

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患克服研究事業

SLE など難治性自己免疫疾患に対する
自家、同種造血幹細胞移植の安全性及び
有効性の検討に関する研究
(H15- 難治 -02)

平成 15 年度～平成 17 年度 総合研究報告書

主任研究者 谷 口 修 一

平成 18 (2006) 年 3 月

目 次

I. 総合研究報告

SLEなど難治性自己免疫疾患に対する自家、同種造血幹細胞移植の
安全性及び有効性の検討に関する研究

谷口 修一

II. 添付資料1

III. 添付資料2

I. 総合研究報告

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業

総合研究報告書

『SLEなど難治性自己免疫疾患に対する 自家、同種造血幹細胞移植の安全性及び有効性の検討に関する研究』

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

- a) 自己末梢血幹細胞移植 SLEなどの難治性自己免疫疾患に対する自家造血幹細胞移植術の有効性と安全性を検証した。移植の実施は分担研究者である九州大学第1内科および北海道大学第2内科において行った。自己末梢血幹細胞採取は、Cyclophosphamide (CY) 2g/m² x 2日間 + Granulocyte-Colony Stimulating Factor (G-CSF)で行い、CD34陽性細胞純化はCliniMACSを使用し、移植前処置はCY 50mg/kg 4日間とした。対象は全身性硬化症17例、皮膚筋炎1例、ウェゲナー肉芽腫症1例の計19例で、治療関連死は認めず、合併症としてウイルス感染症を高頻度に認めたが、いずれも抗ウイルス薬によりコントロール可能であった。有効性に関しては、全身性硬化症における皮膚硬化や間質性肺炎の改善、皮膚筋炎における間質性肺炎の改善、ウェゲナー肉芽腫症における肉芽腫の改善が認められた。難治性自己免疫疾患に対する自己末梢血CD34陽性細胞移植の安全性と有効性が明らかになった。
- b) 同種造血幹細胞移植 自己免疫疾患の完全治癒を目指すには、自己移植よりも同種移植が有効と考えられるが、その移植関連死亡率は5-20%と高く許容できない。その強い毒性は主に移植片拒絶や移植片宿主病などレシピエントおよびドナーのTリンパ球に起因する。よって、まず同種移植の安全性を高める目的にてこれらのリンパ球を強力に抑制するAlemtuzumabを移植前処置に用いて、自己免疫疾患の一つで、同種移植の標準的対象疾患である再生不良性貧血に対する同種移植療法を開発した。ただしAlemtuzumabは欧米では広く移植領域で使用されているが、国内では未承認薬であり、加えて対象症例は限定され、併用薬も多種類にわたることから企業治験は困難と判断し、医師主導多施設共同臨床開発治験を計画した。平成16年度は、計画立案から2回の医薬品機構相談を終え、医師主導臨床治験の体制の整備(治験参加施設及び治験をサポートする第3者機関)を行い、治験届け提出後、平成16年12月より症例登録を開始した。平成17年1月24日に1例目の症例登録が行われ、以後順調に最初の3例のコホルトが終了し、全例でday 60での生着生存、grade II以上のGVHDは発症せず、第2段階のalemtuzumabの1日投与量を0.16mg/kgに減量した臨床試験に入っている。

A. 研究目的

SLEなどの難治性自己免疫疾患に対しては、一般に、Steroid、cyclophosphamide (CY)、methotrexate 等に加えて、近年、モノクローナル抗体など新規薬剤を用いた治療法が試みられ、その有効性は数段高まっている、しかし、一部の症例では生命および社会的予後が極めて不良で、依然として画期的治療法の開発が課題として残っている。このような難治例に対して、CY を使用して自己造血幹細胞を採取し、CD34 陽性細胞純化により自己反応性Tリンパ球を除去し、大量CY投与後自己移植を行うCD34 純化自己末梢幹細胞移植術の高い有効性が

欧米の施設から報告されている。本邦では、保険適応がないこと、一定の割合での移植関連死亡が予想されること、等からこれらの疾患に対する臨床研究は散発的であった。当研究班において、対象疾患および病態に対して統一したプロトコールで臨床研究を行うことが必要であった。

また、本来難治性自己免疫疾患では背景に免疫系の異常が存在するため理論的には同種移植が治癒を目指すにはふさわしいと考えられるが、その移植関連死亡率は5-20%と許容できる範囲にない。その高い毒性は主に移植片拒絶や移植片宿主病などレシピエントおよびド

ナーの Tリンパ球に起因する。よって同種移植の安全性を高める目的にてこれらのリンパ球を強力に抑制する抗 CD52 抗体(Alemtuzumab)を移植前処置に用いた移植療法を開発することを研究の目的とした。ただし Alemtuzumab は欧米では広く同種移植領域で使用されているが国内では未承認薬であり、加えて対象症例は限定され、同種移植領域においては併用薬も多種類にわたり、重篤な有害事象も多発することなどから企業治験は困難であり、医師主導の多施設共同の臨床治験を行った。また対象とした再生不良性貧血の同種移植では国際標準として抗胸腺細胞抗体(ATG)が使用されるが本邦では保険適応がない。Alemtuzumab は ATG に匹敵する臨床効果を持っており、この臨床治験により国内での使用が可能となることは意義深い。

B. 研究方法

対象疾患は、全身性強皮症(SSc)、皮膚筋炎(ADM)、ウエゲナー肉芽腫症で、基本的に従来の治療に抵抗性で、具体的には疾患ごとに適格基準と共に除外基準を設けた。末梢血幹細胞の動員には CY 4g/m² の投与に引き続き、G-CSF を投与しアフエレーシスによって末梢血幹細胞を採取した。採取した末梢血単核球は自己反応性のリンパ球を除去する目的にて CliniMACS による自動分離システムで CD34 陽性細胞(造血幹細胞分画)を純化した。平成 17 年度に実施した SSC の 3 症例では CD34 純化を行っていない。移植前処置は、CY 50mg/kg x 4 日間とした。皮膚所見については modified Rodnan total thickness skin score (mRodnan TSS)、間質性肺炎は PaO₂、A-aDO₂、%VC、DLCO および KL-6、SSC 症例については移植前後で TNF- α 、TGF- β 、IL-6 および Th1/Th2 バランスの変化を検討した(添付資料 1 参照)。

Alemtuzumab の医師主導型臨床治験では、自己免疫学的機序がその発症に寄与しており、既に同種移植の標準的な対象疾患となっている再生不良性貧血を対象として、前処置に Alemtuzumab を併用した同種移植を行った。対象症例は免疫抑制療法をおこなったが輸血依存性が改善しない、やや重症、重症または最重症再生不良性貧血の症例とし、ドナーは HLA 一致もしくは一座不一致血縁者および HLA 一致非血縁者とした。移植前

治療は Alemtuzumab 0.16-0.25mg/kg を day-10~day-5 の 6 日間、Fludarabine 30mg/m² を day-6~day-3 の 4 日間、CY 25mg/kg を day-6~day-3 の 4 日間とした。Alemtuzumab の推奨用量の決定は連続再評価法(CRM)で行うが、CRM 開始用量はコホート法で設定する。主要評価項目は、移植後 60 日以内に生着し、かつ grade II 以上の GVHD が発症していない症例の比率とした。再生不良性貧血の前処置は、従来 CY の大量療法に、全身放射線照射や全身リンパ腺照射が行われてきたが、長期の輸血による 2 次性ヘモクロマトーシスによる臓器障害に対する大量 CY 療法の毒性、放射線照射による 2 次癌の発生が問題となっており、最近ではより毒性が少なく免疫抑制効果も強いと思われる ATG と Fludarabine、少量 CY 療法が主体となっているが、本邦では ATG、Fludarabine も使用できない状況にある。Alemtuzumab は ATG がポリクローナル抗体であるがゆえにロット間の差が問題となること、T リンパ球のみに作用し、移植後のリンパ増殖性疾患の発生が問題となることに比べ、CD52 に対するモノクローナル抗体でロット間格差がないこと、CD52 を発現する B リンパ球にも作用するためリンパ増殖性疾患の発症が少ないことも指摘されており、当研究班では ATG ではなく alemtuzumab の治験を行うこととした(添付資料 2)。

(倫理面への配慮)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、自己移植および同種移植とも、各施設の倫理審査委員会の承認を受けて実施する。得に alemtuzumab の医師主導型臨床治験においてはその手順書も施設倫理委員会の承認を得る必要がある。

C. 研究結果

SSc17 例、ADM1 例、ウエゲナー肉芽腫症 1 例に対し自己末梢血幹細胞移植を施行した。すべての症例で目標とした CD34 陽性細胞数が採取可能で、移植後の血球回復も速やかであった。原疾患に対する効果では、mRodnan TSS で 1 例を除き、25%以上の改善を示した。間質性肺炎について、9 例中 6 例で動脈血酸素分圧の

上昇を認めた。合併症としては 9 例でサイトメガロウイルス抗原血症、2 例でアデノウイルス膀胱炎、4 例で帯状疱疹、各々 1 例で血球貪食症候群、capillary leak syndrome を認めたが、いずれも軽快・改善した。CD34 陽性細胞純化を行わなかった 3 例については観察期間が短く有効性の評価は行っていないが、純化群でサイトメガロウイルス抗原血症が全例で陽性になったのに比べ 1 例も陽転していない。抗核抗体、抗 Scl-70 抗体陽性例は移植後有意に低下した。血清 TNF- α 、TGF- β 、IL-6 は移植前高値を示し移植後低下する傾向を示した。Th1/Th2 バランスは移植後有意に Th1 へ偏位した。ADM の症例は、54 歳女性で急速進行性の間質性肺炎の合併があり、自己移植を実施した。移植後、間質性肺炎の改善に伴い動脈血酸素分圧が 66 から 93mmHg へ上昇、間質性肺炎のマーカーである KL-6 は 3769 から 940U/ml へと低下した。合併症としてはリステリア敗血症、サイトメガロウイルス抗原血症を認めた。ウェゲナー肉芽腫症の症例は、21 歳男性で原病に伴う左眼窩内腫瘍による眼球突出が難治性のため、移植を実施した。移植後眼球突出の改善を認め、感染症の合併もなかったが、19 ヶ月後に左眼窩内腫瘍の再増大傾向を認めた。以上 19 例において治療関連死を認めなかった。

Alemtuzumab の医師主導型臨床試験については、2 回の医薬品機構相談により、試験デザインの再検討を行った。平成 16 年 11 月 5 日試験届けを提出、12 月 4 日症例登録を開始した。平成 17 年 1 月 24 日に 1 例目の症例登録が行われ、以後順調に最初の 3 例のコホルトが終了し、全例で day 60 での生着生存、grade II 以上の GVHD は発症せず、第 2 段階の alemtuzumab の 1 日投与量を 0.16mg/kg に減量した臨床試験に入っている。

D. 考察

本邦においても難治性自己免疫疾患に対する CD34 純化自己末梢血幹細胞移植の有効性が示された。また CD34 非純化移植も平成 17 年度に行われた。CD34 純化の必要性の是非は以前から指摘されており、この治療法の一般化のために CD34 純化例と非純化例の臨床的な比較が必要である。

本邦において、現時点では移植関連死亡例は出てい

ないが、移植後のサイトメガロウイルスやアデノウイルス感染症は決して軽微な副作用とは言えない。欧米からの報告でも、感染症及び心合併症による移植関連死亡率は 10%前後と報告している。現段階では、本邦の移植例は全体でも 20 例に満たず、今後十分検討していく必要がある。

SSc に合併する間質性肺炎は SSc 患者の生命予後や QOL と密接に関連しているため、自己移植の有効性が示唆されたことは意義深い。今後、自己免疫疾患全体での疾患、病態に基づいた自己移植の評価を行う必要がある。

同種造血幹細胞移植領域ではミニ移植の導入など移植関連毒性はかなり軽減されてきたが、移植後の同種免疫反応による毒性は以前から無視できない大きな問題である。特にこの自己免疫疾患領域においては移植後の同種免疫反応は不要であるため、Alemtuzumab のようなドナーおよびレシピエント双方の T リンパ球に作用して毒性を軽減する薬剤の導入が必要である。また Alemtuzumab は樹状細胞にも作用し、抗原提示細胞もブロックし、また B リンパ球に作用することにより移植後の B 細胞リンパ腫の発症も抑制することが知られている。当薬剤は国内未承認薬であるが、対象となる患者が極めて限られ、多剤併用治療が前提の先端医療分野であることで企業試験は困難と判断し、この薬剤の国内移植医療領域に導入することを目的として、当研究班にて医師主導型臨床試験を計画した。既に 2 度の医薬品機構相談、試験届け提出を終え、症例登録も開始され、現在 1 例が登録されており、極めて順調な経過といえる。またこの医師主導型臨床試験を通して、新 GCP(good clinical practice)に則った適応申請に耐えうる信頼性の高いデータを得るために、日本臨床研究支援ユニット(症例登録、データマネージメント、監査、試験関連文書準備)、日本医薬品安全性研究ユニット(当局報告用の有害事象報告書案の作成)、ナイフィクス(モニタリング、試験関連文書準備)、スタットコム(株)(統計解析)などの共同研究チームと共に試験実施体制を確立した。このような臨床試験実施体制の確立は医師主導型臨床試験だけでなく信頼度の高い臨床試験においてその成績を評価する上で必要不可欠であり、今回試験参加 6 施設と共に多施設共同臨床試験のモデルとなりうる。

E. 結論

自己免疫疾患に対する自己移植の有効性と安全性を検証した。またこの領域により安全な同種移植法を導入するために、必要不可欠な薬剤である Alemtuzumab の医師主導型臨床治験を計画し、既に症例登録を開始し、第一段階の3例のコホルトも終了し順調に経過している。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

総括報告書、分担報告書に準ずる。

II. 添付資料 1

難治性自己免疫疾患に対する超大量免疫抑制療法と
自己末梢血純化 CD34 陽性細胞移植プロトコール

九州大学附属病院第一内科

2001年8月1日作成

目次

| | |
|-----------------|----|
| 1. 概要 | 7 |
| 2. 背景 | 7 |
| 3. 目的 | 8 |
| 4. 適格条件 | 8 |
| 5. 除外条件 | 10 |
| 6. 説明と同意 | 10 |
| 7. 末梢血幹細胞の動員と採取 | 10 |
| 8. 移植前治療 | 12 |
| 9. 造血幹細胞移植 | 12 |
| 10. 支持療法 | 13 |
| 11. 観察、検査項目 | 13 |
| 12. 予測される有害事象 | 14 |
| 13. 評価 | 16 |
| 参考資料: 説明書、同意書 | |
| 疾患活動性評価用資料 | |
| 病棟用スケジュール | |

1.概要

(1) 目的

シクロフォスファミドを用いた超大量免疫抑制療法と自己末梢血純化 CD34 陽性細胞移植の難治性自己免疫疾患に対する有効性と安全性につき検討する。

(2) 適格条件

a)全身性エリテマトーデス(SLE)

難治性のループス腎炎、CNS ループス、または/および血小板減少

b)全身性硬化症(SSc)

進行性の皮膚硬化、または/および間質性肺炎

c)慢性関節リウマチ(RA)

治療抵抗性で6カ所以上の関節腫脹

d)皮膚筋炎(DM)

進行性の間質性肺炎

e)その他の膠原病

血管炎症候群、ベーチェット病等

(3)治療計画

a)末梢血幹細胞の動員と採取

Day1、2 に CY 2g/m² を div 後、Day6 より G-CSF(filgrastim) 50 μg/m²/day の皮下投与を開始し、採取最終日まで投与を継続する。造血回復期に白血球が 5000/μL 以上、血小板数 5 万/μL 以上に回復した時点で1〜3日間採取を行う。採取した末梢血幹細胞は CliniMACS を用いて CD34 陽性細胞に純化するが、2×10⁶/kg 以上の純化 CD34 陽性細胞の回収を目標とし、使用日まで凍結保存しておく。

b)移植前治療

| | day | -7 | -6 | -5 | -4 | -3 | -2 | -1 | 0 |
|-------|---------|----|----|----|----|----|----|----|---|
| CY | 50mg/kg | ↓ | ↓ | ↓ | ↓ | | | | |
| ATG | 30mg/kg | | | ↓ | ↓ | | | | |
| PBSCT | | | | | | | | | ↓ |

(4)観察、検査項目

合併症の有無、治療効果判定のための検査を定期的に行う

2.背景

膠原病をはじめとする自己免疫疾患の生命予後は、悪性腫瘍等に比較すると良好であるが、多くの症例で恒久的な機能障害や臓器障害が進行し生活のレベルに重大な障害をもたらす。また、一部の症例では通常の治療に抵抗して急激に臓器障害が進行し死の転帰をとる。自己免疫

疾患はその発症に自己免疫機序が関与しており、自己抗体や自己反応性 T リンパ球によって多臓器に障害がもたらされる。このような患者の自己反応性リンパ球を根絶する目的で、骨髄破壊的な超大量化学療法を移植前治療として実施する。その結果、極めて強力な免疫抑制効果が得られるものの、骨髄不全状態も生じるので、その造血再構築(骨髄レスキュー)に自己末梢血幹細胞移植を行う。この際、造血幹/前駆細胞のマーカーである CD34 陽性細胞を純化することにより、自己反応性リンパ球を高率に除去可能である。この純化 CD34 陽性細胞の移植による、免疫学的再構築は免疫系の正常化を目指したりセット療法として期待されている。海外ではヨーロッパを中心に既に自己免疫疾患数百例に対する造血幹細胞移植が施行されている。ヨーロッパ骨髄移植グループは自己免疫疾患 310 例に対し造血幹細胞移植を施行し、内訳は同種造血幹細胞移植が 5 例、自己造血幹細胞移植が 305 例であった。疾患別では多発性硬化症が 95 例と最も多く、全身性硬化症 66 例、慢性関節リウマチ 41 例、若年性関節リウマチ 35 例、SLE23 例と続いていた。症状改善は疾患により異なるが 30-90%であった。我が国では、まだ数例に施行されているのみであり、今後本法の有用性及び安全性に関する症例の蓄積が望まれる。

3. 目的

シクロフォスファミドを用いた超大量免疫抑制療法と自己末梢血純化 CD34 陽性細胞移植の難治性自己免疫疾患に対する有効性と安全性につき検討する。

4. 適格条件

移植の適応は、難治性膠原病によって生命が脅かされる状態、あるいはその疾患自体はコントロール可能であっても後遺症により生活の質が著しく低下する場合とする。年齢 16 歳以上 60 歳未満を対象とする。

(1)全身性エリテマトーデス(SLE)

アメリカリウマチ協会による SLE の分類基準(1982 年改訂、1997 年小改訂)をみだし、下記のいずれかに当てはまるもの。

a)腎生検にてループス腎炎 WHO 分類 III もしくは IV 型であることが証明され、プレドニソン 1mg/kg 日以上の治療を 4 週間以上に加えてシクロフォスファミド大量静注療法 (500~1000mg/回/月を 6 ヶ月以上)を施行しても尿蛋白 3.0g/日以上が持続、あるいは血清クレアチニン値が正常化しない場合。

b)中枢神経ループス、SLE の直接の症状として高度の血小板減少症(20,000/ μ l)が確認され、プレドニソン 1mg/kg 日以上の治療を 4 週間以上に加えてシクロフォスファミド大量静注療法 (500

～1000mg/回/月を6ヶ月以上)または他の免疫抑制剤(アザチオプリン、シクロスポリンなど)を併用しても6ヶ月以上症状が遷延する場合。

c)SLEのその他の症状に対し、従来確立されている治療法では、生命を脅かす状態あるいは高度の生活障害をきたす後遺症を残す可能性があると考えられる場合。

(2)全身性硬化症(SSc)

びまん性全身性硬化症で、原則として発症3年以内であり、次のいずれかの症状を呈する場合とする。

a)全身の皮膚効果が急速に進行し、更なる皮膚硬化の進行と予後不良が予測される場合。

b)胸部X線検査または胸部CTにより進行性の間質性肺炎と診断され、呼吸機能検査にて努力肺活量(FVC)が80%未満または一酸化炭素拡散能(DLCO)が70%未満である場合。

c)他の原因によらず、不整脈、心肥大を呈する場合。

d)末梢循環不全により皮膚潰瘍を繰り返す場合。

(3)慢性関節リウマチ(RA)

リウマチ因子陽性の慢性関節リウマチで次の全ての項目を満たすもの。

a)通常のDMARD(金製剤、ブシラミン、メトトレキサート等)二種類以上に対して治療抵抗性である事。

b)6カ所以上の関節に腫脹を認めかつ30カ所以上の関節がおかされている(腫脹、疼痛、変形、可動性の減少)場合。

c)CRPが2mg/dl以上であること

(4)皮膚筋炎(DM)

筋症状に乏しい皮膚筋炎で次の症状を有するもの。

a)胸部X線検査または胸部CTにより進行性の間質性肺炎と診断され、呼吸機能検査にて努力肺活量(FVC)が80%未満または一酸化炭素拡散能(DLCO)が70%未満で、副腎皮質ステロイド、シクロスポリン、シクロフォスファミドが無効の場合。

(5)その他のリウマチ性疾患

その他のリウマチ性疾患(血管炎症候群、ベーチェット病など)において、従来確立されている治療法を6ヶ月以上施行しても生命を脅かす状態あるいは高度の生活障害を来す後遺症を残す可能性があると考えられる場合とする。

5. 除外基準

以下のいずれかの重症の臓器合併症が既に存在する場合。

- a)心：コントロール不能な不整脈が存在する場合。
コントロール不能な重症心不全が存在する場合。
エコー検査において左室拍出分画が 50%未満
- b)肺：一酸化炭素拡散能(DLCO)が 45%未満である場合
- c)腎：腎糸球体濾過値が 40ml/分未満の場合
血清クレアチニン値が 2mg/dl 以上の場合
- d)悪性新生物の合併がある場合
- e)コントロール不能な感染症を有する場合
- f)過去のシクロフォスファミドの使用量が総計 5g 以上となる場合

6. 説明と同意

適格例に対して別紙の説明文書に従って説明を行い文書による同意を得る。

- 1)説明内容は以下の事項を含むものとする。
 - a) 難治性自己免疫疾患であって、その症状の緩和もしくは治癒のために超大量免疫抑制療法と自己造血幹細胞移植が有効と考えられること。
 - b)造血幹細胞移植にさいして、自己反応性リンパ球を除去するために CD34 陽性細胞を純化し、これを用いて移植を行うこと。
 - c)十分な造血幹細胞を得るために、造血因子(G-CSF)の投与が必要であり、これにより、発熱、骨痛、その他の副作用が出現する可能性のあること。
 - d)移植後一時的に日和見感染症の頻度が高くなること。
 - e)不妊となる可能性があること。
 - f)移植後の癌発生率が高くなる可能性があること。
 - g)同意の任意性と撤回の自由。
- 2)同意は必ず文書で取得する。同意書は別紙の形式を使用する。同意書は同一の内容で二部作成し、各々に署名捺印して一部は患者に、一部はカルテにおいて保管する。

7. 末梢血幹細胞の動員と採取

CY 大量療法+G-CSF による PBSC 採取を行う。

CY 2g/m², div on day1~2

(1) CY はソリタ T3 500mL に溶解後、3 時間かけて中心静脈より点滴静注する。CY は電解質液

には溶解しにくいので、温めた蒸留水に混和して溶かすとよい。出血性膀胱炎予防のため十分な補液(3000mL/day以上)を行い、6時間毎に尿量、尿pH、尿潜血の監視を行う。CY投与開始から終了24時間は、尿量800mL/6hr以上、pH7.5以上を確保する。下回った時は、それぞれLasix 1A, Meylon 1Aを投与する。体重が増加傾向の場合は反応尿をチェックし、Lasixの追加、輸液量の補正を行う。Mesnaは1回1200mgを1日3回、CY投与前、投与開始後4hr, 8hrにone shotで静注する。

(2) CYは約3~5%の頻度で心筋障害を合併し致死的となることがあるので、息切れ、浮腫、呼吸困難等の心不全徴候には十分注意する。

(3) Day6よりG-CSF(filgrastim) 50 μ g/m²/dayの皮下投与を開始し、採取最終日まで投与を継続する。発熱、感染症等を合併した場合はこの限りではなく、抗生剤等の十分な対処療法を行う。

(4) 通常造血回復期に白血球が5000/ μ L以上、血小板数5万/ μ L以上に回復した時点で1~3日間採取を行う。CD34陽性細胞が末梢血中に動員される前に、末梢血中の単球の増加や、幼若な網状赤血球の増加が認められることが多い。また、末梢血中のCD34陽性細胞数(比率)が採取されるCD34陽性細胞数と高い正の相関を示すため、骨髄が抑制された段階より輸血部に随時末梢血検査データを報告し、採取時期を相談する。

(5) 輸血部で持続式血液成分分離装置により単核球層を採取する。脱血用と返血用の血管確保をおこなうが、脱血には50~80mL/minの流量が可能であるような太い血管が理想的であり、肘窩、大腿、鎖骨下静脈が一般的である。通常処理血液量は150~200mL/kgで所要時間は2~4時間である。

(6) 採取の副作用：

a) 低カルシウム血症；抗凝固剤のACD液(カルシウムキレート剤)が返血ラインより体内に入るため患者は低カルシウム血症の症状である手足、唇のしびれ、嘔気を自覚する。カルチコールの投与で対処する。採取する患者の80~90%に認められるが、対処しておけば採取後まで問題となることはない。

b) 血管迷走神経反射；採取中に血圧低下、顔面蒼白、冷汗及び吐気を訴えることがある。

(7) 自己反応性リンパ球を除去する目的でCD34陽性細胞の純化を行う。純化にはCliniMACSを用いる。通常回収率50%程度、90%以上の純度のCD34陽性細胞がえられる。純化CD34陽性細胞は 2×10^6 /kg以上を目標とする。採取は1コースにつき1~3回施行するが、回収したCD34陽性細胞数のカウントを行い、必要回数を決定する。目標数がえられない場合は、本治療を再度繰り返す。

(8) 凍結保存：採取分離したCD34陽性細胞は凍害保護液(CP-1など)を用いて使用日まで-80℃で凍結保存する。

8. 移植前治療

| | day | -7 | -6 | -5 | -4 | -3 | -2 | -1 | 0 |
|-------|---------|----|----|----|----|----|----|----|---|
| CY | 50mg/kg | ↓ | ↓ | ↓ | ↓ | | | | |
| ATG | 30mg/kg | | | ↓ | ↓ | | | | |
| PBSCT | | | | | | | | | ↓ |

(1) Day-8 に Double lumen の 16G 中心静脈カテーテルを右鎖骨下静脈より挿入する。粘膜障害、感染症予防等のため、同日より内服、含嗽、吸入を開始する。

(2) CY はソリタ T3 500mL に溶解し、3 時間かけて点滴静注する。出血性膀胱炎予防のため十分な補液(3000mL/day)を行い、6 時間毎に尿量、尿 pH、尿潜血の監視を行う。CY 投与開始から終了 24 時間は、尿量 800mL/6hr 以上、pH>7.5 を確保する。下回った時は、それぞれ Lasix 1A, Meylon1A を投与する。体重が増加傾向の場合は反応尿をチェックし、Lasix の追加、輸液量の補正を行う。Mesna は 1 回 1200mg を 1 日 3 回、CY 投与前、投与開始後 4hr, 8hr に one shot で静注する。

(3) ATG(Lymphoglobulin)は 5%ブドウ糖液 500mL に溶解し、24 時間持続点滴静注をする。本剤は異種蛋白であり一度目の治療しか使用できないため、患者の過去の本剤又は馬血清製剤の使用歴を確認する。ショック等重篤な副作用を起こすことがあるので、投与中(特に投与開始時)は医師が経過を十分観察する。ショック症状発現時は直ちに中止し、処置を行う。また初回投与時に発熱、悪寒、頭痛等のインフルエンザ様症状が頻発する。解熱剤及び抗ヒスタミン薬等を併用する。また血小板数が減少することがあるため出血傾向には十分注意しておく。

(4) ATG に対するアナフィラキシー等予防のためステロイド剤を投与する。Day-5 と -4 は ATG 投与 30 分前より mPSL 125mg を生食 100mL に溶解し、30 分で点滴静注をする。Day-3 以降もステロイド剤を tapering しながら投与する。Day-3, -2; PSL 80mg, Day-1, 0; PSL 40mg, Day+1,+2; PSL 20mg と減量していき、移植開始前のステロイド維持量を継続する。

9. 造血幹細胞移植

(1) 凍結保存しておいた PBSC を 37°C の恒温層内で急速に解凍し、洗浄することなく直ちに中心静脈ラインより輸注する。温度が上昇すると保存液中の DMSO が細胞毒性をもつため、可能な限り速やかに点滴静注する。

(2) 輸注量が大量(>1000mL)になる場合には、分割輸注を考慮する。心機能が低下している場合はモニター監視下に行う。

(3) PBSC 輸注時の副作用(発熱、嘔吐、呼吸困難感、咳等)を軽減するため、輸注直前に前投薬(PSL 40mg+生食 20ml, Polaramin 5mg 静注)を行う。

(4) PBSCT 施行翌日より G-CSF の投与を開始し、白血球数が 10000/ μ L(好中球数が 5000/ μ L)以上となった時点で、症状を観察しながら減量及び投与の中止を検討する。

10. 支持療法

- (1) 遷延する好中球減少症のため、感染症に対しては十分量の抗生物質(通常、広域スペクトラムの抗生剤を2剤併用し、投与量はそれぞれ重症量)を使用する。抗生物質が無効の場合は、抗真菌剤の全身投与を早期より開始する。
- (2) 高度の血小板減少症(血小板数 2 万/ μ L)に伴う出血傾向に対しては、照射血小板を輸血する。輸血に際し、CMV 感染症や GVHD を予防するため白血球除去フィルターを使用する。またヘモグロビン濃度 ≥ 8.0 g/dL を維持するよう、適宜照射赤血球を輸血する。
- (3) 発熱はほぼ必発である。あらかじめ監視培養を頻回に行い、38℃以上の発熱時は血液培養を施行し強力な抗生物質および抗真菌剤の投与を行う。
- (4) 下痢は高度に合併する。感染症を除外するため培養、CD トキシンの検査を行う。
- (5) 造血回復期(day10~20)に発熱とともに capillary leak syndrome や hemophagocytic syndrome の症候を認めることがある。Documented infection の合併のないことを確認後、速やかにステロイド(mPSL 125mg/day \times 3days のち tapering)などを投与する。なお、抗生物質の併用も行っておく。
- (6) 化学療法による嘔吐、消化管粘膜障害等により経口摂取が困難となった場合には、IVH による高カロリー輸液を開始する。内服薬は点滴で投与できるものは随時変更する。

11. 観察、検査項目

通常臨床的に必要とされている項目については、定期的・必要に応じて観察および検査を実行する。それ以外の項目については各時期に検査を実施。

なお、入院時、-1 日目、14 日目、28 日目にそれぞれ血清採血 1 本、ヘパリン採血 2 本を行う。

(1)治療前検査

Performance status、一般全身状態、理学所見、合併症・感染症の有無

血液型

末梢血検査：白血球数、赤血球数、Hb、Ht、網状赤血球、血小板数、血液像

血液生化学検査：TP、Alb、AST、ALT、LDH、ALP、 γ -GTP、TB、DB、CK、Amy、

TC、TG、Glu、BUN、Cr、UA、Na、K、Cl、Ca、Fe、Ferritin、UIBC、

KL-6、SP-D

赤沈、蛋白分画

血液凝固検査：APTT、PT、FDP、FIB、AT-III

血清免疫検査：CRP、IgG、IgA、IgM、CH50、C3、C4、RF、自己抗体(ANA、抗 ds-DNA 抗体、抗 Sm 抗体、抗 cardiolipin 抗体、抗 ribosomal P0 抗体、抗 Scl-70 抗体、

抗 centromere 抗体等)、各種ウイルス検査 (HBs 抗原、抗 HBc 抗体、抗 HCV 抗体、抗 HTLV-1 抗体、CMV IgM,IgG 等)

尿検査：検尿、尿沈渣、尿生化学 (尿蛋白、Ccr 等)

リンパ球表面抗原 (CD2、CD4、CD8、CD20) Th1/Th2 バランス

胸部単純 X 線検査、胸部 HRCT、Ga シンチ、腹部エコー、頭部 MRI 等(必要に応じて)

心機能検査：心電図、心エコー

肺機能検査：動脈血液ガス分析、spirogram、%VC、DLCO 等

(2)治療中、治療後モニターすべき観察項目と検査項目

一般全身状態、理学所見、合併症・感染症の有無

末梢血検査・血液生化学検査：治療中、好中球回復までは連日～隔日。

血液凝固検査、尿検査、胸部単純 X 線検査、心機能、感染症関連 (各種培養、 β D-glucan や C7-HRP などの感染症マーカー)：1 回/週～必要に応じて

リンパ球表面抗原、免疫グロブリン定量：14 日、21 日、28 日目

(3)治療効果判定のための検査

抗核抗体：術後 1 ヶ月は 1 回/1 週、2～3 ヶ月目は 1 回/2 週、以降 1 回/1 月

a)全身性エリテマトーデス(SLE)

尿蛋白、Ccr、Cr などの腎機能：1 回/1 週程度。可能であれば術後 2 ヶ月目に腎生検

CNS lupus の指標として頭部 MRI

SLEDAI

b)全身性硬化症(SSc)

ロドナンスキンスコア変法、日常生活質問票、症状質問票(別紙参照)：術後 1 ヶ月は 1 回/1 週、2～3 ヶ月目は 1 回/2 週、以降 1 回/1 月

DLCO、%VC 等の肺機能：1 回/1 月程度

c)慢性関節リウマチ(RA)

ACR コアセット(別紙参照)：術後 1 ヶ月は 1 回/1 週、2～3 ヶ月目は 1 回/2 週、以降 1 回/1 月

12.予測される有害事象

治療に使用する大量の免疫抑制剤による臓器障害や、骨髄不全や免疫不全状態による感染症などの危険が考えられる。

(1)シクロフォスファミド(CY)

アルキル化剤であり、免疫抑制剤、また、種々の悪性腫瘍においても key drug として使用される。主な有害事象は骨髄抑制であり、通常、投与後 10-12 日頃に出現する。嘔気・嘔吐、食欲不振、腹部不快感、下痢、口内炎、可逆性脱毛などが見られる。出血性膀胱炎も頻発するが、これに対しては十分な水分補給と利尿が予防となる。大量使用により、極めて重症の心毒性が出現する可能性がある。

二次発癌、特に膀胱腫瘍、血液悪性腫瘍の発症が報告されており、使用后 5-7 年頃に発症頻度が高い。

(2) 副腎皮質ステロイド

副腎皮質ステロイドの有害事象は多彩な内分泌異常である。体液・電解質異常、水分貯留によるうっ血性心不全から高血圧、多幸感、性格変化、不眠、易感染性、糖尿病の発症、悪心、精神・神経症、筋力低下、骨粗鬆症、椎骨圧迫骨折、大腿骨頭壊死、腓炎、消化性潰瘍など様々の有害事象が出現する可能性がある。ステロイドの消退症状としては、発熱、全身倦怠感、全身筋肉痛、関節痛が出現する事がある。また、単純ヘルペス感染症、消化性潰瘍の既往のある症例では十分な注意が必要である。

(3) ATG(antithymocyte globulin)

本剤は馬血清剤であり、時に非常に重篤なアレルギー反応を生じる。投与開始後よりショック状態に陥ることもあり慎重な経過観察が必要である。また、血清病を来すことも知られており、投与開始後 1 週間以降より発熱、全身倦怠感、皮疹、消化器症状、消化管出血などを認める。これは免疫複合体の組織へに沈着により生じるもので、血清補体価が低下する。

(4) G-CSF

健常成人男性を対象とした第 I 相試験および同種骨髄移植が適応となるレシピエントに対する血縁ドナーを対象とした第 II 相試験の計 51 例に対して、100、200、300、400 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ を投与し、末梢血幹細胞採取を実施したところ全例において腰痛、頭痛、関節痛、発熱などの副作用が認められた。主な臨床検査値異常変動は LDH 上昇、ALP 上昇、白血球減少・好中球減少、尿酸上昇、血小板減少、CRP 上昇などであった。好中球減少時の患者を対象にすると、679 例中 10.6% の 69 例に骨痛、発熱、腰痛、肝機能異常などの副作用を認めた。主な臨床検査値異常変動は LDH 上昇、ALP 上昇、AST 上昇、ALT 上昇などであった。その他重大な副作用として膠原病の再燃、ショック、間質性肺炎、急性呼吸窮迫症候群、脾破裂などがあり注意を要す。

13. 評価

(1) 全身性エリテマトーデス

| | | |
|-----------|---------------|------|
| 1) SLEDAI | 50%以上の改善 | 著効 |
| | 20%以上の改善 | 有効 |
| | 10%以上の改善 | やや有効 |
| | 10%未満の改善または増悪 | 不変 |
| | 10%以上の増悪 | 悪化 |

| | | |
|-----|------------------|------|
| 尿蛋白 | 3g/日以上 of 減少 | 著効 |
| | 2g 以上 3g 未満/日の減少 | 有効 |
| | 1g 以上 2g 未満/日の減少 | やや有効 |
| | 1g/日未満の減少または増加 | 不変 |
| | 1g/日以上 of 増加 | 悪化 |

(2) 強皮症

スキンスコア、日常生活質問票

| | |
|---------------|------|
| 50%以上の改善 | 著効 |
| 20%以上の改善 | 有効 |
| 10%以上の改善 | やや有効 |
| 10%未満の改善または増悪 | 不変 |
| 10%以上の増悪 | 悪化 |

呼吸機能 (FVC、%DLCO)

| | |
|---------------|----|
| 20%以上の改善 | 著効 |
| 10%以上の改善 | 有効 |
| 10%未満の改善または増悪 | 不変 |
| 10%以上の増悪 | 悪化 |

(3) 慢性関節リウマチ

| | | |
|-----------|---------------|----|
| ACR コアセット | 50%以上の改善 | 著効 |
| | 20%以上の改善 | 有効 |
| | 20%未満の改善または増悪 | 不変 |
| | 20%以上の増悪 | 悪化 |