性、有効性を評価する前方視的試験を行った。森らは高齢者に対する移植における移植関連死亡率を予測するモデルとしてHematopoietic stem cell transplantation specific comorbidity index (HCT-CI)の妥当性を評価した。中尾らは化学療法後に汎血球減少症が持続したAML/RAEBの3症例に対して臍帯血ミニ移植を行い、その安全性を評価した。谷口らは158例の臍帯血ミニ移植の治療成績の解析を行い、臍帯血ミニ移植における適切なGVHD予防法について検討した。鈴木らは多発性骨髄腫患者に対する自己 $\gamma\delta T$ 細胞静注療法の臨床試験を4症例に対して行った。

C. 研究結果

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

験として行うことにより、アテムツズマブの適応承認申請を行う。

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

平成 17 年に順調に 3 症例が登録され、観察期間、データ固定期間となり、登録を一旦中止した。最終的にこの 3 症例がいずれも治療の成功基準を満たしていることが確認されたため、効果安全性評価委員会の諮問の上、アテムツズマブの投与量を 0.16 mg/kg/day に減量し、患者登録を再開した。

分担研究では、原田らは前方視的試験において 26 症例に対して、cladribine、busulfan、全身放射線照射 (TBI) を用いて HLA 適合非血縁ドナーからのミニ移植を行った。グレード III 以上の急性 GVHD の発症が 31%、非再発死亡率は 53% に達し、より強力な GVHD の予防が必要であると考えられた。森らは HCT-CI が非再発死亡率と強く相関することを示し、前処置法や GVHD 予防法の選択に役立つことが示唆された。中尾らは 3 人の AML/RAEB の高齢

者に対し、臍帯血ミニ移植を行い、ウイルス感染症が問題となったが、最終的に全例が無病生存している。谷口らは臍帯血ミニ移植後の非再発死亡率が、GVHD 予防法を cyclosporine から tacrolimus に変更することによって 51% から 26% に減少したことを示し、臍帯血移植においても GVHD 予防が重要であることが示唆された。鈴木らは多発性骨髄腫 4 症例に対して自己 $\gamma\delta$ T 細胞輸注を行い、重篤な有害事象は認められず、1 症例に骨痛の消失と M 蛋白の減少が認められた。

D. 考察

分担研究者らの解析結果から、現在においても移植の成否を決定する鍵は GVHD のコントロールであり、特に高齢者においては GVHD の発症と非再発死亡が密接に関連していることが示された。よって、アテムツズマブを用いた GVHD 予防が様々な造血幹細胞移植の局面において必要とされることが示唆された。本臨床試験は改正 GCP (good clinical practice) に則って医師主導治験として行うことにより、より信頼性の高いデータを得るとともに、本試験で品質保証されたデータに基づいて適応承認申請を行い、多くの国民に利益をもたらす。

E. 結論

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

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

◆論文発表

1. Yoshinobu Kanda, Yutaka Komatsu, Masaaki Akahane, Shigeyuki Kojima, Yuki Asano-Mori, Minoru Tada, et al. Graft-versus-tumor effect against advanced pancreatic cancer after allogeneic reduced-intensity stem cell transplantation. *Transplantation* 2005;79:821-827
2. Yoshinobu Kanda, Kumi Oshima, Yuki Asano-Mori, Koji Kandabashi, Masahiro Nakagawa, Mamiko Sakata-Yanagimoto, et al. In vivo alemtuzumab enables haploidentical H L A -mismatched hematopoietic stem cell transplantation without ex vivo graft manipulation. *Transplantation* 2005;79:1351-1357
3. Yoshinobu Kanda, Hisashi Sakamaki, Hiroshi Sao, Shinichiro Okamoto, Yoshihisa Kodera, Ryuji Tanosaki, et al. Effect of conditioning regimen on the outcome of bone marrow transplantation from an unrelated donor. *Biology of Blood and Marrow Transplantation* 2005;11:881-889
4. Kunihisa Nakai, Yoshinobu Kanda, Shirou Fukuhara, Hisashi Sakamaki, Shinichiro

Okamoto, Yoshihisa Kodera, et al. Value of chemotherapy before allogeneic hematopoietic cell transplantation from an H L A -identical sibling donor for myelodysplastic syndrome. *Leukemia* 2005;19:396-401

5. Yuki Asano-Mori, Kumi Oshima, Mamiko Sakata-Yanagimoto, Masahiro Nakagawa, Koji Kandabashi, Yoshinobu Kanda, et al. High-grade cytomegalovirus antigenemia after hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplantation* 2005;36:813-819
6. Kumi Oshima, Mamiko Sakata-Yanagimoto, Yuki Asano-Mori, Koji Izutsu, Takuro Watanabe, Yoshinobu Kanda et al. Cardiac complications after haploidentical H L A -mismatched hematopoietic stem cell transplantation using in vivo alemtuzumab. *Bone Marrow Transplantation* 2005;36:821-824

◆学会発表

1. 神田善伸 合同シンポジウム CAMPATH-1H を用いたH L A不適合血縁者間移植 第67回日本血液学会・第47回日本臨床血液学会合同総会 横浜 2005年9月

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

II. 分担研究報告

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

主任研究者 神田 善伸 東京大学医学部附属病院 血液・腫瘍内科 講師
分担研究者 大橋 靖雄 東京大学大学院医学系研究科 健康科学・看護学専攻 教授
分担研究者 千葉 滋 東京大学医学部附属病院 無菌治療部 助教授
分担研究者 小川 誠司 東京大学医学部附属病院造血再生医療講座 客員助教授

研究要旨

東京大学医学部附属病院無菌治療部でアレムツズマブを用いた HLA 二座以上不一致血縁ドナーからの同種造血幹細胞移植療法の臨床試験を行った。18 症例に対して HLA 二座以上不一致血縁者間移植を行い、グレード III 以上の急性 GVHD 発症頻度を 1 例のみに抑制することに成功した。そこで、改正 GCP 基準に則った医師主導治験として同治療法の臨床試験を行うことにより、アレムツズマブの適応承認申請を行うことを計画した。平成 16 年度には医薬品副作用被害救済・研究振興調査機構との治験相談を経て試験計画書について必要な修正を加えた。その後、症例報告書の作成、データベースの構築、医薬品機構への医師主導治験実施の相談、各施設の審査機関での試験の承認を経て、平成 16 年 11 月に治験届を提出し、平成 17 年 1 月に治験を開始した。治験は多施設共同で行われ、主任研究者および分担研究者の施設が参加している。これまでに 3 症例が登録され、いずれも治療の成功基準を満たし、現在、治験は第二段階へと進行している。

A. 研究目的

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

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

験として行う。アレムツズマブを用いた HLA 二座以上不一致血縁者間移植の安全性と有効性が証明された場合には、本試験で品質保証されたデータに基づいてアレムツズマブの移植前処置薬としての適応承認申請を行い、多くの国民に利益をもたらすことを目的とする。

B. 研究方法

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

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

主要評価項目は移植後 60 日以内の生着不全

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

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

C. 研究結果

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

平成 15 年度から作成を開始した臨床試験計画書、同意説明文書について、平成 16 年 2 月 26 日に医師主導臨床試験の実行に関して、医薬品副作用被害救済・研究振興調査機構との治験相談を行い、指摘された事項について、平成 16 年度に試験計画書について必要な修正を加えた。その後、症例報告書の作成、データベースの構築 (日本臨床試験支援ユニットに委託)、医薬品機構への医師主導治験実施の相談、各施設の審査機関での試験の承認を経て、平成 16 年 11 月に治験届を提出した。平成 17 年 1 月に治験を開始した。治験は多施設共同で行われ、主任研究者および分担研究者の施設が参加している。順調に 3 症例が登録され、観察期間、データ固定期間となり、登録を一旦中止した。最終的にこの 3 症例がいずれも治療の成功基準を満たしているこ

とが確認されたため、効果安全性評価委員会の諮問の上、アレムツズマブの投与量を 0.16 mg/kg/day に減量し、患者登録を再開した。臨床治験の定期モニタリング、データ管理は日本臨床試験支援ユニットに委託する。平成 18 年度に施設訪問監査を行い、データの品質保証を行う。

D. 考察

本臨床試験は改正 GCP (good clinical practice) に則って医師主導治験として行うことにより、より信頼性の高いデータを得るとともに、本試験で品質保証されたデータに基づいて適応承認申請を行い、多くの国民に利益をもたらす。

E. 結論

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

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

◆論文発表

1. Yoshinobu Kanda, Yutaka Komatsu, Masaaki Akahane, Shigeyuki Kojima, Yuki Asano-Mori, Minoru Tada, et al. Graft-versus-tumor effect against advanced pancreatic cancer after allogeneic reduced-intensity stem cell transplantation. *Transplantation* 2005;79:821-827
2. Yoshinobu Kanda, Kumi Oshima, Yuki

Asano-Mori, Koji Kandabashi, Masahiro Nakagawa, Mamiko Sakata-Yanagimoto, et al. In vivo alemtuzumab enables haploidentical HLA-mismatched hematopoietic stem cell transplantation without ex vivo graft manipulation. *Transplantation* 2005;79:1351-1357

3. Yoshinobu Kanda, Hisashi Sakamaki, Hiroshi Sao, Shinichiro Okamoto, Yoshihisa Kodera, Ryuji Tanosaki, et al. Effect of conditioning regimen on the outcome of bone marrow transplantation from an unrelated donor. *Biology of Blood and Marrow Transplantation* 2005;11:881-889
4. Kunihisa Nakai, Yoshinobu Kanda, Shirou Fukuhara, Hisashi Sakamaki, Shinichiro Okamoto, Yoshihisa Kodera, et al. Value of chemotherapy before allogeneic hematopoietic cell transplantation from an HLA-identical sibling donor for myelodysplastic syndrome. *Leukemia* 2005;19:396-401
5. Yuki Asano-Mori, Kumi Oshima, Mamiko Sakata-Yanagimoto, Masahiro Nakagawa, Koji Kandabashi, Yoshinobu Kanda, et al. High-grade cytomegalovirus antigenemia after hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplantation* 2005;36:813-819
6. Kumi Oshima, Mamiko Sakata-Yanagimoto, Yuki Asano-Mori, Koji Izutsu, Takuro Watanabe, Yoshinobu Kanda et al. Cardiac complications after haploidentical HLA-mismatched hematopoietic stem cell transplantation using in vivo alemtuzumab. *Bone Marrow Transplantation*

2005;36:821-824

間移植 第 67 回日本血液学会・第 47 回
日本臨床血液学会合同総会 横浜 2005
年 9 月

◆学会発表

1. 神田善伸 合同シンポジウム
CAMPATH-1H を用いた HLA 不適合血縁者
- H. 知的財産権の出願・登録状況
なし。

多発性骨髄腫に対する自己 $\gamma\delta$ T 細胞療法

分担研究者

鈴木 憲史 日本赤十字社医療センター 血液内科部長

研究要旨

多発性骨髄腫は近年発症頻度が増加傾向にあり、サリドマイド使用基準などで社会問題にもなっている。本疾患は現在のところ治癒例がみられず、自己造血幹細胞移植に引き続きアロのミニ移植療法が唯一の治癒戦略である。しかし、造血幹細胞移植療法は造血器疾患に対する根治的な治療法ではあるが、移植前処置の毒性、移植片対宿主病 (GVHD)、感染症などの合併症を生じ再発も多い。血縁者間の移植の利点として、再発治療のための DLI (ドナーリンパ球輸注療法) がタイミング良く実施出来る事であるが HLA 不一致血縁ドナーしか幹細胞源がない場面が多く、アテムツズマブを用いた HLA 二座以上不一致血縁ドナーからの同種造血幹細胞移植療法の開発は重要である。また、DLI の効果増強のための免疫学的解析も大切である。

A. 研究目的

骨髄腫は、PreB から ImmatureB 細胞あたりの単独クローンが増殖分化し、単一な形質細胞が主に骨髄で増加し、一般に血清中に単クローン性の蛋白のみられる腫瘍である。

我々は 13 番欠損、低倍数体、C-maf 関連の t (14 ; 16)、FGFR3 関連の t (4 ; 14) は予後不良群、高倍数体は中間群、Cyclin-D1/CD20 関連の t (11 ; 14) および正常染色体群は予後良好群と層別化し、末梢血幹細胞移植のタイミングなどを検討している。通常は II 期以上が治療の対象となる。発症頻度は 10 万人に 2.5 人で、わが国でも最近増加傾向がみられる。

現時点では骨髄腫の治癒は期待できないので、治療目標を完全または部分寛解に入れて、QOL を良好な状態に維持し、生存期間延長を目指すことであるが、集学的治療で治癒を目指す時期がきている。骨髄腫の治療は化学療法が中心となるが、条件が満

たされれば末梢血幹細胞移植や同種骨髄ミニ移植も計画され、長期生存や治癒が期待される。

自家末梢血幹細胞移植では、治療関連死は 5% 以下と比較的安全に行われ、通常化学療法に比べよりよい緩解が得られ長期生存が期待される。

B. 研究方法

自己 $\gamma\delta$ T 細胞療法 (自主研究)

T 細胞は、T 細胞受容体の発現の仕方により 2 種のサブセットに分類される。大半は $\alpha\beta$ T 細胞であり、癌免疫においても、MHC クラス I (CD8 陽性 T 細胞) もしくは MHC クラス II (CD4 陽性 T 細胞) に提示される抗原ペプチドを認識する MHC 拘束性 $\alpha\beta$ T 細胞が、抗腫瘍効果を示していると考えられてきた。しかし、最近、数上では圧倒的に少ないものの、CD3 関連 $\gamma\delta$ T 細胞が、癌治療において注目を浴びている。自然免疫に属する $\gamma\delta$ T 細胞は、自らサイトカイ

ンを産生し、また抗腫瘍効果を有するサイトカインを活性化するなど、獲得免疫に属する $\alpha\beta$ T細胞と似た機能を有しているが、抗原提示細胞のプロセッシングを受けず、MHC非拘束的に抗原を認識して比較的早い段階から免疫応答に関与するなど、 $\alpha\beta$ T細胞と異なる性質も有している。さらに、 $\gamma\delta$ T細胞は、サイトカインの遊離を通して、 $\alpha\beta$ T細胞の反応を直接的或いは間接的にコントロールしている。

$\gamma\delta$ T細胞は $\alpha\beta$ T細胞と異なり、MHC発現を低下もしくは消失して $\alpha\beta$ T細胞による免疫応答を回避できた腫瘍に対しても抗腫瘍活性を発揮することが期待される。

(細胞分画)

自己 $\gamma\delta$ T細胞1回目投与開始の14日前に採血を行い、密度勾配遠心分離により単核球を含む細胞分画と血漿に分離し、それぞれ回収する。また、単核球を含む細胞分画の一部を用いて無菌検査を実施する。

(細胞培養)

単核球を含む細胞分画は、IL-2添加培地に血漿及びゾレドロン酸を加えて14日間培養し、 $\gamma\delta$ T細胞を刺激・増殖させる。培養後、遠心分離の操作により $\gamma\delta$ T細胞を回収し、活性化リンパ球数をカウントし、アルブミン添加乳酸ナトリウム加リンゲル液あるいは生理食塩液中に懸濁し使用する。

C. 研究結果

我々は世界で初めて4例(IgG型3例、IgA型1例)の多発性骨髄腫症例に自己 $\gamma\delta$ T細胞静注療法を実施し(総投与回数4回/症例、最低初回用量 1×10^8 細胞、2回目以降最高用量 5×10^8 細胞)、安全性及び有効性の予備的検討を行ったところ、主な有害事象は発熱(38.5℃以下)で、重篤な有害事象は見られず、IgA型の1例で骨痛

の消失とM蛋白減少の効果を認めた。

D. 考察

ゾレドロン酸を含むビスホスホネート製剤が末梢血単核球培地中の $V\gamma 9\delta 2$ T細胞の増殖を誘導し、*in vitro*において $V\gamma 9\delta 2$ T細胞の多発性骨髄腫に対する細胞傷害活性及び抗腫瘍効果を有するサイトカイン、IFN γ を増加させ効果を発揮したと思われる。

E. 結論

近い将来、自家末梢血幹細胞移植のタイミングなど新戦略が開発され、アレムツマブを用いたHLA二座以上不一致血縁ドナーからの同種造血幹細胞移植療法後にドナー $\gamma\delta$ T細胞療法を併用することにより治癒症例が出てくることが期待される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

H. 研究発表

◆論文発表

1. Kenshi Suzuki: Stem cell transplantation for multiple myeloma. The 3rd annual meeting of Asian hematology association. Scientific symposium-1, 23-24, 2005
2. K. Suzuki: Light- and heavy-chain deposition disease (LHCDD): Difficulty in diagnosis and treatment. Internal Medicine 9:915-916, 2005
3. Yasunori Nakagawa, Maki Hasegawa, Imorito Kurata, Kouhei

Yamamoto, Kenshi Suzuki et al:
Expression of IAP-Family Proteins
in Adult Acute Mixed Lineage

Leukemia (AML). American Journal
of Hematology 78:173-180, 2005

I. 知的財産権の出願・登録状況なし

臓器障害を有する患者の HLA 不一致移植の安全性の検討

分担研究者 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 難治性血液疾患に対する根治的治療である同種造血幹細胞移植の進歩は近年著しい。最近移植前処置を軽減したミニ移植が開発され、臓器障害を持つ症例や高齢者にも同種移植療法を提供できるようになった。またドナーに関しても臍帯血を用いることにより成人でも 90-95%の症例に移植医療を提供できる状況にある。虎の門病院血液科では、ドナーに危険を及ぼすことなく速やかに入手できる臍帯血と移植前処置の軽減による副作用軽減という 2 つの利点を持ち合わせた臍帯血ミニ移植を積極的に行ってきた。2002 年 3 月から 2005 年 6 月までに施行した 158 例(内 157 例は HLA 不一致)の臍帯血ミニ移植を施行し、後方視的に解析した。対象症例の年齢中央値 55 歳 (17-79 歳)とかなりの高齢層に行われていること、136 例中 101 例が病期進行例であったにも関わらず、全生存率は 34.6%と評価できる成績が得られた。この研究で問題となった事は移植後早期の合併症による死亡であったが、cyclosporine と tacrolimus による GVHD 予防の変更により有意に移植関連合併症の減少が見られた。

A. 研究目的

同種造血幹細胞移植術は、難治性血液疾患に対する根治的治療であるが、これまで骨髓破壊的移植術（フル移植）が主に若年者に対し施行されてきた。近年骨髓非破壊的移植術（ミニ移植）が、臓器障害を有する症例や高齢者にも安全に施行可能なことが示され、そのフル移植と変わらない有効性が報告されている。一方、造血幹細胞移植には基本的に HLA 一致ドナーが必要であるが、HLA 一致血縁者ドナーは 2/3 の症例で見つからず、骨髓バンクを介した移植は、登録から移植までに 3~6 ヶ月かかり、緊急の状況には対応できない事が多い。この場合、HLA 不適合血縁からの移植や HLA2 座不一致まで移植可能な臍帯血移植が考慮される。

虎の門病院血液科では 2002 年 3 月から臍帯血ミニ移植を始め、200 例の経験を積み重ねてきた。これらの移植例のほとんどが HLA2 座不一致の臍帯血の移植であっ

た。これらの移植症例に対して、2005 年 6 月までの 158 例につき後方視的に解析した報告する。

B. 研究方法

症例数は延べ 158 例で初回移植例 136 例を解析の対象とした。年齢中央値 55 才 (17-79)。疾患別では、骨髓球性悪性腫瘍 65 例、リンパ性腫瘍 61 例、再生不良性貧血 5 例で、治療抵抗性の状態での移植例が 101 例であった。再生不良性貧血や無治療の急性骨髓性白血病、骨髓異形成症候群は化学療法感受性有りとして解析した。HLA は 4~5 座一致の臍帯血を患者体重あたり細胞数の最も多いものを優先し、HLA 一致移植は 1 例のみであった。

前処置は Fludarabine(Flu、25mg/m² 5 日間)+Melphalan(l-PAM 40mg/m² 2 日間)+TBI4Gy が 120 例で大多数を占めた GVHD 予防は cyclosporine 3mg/kg 単独が 79 例、tacrolimus 0.03mg/kg 単独 57 例で、移植 1 日目から G-CSF を併用した。

倫理上の問題点に対する配慮

本研究は臨床第 I/II 相試験に相当し、適格基準と除外基準より適格と判断される症例に対し、本療法の有効性と危険性について十分な説明を行い、同意が得られた者についてのみ施行した。

C. 研究結果

HLA 不適合移植及び臍帯血移植の場合にはまず生着が問題となる。好中球の生着に関しては 84.8%の症例において生着が見られた(中央値 19 日)。血小板についてはかなり遷延する傾向にあった。生着した症例のキメリズム解析では 81.9%で 100%ドナーキメラを達成した。生着不全の原因として、移植後早期に血球貪食症候群を併発した症例が含まれており、現在詳細に解析中である。また全生存率は 34.6%であった(図 1)。対象症例の年齢中央値 55 歳 (17-79 歳)とかなりの高齢層に行われていること、136 例中 101 例が病期進行例であったことを考慮すると極めて良好な成績と考える。病期別に見ると化学療法に感受性を持つ症例 35 例では全生存率 54.3%と他の移植成績と比べても遜色ない成績であった。

この研究で問題となった事は移植後早期の合併症による死亡であった。内訳は、原病再発 9 例、敗血症 18 例、肺炎 6 例、真菌感染症 3 例、他に中枢神経合併症、結核、ウイルス感染症、GVHD などが見られた。cyclosporine と tacrolimus による GVHD 予防の変更により有意に移植関連合併症の減少が見られた(図 2)。

D. 考察

1 例を除き HLA ミスマッチの非血縁者間臍帯血移植で cyclosporine 単剤、もしくは tacrolimus 単剤による GVHD 予防で評価できる成績が得られた。移植後早期の合

併症は今後の課題として残されたが、tacrolimus による GVHD 予防で有意に死亡率の低下が見られた。今後の治療成績の向上が期待される。

移植前処置を軽減し、同種免疫反応で造血器悪性腫瘍の治療を目指すミニ移植の登場は、従来は移植を行うことができなかった高齢者にも同種移植の適応を拡大した。白血病は 50 歳を超えると急速にその発症頻度が増加するが、化学療法による治療には限界があり、この世代の予後は極めて不良であった。ミニ移植の開発は増加する高齢者世代にとって大きな希望となる可能性がある。しかし、血縁ドナーや適切な非血縁者ドナーが存在する確率は低い。臍帯血の場合、成人の移植適応患者の 90-95%に移植を行うことが可能であり、圧倒的多数の症例に同種移植医療を提供できる可能性がある。このため、臍帯血を用いたミニ移植の安全性と有効性の根拠を示すことは、国策医療上も重要な課題となる。

E. 結論

高齢者や臓器障害を有する患者に対し、臍帯ミニ移植の有効性と安全性が示唆された。今後のさらなる検討が必要である。

F. 健康危険情報

該当なし

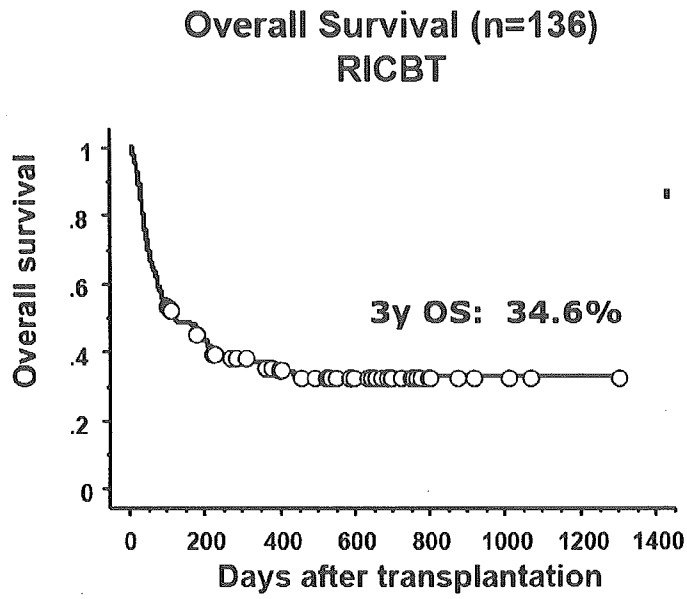
G. 研究発表

◆論文発表

1. Kusumi E, Kami M, Kanda Y, Murashige N, Kishi Y, Suzuki R, Takeuchi K, Tanimoto TE, Mori T, Muta K, Tamaki T, Tanaka Y, Ogawa H, Yamane T, Taniguchi S, Takaue Y. Reduced-intensity hematopoietic stem-cell transplantation for malignant

- lymphoma: a retrospective survey of 112 adult patients in Japan. Bone Marrow Transplant 36: 205-13, 2005
2. Yuji K, Miyakoshi S, Kato D, Miura Y, Myojo T, Murashige N, Kishi Y, Kobayashi K, Kusumi E, Narimatsu H, Hamaki T, Matsumura T, Kami M, Fukuda T, Masuo S, Masuoka K, Wake A, Ueyama J, Yoneyama A, Miyamoto K, Nagoshi H, Matsuzaki M, Morinaga S, Muto Y, Takeue Y, Taniguchi S. Reduced-intensity unrelated cord blood transplantation for patients with advanced malignant lymphoma. Biol Blood Marrow Transplant 11:314-318, 2005
 3. 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 35:549-556, 2005
 4. Narimatsu H, Matsumura T, Kami M, Miyakoshi S, Kusumi E, Takagi S, Miura Y, Kato D, Inokuchi C, Myojo T, Kishi Y, Murashige N, Yuji K, Masuoka K, Yoneyama A, Wake A, Morinaga S, Kanda Y, Taniguchi S. Bloodstream infection after umbilical cord blood transplantation using reduced-intensity stem cell transplantation for adult patients. Biol Blood Marrow Transplant 11:429-36, 2005
 5. Kishi Y, Kami M, Miyakoshi S, Kanda Y, Murashige N, Teshima T, Kusumi E, Hara S, Matsumura T, Yuji K, Masuoka K, Wake A, Morinaga S, Kanemaru M, Hayashi T, Tanaka Y, Taniguchi S; Tokyo Stem Cell Transplant Consortium. Early immune reaction after reduced-intensity cord-blood transplantation for adult patients. Transplantation 15: 34-40, 2005
- H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得
なし
 2. 実用新案登録
なし
 3. その他
なし

☒ 1



☒ 2

Cumulative incidences of TRM within day100

