

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に関する研究

平成 18 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 神田 善伸

平成 19 年 (2007) 3 月

# 目 次

## I. 総括研究報告

アレムツズマブを用いたH L A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 血液・腫瘍内科 神田善伸 ..... 3

## II. 分担研究報告

1. アレムツズマブを用いたH L A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 血液・腫瘍内科 神田善伸 ..... 19

2. H L A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 臓器機能医学部門内科学講座

病態修復内科学分野 原田実根 ..... 24

3. Gemtuzumab ozogamicin 併用移植前処置を用いた難治性 AML に対する  
H L A二座不一致臍帯血移植

金沢大学大学院医学系研究科 細胞移植学 中尾眞二 ..... 28

4. 臓器障害を有する患者のH L A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 ..... 31

5. 多発性骨髄腫の multidrug-resistance (MDR) と予後における

I A Pファミリータンパク遺伝子発現の影響についての検討

日本赤十字社医療センター 血液内科 鈴木憲史 ..... 34

6. 高齢者H L A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 ..... 36

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 ..... 43

IV. 研究成果の刊行物・別刷 ..... 47

# I . 総括研究報告

## 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、本研究班ではアテムツズマブを用いた移植方法の開発を計画した。アテ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、アテ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、アテ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 年度に 3 症例が登録され、いずれも治療の成功基準を満たしたため、アレムツズマブの投与量を減量した第二段階へと進行した。平成 18 年度に第二段階の 3 症例も登録を完了し、現在観察期間となっている。平成 19 年度からは連続再評価法による投与量の調節を行う。

### 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

るが、その最大の合併症は移植片対宿主病 (graft-versus-host disease; 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。GVHD の発症に重要な役割を果たしているのはドナー T 細胞である。そこで、我々はアレムツズマブに着目した。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り、強力なリンパ球抑制効果を示す。アレムツズマブを移植前処置と併用することによって、拒絶と GVHD の両方を予防する効果が期待される。すなわち、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 を予防するのである。

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 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

### 1. 研究目的

同種造血幹細胞移植は難治性の造血器疾患に対する根治的な治療法として確立されてい

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。また、本試験は数多くの薬剤が適応外使用されている造血幹細胞移植領域における初の医師主導治験の試みであり、今後の移植領域の医師主導治験の礎となるべきものである。

分担研究者は本治験に参画し、さらに分担研究として、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応できるかを探索するため、GVHD 発症患者における非再発死亡率に関連する因子の検討(森)、高齢者に対する臍帯血ミニ移植の安全性や前処置の改善の検討(中尾、谷口)を行った。鈴木らは多発性骨髄腫におけるアポトーシス阻害タンパク質や多剤耐性遺伝子の関与に関する研究を行った。

## 2. 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かったために、根治的な同種造血幹細胞移植を行うことができない 20~65 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(2 Gy 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 0.16~0.25 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/m<sup>2</sup> 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(2 Gy 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。また、前処置薬投与後の薬物動態として、アレムツズマブの血清中濃度を検討するとともに、リン酸フルダラビンの血漿中主要代謝物濃度、シクロホスファミド及びブスルファンの各血漿中未変化体濃度を測定し、問題となる薬物相互作用の有無を確認する。

アレムツズマブの投与量は 0.20 mg/kg を開始用量(第 1 コホート)として、GVHD 非発症率の期待値及び期待値が 60%を超える確率が 90%以上となることを基準とした CRM(Continual Reassessment Method、分担研究者の大橋靖雄らが開発した連続再評価法)による検討結果を参考として、3 例ずつのコホート法により、0.16 mg/kg、0.20 mg/kg、あるいは 0.25 mg/kg を投与し、CRM の開始用量を決定する。第 3 コホート以降の CRM においても、GVHD 非発症率の期待値が 60%を超える確率が 90%以上となることを基準と

して用量選択を行い、最も早く必要症例数に達した用量を推奨用量と定め、その結果を主要変数の評価に用いる。

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。森らは同種造血幹細胞移植後にグレード II 以上の急性 GVHD を発症した患者において、移植関連死亡率に影響を与える因子について解析を行った。中尾らは同種造血幹細胞移植後早期に再発した AML 患者に対して、ゲムツズマブ・オゾガミシンを併用した骨髄非破壊的前処置による臍帯血移植を試みた。谷口らは 156 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 HLA 不一致が生着に与える影響について検討した。鈴木らは多発性骨髄腫患者骨髄検体および骨髄腫細胞株におけるアポトーシス阻害タンパク質と多剤耐性遺伝子の発現について検討を行った。

#### (倫理面への配慮)

医師主導治験を含む、全ての臨床試験の実施にあたっては、ヘルシンキ宣言に基づく倫理的原則に従って行い、医師主導治験については、さらに ICH-GCP ガイドラインに基づく「医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令」（改正 GCP）に従って行った。

臨床試験への登録に先立って、担当医は患者ならびにドナーに施設の審査委員会の承認が得られた同意説明文書を説明の前、または説明するときに患者ならびにドナーに渡し、その内容を口頭で詳しく説明した。患者が試験の内容をよく理解したことを確認した上で、試験への参加についての意思を確認した。患者ならびにドナー本人が試験への参加に同意した場合、添付の同意書または施設で定めら

れた書式の同意書を用いて、説明をした医師名、説明を受け同意した患者ならびにドナー名、同意を得た日付を記載し、医師、患者ならびにドナー各々が署名した。未成年のドナーを対象とする場合には、代諾者の自由意思による同意を得た。

医師主導治験においては、患者およびドナーの情報はデータセンターに登録されるが、氏名や住所などの個人情報参加施設からデータセンターへ知らされることはない。また、モニター、監査担当者など本治験に関係する者は、本治験に関して知り得た情報は第三者に漏洩されることは禁じられている。

### 3. 研究結果

まず、東京大学医学部附属病院無菌治療部においてアレムツズマブ(0.2 mg/kg を 6 日間)を用いた HLA 二座以上不適合血縁者間移植のパイロット試験を行った。18 症例(年齢中央値 54 歳、範囲 27~60 歳)に移植を行い、ドナーは二座不一致が 7 名、三座不一致が 11 名であった。乳癌切除・放射線照射後、胆嚢腫瘍切除直後、肺アスペルギルス症合併、自家移植後再発など、移植前にさまざまな合併症を有していたが、全例にドナー細胞の生着がえられ、好中球回復までの期間の中央値 18 日であった。Grade III 以上の GVHD を認めたのは 1 名だけとアレムツズマブによる強力な GVHD 抑制効果が確認された。サイトメガロウイルス感染は頻発するもののガンシクロビルによるコントロールは可能であり、細菌・真菌感染症は増加していない。GVHD を発症しなかった患者では、移植後 100 日以内にすべての免疫抑制剤を中止することに成功している。55 歳未満の患者の 2 年無病生存率は、ほとんどが進行期の患者であるにもかかわらず

わらず約 40%であった。これは、50 歳未満の患者に対する臍帯血移植の成績が第一寛解期において 38%、進行期において 20%程度(日本さい帯血バンクネットワーク公表)であることを考えると、優れた成績であると考えられる。以上のことから、アレムツズマブを用いることによって、拒絶や GVHD は十分に抑制され、HLA 二座以上不一致の血縁者間移植を安全に行うことが可能であることが示唆された(Transplantation 79:1351-1357,2005)。

そこで、本治験は改正 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治験実施計画書、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施に関して、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 年度に治験実施計画書に必要な修正を加えた上で、医薬品医療機器総合機構にその内容を確認した。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)、各施設の審査機関での試験の承認を経て、平成 16 年 11 月に治験計画届を提出した。平成 16 年 12 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。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 19 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、アレムツズマブの投与量を 0.16 mg/kg/day に

減量し、第 2 コホートの患者登録を再開した。平成 18 年度中に第 2 コホートを完了する予定である。平成 19 年度より CRM によってアレムツズマブの至適投与量を検討するとともに、当該用量において同種造血幹細胞移植が安全に実施することが可能であることを検討する。

造血幹細胞移植領域の医師主導治験を行うにあたって生じている問題点は、数多くの有害事象がやむをえず発生することである。元来、大量抗癌剤、全身放射線照射、免疫抑制剤の使用、GVHD の発症など、数々の重篤有害事象が生じることを前提とした治療法であり、現実に治験としてこれらの有害事象を拾い上げ、評価、考察を行い、症例報告書に記載していく過程が多大な労力を必要としている。改正 GCP 基準に則った治験である以上、省略することのできない過程ではあるが、より合理的な方法を探索することによって、造血幹細胞移植領域における医師主導治験の確立に貢献する。これは、薬剤の適応外使用が氾濫している造血幹細胞移植の、今後の健全な発展のために不可欠であると考えられる。

分担研究では、原田らは前方視的試験において 26 症例(36~64 才、中央値 56.5 才)に対して、クラドリピン(0.11 mg/kg x 6 days)、ブスルファン(4 mg/kg x 2 days)、全身放射線照射(TBI、4 Gy)の減弱前処置を用いて HLA 適合非血縁ドナーからのミニ移植を行った。GVHD 予防はシクロスポリンとメトトレキサートで行ったが、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。

森らは国立がんセンター中央病院において、2000 年から 2005 年の 6 年間に同種造血幹細胞移植を実施した 334 例のうち、グレード



II 以上の急性 GVHD を発症した 144 例について、治療関連死亡に関連する因子を後方視的に検討した。144 例全体での累積非再発死亡率(Non-relapse mortality; NRM)は 41%であった。これを 40 歳未満、40~49 歳、50~59 歳、60 歳以上の年代別に分けてみると、NRM は 29%、41%、55%、67%と年齢とともに著しく増加していた( $P<0.0001$ )。すなわち、高齢者では GVHD を発症すると若年者と比較してその予後は有意に不良となることが明らかとなった。一方、前処置の強度や原疾患のリスクではそれぞれ 39%対 44%、42%対 41%と差がみられなかった。ドナー別(HLA 一致血縁者対その他)では 34%対 45%と代替ドナーからの移植例で NRM が増加する傾向がみられたが、有意ではなかった( $P=0.14$ )。GVHD の重症度別にみると、グレード II 28%、グレード III 36%、グレード IV 95%( $P<0.0001$ )と重症度が高いほど NRM が有意に増加した。多変量解析でも年齢は GVHD の重症度やドナーの種類とは独立した有意な危険因子であることが示された。すなわち、高齢者では若年者と比較して GVHD 発症後の生命予後が不良であり、特に 50 歳以上の例では GVHD の発症を極力抑制して移植の安全性を高める努力が必用であると考えられた。

中尾らは、初回移植から 5 ヶ月後に再発をきたした FLT-3/ITD を有する AML(FAB 分類 M1、正常核型)の 17 歳女性に、分子標的治療薬であるゲムツズマブ・オゾガミシン(GO)を併用した骨髄非破壊的前処置(フルダラビン、メルファラン、TBI)による臍帯血ミニ移植を行った。前処置開始時は非寛解であったが、移植後には寛解が得られ、5 ヶ月を経過した現在も寛解を維持している。GO

を併用した臍帯血ミニ移植は、正常臓器への毒性を最小限に抑制し、移植後早期の再発例に対する治療戦略の一つになる可能性が示唆された。

谷口らは、2002 年 1 月から 2005 年 12 月まで虎の門病院血液科で臍帯血を用いたミニ移植を行った症例で、臍帯血および患者の血清型と遺伝子型 HLA が判明している 156 例を対象に HLA 一致度と生着との関連を検討した。一次性生着不全は 18 例(11.5%)に見られた。GVH 方向の HLA 一致度が 5-6/6 の症例では、day100 時点での生着率は 94.4%で、3-4/6 一致例の 85.3%と比べて有意に良好な生着を示した( $P<0.001$ )。また生着速度も生着の中央値が 5-6/6 一致例では 17 日(11~36 日)で 3-4/6 一致例の 20 日(11~55 日)に比べて速い傾向にあった。HVG 方向の HLA 一致度と生着の関連についても検討した。5-6/6 一致例では 90.9%の生着、3-4/6 一致例では 87.5%で統計学的な有意差を認めなかった( $P=0.5895$ )。生着速度についても両群で差を認めなかった。多変量解析において GVH 方向の HLA 一致度と移植 CD34 陽性細胞数が有意に生着と関連していた。GVH 方向の HLA 不適合と移植後早期の免疫反応や血球貪食症候群は生着不全に繋がる可能性が示唆された。

鈴木らはアポトーシス阻害タンパク質(IAP)と多剤耐性(MDR)遺伝子の発現を臨床経過の判明している骨髄腫患者 26 例の骨髄凍結検体と対照群 7 例で検索した。サバイピンなどの IAP はショウジョウバエからヒトに至るまで、非常によくその構造と機能が保存されているタンパク質である。アドリアマイシンなどの抗がん剤で誘導される MDR 遺伝子と共同して抗アポトーシスとして働き、ホスト側のリンパ球による TRAIL

(TNF-related apoptosis-inducing ligand)を介しての腫瘍細胞アポトーシスの作用をブロックする。IAP と MDR 遺伝子の発現を臨床経過の判明している骨髄腫患者 26 例の骨髄凍結検体と対照群 7 例について、RT-PCR 法を用いて MDR1、LRP (Lung Resistance Protein)、IAP ファミリーであるサバイビン、cIAP1、cIAP2 および XIAP の発現を検討した。学療法前後の骨髄検体における MDR1、LRP の発現については、健常者と多発性骨髄腫患者群との間において有意差が認められた。化学療法後 MDR1 が増加した骨髄腫骨髄検体における IAP ファミリー発現と予後との関係については、MDR1 増加群では、予後不良群は予後良好群と比較してサバイビン、cIAP1、cIAP2 および XIAP の発現比が有意に高かった。同様に LRP が増加した骨髄腫骨髄検体における IAP ファミリー発現と予後との関係については、LRP 増加群では、予後不良群は予後良好群と比較して cIAP1 および cIAP2 発現比が有意に高かった。以上のことから、化学療法により骨髄腫細胞数が減少するにも関わらず、MDR1、LRP が増加する症例において、IAP 発現増加は予後不良となることが示された。アドリマイシンなどの抗がん剤で誘導される MDR 遺伝子は抗アポトーシス効果を有する IAP に影響を及ぼしていることが示唆された。

#### 4. 考察

HLA 一致血縁ドナーからの同種造血幹細胞移植は、他に有効な治療を持たない造血器疾患の根治的な治療として確立されているが、少子化の進む先進国において HLA 一致血縁ドナーが得られる確率は 30%にすぎない。骨髄バンクにもドナーが見つからない、あるいは

はバンク登録から移植までに約半年を要するために最適な移植時期を逸することも多い。このように移植に適したドナーが見つからないような場合には、臍帯血移植がひとつの選択肢となりえるが、移植片拒絶の危険が高いことと、造血回復までに長期間を要することが問題となっている。実際、ある時期に日本国内で臍帯血移植実施数が急速に増加したが、第一寛解期の白血病を対象とした場合にも長期生存率が 40%弱(日本さい帯血バンクネットワーク公表)と期待を裏切る数字であり、平成 18 年度からは移植数が減少する傾向にある。一方、親子間では A、B、DR 座などの重要な HLA 座はひとかたまり(ハプロタイプ)として遺伝するため、A、B、DR 座の各 2 座の合計 6 座のうち、少なくとも 3 座は一致していることになる。そこで、HLA が二座あるいは三座不一致であっても同種造血幹細胞移植が可能となる方法が開発されれば、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ということになる。

東京大学医学部附属病院で行われた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パイロット試験は、アレムツズマブを用いることによって、これまで通常の移植方法では不可能であった HLA 二座以上不一致の移植を、許容範囲内の GVHD の発症頻度に抑制して、安全に行うことができるということを示した。また、その治療成績は臍帯血移植と比較して、より優れたものであることが示唆された。

一方、GVHD を強力に抑制することはドナーリンパ球による抗腫瘍効果(GVL 効果)をも抑制して、移植後の造血器腫瘍の再発が増加することが知られているが、申請者は日本造血細胞移植学会のデータベースの HLA 適合

同胞間造血幹細胞移植患者 2,114 症例のデータを解析し、急性あるいは慢性 GVHD の発症は再発を抑制することを確認したが、GVHD の発症によって再発以外の原因による死亡が増加し、最終的な無病生存率は GVHD を発症しなかった群の方が有意に優れていることを示した(Leukemia 18;1013-1019,2004)。すなわち、同種造血幹細胞移植においては、あえて GVHD を誘導するような試みを行うべきではなく、原則的として GVHD は抑制する方向の対策を行うべきであるといえる。

分担研究者らの研究結果からも、原田らは高齢者を中心とした減弱前処置非血縁者間骨髄移植において、重症 GVHD の発症が非再発死亡の増加につながり、より強力な GVHD 予防対策が必要であることを示した。また、谷口らも減弱前処置臍帯血移植においても、GVHD 予防を協力に行うことによって移植関連合併症が減少し、最終的な生存率が回復する傾向を観察している。特に森らの研究でも、高齢者において GVHD の発症による非再発死亡率の増加が顕著になることが示され、移植前の患者の状態とともに、年齢が移植後の非再発死亡率に強く相関する。これは、今後、移植前の年齢、様々な臓器障害などを評価した上で最適な前処置法、GVHD 予防法を選択するべきであろうということを示唆している。すなわち、強力な GVHD 予防効果を有するアレムツズマブは、今後さらに高齢層にも拡大することが予想される同種造血幹細胞移植の成績向上のために不可欠な薬剤であると考えられる。

一方、アレムツズマブによる有害事象として最も重要なものは、その強力な免疫抑制効果に由来する感染症の増加である。東京大学医学部附属病院で行われたパイロット試験で

はサイトメガロウィルスの再活性化を高頻度に認めたと抗ウイルス薬を適切に用いることによって、感染症の発症の増加は防ぐことができた。しかし、重症 GVHD の発症がわずか 1 名に抑制されたことを考えると、アレムツズマブを減量することによって、GVHD を抑制する効果を失わずに、感染症のリスクを軽減することが可能であるかもしれない。

多施設共同試験として開始した医師主導治験は、改正 GCP(good clinical practice)に則って進行中であり、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ことを目的としている。また、同時に CRM 法を用いてアレムツズマブの至適投与量を決定する。既にパイロット試験で投与された量と同様量を用いた第 1 コホートの 3 症例において、重篤な GVHD の発症を認めなかったため、現在は投与量を 20%減量した第 2 コホートの症例集積が進んでいる。予備的なデータではあるが、これまでに登録された 2 症例においては重篤な GVHD の発症を認めず、順調に経過しているため、CRM の初期投与量はこの 20%減量した投与量(0.16 mg/kg を 6 日間)となることが予想される。

これまでは 3 症例の登録ごとに 2 ヶ月の経過観察、次コホートにおける用量決定に際しデータの固定ならびにその評価のために登録停止期間が必要であったために治験の進行は緩徐であったが、今後は CRM に移行することによって、より速やかな治験の進行が期待できる。また、平成 19 年度より参加施設もあらたに 2 施設を追加し、ホームページなどを介した治験の紹介を含め、積極的に治験の進行を促進する。さらに、日本造血細胞移植学会臨床研究委員会の初の支援臨床研究として、

学会に正式に認定される予定である(現在、申請中)。

本研究のもう一つの重要な役割は造血幹細胞移植領域における医師主導治験の確立である。他の領域を含めて、いくつかの医師主導治験が行われているが、様々な重篤な有害事象が出現する造血幹細胞移植領域は、医師主導治験を実施するにあたって、最も困難な状況であるといえる。実際、これまでも1症例ごとに無数の有害事象が出現し、その症例報告やモニタリングには多大な労力を要している。また、有害事象の報告基準、報告頻度、あるいはそれらに対する考察も、医師によって必ずしも同一ではなく、システムとして統一した基準を設定する必要がある。

これまでに、本治験を通じて造血幹細胞移植領域の医師主導治験実施における問題点を抽出・収集してきたが、さらに、その解決策を検討していくことによって、今後の造血幹細胞移植領域における医師主導治験が円滑に遂行されるような基盤を形成することが必要である。これは、多数の適応外の薬剤が使用されている造血幹細胞移植において、薬剤適応外使用の減少につながり、造血幹細胞移植が健全に発展していくことに貢献する。

## 5. 結論

この医師主導治験の結果として、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、適応承認申請を行って多くの国民に利益をもたらすことができれば、適切なドナーがいらない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。公益性の高い研究であり、今後も厚生労働科学研究費

補助金による再生医療等研究事業として治験が継続されることが望まれる

## 6. 研究発表

### 1) 国内

#### ◆論文発表

(主任研究者)

1. 神田善伸 *in vivo* Campath-1H を用いた HLA 二抗原以上不適合血縁者間造血幹細胞移植 **臨床血液** 2006;47:607-617
2. 神田善伸 Editorial 造血幹細胞移植の成長 –ミニ移植、HLA 不適合移植、臍帯血移植は真の breakthrough となるか- **内科** 2006;98:190-192

#### ◆学会発表

(主任研究者)

1. 神田善伸、坂巻壽、佐尾浩、岡本真一郎、小寺良尚、田野崎隆二、笠井正晴、平岡諦、高橋聡、宮脇修一、川瀬孝和、森島泰雄、加藤俊一 非血縁者間骨髄移植において移植前処置が移植成績におよぼす影響の解析 **第 28 回日本造血細胞移植学会総会** 東京 2006 年 2 月  
(分担研究者：森慎一郎)
1. 加藤るり、森慎一郎他、「造血幹細胞移植 (HCT) 前の Comorbidity index (HCT-CI) は同種移植後の予後を予測する」**第 28 回日本造血細胞移植学会総会ワークショップ 11** 東京 2006 年

### 2) 海外

#### ◆論文発表

(主任研究者)

1. Keiichi Nakagawa, Yoshinobu Kanda, Hideomi Yamashita, Yoshio Hosoi, Kumi Oshima, Kuni Ohtomo,

- Nobuhiko Ban, Sen Yamakawa, Shunsuke Nakagawa, Shigeru Chiba. Preservation of ovarian function by ovarian shielding when undergoing total body irradiation for hematopoietic stem cell transplantation. A case report of two successful cases. *Bone Marrow Transplantation* 2006;37:583-587
2. Yukiko Komeno, Yoshinobu Kanda, Tamae Hamaki, Kinuko Mitani, Kimiko Iijima, Jun-ichi Ueyama, Satoshi Yoshihara, Koichiro Yuji, Sung-won Kim, Toshihiko Ando, Masahiro Kami, Emi Yamamoto, Kiyoshi Hiruma, Shin-ichiro Mori, Hisamaru Hirai, and Hisashi Sakamaki for the Japan Hematology and Oncology Clinical Study Group. A randomized controlled trial to compare once-daily versus twice-daily filgrastim for mobilization of peripheral blood stem cells from healthy donors. *Biology of Blood and Marrow Transplantation* 2006;12:408-413
  3. Yuki Asano-Mori, Yoshinobu Kanda, Kumi Oshima, Takuro Watanabe, Eriko Shoda, Toru Motokura, Mineo Kurokawa, Shigeru Chiba. Pharmacokinetics of ganciclovir in haematopoietic stem cell transplantation recipients with or without renal impairment. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2006;57:1004-1007
  4. Kumi Oshima, Yoshinobu Kanda, Fumio Nakahara, Eriko Shoda, Takahiro Suzuki, Yoichi Imai, Takuro Watanabe, Takashi Asai, Koji Izutsu, Seishi Ogawa, Toru Motokura, Shigeru Chiba and Mineo Kurokawa. Pharmacokinetics of alemtuzumab after haploidentical HLA-mismatched hematopoietic stem cell transplantation using in vivo alemtuzumab with or without CD52-positive malignancies. *American Journal of Hematology* 2006;81:875-879
  5. Yoshinobu Kanda, Rie Hyo, Takuya Yamashita, Katsumichi Fujimaki, Kumi Oshima, Masahiro Onoda, Takehiko Mori, Toru Sakura, Masatsugu Tanaka, Miwa Sakai, Jun Taguchi, Mineo Kurokawa, Atsuo Maruta, Shinichiro Okamoto, Hisashi Sakamaki for the Kanto Study Group of Cell Therapy. Effect of blood cyclosporine concentration on the outcome of hematopoietic stem cell transplantation from an HLA-identical sibling donor. *American Journal of Hematology* 2006;81:838-844
  6. Shinichi Kako, Yoshinobu Kanda, Tomohiko Sato, Susumu Goyama, Naohiro Noda, Eriko Shoda, Kumi Oshima, Morihiro Inoue, Koji Izutsu, Takuro Watanabe, Toru Motokura, Shigeru Chiba, Masashi Fukayama, and Mineo Kurokawa. Early relapse of JAK2 V617F-positive chronic neutrophilic leukemia with central

nervous system infiltration after unrelated bone marrow transplantation. *American Journal of Hematology* (in press)

7. Koji Kato, Yoshinobu Kanda, Tetsuya Eto, Tsuyoshi Muta, Hisashi Gondo, Shuichi Taniguchi, Tsunefumi Shibuya, Atae Utsunomiya, Takakazu Kawase, Shunichi Kato, Yasuo Morishima, Yoshihisa Kodera, and Mine Harada for the Japan Marrow Donor Program. Allogeneic bone marrow transplantation from unrelated HTLV-I-negative donors for adult T-cell leukemia/lymphoma: Retrospective analysis of data from the Japan Marrow Donor Program. *Biology of Blood and Marrow Transplantation* (in press)

(分担研究者：原田実根)

1. Tsukamoto H, Nagafuji K, Horiuchi T, Miyamoto T, Aoki K, Takase K, Henzan H, Himeji D, Koyoma T, Miyake K, Inoue Y, Nakashima H, Otsuka T, Tanaka Y, Nagasawa K, Harada M: A phase I - II trial of autologous peripheral blood stem cell transplantation in the treatment of refractory autoimmune disease. *Annals of the Rheumatic Diseases* 2006;65: 508-514
2. Kim SW, Tanimoto TE, Hirabayashi N, Goto S, Kami M, Yoshioka S, Uchida T, Kishi K, Tanaka Y, Kohno A, Kasai M, Higuchi M, Mori S, Fukuda T, Izutsu K, Sao H, Ishikawa T, Ichimohe T,

Takeuchi K, Tajima K, Tanosaki R, Harada M, taniguchi S, Tobinai K, Hotta T, Takaue Y. Myeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for non-Hodgkin lymphoma: a nationwide survey in Japan. *Blood* 2006;108: 382-389

(分担研究者：中尾眞二)

1. Takami A, Mochizuki K, Okumura H, Ito S, Suga Y, Yamazaki M, Kondo Y, Asakura H, Nakao S. Mycophenolate mofetil is effective and well tolerated in the treatment of refractory acute and chronic graft-versus-host disease. *International Journal of Hematology* 2006;83:80-85
  2. Sigimori C, Chujo T, Feng X, Yamazaki H, Takami A, Teramura M, Mizoguchi H, Omine M, Nakao S. Minor population of CD55-CD59-blood cells predicts response to immunosuppressive therapy and prognosis in patients with aplastic anemia. *Blood* 2006 15;107:1308-1314
- (分担研究者：谷口修一)
1. Miura Y, Narimatsu H, Kami M, Kusumi E, Matsumura T, Yuji K, Wake A, Miyakoshi S, Taniguchi S. Oral beclomethasone dipropionate as an initial treatment of gastrointestinal acute graft-versus-host disease after reduced-intensity cord blood transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2006 38: 577-579
  2. Narimatsu H, Kami M, Miyakoshi S, Murashige N, Yuji K, Hamaki T,

Masuoka K, Kusumi E, Kishi Y, Matsumura T, Wake A, Morinaga S, Kanda Y, Taniguchi S. Graft failure following reduced-intensity cord blood transplantation for adult patients. *British Journal Haematology* 2006;132:36-41.

(分担研究者：鈴木憲史)

1. Nakagawa Y, Abe S, Kurata M, Hasegawa M, Yamamoto K, Inoue M, Takemura T, Suzuki K, Kitagawa M. IAP family protein expression correlates with poor outcome of multiple myeloma patients in association with chemotherapy-induced overexpression of multidrug resistance genes. *American Journal of Hematology*. 2006;81:824-831

(分担研究者：森慎一郎)

1. Onishi Y, Mori S, Higuchi A, Kim SW, Fukuda T, Heike Y, Tanosaki R, Minematsu T, Takaue Y, Sasaki T and Furuta K. Early detection of plasma cytomegalovirus DNA by real-time PCR after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 2006;210: 125-135
2. Morita Y, Heike Y, Kawakami M, Miura O, Nakatsuka SI, Ebisawa M, Mori SI, Tanosaki R, Fukuda T, Kim SW, Tobinai K and Takaue Y. Monitoring of WT1-specific cytotoxic T lymphocytes after allogeneic hematopoietic stem cell

transplantation. *International Journal of Cancer*, 2006;119: 1360-1367

#### ◆学会発表

(主任研究者)

1. Yoshinobu Kanda Haploidentical HLA-mismatched hematopoietic stem cell transplantation using Campath-1H in vivo. Asan Medical Center Symposium on Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation. Seoul, Korea. October, 2006

(分担研究者：中尾真二)

1. Kondo Y, Xingmin Feng, Kumano Y, and Nakao S. CDK2-Specific CTLs Can Be Generated *In Vivo* from Donor Derived T Cells in HLA-A24+ Patients with Leukemia in Remission after Allogeneic Stem Cell Transplantation. 48th Annual Meeting of the American Society of Hematology. Orlando, Florida. December, 2006.

(分担研究者：谷口修一)

1. Matsuno N, Taniguchi S et al. Impact of Human Leukocyte Antigen Compatibility on Engraftment in Adult Patients Receiving Reduced-Intensity Umbilical Cord Blood Transplantation Using Calcineurin Inhibitor Alone for GVHD Prophylaxis. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)*, 108: 3147. November, 2006
2. Yamamoto H, Naoyuki Uchida, Taniguchi S et al. High Incidence of Cytomegalovirus Reactivation and

Diseases Following Reduced-Intensity Cord Blood Transplantation for Adult Patients. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)*, 108: 2846. November, 2006

(分担研究者：森慎一郎)

1. Fukuda T, Iisaka Y, Ohara F, Fujieda A, Yamasaki S, Kim SW, Mori S, Tanosaki R, Heike Y, Makimoto A, Tobinai K, Takaue Y. Age-Related Risk of Non-Relapse Mortality Associated with Acute Graft-Versus-Host Disease. Session Type: Oral Session; 48th Annual Meeting of the American Society of Hematology. Orlando. December, 2006

7. 知的財産権の出願・登録出願  
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

### 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。平成 17 年度に 3 症例が登録され、いずれも治療の成功基準を満たしたため、アレムツズマブの投与量を減量した第二段階へと進行した。平成 18 年度に第二段階の 3 症例も登録を完了し、現在観察期間となっている。平成 19 年度からは連続再評価法による投与量の調節を行う。

### 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管疾患患者で、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。アテ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テ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・非血縁ドナーがいがないために、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、リン酸フルダラビン(30 mg/m<sup>2</sup> 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 を開始用量(第 1 コホート)として、GVHD 非発症率の期待値及び期待値が 60%を超える確率が 90%以上となることを基準とした CRM(Continual Reassessment Method、分担研究者の大橋靖雄らが開発した連続再評価法)による検討結果を参考として、3 例ずつのコホート法により、0.16 mg/kg、0.20 mg/kg、あるいは 0.25 mg/kg を投与し、CRM の開始用量を決定する。第 3 コホート以降の CRM においても、GVHD 非発症率の期待値が 60%を超える確率が 90%以上となることを基準として用量選択を行い、最も早く必要症例数に達した用量を推奨用量と定め、その結果を主要変数の評価に用いる。

## 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、平成 16 年 12 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。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 19 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、アレムツズマブの投与量を 0.16 mg/kg/day に減量し、第 2 コホートの患者登録を再開した。平成 18 年度中に第 2 コホートを完了する予定である。平成 19 年度より CRM によってアレムツズマブの至適投与量を検討するとともに、当該用量において同種造血幹細胞移植が安全に実施することが可能であることを検討する。

#### 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、適切なドナーがない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. Keiichi Nakagawa, Yoshinobu Kanda, Hideomi Yamashita, Yoshio Hosoi, Kumi Oshima, Kuni Ohtomo, Nobuhiko Ban, Sen Yamakawa, Shunsuke Nakagawa, Shigeru Chiba. Preservation of ovarian function by ovarian shielding when undergoing total body irradiation for hematopoietic stem cell transplantation. A case report of two successful cases. *Bone Marrow Transplantation* 2006;37:583-587
2. Yukiko Komeno, Yoshinobu Kanda, Tamae Hamaki, Kinuko Mitani, Kimiko Iijima, Jun-ichi Ueyama, Satoshi Yoshihara, Koichiro Yuji, Sung-won Kim, Toshihiko Ando, Masahiro Kami, Emi Yamamoto, Kiyoshi Hiruma, Shin-ichiro Mori, Hisamaru Hirai, and Hisashi Sakamaki for the Japan Hematology and Oncology Clinical Study Group. A