

厚生労働科学研究費補助金 再生医療等研究事業  
分担研究報告書

臍帯血を用いる造血幹細胞移植技術の高度化と安全性確保に関する研究  
研究課題 小児における臍帯血移植（至適前処置と GVHD 予防法の確立）

分担研究者 磯山恵一 昭和大学藤が丘病院小児科 教授

研究要旨

非血縁臍帯血移植で明らかにされてきた問題点の一つとして、移植後の生着不全が多いことがあげられる。それを克服し標準的な移植法を確立するための研究と本研究計画を策定した。研究概略と進捗状況および今後の研究進展の一助とするため研究計画に対するアンケート調査を行った。

小児急性白血病に対するリン酸フルダラビンを用いた臍帯血移植の前処置の安全性・有効性に関する研究計画とアンケート調査結果

I. 研究計画

目的：非血縁臍帯血移植における至適前処置および GVHD 予防を確立するため、非血縁臍帯血移植が適応となる小児急性白血病患者に対しリン酸フルダラビン、全身放射線照射、シクロフォスファミドを用いた前処置を行い、安全性・有効性を検討する(図1)。対象患者と選択基準：以下のすべての条件を満たす患者を対象とする。非血縁臍帯血移植が必要と判断された急性白血病でかつ、初回の造血細胞移植として行われる患者、年齢は 6 ヶ月以上 16 歳未満、体重あたり  $2 \times 10^7$ /kg 以上の細胞数を含む HLA 2 抗原不一致までの臍帯血が臍帯血バンクで見つかった患者、informed consent (IC) が文書で得られている患者、研究に支障を来す臓器機能障害がないこと。

移植計画：前処置：12Gy の全身放射線照射 (TBI) + シクロフォスファミ (CY) 120mg/kg + リン酸フルダラビン (FL) 125mg/m<sup>2</sup> を用いる。詳細は図 2 に示す。

臍帯血移植：臍帯血を day0 (移植日) に 37°C の恒温槽で解凍した後、直ちに輸注する。

GVHD 予防法：GVHD 予防はシクロスポリンまたはタクロリムスと短期メソトレキサート (MTX) を使用する。

評価項目：以下の項目について解析を行う。

主要評価項目：移植後 100 日までの生着。

副次的評価項目：生着速度、無イベント生存 (EFS) 率、全生存 (OS) 率、移植後 100

日生存率、急性 GVHD の頻度とその重症度、慢性 GVHD の頻度とその重症度、感染症合併

頻度、前治療による毒性 (移植後 28 日以内)。

予定登録数と研究期間：予定登録数；30 例。

登録期間；2 年。追跡期間；最終症例の移植

後 1 年。研究期間；3 年。

研究組織、参加施設と登録：研究組織は表

1 のとおりである。研究開始時および 2007

年 6 月の 2 回、当該研究に対する参加募集

を行なった。小児白血病に対し造血細胞移植を行なっている全国施設のうち17施設が参加を表明した。初回参加希望の表明のあった施設の中から担当者に研究計画委員を依頼した。計画書の完成は2006年10月である。各施設に計画書を配布とIRBへの承認を経て症例登録開始は2006年11月から開始されている。しかしながら現在までのところ、登録基準に合致し登録が承認され治療が開始された症例は2007年12月の1件である。登録予定数は最大30例であり現在も登録受付を継続中である。

## II. アンケート調査

今後、登録数を増やすための方法を明らかにするため研究参加施設に対しアンケート調査を行ない問題点の検討を行なった。調査内容は、施設内IRBの承認の有無、登録のための問題点の抽出項目である(表2)。調査票の送付、回収はC-SHOTを介し郵送で行なった。

結果：参加を表明している施設のうち各施設内IRBへ申請し承認されているのは13施設であった(表3)。参加17施設から回収された結果は別紙のとおりであった(表4, 5)。

結論：アンケート結果から、対象となる症例数が少ない可能性があることが明らかになった。理由として、移植を必要とする急性白血病患者に対する数種類のプロトコールが同時進行していることや、化学療法の効果が高まっていること、標的療法やRISTなどの新たな治療法が混在する等、選択肢が多様化していることが一因である。症例登録を増加させ、小児臍帯血移植における生着不全を改善するための方法を確立するためには、研究主目的に対する理解が得られるよう他の小児白血病研究グループに対する働きかけ等を幅広く行なう必要性あると考えられた。

## 表 1 研究組織

### 研究グループとグループ代表者

主任研究者 東海大学医学部基盤診療学系再生医療科学教授 加藤 俊一  
分担研究者 昭和大学藤が丘病院小児科助教授 磯山 恵一

### 研究事務局

登録事務局（責任者；加藤俊一、担当者；吉場史朗、事務；吉永希世子）  
〒259-1193 伊勢原市望星台  
東海大学医学部基盤診療学系再生医療科学  
TEL 0463-93-1121(内線 2311) FAX 0463-91-6235

### 適応判定委員

名古屋第一赤十字病院小児科部長 加藤 剛二  
昭和大学藤が丘病院小児科助教授 磯山 恵一

### データセンター

〒466-8550 名古屋市昭和区鶴舞町 65  
名古屋大学大学院医学系研究科予防医学/医学推計・判断学  
NPO 法人 血液疾患臨床研究サポートセンター (C-shot)  
TEL052-745-3116 FAX 052-745-3117

### キメリズム検査施設

〒259-1193 伊勢原市望星台  
東海大学医学部附属病院 細胞移植再生医療科 担当者 土田文子  
FAX 0463-92-2695 TEL 0463-93-1121(代表)

### 研究協力者・プロトコール作成委員

佐賀大学医学部小児科助教授	石井榮一
大阪府立母子保健総合医療センター小児内科	井上雅美
横浜市立大学医学部小児科講師	後藤裕明
大阪市立総合医療センター血液腫瘍科部長	原 純一
茨城県立こども病院院長	土田昌宏
弘前大学医学部小児科	高橋良博
兵庫県立こども病院血液腫瘍科部長	小阪嘉之
名古屋第一赤十字病院小児科部長	加藤剛二
九州大学医学部保健学科教授	松崎彰信
埼玉県立小児医療センター血液腫瘍科医長	菊地 陽
名古屋大学大学院医学系研究科予防医学	熱田由子

### 効果・安全性評価委員

兵庫医科大学輸血部教授	甲斐俊朗
東京都立駒込病院血液内科部長	坂巻 壽

## 表2 症例登録に関するアンケート

1.小児臍帯血移植の臨床研究プロトコールについてお聞きます。

自施設内の倫理委員会(IRB)で承認をうけている	12
参加する予定であるが、まだ倫理委員会の承認をうけていない。	5

2.IRBにて承認を受けておられる施設にお聞きます。

適格性条件をみたく症例があったが、本試験にエントリーしていなかった。	9
本プロトコールに魅力がないのでエントリーは考えていない。	3
すでに論文化されたものの追試的で新鮮さに乏しい	0
毒性が強すぎる。	1
対象年齢の症例には、非照射レジメンがよい。	1
他のプロトコールにエントリーしている。	1

## 表3 IRB承認施設リスト

No.	参加施設名	科名	IRB承認日	登録患者数
1	東海大学医学部付属病院	細胞移植再生医療科	2006年12月29日	0
2	大阪府立母子保健総合医療センター	小児内科	2007年1月17日	0
3	埼玉県立小児医療センター	血液・腫瘍科	2007年12月22日	1
4	北海道大学大学院医学研究科	小児科学分野	2007年2月10日	0
5	昭和大学藤が丘病院	小児科	2007年3月8日	0
6	近畿大学医学部附属病院	小児科	2007年3月14日	0
7	兵庫県立こども病院	血液腫瘍科	2007年3月21日	0
8	札幌医科大学	小児科学講座	2007年4月6日	0
9	兵庫医科大学	小児科学講座	2007年12月13日	0
10	神戸市立医療センター中央市民病院	小児科	2007年3月13日	0
11	茨城県立こども病院	小児科	2007年7月6日	0
12	大阪大学大学院医学系研究科	小児科	2007年11月3日	0
	合計	12施設		1症例

2007年12月31日現在

表4 症例登録に関するアンケート集計結果(回答 17 施設)

アンケート項目	A 施設	B 施設	C 施設	D 施設	E 施設
1.小児臍帯血移植の臨床研究プロトコールについてお聞きします					
自施設内の倫理委員会(IRB)で承認をうけている	○	○	○	○	○
参加する予定であるが、まだ倫理委員会の承認をうけていない					
2.IRB にて承認を受けておられる施設にお聞きします					
これまでに適格性条件を満たす症例がなかったため登録していない	○	○	○	○	○
適格性条件をみたす症例がいたが、本試験にエントリーしていなかった					
(理由)					
本プロトコールに魅力がないのでエントリーは考えていない					
すでに論文化されたものの追試的で新鮮さに乏しい					
毒性が強すぎる					
対象年齢の症例には、非照射レジメンがよい					
他のプロトコールにエントリーしている					
その他コメント	条件が限られている為登録が難しい(E 施設)				

アンケート項目	F施設	G施設	H施設	I施設	J施設
1.小児臍帯血移植の臨床研究プロトコールについてお聞きます					
自施設内の倫理委員会(IRB)で承認をうけている	○	○	○	○	○
参加する予定であるが、まだ倫理委員会の承認をうけていない					
2.IRBにて承認を受けておられる施設にお聞きます					
これまでに適格性条件を満たす症例がなかったため登録していない	○	○	○	○	
適格性条件を満たす症例がいたが、本試験にエントリーしていなかった					○
(理由)	症例登録直前再発してしまいエントリーできなかった (ダウン症 ALL JACLS 02-SR 再発症例) (J施設)				
本プロトコールに魅力がないのでエントリーは考えていない					
すでに論文化されたものの追試的で新鮮さに乏しい					
毒性が強すぎる			○(RET)		
対象年齢の症例には、非照射レジメンがよい			○		
他のプロトコールにエントリーしている			○ FM-05		
その他コメント	緊急性のある再発例では、臍帯血よりもDLIの事を想定し血縁不一致を優先することが多くなっている。(F施設) 骨髄バンクドナーを優先しているため症例なし(G施設) 急性白血病以外も適応にいれではどうか?(JMML.CML.場合によっては MDS や AA など) (H施設) 再移植例に同プロトコール施行し経過良好(I施設)				

アンケート項目	K施設	L施設	M施設	N施設	O施設
1.小児臍帯血移植の臨床研究プロトコールについてお聞きします					
自施設内の倫理委員会(IRB)で承認をうけている					
参加する予定であるが、まだ倫理委員会の承認をうけていない	○	○	○ (申請中)	○	○
2.IRBにて承認を受けておられる施設にお聞きします					
これまでに適格性条件を満たす症例がなかったため登録していない					
適格性条件をみたす症例がいたが、本試験にエントリーしていなかった	○	○			
(理由)	本人、家族が移植合併症の見地から RIST を希望された (K施設) RIST を希望されたため(L施設)				
本プロトコールに魅力がないのでエントリーは考えていない					
すでに論文化されたものの追試的で新鮮さに乏しい					
毒性が強すぎる					
対象年齢の症例には、非照射レジメンがよい					
他のプロトコールにエントリーしている					
その他コメント	症例が来年1月に予定(O施設)				

アンケート項目	P施設	Q施設	合計
1.小児臍帯血移植の臨床研究プロトコールについてお聞きます			
自施設内の倫理委員会(IRB)で承認を受けている			12
参加する予定であるが、まだ倫理委員会の承認を受けていない	○	○	5
2.IRBにて承認を受けておられる施設にお聞きます			
これまでに適格性条件を満たす症例がなかったため登録していない			9
適格性条件をみたす症例がいたが、本試験にエントリーしていなかった			3
(理由)			再発 1例、RIST 2例
本プロトコールに魅力がないのでエントリーは考えていない			
すでに論文化されたものの追試的で新鮮さに乏しい			
毒性が強すぎる			1
対象年齢の症例には、非照射レジメンがよい			1
他のプロトコールにエントリーしている			1
その他コメント	早々に倫理委員会申請を行う。(P施設) 11月倫理委員会にだします。(Q施設)		



## 表5 アンケートによせられたコメント

適格性条件をみたす症例がいたが、本試験にエントリーしていなかった理由

1. 症例登録直前再発してしまいエントリーできなかった  
(ダウン症ALL JACLS 02-SR 再発症例)
2. 本人、家族が移植合併症の見地からRISTを希望された
3. RISTを希望されたため

その他のコメント

1. 条件が限られている為登録が難しい
2. 緊急性のある再発例では、臍帯血よりもDLIの事を想定し血縁不一致を優先することが多くなっている。
3. 骨髄バンクドナーを優先しているため症例がない。
4. 急性白血病以外も適応にいれではどうか？(JMML.CML.場合によってはMDSやAAなど)
5. 再移植例に同プロトコール施行し経過良好。
6. Ph1ALL 寛解導入不応例に実施し2年経過良好。
7. 2007年中に倫理委員会へ提出する(3施設)

厚生労働科学研究費補助金 再生医療等研究事業  
分担研究報告書

臍帯血を用いる造血幹細胞移植技術の高度化と安全性確保に関する研究  
研究課題 臍帯血移植におけるHLA適合度に関する研究

分担研究者 甲斐 俊朗 兵庫医科大学輸血部 教授  
高梨美乃子 (東京都赤十字血液センター)  
東 寛 (北海道赤十字血液センター)  
神前 昌敏 (大阪府赤十字血液センター)

研究要旨

骨髓破壊的前処置による成人 AML に対する臍帯血移植において、アリルレベルでの HLA 適合度は、AGVHD 発症や再発、無病生存に有意な影響を及ぼしており、HLA 一致あるいは 1 座不一致ドナーからの移植は II 度以上の GVHD 発症頻度が低いものの、再発率が高く、無病生存率は低い。また、HLA-DRB1 一致移植では DRB1 不一致移植に比べ GVHD 発症頻度、無病生存率は有意に低かった。

A. 研究目的

HLA 適合度と臍帯血移植の成績を解析し、臍帯血移植における HLA の意義について検討した。

B. 対象および方法

HLA-A, B, DRB1 のアリルタイピングが明らかな成人急性骨髄性白血病 (AML) 初回移植例で骨髓破壊的移植が行なわれた 249 例を対象とした。骨髓破壊的前処置は、8Gy 以上の全身放射線照射 (TBI) を含む前処置あるいは非照射レジメンではブスルファン (BU) 16mg/kg + エンドキサン (CY) 120mg/kg ± 他の抗腫瘍剤が投与されたものである。男性 120 例、女性 129 例、患者年齢の中央値は 37 歳 (範囲; 16 - 67 歳)、体重中央値 55kg (範囲; 36.4 - 92 kg)、移植細胞数は凍結時の NCC、CD34+ 細胞数で中央値 (範囲)  $2.47 \times 10^7 / \text{kg}$  (1.46 - 5.49)、 $0.84 \times 10^5 / \text{kg}$  (0.09 - 3.82)

であった。HLA-A, B, DRB1 は GVH および HVG 方向 一致 (0 mismatch; 0 mm), 1 座不一致 (1 mm), 2 座不一致 (2 mm), 3 座不一致 (3 mm), 4 座不一致 (4 mm) および 5 座不一致 (5 mm) が各々 16, 40, 103, 62, 23, 5 例、および 11, 37, 96, 80, 20, 5 例であった。移植片対宿主病予防にシクロスポリン (CSA) あるいはタクロリムス (FK506) を使用したものが 173 および 73 例、また、MTX 併用例が 192 例で予防法不詳が 3 例あった。移植病期は初回寛解期移植が 67 例、第 2 寛解期移植が 59 例、その他の病期移植が 120 例であった。

好中球生着、II 度以上の AGVHD 発症、移植後 1 年の移植関連死亡 (TRM)、再発率、無イベント生存率 (EFS) におよぼす HLA 適合度、移植有核細胞数 (NCC)、CD34 陽性細胞数、移植病期、GVHD 予防法 (CSA あるいは FK506 を基本とするもの、また MTX の併用の有無) の影響を検討した。有意差検定は log-rank test で行

い、Cox 比例ハザードモデルによる多変量解析を行った。

#### (倫理面への配慮)

ヘルシンキ宣言に基づき臍帯血提供者のインフォームドコンセントは日本さい帯血バンクネットワーク参画各臍帯血バンクにおいて、また患者のインフォームドコンセントは各移植医療機関において取得されており、臍帯血移植は移植医療機関の倫理委員会の承認のもとに実施されているものである。

## C. 結果

### 1) 生着

好中球生着は、249 例中 197 例(79%)に得られ、 $500/\mu l <$  の到達日数は中央値 22 日(範囲; 11-81 日)であった。好中球生着に有意な影響を及ぼす因子は、移植 CD34 陽性細胞数だけであり、CD34 陽性細胞数  $1.7 \times 10^5/kg$  以上の群は  $1.0 \times 10^5/kg$  未満の群と比べ有意に生着が遷延した。GVHD 予防に MTX 併用がなされたかどうか、移植病期、さらには HLA 適合度と好中球生着には関連を認めなかった。

### 2) 急性 GVHD

II 度以上の急性 GVHD の発症は評価可能 211 例中 98 例(46%) (II 度; 71 例、III 度; 19 例、IV 度; 8 例) に認められた。HLA 3mm 以上の群は HLA 0-1mm あるいは 2mm 群に比べ有意に急性 GVHD の発症率が高く(0-1mm vs 2mm vs 3-5mm; 24% vs 47% vs 60%,  $p=0.0003$ )、また、HLA class I (HLA-A and/or B) + class II (DRB1) mm 群、class I 単独 mm 群は class II 単独 mm 及び一致群と比べて GVHD 発症率は高かった(一致 vs class I mm vs class II mm vs class I + II mm; 13% vs 42% vs 30% vs 52%,  $p=0.0148$ )。HLA 各遺伝子座別にみると HLA-B あるいは DRB1 の不一致群は一致群に比較して有意に II 度以上の急性 GVHD の発症率が高かった(単変量解析)。多変量解析でも HLA 0-1

mm は 3-5 mm に比べ、また、0mm、class I 単独 mm は class I + II mm に比べ、また、HLA-DRB1 一致は不一致に比べ有意に GVHD の発症頻度は低かった。GVHD 予防法や移植細胞数、CD34 陽性細胞数、移植病期と GVHD 発症との間に関連は認めなかった。

### 3) 移植関連死亡(TRM)

移植後 1 年における移植関連死亡率は 28% であり、単変量解析では移植病期、GVHD 予防法 (MTX 併用の有無)、HLA-A (HVG 方向) の一致あるいは不一致有意の関連を示したが、多変量解析では MTX 投与の有無だけが関連しており HLA の関連は認めなかった。

### 4) 再発

評価可能 237 例中 60 例に再発がみられた。HLA 0 mm 群、1 mm, 2 mm, 3mm, 4/5 mm 群の再発はそれぞれ 7/15 (47%)、13/37 (35%)、25/101 (25%)、10/60 (17%) および 5/24 (21%) であり、HLA class I (HLA-A and/or B) 単独 mm 群、class II (DRB1) 単独 mm 群、class I + class II mm 群の再発はそれぞれ 18/63 (29%)、7/10 (70%)、28/149 (19%) と、HLA mm 数が多い程、また、HLA class I 単独 mm、あるいは class I + class II mm 群の再発率が低かった。単変量解析では、移植病期、HLA 適合度、HLA-B 座の一致あるいは不一致が有意な影響を及ぼす因子であり、多変量解析でも移植病期とともに HLA 適合度は再発と有意な関連を示した。移植後の急性 GVHD の合併の有無とは有意な関連を認めなかった。

### 5) 無イベント生存(EFS)

成人 AML に対する骨髄破壊的前処置による初回臍帯血移植の 3 年無イベント生存率は 37% であり、移植病期別にみると初回寛解期移植 48%、第 2 寛解期移植 65%、それ以外の病期移植では 17% であった。単変量および多変量解析でも、移植病期、GVHD 予防における MTX の併用の有無の他、HLA 適合度、HLA-DRB1 座適合の

有無がEFSに有意な関連を示した。

HLA GVHD方向 0-1mm、2 mm、3-5 mm群の3年EFSはそれぞれ20%、38%、48%であり、0-1 mmは3-5 mmに比べ (HR 1.606, 95% CI 1.020 - 2.529,  $p=0.0408$ )、また、一致群はclass I+II mmに比べ (HR 2.255, 95% CI 1.241-4.098,  $p=0.0076$ ) 有意にEFSが低かった。

#### D. 考察

臍帯血移植において HLA と移植成績に関しては、1) HLA 不一致数が多い程、好中球や血小板回復が遅延する、2) HLA 6/6 一致では不一致と比較して AGVHD の発症頻度は低いが II-IV AGVHD の発症頻度は HLA 不一致数とは関連しない、3) HLA class I+ II 不一致は重症 GVHD の発症に関係する、4) HLA 一致移植例の再発率は不一致移植例に比べて高い、等の報告がみられる。生存率との関連については、HLA は関連せずとの報告もある一方、Eurocord からは 1,138 例の解析の結果、HLA-A, B low, HLA-DRB1 high resolution typing で HLA 一致移植は 3 抗原不一致移植より有意に成績は良好であるとの報告がみられる。しかし、1 抗原不一致と 2 抗原不一致ではその差は認められていない。また、同じグループは high resolution アリルタイピングされた 122 例の解析の結果、HLA-A, B, DRB1 あるいは HLA-A, B, C, DRB1, DQB1 の不一致数と II-IV AGVHD の発症率および生存率の間には有意な関連はなかったと報告している。今回、HLA-A, B, DRB1 だけであるがアリルタイピングがなされた成人 AML 初回骨髄破壊的移植 249 例に限って HLA の意義について検討した。その結果、成人 AML では、HLA 3-5 不一致群は 0-1 不一致群に比べ有意に II 度以上の AGVHD 発症頻度が高くなるが、再発率は低く、生存には好影響を与えていた。HLA-A, B, DRB1 毎の検討では HLA-DRB1 の不一致移植で一致移植

に比べて有意に II 度以上の AGVHD 発症頻度が高く、3年 EFS が高かった。また、HLA 不一致数の増加は TRM の増加に繋がっておらず、臍帯血移植では AGVHD が発症してもそのコントロールは一般に容易であると言われていることから、HLA 不一致による AGVHD 発症頻度の増加は、移植片白血球効果として EFS の上昇に寄与しているものと考えられる。

今回の結果は Kögler らの報告とは異なるが、彼らの対象例の多くは小児例であり、かつ、種々の疾患を含んでいることが異なる結果になったものと考えられる。HLA-A, B low resolution typing, -DRB1 high resolution typing ではあるが、小児急性白血病や小児非腫瘍性疾患の解析では、HLA 一致例の生存率が最も良いとの報告もあり、臍帯血移植における HLA 適合度の意義を考える場合には、患者年齢や疾患等を考慮した上で多数例での解析が必要であろう。

今後さらに症例を増やすと同時に HLA-C, DQ, DP 等を含めた解析が必要である。

#### E. 結論

骨髄破壊的前処置による成人 AML に対する初回臍帯血移植では、アリルレベルでの HLA 適合度は、移植成績 (II-IV AGVHD 発症や再発、無病生存) に有意な影響を及ぼしており、HLA 一致あるいは 1 座不一致ドナーからの移植は GVHD 発症頻度が低いものの、再発率が高く、無病生存率は低かった。また、HLA-DRB1 一致移植では DRB1 不一致移植に比べ GVHD 発症頻度、無病生存率は低かった。

#### F. 健康危険情報

なし。

#### G. 研究発表

1, 著書

1) 甲斐俊朗：複数臍帯血移植、p18-26 (分担執筆、『Annual Review 2008 血液』高久史磨、溝口秀昭、坂田洋一、金倉謙、小島勢一 編、中外医学社、2007.12、東京)

## 2. 論文発表

1) 甲斐俊朗：6 骨髄バンクと臍帯血バンク、臍帯血バンク 7) 成人臍帯血移植の成績、血液腫瘍科 (特集号、造血幹細胞移植)、55 (suppl.5): 361-366,2007.

2) Okura N, Fujimori Y, Nishioka K, Kai S, Hara H and Ogawa H. Adipocyte differentiation of human marrow mesenchymal stem cells reduces the supporting capacity for hematopoietic progenitors but not for severe combined immunodeficiency repopulating cells. International J of Molecular Medicine.19; 387-392,2007.

## 3. 学会発表

- 1) 甲斐俊朗：臍帯血バンクと臍帯血移植、第 14 回日本輸血・細胞治療学会秋季シンポジウム (2007. 10. 6 高松)
- 2) 甲斐俊朗：シンポジウム、『造血幹細胞移植における組織適合性を見直す』4) 臍帯血移植の立場から、第 6 会日本組織適合性学会近畿地方会、2008. 2. 2 (大阪)
- 3) 甲斐俊朗、高梨美乃子：合同シンポジウム『HLA と同種造血幹細胞移植』、6) 臍帯血移植における HLA 適合の意義、第 30 回日本造血細胞移植学会、2008. 2. 29 (大阪)

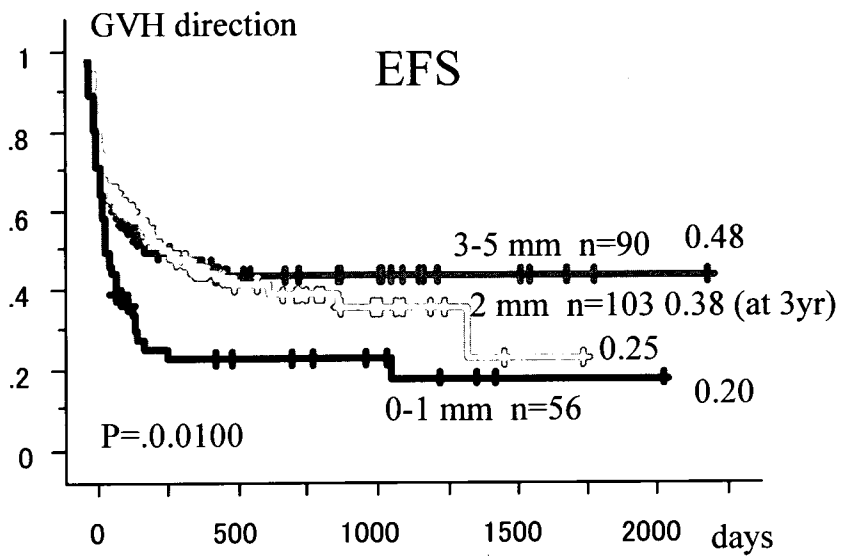


図1、HLA 適合度と無イベント生存率

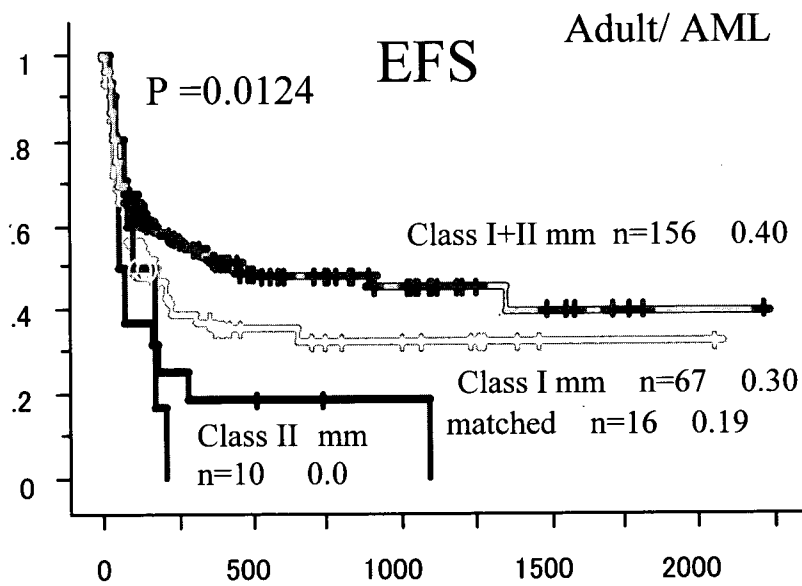


図2、HLA 一致、クラス I およびクラス II 単独、クラス I+II 不一致と無イベント生存率

Table 1. Univariate analysis of neutrophil recovery, acute GVHD, 1 year-TRM, relapse and 3 year-EFS.

	neut. Engraftment		AGVHD II=<		TRM at 1yr		Relapse		EFS at 3yr	
	n	p	n	p	n	p	n	p	n	p
NCC		0.3515		0.1865		0.3298		0.095		0.223
2>	22	71%	17	25%	22	28%	21	24%	22	42%
2-2.5>	104	90%	92	45%	104	23%	101	38%	104	40%
2.5-3>	64	90%	54	56%	64	32%	60	57%	64	27%
3=<	59	90%	48	48%	59	35%	55	30%	59	40%
CD34+ cells		0.0002		0.2857		0.2545		0.3943		0.6851
0.5>	44	85%	40	36%	44	18%	41	40%	44	39%
0.5-1.0>	103	83%	85	50%	103	27%	98	43%	103	34%
1.0-1.7>	67	97%	56	49%	67	35%	64	28%	67	41%
1.7=<	22	92%	18	56%	22	33%	21	62%	22	24%
disease status		0.9456		0.5311		0.0282		<0.0001		<0.0001
CR1	67	87%	59	42%	67	21%	66	28%	67	48%
CR2	59	89%	53	55%	59	21%	56	11%	59	65%
others	120	100%	96	45%	120	36%	112	65%	120	17%
GVHD prophylaxis		0.6726		0.2588		<0.0001				0.0005
MTX (+)	192	91%	167	45%	192	20%	186	40%	192	42%
MTX (-)	54	100%	42	53%	54	56%	49	39%	54	21%

	n	neut. Engraftment	p	n	AGVHD II=<	p	n	TRM		p	n	Relapse	p	n	EFS	
								at 1yr	at 3yr						at 3yr	p
HLA			0.9954#			0.0003*			0.6959 (0.9995)	0.0119*						0.0100* (0.0380)
0-1	48#	85%		46	24%		56 (48)#	30%* (30%)			52	60%*		56 (48)#	20%* (17%)	
2	96	90%		91	47%		103 (96)	27% (28%)			101	37%		103 (96)	38% (40%)	
3-5	105	100%		74	60%		90 (105)	29% (27%)			84	30%		90 (105)	48% (44%)	

#; HLA HVG direction, \*;HLA GVH direction



Table 2. Effect of HLA matching on acute GVHD, 1year-TRM relapse and 3 year-EFS.

	AGVHD II=<			TRM at 1yr			Relapse			EFS at 3yr		
	HR	CI	p	HR	CI	p	HR	CI	p	HR	CI	p
HLA(GvH)												
3-5 mm; 0-1mm	0.249	0.119-0.519	0.0002	1.063	0.546-2.071	0.8569	2.34	1.130-4.846	0.0221	1.606	1.020-2.529	0.0408
3-5 mm; 2mm	0.712	0.459-1.104	0.1294	0.764	0.415-1.408	0.3887	1.757	0.891-3.466	0.1038	1.059	0.697-1.609	0.7883
HLA(HVG)												
3-5 mm; 0-1mm				1.022	0.503-2.076	0.9521				1.485	0.944-2.334	0.0868
3-5 mm; 2mm				1.024	0.572-1.833	0.9371				1.0701	0.714-1.607	0.7398
HLA allele (GvH)												
I+II mm ; 0mm	0.197	0.047-0.818	0.0253	1.405	0.531-3.722	0.3439	2.956	1.210-7.223	0.0174	2.255	1.241-4.098	0.0076
I+II mm; I mm	0.476	0.275-0.825	0.0081	1.174	0.636-2.160	0.6075	1.47	0.778-2.777	0.235	1.356	0.892-2.059	0.1537
I+II mm ; II mm	0.426	0.1008-1.817	0.2489	0.437	0.058-3.287	0.4216	2.066	0.658-6.490	0.2141	1.079	0.422-2.758	0.8746
HLA allele (HVG))												
I+II mm ; 0mm				1.063	0.315-3.585	0.9214				1.78	0.841-3.765	0.2458
I+II mm; I mm				0.865	0.460-1.627	0.6532				1.344	0.890-2.032	0.1315
I+II mm ; II mm				0.615	0.147-2.580	0.5063				1.441	0.680-3.057	0.16
HLA-A (GvH)												
mm; match	0.704	0.458-1.083	0.1098	1.242	0.744-2.075	0.4074	1.696	0.973-2.956	0.0625	1.383	0.974-1.963	0.696

	AGVHD II=<						TRM at 1yr						Relapse						EFS at 3yr					
	HR		CI		p		HR		CI		p		HR		CI		p		HR		CI		p	
HLA-B (GvH)																								
mm; match	0.671	0.382-1.178	0.1647	1.027	0.551-1.914	0.9334	1.139	0.611-2.122	0.6817	1.144	0.763-1.718	0.5147												
HLA-DRB1 (GvH)																								
mm; match	0.448	0.265-0.755	0.0026	1.279	0.728-2.248	0.3926	1.726	0.970-3.072	0.0633	1.546	1.058-2.258	0.0244												
HLA-A (HvG)																								
mm; match				1.699	0.997-2.893	0.0512				1.343	0.935-1.930	0.1108												
HLA-B (HvG)																								
mm; match				1.128	0.598-2.127	0.7096				1.247	0.826-1.881	0.2931												
1+2 mm																								
HLA-DRB1 (HvG)																								
mm; match				0.946	0.521-1.719	0.8552				1.359	0.923-2.001	0.12												

厚生労働科学研究費補助金 再生医療等研究事業  
分担研究報告書

臍帯血を用いる造血幹細胞移植技術の高度化と安全性確保に関する研究  
研究課題 小児急性リンパ性白血病に対する非血縁者間臍帯血移植に関する研究

分担研究者 加藤剛二 名古屋第一赤十字病院小児医療センター血液腫瘍科 部長

研究要旨

小児急性リンパ性白血病 (ALL) の中で特に予後不良とされる乳児 MLL 遺伝子再構成 ALL およびフィラデルフィア染色体 (Ph) 陽性 ALL に対する非血縁者間臍帯血移植の成績につきを日本臍帯血バンクネットワークに集積されたデータを用いて解析した。その結果、前者において 2003 年以降はそれ以前と比較して生存率が向上し、両者共に移植時病期が早期であることが無病生存率の予後良好因子であった。今後さらに症例数を重ねて検討すべきと考えられる。

A. 研究目的

小児急性リンパ性白血病の中でも特に予後不良とされる乳児 MLL 遺伝子再構成 ALL (以下乳児 MLL+ALL) と Ph+ALL に対する非血縁者間臍帯血移植の成績を明らかにするために日本さい帯血バンクネットワークを通じて移植された症例につき後方視的に検討した。同種造血細胞移植が必要にもかかわらず HLA 適合血縁者が得られない場合の alternative donor からの移植として非血縁者間臍帯血移植は緊急的な移植に対応可能であり、HLA 不適合でも GVHD が軽度なためこれまでも多くの症例に対して実施されている。臍帯血移植の実施数が増加している。今回乳児 MLL+ALL と Ph+ALL の両群につき移植成績を解析した。

B. 研究方法 (倫理面の配慮)

日本さい帯血バンクネットワークを通じて 1997 年から 2006 年までに移植され

た乳児 MLL+ALL および Ph+ALL につきその生着率、再発率、無イベント生存率、生存率につき検討した。その症例登録に際しては移植後結果の報告について各症例の氏名を含む個人情報 は匿名化されているため個人への倫理面での配慮はなされていると考えられる。

C. 研究結果

1. 対象症例: 1997 年から 2006 年までに非血縁者間臍帯血移植が実施された乳児 MLL+ALL 75 例および Ph+ALL 34 例。年齢中央値は前者では 0 歳、後者では 9 歳であった。臍帯血移植実施前に移植歴のある症例は前者で 12 例、後者では初回移植のみを解析した。

1) 移植時病期: 移植時の病期は乳児 MLL+ALL では第一寛解期(CR1)52 例、第二寛解期(CR2) 7 例、進行期(NonCR)16 例であり、Ph+ALL では第一寛解期 19 例、第二寛解期 5 例、

進行期 10 例であった。

- 2) HLA 適合度：患者と臍帯血との血清学的 HLA 適合度は GVHD 方向の 6/6、5/6、4/6 一致は乳児 MLL+ALL ではそれぞれ 21 例、47 例、6 例であり、Ph+ALL ではそれぞれ 2 例、23 例、9 例であった。
  - 3) 移植前処置：移植の際に用いられた前処置は乳児 MLL+ALL では BU+CY+VP16 (35 例)、VP16+CY+TBI (21 例) の頻度が高く、Ph+ALL では VP16+CY+TBI (7 例)、CA+CY+TBI (12 例) の頻度が高かった。
2. 移植後結果
- 1) 好中球数の回復：好中球数 500/mm<sup>3</sup> 以上の回復は乳児 MLL+ALL では 96.4% (到達日数の中央値は 20 日) にみられ、Ph+ALL では 87.9% (到達日数の中央値は 24 日) に見られた。
  - 2) 急性 GVHD：II 度以上の急性 GVHD の発症頻度は乳児 MLL+ALL では 45.6%、Ph+ALL では 53.6% であった。
  - 3) 再発率：乳児 MLL+ALL での再発率は 51.6%、Ph+ALL では 61.0% であり、共に寛解期による再発率に有意差はなかった (Ph+ALL の再発率を図 4 に示す)。
  - 4) 生存率 (OS) および無イベント生存率 (EFS)：乳児 MLL+ALL では全症例の OS は 52.2% (CR1 58.8%, CR2 51.4%, NonCR 29.5%、図 2)、EFS は 36.1% (CR1 39.7%, CR2 17.9%, NonCR 28.1%) であった。CR1 では

Non CR に比して有意により結果であった ( $p=0.025$ )。また 2003 年以降はそれ以前と比較して有意により生存率が得られ (図 1)、前処置別でも BU+CY+VP16 による生存率は他よりよい傾向にあった (図 3)。Ph+ALL においては全症例の OS は 40.7% (CR1,2 52.2%, NonCR 20.0%)、EFS は 27.4% (CR1,2 29.5%, NonCR 10.0%) であった。EFS において CR1,2 では NonCR に比して有意により結果であった ( $p=0.017$ ) (図 5)。

- D. 考察：臍帯血移植は近年非血縁者間造血細胞移植において骨髄移植に匹敵する症例数が実施されており、小児においては毎年 100 例前後が実施されている。その中で ALL は最も多い対象疾患であり、小児 ALL の中でも難治性とされる乳児 MLL+ALL や Ph+ALL に対しても症例数が蓄積されている。前者においては寛解導入後早期の造血細胞移植は推奨されるため緊急的移植に対応できる臍帯血移植は患児の体重が軽いことと相まって本疾患の治療手段として有利であるため積極的に実施されてきた。とりわけ全国的プロトコールである MLL03 が開始された 2003 年以降はその症例数が増加し、初回移植で再発しても再移植で生存率はそれ以前と比較して改善していることは注目に値する。また後者の Ph+ALL においては現時点では第一寛解期での移植が第一選択であるため HLA 適合骨髄ドナーが得られない場合には臍帯血移植が選択肢となる。移植後の再発率は必ずしも低くな