

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

<研究課題名>

同種造血幹細胞移植治療の成績向上を目指した包括的臨床研究

平成 18 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 高上 洋一

(所属機関 国立がんセンター中央病院)

平成 19 (2007) 年 4 月

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

<研究課題名>

同種造血幹細胞移植治療の成績向上を目指した包括的臨床研究

平成 18 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 高上 洋一

(所属機関 国立がんセンター中央病院)

平成 19 (2007) 年 4 月

## 【 目 次 】

### I. 総括研究報告

- P 1～4            高上 洋一 / 国立がんセンター中央病院  
『 同種造血幹細胞移植治療の成績向上を目指した包括的臨床研究 』

### II. 分担研究報告

- P 5～7            平家 勇司 / 国立がんセンター中央病院  
『 同種移植後免疫回復の解析と遺伝子治療の開発研究 』

- P 8～10           中尾 眞二 / 金沢大学大学院  
『 ドナーリンパ球輸注による白血病再発の治療と予防に関する研究 』

- P 11～13           河野 嘉文 / 鹿児島大学大学院  
『 純化造血幹細胞移植術治療による小児がん成績の向上 』

- P 14～18           松井 利充 / 神戸大学大学院  
『 移植前処置関連毒性の検討 』

- P 19～22           林 邦雄 / 国家公務員共済組合京阪奈病院  
『 腫瘍細胞の細胞周期とGVL効果 』

- P 23～25           宇都宮 與 / 慈愛会今村病院分院  
『 同種造血幹細胞移植後のウイルス感染症とGVHD病態の解明 』

### III. 研究成果の刊行に関する一覧

### IV. 研究成果の刊行物・別刷

## 研究要旨

骨髄移植などの同種造血幹細胞移植は、患者の年齢が 50 歳を超える場合や、移植前に既に臓器の働きが低下している場合には、通常の方法で移植を行うと早期死亡率が著しく高くなる。これを克服する方法として、ドナー由来のリンパ球を介する移植片対白血病 (GVL) 効果を利用したミニ移植がヒトゲノム・再生医療等研究事業(以下、本事業と略す)において開発されて普及している。しかし、合併症対策やミニ移植の応用治療に関する有効性は未だ確立しておらず、特に高齢患者が急増する現状では研究の充実が求められている。このため、本研究ではミニ移植を含めた造血幹細胞移植の標準化と安全性の向上を目指した臨床試験、並びに患者診療に密接に関連した基礎研究を行う。その成果を移植医療の均てん化や国際貢献に利するために、全国や海外施設からの研修者教育にも力を注ぐ。

### A. 研究目的

ミニ移植を含めた各種の造血幹細胞移植の標準化を目指した臨床試験と、安全性向上のための合併症対策を、基礎的研究成果も参考にして検討する。

具体的には、本事業において現在遂行中の各種臨床試験を継続して治療の標準化、適正化を図る。臍帯血移植が急増しているが、その安全性や有効性は検証されていない。同種免疫反応には人種差があるため、欧米の試験成績をわが国の移植現場に直接当てはめることは不可能であり、その適切な予防と治療、あるいは増強には、我が国固有のエビデンスを必要としている。逆に、このような臨床試験の結果を速やかに海外にも公表し普及させることは、医療分野における国際貢献を果たすことにもなる。このため、他班と共同で臍帯血ミニ移植の開発試験を行う。本研究で行う臨床試験の最大の特徴は、質の高いエビデンスを得るために、既に稼動している臨床研究母体に拠って厳正なデータ管理を実施することである。これにより、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と同時に、治療技術の伝播、医療の均てん化ならびに国際研修の推進にも貢献する。

合併症の中でも、特に GVHD とサイトメガロウイルス (CMV) などの感染症は多くの患者に発生し、高齢者においては特に重篤化し易いため、重点対策を講じて移植治療の安全性を確保することは極めて重要である。しかし、GVHD は治療益もある GVL

効果も合わせ持つため、その完全な予防が必ずしも治療成績の向上にはつながらない。よって、患者特性に合わせた GVHD 予防と治療法、あるいは安全な GVL 効果の増強法を開発する必要がある。このため、付随研究として移植後の CMV 感染の発症頻度と CMV 特異的 T 細胞動態を経時的に検討するなど、移植治療の特徴を基礎研究の側面から明らかにする必要がある。

### B. 研究方法

他に有効な治療法がない白血病、悪性リンパ腫や骨髄異形成症候群、あるいは難治性の種々の固形腫瘍患者を対象として、臨床試験と基礎研究を遂行する。骨髄非破壊的なミニ移植前処置として、プリン誘導体であるフルダラビン(30 mg/kg/day x 6 日)あるいはクラドリビン(0.11 mg/kg/day x 6 日)に加えてブスルファン(4 mg/kg x 4 日)を、また臍帯血移植の場合にはメルファラン(70 mg/kg x 2 日)と 4 Gy の全身放射線照射を投与するなどして、血縁者の末梢血幹細胞、非血縁者の骨髄あるいは臍帯血を用いた同種造血幹細胞移植を行い、得られた臨床データと患者検体などを用いて以下の点に関する研究を行う。現在、本事業において進行中の以下の臨床試験を完結させる。

- 1) 高齢者白血病・悪性リンパ腫に対するミニ移植臨床試験

- 2) HLA 一座不適合血縁ドナーを用いたミニ移植の安全性と有効性の検討
- 3) 各種の転移性固形腫瘍に対するミニ移植
- 4) GVHD 予防におけるシクロスポリンとタクロリムスとの比較試験
- 5) 非血縁者間骨髄を用いたミニ移植の開発研究
- 6) 臍帯血ミニ移植第 I 相試験
- 7) 移植後インターフェロン $\alpha$ 投与の再発予防効果
- 8) 自殺遺伝子を導入したドナーリンパ球輸注療法の開発研究
- 9) 学会と協働したウィルスや真菌感染症治療薬やサイトカインの適応拡大試験
- 10) ミニ移植後免疫療法の研究

#### <倫理面への配慮>

本研究を実施するにあたっては、ヘルシンキ宣言、米国ベルモントレポート等の国際的倫理原則、あるいは我が国のヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針、遺伝子治療臨床研究に関する指針に従い以下を遵守する。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。この際に、患者の費用負担が増えることはないこと、この研究への参加は自由で、参加しなくても不利益は受けないこと、この研究へ参加した場合でも、いつでもやめられること、データの取り扱い上、患者氏名等直接個人が識別できる情報を用いず、かつデータベースのセキュリティを確保し、個人情報（プライバシー）保護を厳守することも説明する。

#### C. 研究結果

本年度は、以下のような成果を挙げた。

- 1) 高齢者白血病・悪性リンパ腫に対するミニ移植臨床試験  
誌上発表する本試験の中間解析結果に基づいて、現在、該当企業が適応拡大申請中である。
- 2) HLA 一座不適合血縁ドナーを用いたミニ移植  
予定登録症例 30 例中 19 例を登録した後に、安全性と症例集積ペースに関する試験計画の改訂に対応するために研究中止とし、その内容を学会誌で発表予定である。
- 3) 転移性固形腫瘍に対するミニ移植  
予定登録症例 30 例中 13 例を登録した時点で、

安全性と症例集積ペースに関する試験計画の改訂に対応するために研究中止とし、その内容を学会誌で発表予定である。

- 4) GVHD 予防のためのシクロスポリンとタクロリムスの比較試験  
予定登録症例 70 例中 62 例を登録し、完遂が近いと考える。
- 5) 非血縁者間骨髄を用いたミニ移植の開発研究  
予定登録症例 27 例を登録して終了し、解析を行った。その結果は、2 月に開催された日本造血細胞移植学会において発表した。
- 6) 臍帯血ミニ移植  
予定登録症例 10 例中 4 例を登録した時点でプロトコル変更のために中止とし、新たに開始した第二次試験に予定登録症例 10 例中 6 例を登録した。
- 7) 移植後インターフェロン $\alpha$ 投与の再発予防効果  
症例登録を開始した。
- 8) 自殺遺伝子を導入したドナーリンパ球輸注療法の開発研究  
国立がんセンター遺伝子治療臨床研究倫理審査委員会で審議中であり、現在、第 3 回目の再々審査に向けた準備中である。
- 9) ウィルスや真菌感染症治療薬やサイトカインの適応拡大試験  
移植領域における適応外使用医薬品の承認を促進する対策を施すために、企業、日本造血細胞移植学会と共同作業を行っている。
- 10) ミニ移植後免疫療法の開発研究  
基礎研究は進んだが、臨床試験は未だ準備中である。

基礎研究としては、GVHD に伴う抗腫瘍免疫反応の機構解明のための各種研究を行った。加えて、ミニ移植後の免疫機能の評価として、同種移植で最も重要な感染症である CMV 感染を指標とし、その発症頻度および CMV 特異的 T 細胞の再構築などについて経時的に検討した。

本研究に関わる海外学会発表に関しては、血液領域では最高の権威を有する全米血液学会(2006 年 12 月)において計 9 題を発表して注目を集めた。国立がんセンター中央病院のレジデント以外に、全国の施設から 5 人を、また韓国から 2 名、中国から 2 名、ベトナムから 1 名の海外研修医も受け入れ、移植治

療の均てん化と国民医療におけるがん医療水準の向上、ならびに移植領域における国際貢献に寄与した。

#### D. 考察

同種免疫反応には人種差があるため、欧米の試験成績をわが国での移植現場に直接当てはめることは不可能である。本研究においては、ミニ移植を含めた各種の造血幹細胞移植の標準化のための厳正な臨床試験と安全性向上のための合併症対策の検討を、既に稼動している臨床研究母体に拠って推進し、我が国固有のエビデンスを蓄積することを目指した。同時に、科学的妥当性を備えた対策を打ち出して治療の安全性を高めるために、合併症の中でも特にGVHDとCMVなどの感染症に関する基礎研究を遂行した。移植医療の均てん化も目指して、全国の施設からの研修者を受け入れた。

各種の臨床研究を推進しているが、特に高齢患者を対象とした白血病ミニ移植開発試験に関しては、本班研究成果を基にミニ移植に必須の薬剤が適応拡大承認を得る見通しとなったことは、学会と協働して稀少的な医療領域に有用な薬剤を臨床導入する手法を示した点が画期的と考える。同時に、治療を受ける患者検体を用いる基礎研究を並行して行うことで、治療学的妥当性を与え、新規治療開発にも貢献すると考える。

#### E. 結論

造血幹細胞移植治療の標準化、新規治療の開発並びに安全性向上を目指した臨床試験と基礎研究を推進して一定の成果を挙げることができた。得られた成果をもとに、有用な薬剤を臨床導入する道筋をつけて国民医療の向上に寄与した。また、国内外の施設からの研修者教育も行うことで、移植医療の均てん化と国際貢献にも寄与した。今後、さらに研究を拡大したいと考える。

#### F. 健康危機情報

現在までのところ、試験の中止に関わるような重大な有害事象の発生は認めていない。

#### G. 研究発表

##### 論文発表

1. Takama H, Tanaka H, Nakashima D, Ueda R, **Takaue Y**. Population pharmacokinetics of intravenous busulfan in patients undergoing hematopoietic stem cell plantation. **Bone Marrow Transplant**, 37:354-351,2006.
2. Watanabe H, Watanabe T, Suzuya H, Wakata Y, Kaneko M, Onishi T, Okamoto Y, Abe T, Kawano Y, Kagami S, **Takaue Y**. Peripheral blood stem cell mobilization by granulocyte colony-stimulating factor alone and engraftment kinetics following autologous transplantation in children and adolescents with solid tumor. **Bone Marrow Transplant**, 37:661-668,2006.
3. Kim SW, Tanimoto TE, Hirabayashi N, Goto S, Kami M, Yoshioka S, Uchida T, Kishi K, Tanaka Y, Kohno A, Kasai M, Higuchi M, Kasai M, Mori S, Fukuda T, Izutsu K, Sao H, Ishikawa T, Ichinohe 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**, 108:382-389,2006.
4. Morita Y, Heike Y, Kawakami M, Miura O, Nakatsuka S, Ebisawa M, Mori S, Tanosaki R, Fukuda T, Kim SW, Tobinai K, **Takaue Y**. Monitoring of WT1-specific cytotoxic T lymphocytes after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. **Int J Cancer**, 119:1360-1367,2006.
5. Imataki O, Makimoto A, Kojima R, Sakiyama M, Hosono A, **Takaue Y**. Intensive multimodality therapy including paclitaxel and reduced-intensity allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in the treatment of adrenal cancer with multiple metastases. **Int J Clin Oncol**, 11:156-158,2006.
6. Kakugawa Y, Kami M, Kozu T, Kobayashi N, Shoda H, Matsuda T, Saito Y, Oda I, Gotoda T, Mori S, Tanosaki R, Murashige N, Hamaki T,

- Mineishi S, Takaue Y, Shimoda T, Saito D. Endoscopic evaluation for cytomegalovirus enterocolitis after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Gut*, 55:895-896,2006.
7. Imataki O, Heike Y, Ishida T, Takaue Y, Ikarashi Y, Yoshida M, Wakasugi H, Kakizoe T. Efficient ex vivo expansion of V $\alpha$ 24+ NKT cells derived from G-CSF-mobilized blood cells. *J Immunotherapy*, 29:320-327,2006.
8. Imataki O, Makimoto A, Kato S, Bannai T, Numa N, Nukui Y, Morisawa Y, Ishida T, Kami M, Fukuda T, Mori S, Tanosaki R, Takaue Y. Coincidental outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a hematopoietic stem cell transplantation unit. *Am J Hematol*, 81: 664-669,2006.
9. Kuwatani M, Ikarashi Y, Iizuka A, Kawakami C, Quinn G, Heike Y, Yoshida M, Asaka M, Takaue Y, Wakasugi H. Modulation of acute graft-versus-host disease and chimerism after adoptive transfer of in vitro-expanded invariant Valpha14 natural killer T cells. *Immunol Lett*, 106:82-90,2006.
10. Imataki O, Nakatani S, Hasegawa T, Kondo M, Ichihashi K, Araki M, Ishida T, Kim SW, Mori S, Fukuda T, Tobinai K, Tanosaki R, Makimoto A, Takaue Y. Nutritional support for patients suffering from intestinal graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Am J Hematol*, 81:747-752,2006.
11. Yamamura K, Ohishi K, Katayama N, Yu Z, Kato K, Masuya M, Fujieda A, Sugimoto Y, Miyata E, Shibasaki T, Heike Y, Takaue Y, Shiku H. Pleiotropic role of histone deacetylases in the regulation of human adult erythropoiesis. *Br J Hematol*, 135:242-253,2006.
12. Onishi Y, Mori S, Higuchi A, Kim SW, Fukuda T, Heike Y, Tanosaki R, Minematsu T, Takaue Y, Sasaki T, Furuta K. Early detection of plasma cytomegalovirus DNA by real-time PCR after allogeneic hematopoietic stem cell

transplantation. *Tohoku J Exp Med*, 210:125-135,2006.

#### 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

『同種移植後免疫回復の解析と遺伝子治療の開発研究』

分担研究者 平家 勇司 国立がんセンター中央病院/薬物療法部 医員

研究要旨

高齢者を含むミニ移植症例を対象として、移植前の T-cell receptor excision circle (TREC) 量と、移植後成績の関連を解析した。移植前 TREC 値は年齢と逆相関を示し、胸腺に放射線照射歴のある患者で有意に低値であった。移植前 TREC 値と急性及び慢性 GVHD の頻度、CMV 感染の頻度は相関を認めなかった。移植前の TREC 高値症例で、OS (全生存率)、PFS (無増悪生存率) がともに良好であった。移植前の TREC 値による NRM (非再発死亡率) は有意差を認めず、TREC 低値の患者では原疾患による死亡率が有意に高かった。

A. 研究目的

- 1) 造血細胞移植患者の移植前胸腺機能が移植後の免疫回復に影響することがこれまでの研究で示されている。
- 2) 移植前の T-cell receptor excision circles (TREC) は GVHD や感染症の頻度、移植予後に影響を及ぼす可能性が示唆されている。
- 3) これまでの研究はフル移植を受けた若年層を対象としており、高齢者を含むミニ移植 (reduced-intensity stem cell transplantation; RIST) 患者における胸腺機能やその予後に及ぼす影響については知られていない。
- 4) 中高齢者を主とした患者における移植前の TREC を測定することで、胸腺機能の基礎データを得るとともに、ミニ移植予後への影響を評価する。

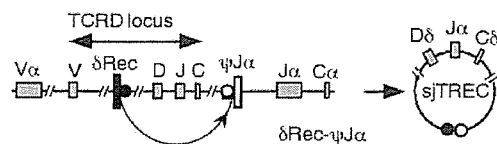
B. 研究方法

対象患者

- 1) 2003 年 1 月～2006 年 5 月に国立がんセンターにおいて同種造血細胞移植を受けた 180 例 (ミニ移植 120 例、フル移植 60 例) の移植前 TREC 値を測定し、TREC 値に影響を及ぼす因子を解析する。
- 2) HLA 一致ドナーからミニ移植を受けた 98 例については移植前 TREC 値と aGVHD、cGVHD、CMV 感染の頻度、全生存率 (OS)、無増悪生存率 (PFS)、非再発死亡率 (NRM) の関係を解析する。

研究方法

- 1)  $\delta rec-yJa$  signal joint TREC を以下の real time PCR 法にて定量。
- 2) 移植前の患者から末梢血を採取し PBMC を分離し DNA を抽出。
- 3) サンプルの調整
- ① PBMC より抽出した DNA : (75 ng)、TREC probe : (150 nmol/L)、TREC F primer : (500 nmol/L)、TREC R primer : (500 nmol/L)、ABI TaqMan® Universal PCR Master Mix : (全量 x 0.5) を混合する。
- ② PCR サイクルコンディショニング: 50 °C 2 分 → 95 °C 10 分 → 95 °C 30 秒, 60 °C 1 分 × 40 サイクルにて増幅する。
- 4) クローニングにて作成した希釈系列にて検量線をプロット。
- 5) PBMC から抽出した DNA 10ng あたりの TREC コピー数を算出。



<倫理面への配慮>

本研究を含む移植後免疫回復解析研究の説明し同意を得たうえで行った。採血は診療上必要な他の検査項目と併せて行い、患者に新たな負担をかけないように配慮した。

研究検体並びに情報の移動・交換に際しては、氏名、患者 ID 番号など、被験者の特定につながる情報は使用しないことを徹底し、プライバシーの保護に努めた。



### C. 研究結果

#### 同種移植180例の患者背景と移植前TREC値-1

	症例数	TREC中央値	平均値 (copy / 10ng DNA)	
全例	180	1.33	3.92	
性別				
男性	102	1.21	3.00	
女性	78	1.59	5.07	
年齢(中央値49; 5-68)				
50歳未満	91	1.58	5.38	P=0.03*
50歳以上	89	1.12	2.41	
縦隔の放射線照射歴				
有	19	0.42	0.96	P<0.01*
無	161	1.42	4.25	
診断から移植までの期間				
1年未満	81	1.41	4.18	
1年以上	99	1.25	3.67	

移植前 TREC 値は中高齢者においても年齢と逆相関を示した。

移植前 TREC 値は胸腺に放射線照射歴のある患者で有意に低値であった。

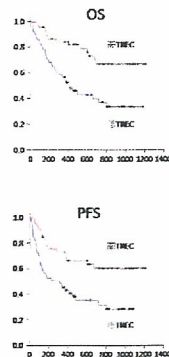
#### 同種移植180例の患者背景と移植前TREC値-2

	症例数	TREC中央値	平均値 (copy / 10ng DNA)
移植時病期			
寛解	72	1.41	3.91
非寛解	108	1.25	3.90
原疾患			
固形腫瘍	10	4.59	5.66
CML	10	3.07	5.04
AML	52	1.37	4.77
MDS	23	2.49	3.69
ALL	23	1.26	4.01
リンパ腫	60	1.03	2.84
骨髄繊維症	2	0.42	0.42

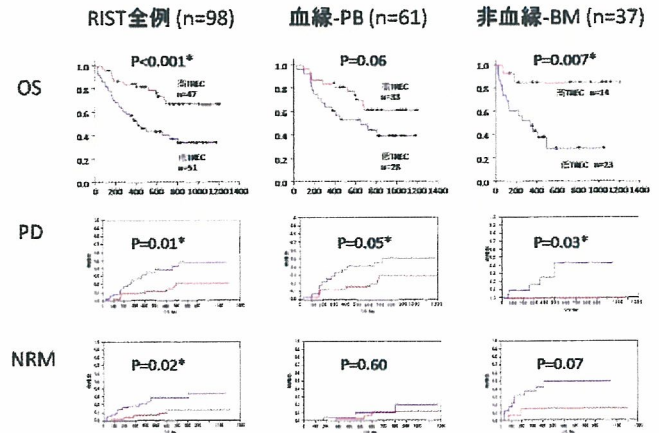
#### HLA一致RIST 98例の移植前TREC値と予後

	低TREC (<1.3) n=51	高TREC (1.3<) n=47	P値
2 year OS	37%	67%	P<0.001*
2 year PFS	32%	60%	P<0.001*
aGVHD	64%	57%	NS
aGVHD II-IV	47%	44%	NS
cGVHD	69%	77%	NS
CMV抗原血症	72%	60%	NS

観察期間中央値 810 (132-1210) 日



#### HLA一致RIST移植ソース別移植前TREC値と結果



#### HLA一致RIST 98例での多変量解析

	ハザード比	P値
OS		
低TREC	2.59	0.005*
高疾患リスク	1.39	0.09
高年齢	1.01	0.45
骨髄移植	1.24	0.18
縦隔放射線照射歴	1.20	0.46
PFS		
低TREC	2.58	0.003*
高疾患リスク	1.37	0.09
高年齢	1.00	0.79
骨髄移植	0.97	0.85
縦隔放射線照射歴	1.50	0.08
NRM		
低TREC	2.58	0.09
高疾患リスク	1.03	0.91
高年齢	0.98	0.50
骨髄移植	1.97	0.008*
縦隔放射線照射歴	1.33	0.50

移植前 TREC 値と急性及び慢性 GVHD の頻度、CMV 感染の頻度は相関を認めなかった。

ミニ移植において移植前の TREC 値が高い患者の方が OS (全生存率)、PFS (無増悪生存率) とともに良好であった。

移植前の TREC 値による NRM (非再発死亡率) は有意差を認めず、TREC 低値の患者では原疾患による死亡率が有意に高かった。

### D. 考察

TREC 値が年齢と逆相関し、かつ放射線照射と逆相関することは、本解析システムが機能していることを示している。移植前 TREC 値と、急性 GVHD 並びに慢性 GVHD の発症頻度に相関を認めず、NRM との関連でも有意差が見られないことは、高齢者を含むミニ移植では、移植前 TREC 値 (移植前の胸腺機能) は GVHD の発症の予測因子とならないことを示唆している。一方、移植前 TREC 高値症例で OS 並びに PFS が良好であり、TREC 低値症例で原疾患による死亡率が優位に高くなることは、移植片対腫瘍反応の

誘導において、患者胸腺機能が重要な役割を果たしている可能性を示唆しており、移植前の TREC 値が抗腫瘍効果予測因子となりうる可能性を示唆している。

#### E. 結論

移植前 TREC の定量解析系を立ち上げた。高齢者を含むミニ移植において、移植前 TREC 値は急性・慢性 GVHD 並びに NRM と関連しなかったが、TREC 高値症例では OS 並びに PFS が高く、TREC 低値症例では原疾患による死亡率が優位に高かった。

#### F. 健康危機情報

該当なし

#### G. 研究発表

##### 論文発表

1. Imataki, O., Heike, Y., Ishida, T., Takaue, Y., Ikarashi, Y., Yoshida, M., Wakasugi, H., and Kakizoe, T. Efficient ex vivo expansion of Valpha24+ NKT cells derived from G-CSF-mobilized blood cells. *J Immunother*, 29: 320-327, 2006.
2. Kuwabara, K., Ishida, H., Shirakawa, K., Yokoyama, M., Nakada, H., Hayashi, Y., Hashimoto, D., Miura, I., Itoyama, S., and Heike, Y. Primitive neuroectodermal tumor arising in the colon: report of a case. *Surg Today*, 36: 193-197, 2006.
3. Kuwatani, M., Ikarashi, Y., Iizuka, A., Kawakami, C., Quinn, G., Heike, Y., Yoshida, M., Asaka, M., Takaue, Y., and Wakasugi, H. Modulation of acute graft-versus-host disease and chimerism after adoptive transfer of in vitro-expanded invariant Valpha14 natural killer T cells. *Immunol Lett*, 106: 82-90, 2006.
4. Morita, Y., Heike, Y., Kawakami, M., Miura, O., Nakatsuka, S., Ebisawa, M., Mori, S., Tanosaki, R., Fukuda, T., Kim, S. W., Tobinai, K., and Takaue, Y. Monitoring of WT1-specific cytotoxic T lymphocytes after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Int J Cancer*, 119: 1360-1367, 2006.

5. Onishi, Y., Mori, S., Higuchi, A., Kim, S. W., 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. *Tohoku J Exp Med*, 210: 125-135, 2006.
6. Yamamura, K., Ohishi, K., Katayama, N., Yu, Z., Kato, K., Masuya, M., Fujieda, A., Sugimoto, Y., Miyata, E., Shibasaki, T., Heike, Y., Takaue, Y., and Shiku, H. Pleiotropic role of histone deacetylases in the regulation of human adult erythropoiesis. *Br J Haematol*, 135: 242-253, 2006.

#### 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

『ドナーリンパ球輸注による白血病再発の治療と予防に関する研究』  
 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

同種造血幹細胞移植後の白血病再発に対する再移植の治療成績が悪い要因は治療関連死亡・再発の頻度がともに高いことである。緩和的前処置を用いた臍帯血移植 reduced-intensity cord blood transplantation (RI-CBT)は迅速な移植片の選択が可能で、治療関連毒性も軽減されることから、移植後再発白血病に対する新たな治療選択肢として注目されているが、一方で抗腫瘍効果が乏しい可能性がある。今回、再移植時に RI-CBT を選択することの有用性を検討した。対象は移植後白血病再発のために再移植を受けた 18 例。疾患の内訳は AML12 例、ALL3 例、CML3 例。再移植時に臍帯血移植を受けた患者 (CBT 群) は 6 例、骨髄あるいは末梢血幹細胞移植を受けた患者 (BMT/PBSCT 群) は 12 例であった。BMT/PBSCT 群の 1 年無病生存率は 27%であったのに対し、CBT 群では 67%であった。再移植時に RI-CBT を選ぶことによって、初回移植では得られなかった新たな GVL 効果が得られる可能性が示唆された。

A. 研究目的

造血幹細胞移植後の白血病再発例に対する治療戦略には化学療法、ドナーリンパ球輸注、再移植などがある。しかし、化学療法単独では、たとえ再寛解が得られても永続的な寛解は期待できない。また、ドナーリンパ球輸注は慢性骨髄性白血病の慢性期再発には有効であるが、それ以外の疾患での治療成績は不良である。再移植は治癒を期待できる唯一の治療法であるが、非血縁ドナーからの骨髄移植の場合、至適タイミングで移植を行うことは不可能であり、治療関連毒性が強くなるという問題もあるため、治療成績はやはり不良である。

新たな造血幹細胞移植法として最近普及しつつある、緩和的前処置を用いた臍帯血移植 RI-CBT は、移植片が速やかに入手できる上に治療関連毒性も軽減されることから、こうした従来の再移植法の問題点を克服できる可能性がある。しかし、RI-CBT では移植前処置の強度が弱く、臍帯血中の免疫担当細胞が未熟であるため抗腫瘍効果が乏しい可能性が考えられる。そこで、移植後白血病再発に対する RI-CBT の成績を、臍帯血以外の移植ソースを用いた従来の再移植の成績と比較することにより、再移植時に RI-CBT を選択することの有用性を検討した。

B. 研究方法

対象患者の特徴と再移植の方法を表 1 に示す。CBT 群は年齢層が高く、非寛解例を多く含んでいた。また CBT 群では、全例でフルダラビン、メルファラン、全身放射線照射 (4Gy) を中心とする緩和的レジメンを用いた。BMT/PBSCT 群の 12 例中 2 例は初回移植とは異なる別のドナーからの移植であった。

表 1. 対象患者

	CBT (n=6)	BMT/PBSCT (n=12)
年齢 中央値 (範囲)	40 才 (17~68 才)	27 才 (10~50 才)
性別 男:女	2:4	4:8
診断		
AML	5 (83%)	7 (58%)
ALL	1 (17%)	2 (17%)
CML-BC	0	3 (25%)
非寛解例	5 (83%)	6 (50%)
初回と異なるドナー	6 (100%)	2 (17%)
RIST	6 (100%)	4 (33%)
GVHD 予防		
CsA 中心	5 (83%)	7 (58%)
FK 中心	1 (17%)	2 (17%)
なし	0	3 (25%)
1 年以内の再移植例	3 (50%)	2 (17%)

## <倫理面への配慮>

移植前に再移植の危険性について文書を用いて十分説明し、同意を得た上で移植を行った。

## C. 研究結果

図1に全生存率、図2に移植関連死亡率を示す。BMT/PBSCT群の1年無病生存率は27%であったのに対し、CBT群は67%であった。また、BMT/PBSCT群の1年治療関連死亡率は50%であったが、CBT群は33%（6例中2例のみ）であった。BMT/PBSCT群は最終的に全例再発しているが、CBT群は観察期間が短いものの再発例は認めない。

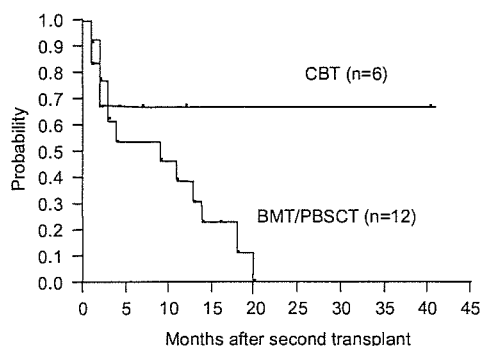


図1. 全生存率

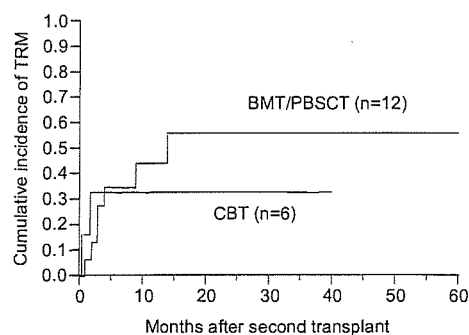


図2. 治療関連死亡率

## D. 考察

移植後再発例に対する再移植の成績を検討したこれまでの報告では、全生存率が約30%とする報告が多い。生存率が低いのは、治療関連死亡率・再発率がともに高いことが大きな要因とされている。今回の検討は症例数が少なく観察期間も短いものの、RI-CBTによる再移植の成績は従来の方法による再移植に比べて良好であった。その理由の一つとして、

緩和的レジメンを用いたことにより、移植後早期の治療関連毒性が軽減されたことが挙げられる。治療関連死亡のリスクファクターはいくつか報告されているが、初回移植から再移植までの期間が短いことが治療関連死亡率を上げるもっとも重要な要因とされている。今回検討したBMT/PBSCT群では、初回移植から再移植までの期間が1年以上経過している例であっても10例中5例が治療関連死している。一方、RI-CBT群6例中治療関連死した2例はいずれも初回移植から1年以内の再移植例であり、初回移植による慢性GVHDを発症していた。今回の検討から、初回移植後白血病再発に対するRI-CBTは安全に施行できることが示唆された。しかし、IBMTRの解析によると、再移植にRISTが用いられた例では再発率が高く、骨髄非破壊的レジメンでは十分な抗腫瘍効果が得られない可能性が指摘されている(Eapen M, et al. Bone Marrow Transplant 2004)。

BMT/PBSCT群では初回と異なるドナーからの移植例が2例(17%)のみであったのに対し、CBT群では全例初回移植時とは異なるドナーからの移植であったことが新たなGVL効果の誘導につながった可能性がある。しかし、これまでの大規模な解析によれば、初回移植とドナーを変更しても生存率や治療関連毒性には差がないことが報告されている(Michallet M, et al. Br J Haematol 2000, Eapen M, et al. Bone Marrow Transplant 2004)。したがって、今回は再移植の移植片として臍帯血を選択したこと自体が好成績につながった可能性がある。Takahashiらは、血縁ドナーからのBMT/PBSCTに比べてCBTでは再発率が低いことを報告している(Takahashi S, et al. Blood 2007)。

## E. 結論

移植後白血病の治療にCB-RISTを用いることによって治療関連死亡が減少し、初回移植では得られなかった新たなGVL効果が得られる可能性が示唆された。今後、さらに症例を重ねて移植後再発例に対するCB-RISTの有用性を検討する必要がある。

## F. 健康危機情報

該当なし

## G. 研究発表

### 論文発表

1. Takami A, Shimadoi S, Sugimori C, Takemoto K, Shibayama M, Yoshida T, Murayama T, Nagai K, Miyamura K, Asakura H, Nakao S. Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia with imatinib followed by reduced-intensity unrelated cord blood transplantation after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation. *Int J Hematol.* 84: 170-173, 2006.
2. Takami A, Takamatsu H, Yamazaki H, Ishiyama K, Okumura H, Ohata K, Konaka H, Asakura H, Namiki M, Nakao S. Reduced-intensity unrelated cord blood transplantation for treatment of metastatic renal cell carcinoma: first evidence of cord-blood-versus-solid-tumor effect. *Bone Marrow Transplant.* 38: 729-732, 2006.
3. Sugimori C, Yamazaki H, Feng X, Mochizuki K, Kondo Y, Takami A, Chuhjo T, Kimura A, Teramura M, Mizoguchi H, Omine M, Nakao S. Roles of DRB1\*1501 and DRB1 \*1502 in the pathogenesis of aplastic anemia. *Exp Hematol*, 35: 13-20, 2007.

## 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

### 研究要旨

本研究は難治性小児がん患児において純化造血幹細胞を用いた移植術を施行することにより、小児がん治療成績の飛躍的向上を目指している。純化細胞として従来から CD34 陽性細胞が臨床応用されているが、本研究では新たに造血幹細胞のマーカーとして認識されてきた CD133 陽性抗原を標的とし、純化 CD133 陽性細胞移植術の臨床応用を計画した。純化 CD133 陽性細胞移植施行症例は世界的にも少ないが、その移植細胞としての有効性は、再生医療分野での使用も含めて確認されつつある。純化処理された CD133 陽性細胞も従来の未処理細胞と同等に骨髓機能を再構築できることは確認されたが、移植前大量化学療法には多くの問題点が残されている。

### A. 研究目的

単回の大量化学療法で残存腫瘍を根絶させる治療戦略の限界が論じられてきた。その対策として、中等量複数回の化学療法による制がん効果の増強、同種移植術後の同種免疫効果による難治性小児がんの再発抑制、自家移植片への腫瘍細胞混入防止による移植片の品質向上などの手段が考えられる。同種免疫による制がん効果は、ドナーリンパ球輸注や RIST と呼ばれる手法で世界的に実施されてきた。

本研究では、小児 ALL 治療における同種移植術の治療成績向上を目指し、毒性が強い単回の大量化学療法だけで根治を目指すのではなく、移植直前の体内腫瘍細胞量を可能な限り少なくするための手段として、小児 ALL 患児の腫瘍細胞に発現しない CD133 抗原を利用した。同時に、固形腫瘍患児の自家移植術併用大量化学療法では、1回の薬剤用量を下げ毒性を軽減し、複数回の大量化学療法を実施する方法を採用した。このような方法で化学療法の制がん効果を失うことなく、安全に移植術を行うことを目的とした。

### B. 研究方法

#### 1) 造血幹細胞純化

純化 CD34 陽性細胞の手技と同様に、CD133 陽性細胞を CliniMACS®を用いて純化した。純化のためのキット類は Milteyni 社（ドイツ）から購入した。G-CSF 動員末梢血幹細胞（CD34 陽性細胞あ

るいは CD133 陽性細胞）を含む単核球をアフエレーシスで採取し、抗原抗体反応を利用して CliniMACS で純化した。目標細胞数は従来の知見に基づき純化細胞として  $3 \times 10^6/\text{kg}$  とし、採取できるまでアフエレーシス・純化を繰り返すことを基本としたが、骨髓機能が特に疲弊している患児では、コストベネフィットを考慮して採取・純化は2回と設定した。

#### 2) 対象と方法

大量化学療法が必要な小児固形腫瘍、再発小児 ALL を対象として、化学療法後の骨髓回復期に G-CSF を投与して末梢血幹細胞を動員した。基本的に血小板が  $10 \text{ 万}/\mu\text{l}$  に達する時点から5日間投与し、5日目と6日目にアフエレーシスを施行した。アフエレーシスの2日目に CliniMACS を用い、目的に応じて CD34 陽性細胞と CD133 陽性細胞を純化し、 $-130^\circ\text{C}$  の冷凍庫内に保存した。凍害防止液は DMSO の最終濃度が5%になるように調整した。プログラムドフリーザーは使用しなかった。

腫瘍細胞量を減少させるための中等量～大量化学療法を施行後、凍結純化細胞を  $37^\circ\text{C}$  で急速に融解し、そのまま中心静脈ラインから点滴静注した。その後の管理は通常の造血幹細胞移植術と同様である。

## <倫理面への配慮>

すべての治療は鹿児島大学医学部・歯学部附属病院臨床倫理委員会の審査を経て実施した。また、患者およびその家族には研究的な面を有する治療法であることを説明し、文書による同意をえた後に実施した。

## C. 研究結果

### 1) 細胞の動員および純化

合計 10 例の患児において末梢血幹細胞を動員採取したが、神経芽腫の 1 例を除き動員効果は十分で、中央値 77.3 (15.1 – 1,420) x 10<sup>6</sup> 個の細胞がアフエレーシスで採取できた。動員効果が悪かった神経芽腫症例 (2 歳女児) では、末梢血幹細胞動員前の 4 クールの化学療法後の造血機能回復が悪く、すでに骨髓機能が疲弊していたと考えられる。一方、再発 ALL や髄芽腫で採取までの化学療法歴が短い症例では、大量に採取できた (800-1,420 x 10<sup>6</sup> 個)。純化を前提にした採取は原疾患との関係が重要であるが、早期に実施する方が効率的である。

処理後細胞分画内の標的細胞純度は中央値 75.1 (14.1-99.1)% で、回収率は中央値 79.4 (60-271)% であった。細胞処理後の純度は採取細胞数と強く関連した。

### 2) 移植結果

小児固形腫瘍患児 5 例 (7 回)、小児 ALL 患児 2 例に、CD34 あるいは CD133 陽性細胞移植術を施行した。造血機能回復が観察できた 6 回の移植では、好中球の回復は速やかであった。しかし、血小板数の回復は一部で遷延した。感染症の発症率については問題なかった。ダブルトランスプラントを実施した 3 例では、1-3 か月のインターバルで移植が安全に実施された。しかし、難治例の固形腫瘍 (ユーイング肉腫、PNET) では、2 回目の移植後 3 か月で再発した。

## D. 考察

CD133 抗原はヒトに特有の血球分化抗原で、非常に幼弱な造血前駆細胞に発現することが知られている。CD34 抗原のようにマウスに発現していないため、前臨床段階の動物実験ができない。実際の研究的治療データの蓄積が重要である。

本研究によって臨床的に移植術に使用できることが証明された。小児に最も多い腫瘍である急性リ

ンパ芽球性白血病では、腫瘍細胞に CD34 抗原が高頻度に発現するため、CD34 抗原を利用した自家移植は腫瘍細胞混入の観点から問題があり、CD133 抗原を利用することの意義は大きい。

CD133 陽性細胞純化は CD34 陽性細胞純化と同様に、末梢血への動員効果が不良な場合の純化効率の改善が問題となる。元来末梢血中に微量しか存在しない細胞を標的としているため、また直接の細胞数算定ではなくサンプリング検体から総細胞数を推定する方法をとらざるをえないので、FACS での算定及び換算方法の統一化は必須である。算定方法が国際的に標準化された 1994 年以降、世界中の臨床現場で数多く使用されてきた CD34 陽性細胞と同様に、CD133 陽性細胞を造血幹細胞として移植に利用できるが、最終的には臨床移植結果からその有効性が検証されなければならない。

CD133 陽性細胞を同種移植術の分野で活用する方法は、白血病の自家移植術ではダブルトランスプラントの第一段階での利用が見込まれ、同種移植術では生着後にドナーキメリズムが変動した場合の「造血幹細胞追加輸注」が考慮される。一方、自家移植術の分野で活用するには、腫瘍細胞に CD34 抗原を発現し CD133 抗原を発現しない急性リンパ性白血病やその他の小児がんが対象となるが、同時に安全性・有効性が高い移植前大量化学療法の確立が必要である。

## E. 結論

小児におけるがん治療の基本は「治癒を目指す」ということであり、そのための大量化学療法・放射線療法が開発されてきた。その目的に呼応して臨床的に利用されているのが造血幹細胞移植術である。移植術の基本は移植細胞の採取であるが、本研究では採取した移植細胞を造血幹細胞とくに CD34・CD133 陽性細胞を純化してがん治療に応用することを目指してきた。

その結果として、純化 CD133 陽性細胞移植術後には自家末梢血幹細胞移植術後のような急速な血小板数回復は認めず、通常の骨髓移植後に認められる着実な血小板回復パターンを示した。

CliniMACS を用いた細胞純化方法は、難治性小児がんの細胞療法に安全かつ正確に実施できるが、造血機能回復を目的とした幹細胞救済療法としての利用では、抗腫瘍効果が十分に発揮できる大量化

学療法との組み合わせが必須である。しかし、小児患者の場合には晩期障害をどのように予防するかという問題があり、大量化学療法の有効性の検証は極めて難しくまた時間が必要である。

#### F. 健康危機情報

該当なし

#### G. 研究発表

##### 論文発表

1. Watanabe H, Watanabe T, Suzuya H, Wakata Y, Kaneko M, Onishi T, Okamoto Y, Abe T, Kawano Y, Kagami S, Takaue Y: Peripheral blood stem cell mobilization by granulocyte colony-stimulating factor alone and engraftment kinetics following autologous transplantation in children and adolescents with solid tumor. **Bone Marrow Transplant**, 37:661-668, 2006.
2. Ijichi O, Ishikawa S, Shinkoda Y, Tanabe T, Okamoto Y, Takamatsu H, Inomata Y, Kawano Y. Response of heavily treated and relapsed hepatoblastoma in the transplanted liver to single-agent therapy with irinotecan. **Pediatr Transplant**, 10:635-638, 2006.
3. Shinkoda Y, Tanaka S, Ijichi O, Yoshikawa H, Nonaka Y, Tanabe T, Nishikawa T, Ishikawa S, Kaji T, Tahara H, Takamatsu H, Nagata K, Kawano Y. Successful Treatment of an Endodermal Sinus Tumor of the Vagina by Chemotherapy Alone: A Rare Case of an Infant Diagnosed by Pathological Examination of Discharged Tumor Fragment. **Pediatr Hamatol Oncol**, 23:563-569, 2006.
4. Shinkoda Y, Ijichi O, Tanabe T, Nishikawa T, Manago K, Ishikawa S, Kodama Y, Okamoto Y, Ikarimoto N, Kawano Y. Rapid progression of metastatic osteosarcoma after initiation of a reduced-intensity conditioning regimen with immunosuppressive fludarabine. **Ped Transplant**, 10:822-825, 2006.
5. Suita S, Kinoshita Y, Tajiri T, Hara T, Tsuneyoshi M, Mizote H, Inada H, Takamatsu H, Kawano Y, Inomata Y, Nagasaki A, Ono Y,

Handa N, Okamura J, Ishii E, Kawakami K, the committee for pediatric solid malignant tumors in the Kyushu area: Clinical characteristics and outcome of Wilms tumors with favorable histology in Japan: a report from the study group for pediatric solid malignant tumors in the Kyushu area, Japan. **J Pediatr Surgery**, 41:1501-1505, 2006.

##### 学会発表

1. Okamoto Y, Watanabe T, Watanabe H, Onishi T, Kagami S, Kawano Y. Effective sequential harvests of G-CSF mobilized peripheral blood stem cells. 32<sup>th</sup> Annual Meeting of the EBMT, Hamburg, Germany, March 19-22, 2006.

#### 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



『移植前処置関連毒性の検討』

分担研究者 松井利充 神戸大学大学院医学系研究科/応用分子医学講座 血液・腫瘍内科 助教授

研究要旨

同種造血幹細胞移植急性 GVHD 予防剤としてのミコフェノール酸モフェチル (MMF) 増量の安全性・有用性を、その活性本体であるミコフェノール酸 (MPA) 血中濃度測定に基づき検討した。1日2回投与では MMF1 回投与量 20mg/kg 以上の増量効果は得られなかったが、MMF に基づく重篤な合併症はなく早期の生着が確認された。また、1989 年から 2006 年 9 月までに神戸大学造血幹細胞移植コンソーシアムで施行した造血幹細胞移植 344 例における、SOS の発症頻度、診断と治療について後方視的に解析した。さらに、Defibrotide (DF) の安全性・有用性につき引き続き検討した。

A. 研究目的

カルシニューリン拮抗剤にメトトレキサート (MTX) を併用する従来型の GVHD 予防法は、移植早期の「移植前処置関連毒性」(Regimen-related toxicities: RRT) による消化管粘膜障害を強め、好中球減少性発熱や生着遅延の原因にもなることが知られながらも、長年にわたり標準的治療法として用いられてきた。MTX の代替薬として、欧米ではミコフェノール酸モフェチル (MMF) が、その強力な免疫抑制効果と粘膜障害等の副作用が少ない点から、積極的に使用されるようになってきている (Blood 12:2021, 2003, Ann Hematol. 83:551, 2004)。MMF は消化管粘膜・肝臓・血液等で加水分解を受け、その活性体であるミコフェノール酸 (MPA) となり、選択的にリンパ球増殖・機能を抑制する。拒絶反応抑制効果は、MPA の血中濃度時間曲線下面積 (AUC) に依存し、通常の臓器移植 (腎・肝・心等) においては、AUC<sub>0-12h</sub> 30~60 $\mu\text{g}\cdot\text{hr}/\text{ml}$  を推奨されている。同種造血幹細胞移植後の aGVHD 予防および治療薬としてだけでなく、MTX と比較し粘膜障害が少なく、また移植片の生着促進効果が報告されている (Transplant. 67:499, 1999, Transplant Proc. 34:2922, 2002, Bone Marrow Transplant. 34:621, 2004, *ibid* 35:1089, 2005)。MMF 投与の有用性は示唆されるが、未だ標準的投与法の確立には至っていない。また MMF の投与量あるいはトラフ値から、有効性を補償する MPA の AUC を推測することは困難であり、通常の臓器移植において推奨

される AUC には至ることが少ないとの報告もある (Ther Drug Monit. 28:394, 2006)。すなわち、同種造血幹細胞移植後の生着促進および GVHD 予防を目的とした、MPA の血中濃度測定に基づく至適 MMF 投与法の確立が必要である。これまでに、私たちは、MPA 血中濃度測定系を確立し、同種造血幹細胞移植を行った 7 症例における MMF の PK 解析により MPA の血中濃度は個体差が大きく、トラフ値から AUC を推測出来ないことや平均 AUC<sub>0-12h</sub> は、臓器移植における推奨値の 1/2~1/3 であることを明らかにしてきた。今回、同種造血幹細胞移植を行う患者における PK 解析に基づく MMF の用量増加 (第 I 相試験) を試みた。

類洞閉塞症候群 (SOS) は、放射線や化学療法による肝内細静脈や類洞の内皮細胞障害に伴って凝固系の活性化が起こり、このために血栓性静脈閉塞を来すと考えられている致死的な移植後合併症の一つであり (Gastroenterology. 1980)、発症頻度は数%~54%とされ、致死率については全体の 28%、重症例においては 98%と報告されている (Ann Intern Med. 1993, Blood. 1998)。しかしながら、現在確立された治療法は存在しない。今回、私達の神戸大学関連の移植グループで経験した SOS の診断と治療について後方視的に検討した。

## B. 研究方法

以下に MMF 用量増加試験を行った 7 例の患者背景をしめす。

	疾患	病状	移植源	前処置	GVHD 予防薬
1	ALL(L2)	CR1	sibling-PBSC(2-miss)	TBI+CY+ATG	FK506
2	MDS(RAEBII)	SD	u-BM	TBI+CY	FK506
3	ALL(L2)	CR2	CB(1-miss)	TBI+CY	FK506
4	AML/tMDS	SD(RA)	CB(full)	TBI+CY	FK506
5	AML/tMDS	CR1(RA)	CB(3-miss)	Flu+Mel+TBI	FK506
6	ALL(L2)	CR1	u-BM	TBI+CY	FK506
7	MDS(RAEBII)	SD(RA)	CB(3-miss)	Flu+Mel+TBI	FK506

MMF 投与法は移植当日 (Day0) の 21 時より、初回 MMF 1 回 15mg/kg を 1 日 2 回 12 時間毎 (9 時および 21 時) に、経口投与を開始した。Day2・9・16 において、MPA の AUC0-12h が、30~60 $\mu$ g $\cdot$ hr/ml を目標に、1 回量 250mg の単位で投与量を増減した。ただし 1 回最大投与量は、投与限度量である 1500mg までとした。投与は移植後 Day30 の 21 時まで継続し、以後中止とした。日内変動および投与期間内の血中濃度変化をモニタリングするため、移植後 2、9、16 $\pm$ 1 日目に内服前 (トラフ値: 9 時)、内服 1、2、4、8 および 12 時間後に血漿採血を行い、MPA の血中濃度測定を行った。血中濃度測定は High-performance liquid chromatographic method (HPLC 法) を用いて行い、MPA の血中濃度曲線下面積 (AUC) を計算した。SOS の診断と治療について後方視的研究の対象は 1989 年から 2006 年 9 月までに神戸造血幹細胞移植コンソーシアムの 2 施設で施行した造血幹細胞移植 344 例 (同種 216 例、自家 128 例) のうち、SOS と診断された 15 例について検討した。SOS の診断基準として McDonald らの基準: (Modified) Seattle Criteria を用いた。治療効果の判定は以下のように定義した。Responder: 治療により、T-Bil が 2.0mg/dl 未満となり、他の臓器障害も完全に消失した場合、または剖検にて SOS の所見が消失していた場合、Non-responder: 治療にても SOS は軽快せず、死亡した場合 (直接死因は問わない。) SOS と診断された症例の背景

No.	age	Sex	Disease	Stem cell	HLA	Conditioning	GVHD proph.
1	41	F	CMLAP	urBMT	6/6	TBI/CA/CY	CSP+sMTX
2	48	M	B-LBL	rPBSC	6/6	BU/CY	CSP+sMTX
3	33	F	AML(M4) CR1	CBT	5/6	TBI/CY	CSP+sMTX
4	44	M	CML BC	urBMT	6/6	BU/CY/VP-16	CSP+sMTX
5	55	M	CML CP2	urBMT	6/6	TBI/CY	FK506+MMF
6	53	M	AML (M3) CR2	CBT	4/6	Flu/Bu	CSP+MMF
7	52	F	RAEB in T	rBMT	6/6	CA/CY/TBI	CSP+sMTX
8	25	F	AML(M2) CR1	urBMT	6/6	CA/CY/TBI	FK506+sMTX
9	49	F	RAEB	urBMT	6/6	TBI/Flu/BU	FK506+sMTX
10	39	M	DLBCL	autoPBSC	N/A	MCVC	N/A
11	58	M	DLBCL	autoPBSC	N/A	MCVC	N/A
12	37	M	AML(M4) CR1	urBMT	6/6	TBI/CY	FK506+MMF
13	17	F	SAA	rBMT	6/6	CY/ATG	CSP+sMTX
14	58	F	EMS	urBMT	6/6	TBI/Flu/BU	FK506+sMTX
15	59	F	ALL Ph+	rPBSC	5/6	TBI/CY/ATG	FK506+MMF

### <倫理面への配慮>

MMF 投与ならびに薬物血中濃度測定の採血に際し、本学倫理委員会にて承認(受付 400 号)を得た文書に基づき、患者ならびに家族への説明を行うとともに、文書による同意を得た。重症 SOS は必ずしも頻度は高くないが、致死率の高い緊急性疾患である。現在、確立された救命的治療法がなく、安全性が高いとされる DF の使用は倫理的には問題が少ないと考えられるが、患者ならびに家族への説明と文書による同意を得た受けうへで、主治医の責任において DF を輸入した。DF の緊急輸入に当たっては、厚生労働省に正式な手続きを行ったうえで、患者限定の使用を前提に利害関係を持たない第三者の業者の仲介により輸入した。

### C. 研究結果

MMF 投与患者において、MTX 投与で高頻度に見られる GradeIII(NCI-CTC AEver.2.0)以上の口腔粘膜障害の発症は見られなかった。MMF 投与の増量により、有害事象をきたしうる中毒域に達することはなかったが、1日2回投与では、MMF1回投与量 20mg/kg 以上の増量効果は得られなかった。また MMF 内服によるものと考えられる副作用の合併は見られなかった。7 症例中 3 例で (2 例は Day30 日以内) サイトメガロウイルス抗原血症が見られた。7 例中 1 例において、Day30 以降における GradeIV の aGVHD に対し MMF の再投与を行い、改善が得られた。

SOS 発症率は全体で 4.4% (15/344)、同種移植 6.0%(13/216)、自家移植 1.6%(2/128)であった (p=0.05)。年齢は 17-59 歳 (中央値 48 歳)、性別は M/F=7/8 であった。疾患は AML4 例、CML3 例、MDS2 例、NHL2 例、LBL, SAA, EMS, ALL がそれぞれ 1 例ずつであった。前処置は TBI レジメンが 8 例、non-TBI レジメンが 7 例、骨髄破壊的前処置が 12 例、非破壊的前処置が 3 例であった。発症時期は 2-21 日 (中央値 10 日) であった。同種移植では GVHD 予防としてシクロスポリンあるいはタクロリムスに加え、MTX あるいは MMF を使用した。腎不全は 80%、呼吸不全は 75%に合併しており、致死率はそれぞれ 58.3%と 80.0%であった。移植後 100 日以内の早期死亡は 66.6%であり、SOS による死亡は 33.3%であった。治療はウルソ(n=12)、AT-III(n=9)、デフィブロタイド(n=8)、ダルテパリ

ン(n=4)などが投与されたが、全体の奏効率は 40.0%であった。デフィブロタイド投与群の奏効率は 37.5%であった。Responder と Non-responder との比較では腹水の有無と呼吸不全の発症に有意差が認められた。Non-responder の生存期間の中央値は 30 日 (10-53)であった。

### D. 考察

MMF1 回 20mg/kg 以上の増量投与において、用量依存性の血中濃度の上昇は確認されず、1 回投与量は 20mg/kg が妥当と思われた。AUC0-12h が  $30\mu\text{g} \cdot \text{hr/ml}$  を超えることがない以上、1 回 20mg/kg の投与にて有害事象を誘導する中毒域に達する患者はないと予想される。MMF 1 回投与量の増量により AUC0-12h の上昇が認められないため、単位時間当たりの AUC(Css)増加を期待するには、1 日 3 回 8 時間毎の投与が考えられた(Blood 106: 4381, 2005, Ther Drug Monit. 28: 394, 2006, Biol Blood Marrow Transplant. 12: 454, 2006)。また、Day30 以降の急性 GVHD 発症に対して、MMF の再投与が有効であり、Day30 における中止ではなく Day30 以降の漸減の必要性が考えられた (Biol Blood Marrow Transplant. 10:246,2004、Biol Blood Marrow Transplant. 11:495,2005)。

SOS の診断基準は決して SOS に特異的なものではない。除外すべき病態は、感染症、薬剤性肝障害、ウイルス肝炎、急性 GVHD など多岐にわたる。一般的に、骨髄非破壊的前処置では SOS の発症は少ないとされているが (Blood 2004)、今回、TBI-Flu-BU を前処置として非血縁者間同種骨髄移植を実施した症例も含まれており、注意が必要である。治療の反応性において、診断時の総ビリルビン、体重増加率、年齢、発症日には相関を認めず、腹水の有無と呼吸不全の発症に有意な相関を認め、これらの要因は治療抵抗性の予測因子となる。tPA(およびヘパリン)は SOS に対する治療法として報告されているが、効果は 29%にとどまり、さらに副作用として出血が 88% (重篤な出血例は 28%) に見られ、多臓器不全をきたした症例では推奨されない。アンチトロンピン III(ATIII)については報告例が少ないため、有効性は不明である。私達も ATIII 低下症例については補充療法をしたが、効果は不明であった。移植前に一例はイマチニブ投与を受けていたが、イマチニブは VEGF 産生を低下させ、SOS と

の因果関係が否定できない。SOS 治療に対するデフィブロタイド (DF) の有効性が報告されて以降、欧米を中心に使用報告があり、治療効果は中等症および重症の SOS において 35-60%とされている。本検討における奏効率は 37.5%であった。DF の副作用として、低血圧、発熱、消化管障害などが報告されているが、本研究においては 1 例も認めず、また DF の減量を必要とするような有害事象の出現も認めなかったため、DF は安全に投与しようと考えられた。DF の有用性については引き続き、臨床試験として検討中である。

#### E. 結論

MTX に代わる急性 GVHD 予防薬として、MMF の経口投与は、合併症の頻度も少なく安全な予防法の一つと考えられる。本邦では経口薬しか市販されていないが、MTX に比し消化管粘膜障害は軽微で、生着に至るまで全例で内服を継続することができた。また、吸収効率は消化器症状の有無にかかわらず高く、注射剤でなくとも、急性 GVHD に対する一定の予防効果を十分に発揮するものと思われる。さらに、重篤な肝障害を有する患者においても MPA の AUC はさほど影響を受けない点などは、非常に興味深く、また臨床上有用性も高い。今回の検討症例においては薬剤中止後に重篤な急性 GVHD の発症が認められたが、再開により GVHD のコントロールが可能であった。また、好中球生着までの期間を短縮させる傾向がみられ、生着不全あるいは GVHD 予防に有用な投与方法の確立が大いに期待される。

SOS は造血幹細胞移植後の重篤な合併症の一つである。多臓器不全 (特に呼吸不全) を合併した症例については致死率が高く、SOS の治療法のみならず予防法、早期診断の確立が急務である。DF は SOS 治療剤として米国にて臨床第 II/III 相試験中である。DF は抗血栓作用、抗虚血作用、抗炎症作用と血栓溶解作用を併せ持つ単鎖デオキシリボ核酸で、半減期は 9.8-27.1 分と短く、血管内皮細胞に特異的に結合するため、全身的な抗凝固作用がほとんどない。海外では、急性心筋梗塞、深部静脈血栓症の予防、Raynaud 現象などに対しても投与される。DF は SOS の治療薬として唯一期待される薬剤であるにもかかわらず、日本では未だ治験計画されない。医師主導型の臨床試験の立ち上げが急がれ

る。

#### F. 健康危機情報

該当なし

#### G. 研究発表

##### 論文発表

1. Okamura, A., Iwata, N., Tamekane, A., Hamaguchi, M., Fukui, C., Yamamoto, K., and **Matsui, T.** Casein kinase I $\epsilon$  down-regulates phospho-Akt via PTEN following genotoxic stress-induced apoptosis in haematopoietic cells. *Life Science*, 78:1624-1629, 2006.
2. Sakuma, T., Hayashi, Y., Kanomata, N., Murayama, T., **Matsui, T.**, Kajimoto, K., Hanioka, K., Chihara, K., and Maeda, S. Histological and cytogenetic characterization of bone marrow in relation to prognosis and diagnosis of myelodysplastic syndromes. *Pathol Int*, 56:191-199, 2006.
3. Yamamoto, K., Nishikawa, S., Minagawa, K., Yakushijin, K., Okamura, A., **Matsui, T.** Therapy-related myelodysplastic syndrome with inv(16)(p13q22) and I type *CBFB/MYH11* after autologous transplantation: undetectable fusion transcript in pretransplant progenitor cells. *Leukemia Res*, 30:354-361, 2006.
4. Tanaka, Y., Kurata, M., Togami, K., Fujita, H., Watanabe, N., Matsushita, A., Maeda, A., Nagai, K., Sada, A., **Matsui, T.** and Takahashi, T. Chronic eosinophilic leukemia with FIP1L1-PDGFR $\alpha$  fusion gene in a patient with a history of combination chemotherapy. *Int J Hematol*, 83:152-155, 2006.
5. Yamamoto, K., Kawano, H., Nishikawa, S., Yakushijin, K., Okamura, A., **Matsui, T.** A biphenotypic transformation of 8p11 myeloproliferative syndrome (EMS) with CEP1/FGFR1 fusion gene. *Eur J Hematol*, 77:349-354, 2006.
6. Namba, N., Shinagawa, K., Fujii, N., Maeda, Y., Ishimaru, F., Ikeda, K., **Matsui, T.**, Tanimoto, M., Katayama, Y. Predominant infiltration of