

厚生労働科学研究費補助金
再生医療等研究事業

アレムツズマブを用いた HLA 不一致同種造血幹細胞移植療法の
医師主導治験および造血幹細胞移植領域における

医師主導治験発展のための研究

平成 19 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 神田 善伸

平成 20 年 (2008) 3 月

目 次

I. 総括研究報告	
アテムツズマブを用いた HLA 不一致同種造血幹細胞移植療法の医師主導治験 および造血幹細胞移植領域における医師主導治験発展のための研究 自治医科大学附属さいたま医療センター血液科 神田善伸	3
II. 分担研究報告	
1. アテムツズマブを用いた HLA 不一致同種造血幹細胞移植療法の医師主導治験 および造血幹細胞移植領域における医師主導治験発展のための研究 自治医科大学附属さいたま医療センター血液科 神田善伸 東京大学大学院医学系研究科公共健康医学専攻生物統計学 大橋靖雄 東京大学医学部附属病院無菌治療部 千葉滋	19
2. HLA 一致血縁ドナー以外のドナーから同種造血幹細胞移植の開発 九州大学大学院医学研究院 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	23
3. Cyclin dependent kinase 由来のペプチドを標的とした GvL 効果の誘導 金沢大学大学院医学系研究科細胞移植学 中尾眞二	26
4. 臓器障害を有する患者の HLA 不一致移植の安全性の検討 国家公務員共済組合連合会虎の門病院血液科 谷口修一	30
5. Campath-1H を用いた HLA 非適合移植における診療 名古屋第一赤十字病院血液内科 宮村耕一	33
6. 高齢者 HLA 不一致移植の安全性の検討 国立がんセンター中央病院臨床検査部細菌免疫検査室 森慎一郎	36
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	41
IV. 研究成果の刊行物・別刷	47

I . 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金（再生医療等研究事業）

総括研究報告書

アレムツズマブを用いた HLA 不一致同種造血幹細胞移植療法の医師主導治験 および造血幹細胞移植領域における医師主導治験発展のための研究

主任研究者 神田 善伸

自治医科大学附属さいたま医療センター 血液科 教授

研究要旨

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

厚生労働科学研究費補助金ヒトゲノム・再生医療等研究事業「アレ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」班（主任研究者神田善伸）において平成16年度に臨床試験計画書、同意説明文書、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症例も成功基準を満たし、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っている。また、本医師主導治験で生じている多数の有害事象について解析を加えることによって、先端医療領域における今後の医師主導治験のあり方を探る。分担研究者は本治験の遂行に携わるのみならず、造血幹細胞移植を安全かつ有効に行うための研究を続けている。

分担研究者

原田 実根

九州大学大学院医学研究院
病態修復内科学 共同研究員

大橋 靖雄

東京大学大学院医学系研究科
公共健康医学専攻生物統計学 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

宮村 耕一

名古屋第一赤十字病院
血液内科 部長

森 慎一郎

国立がんセンター中央病院
臨床検査部 医長

千葉 滋

東京大学医学部附属病院
無菌治療部 准教授

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

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

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するのみならず、造血幹細胞移植の安全かつ有効な遂行のための臨床研究を行っている。原田らは成人 T 細胞性白血病(ATL)に対する非血縁ドナーからの移植の安全性を検討した。中尾らは造血幹細胞移植後に腫瘍特異的免疫力を誘導するための検討を行った。谷口らは臍帯血ミニ移植において HLA 適合度が移植成績に及ぼす影響を解析した。宮村らは本治験に登録された症例についての感染症などに関する詳細な検討を行った。森らは造血幹細胞移植後の栄養管理の重要性について検討を行った。

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・非血縁ドナーがないがために、根治的な同種造血幹細胞移植を行うことができない 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/m² を 6 日間)、ブスル

ファン(4 mg/kg を 2 日間)、少線量全身放射線照射(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 非発現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 非発現率の期待値が 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、原田らは骨髄バンクに登録されたデータを用いて ATL に対する HLA 適合非血縁ドナーからの移植の安全性、有効性を評価する後方視的解析を行った。中

尾らは白血病細胞に過剰発現している cyclin-dependent kinase(CDK)2 に由来するペプチドに対する細胞障害性 T 細胞の出現と移植後の抗腫瘍効果の関連を解析した。谷口らは自施設で行った多数例の臍帯血ミニ移植の結果を解析し、HLA 適合度が移植成績に及ぼす影響を評価した。宮村らは本治験に登録された症例についての感染症などに関する詳細な検討を行った。森らは造血幹細胞移植後の栄養管理の重要性について前方視的研究を行った。

(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 3 者に漏洩されることは禁じられている。

3. 研究結果

東京大学医学部附属病院無菌治療部において行われたアレムツズマブ(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では、18 症例(年齢中央値 54 歳、範囲 27~60 歳)に移植が実施された。ドナーは二座不一致が 7 名、三座不一致が 11 名であった。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い、アレムツズマブの適応承認を申請することを目的としている。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、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。

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 年度中に登録された第 2 コホートの 3 症例も成功基準を満たしたので、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している。

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。移植後 60 日以内の有害事象は第 1、第 2 コホートの計 6 症例において 234 件(平均 39 件)出現し、このうち「おそらく関連あり」または「明らかに関連あり」が 19 事象、26 件であった。一方、移植後 60 日以降 180 日以内の有害事象は第 1 コホートの 3 症例において 101 件(平均 34 件)出現し、「おそらく関連あり」または「明らかに関連あり」の事象はなかった。重篤な有害事象として報告されたものは、腎不全、意識障害などの移植関連のものは 2 件で、それ以外の 5 件は一過性の感染症、あるいは原疾患の再発に関連したものであった。大半の有害事象は治験薬との関連性が「関連あるかもしれない」に分類されており、その理由は関連性がないと断定する明らかな証拠を提示することができないからである。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 ATL に対して骨髓バンクのドナーから行われた 33 症例(急性型 20 例、リンパ腫型 7 例、その他 6 例)の移植成績を解析した。5 例が移植後 20 日以内に死亡したが、28 例に好中球の生着が確認された。グレード II 以上の急性 GVHD が 61%に認められた。移植後 1 年の生存率、非進行生存率はそれぞれ 49.5%、49.2%であり、患者年齢と移植時の病期が生存移管する重要な予後因子であることが示された。非血縁者間骨髓移植は ATL に対する有効な治療法であること

が示された。

中尾らは同種造血幹細胞移植時に微少残存病変(minimal residual disease: MRD)を有する白血病患者全例でドナー由来 CDK2 ペプチド特異的 CTL が移植後末梢血に出現し、移植後ドナー由来 CDK2 ペプチド特異的 CTL の末梢血への出現と、移植後寛解率との間に相関があることを示した。そして移植時に MRD を認める患者では、体内に残存する白血球細胞由来骨髄系樹状細胞が CDK2 ペプチド特異的細胞障害性 T 細胞の誘導に関与していることを明らかにした。これらの結果から、移植後に CDK2 ペプチドワクチンを併用すればより効果的に免疫学的抗腫瘍効果を誘導できる可能性がある。

谷口らは自施設で行った臍帯血ミニ移植 152 例について、HLA 適合度が好中球生着に及ぼす影響を後方視的に解析した。移植細胞数が多いほど（全細胞数 $\geq 3 \times 10^7/\text{kg}$ 、CD34 陽性細胞数 $\geq 1 \times 10^5/\text{kg}$ ）生着は有意に良好であった。HLA 適合度でみると血清型の GVH 方向ミスマッチが少ない群（0-1 ミスマッチ vs 2 ミスマッチ）で生着は有意に良好であった。多変量解析においても、HLA 血清型の GVH 方向の適合度は生着に関する独立した因子であった。ほとんどが HLA 不一致移植である臍帯血移植において、生着前の GVH 反応のコントロールによって速やかな好中球回復につながる可能性が示唆された。

宮村らは本治験に登録された症例において移植後のサイトメガロウイルス(CMV)、帯状疱疹ウイルス(VZV)、単純ヘルペスウイルス(HSV)、アデノウイルス(ADV)感染症の発症および治療反応性、および移植成績へ及ぼす影響について検討した。症例は治療抵抗性急性骨髄性白血病を有する 32 歳の男性であっ

た。移植後早期から Clostridium difficile 感染症、Enterobacter cloacae 菌血症、Pseudomonas aeruginosa 菌血症、侵襲性肺炎スペルギルス症などの様々な感染症を併発した。また、舌、口角に潰瘍形成し、口角の水疱を調べた所、Tzank test 陽性であり、モルヒネを必要とする 3 度の単純ヘルペスウイルス 1 型感染症と診断した。Day22 に CMV 抗原血症陽性となりガンシクロビルを使用した。CMV 抗原血症の量は 22 日(3,3)、26 日(67,65)と高値をしめし、day44(6,4) day63(1,0)と遷延した。Campath-1H は非常に強い免疫抑制効果を持つため、通常の移植とは異なる感染予防策が必要であることが示唆された。

森らは造血幹細胞移植患者に対する至適な栄養サポート療法を確立するために、自施設で造血幹細胞移植を行う 60 例を対象に前向き研究を実施した。移植後 28 日、56 日時点における体重及び筋肉量は、総栄養摂取量基礎代謝 (Basal Energetic Expenditure; BEE) 以下の群では著明に減少したのに対し、BEE 以上の栄養補助を受けた群では有意な低下はみられず、BEE 以上の栄養補助が必要であることが判明した。特に 1.3 x BEE 以上の栄養補助を受けた群では筋肉量がやや増加する傾向がみられたが、合併する高血糖などが問題となり、実際に 1.3 x BEE の栄養補助が可能であったのは 9 例に過ぎなかった。一方、造血幹細胞移植を受けた 112 例について後方視的に検討したところ、厳格に血糖値がコントロールされていた例では、急性 GVHD の発症頻度、治療関連死亡率、全死亡率が有意に低く、高血糖は移植患者の予後不良因子であった。従って、今後 HLA 不一致移植の開発を高年齢者に対して実施する場合、脂肪製

剤なども組み合わせた上で、積極的なインスリン療法を実施しながら 1~1.3 x BEE 程度の栄養摂取を実施することにより、治療成績の向上が期待される。

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。骨髓バンクにもドナーが見つからない、あるい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パイロット試験は、アテムツズマ

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。

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、谷口らの研究は HLA の不適合が存在する状況では GVHD をしっかりと抑制することの重要性を示している。一方、宮村らの研究から明らかのように、GVHD を強く抑制することは高度な免疫抑制状態を招き、感染症の増加や腫瘍の再発の危険性が増加する。これらに対するひとつの方策は過剰な Campath-1H の投与を避けることであり、今後も投与量の詳細な検討が必要である。もう一つの方法は強力な感染症予防対策を行うことと、中尾らが提案しているような方法によって移植後の再発をも予防することであろう。

本治験は 55 歳以上の高齢者も対象としている。しかし、原田らの研究にでも明らかのように高齢者に対する移植は移植関連死亡率が増加する。この毒性を軽減するための対策として、森らの研究で示されたような厳密な栄養管理、血糖管理は高齢者の移植成績を改善するための重要な役割を担うものと思われる。

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 法を用いてアテ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、第 2 コホートでは投与量を 20%減量し、登録された 3 症例においては重篤な GVHD の発症を認めなかった。現在はこの 20%減量した投与量(0.16 mg/kg を 6 日間)を初期投与量として CRM による検討を行っている。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、CRM に移行したことによって、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している。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た。

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。さらに造血幹細胞移植領域における医師主導治験の発展にも貢献する公益性の高い研究であると考えられる。

6. 研究発表

1) 国内

論文発表

(主任研究者)

1. 神田善伸 アレムツズマブー適応疾患と今後の可能性 医学のあゆみ 220:750-756,2007
2. 神田善伸 GVHD 予防法の現状と問題点 医学のあゆみ 222:159-163,2007
3. 神田善伸 造血器腫瘍に対する造血幹細胞移植の位置づけ 最新医学 62:2661-2674,2007
4. 神田善伸 炎症と免疫抑制薬 造血幹細胞移植における免疫抑制薬の使い方 炎症と免疫 15:334-340,2007

学会発表

(主任研究者)

1. 神田善伸 GVHDは敵か味方か? 第69回日本血液学会・第49回日本臨床血液学会合同総会 合同シンポジウム 横浜 2007年10月

2) 海外

論文発表

(主任研究者)

1. Oshima K, Kanda Y, Nakasone H, Arai S, Nishimoto N, Sato H, Watanabe T, Hosoya N, Izutsu K, Asai T, Hangaishi A, Motokura T, Chiba S, Kurokawa M. Decreased incidence of acute graft-versus-host disease by continuous infusion of cyclosporine with a higher target blood level. *American Journal of Hematology* 83:226-232,2008
2. Asano-Mori Y, Kanda Y, Oshima K,

Kako S, Shinohara A, Nakasone H, Kaneko M, Sato H, Watanabe T, Hosoya N, Izutsu K, Asai T, Hangaishi A, Motokura T, Chiba S, Kurokawa M. False-positive *Aspergillus* galactomannan antigenaemia after haematopoietic stem cell transplantation. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 61:411-416,2008

3. Kako S, Kanda Y, Sato T, Goyama S, Noda N, Shoda E, Oshima K, Inoue M, Izutsu K, Watanabe T, Motokura T, Chiba S, Fukayama M, Kurokawa M. Early relapse of JAK2 V617F-positive chronic neutrophilic leukemia with central nervous system infiltration after unrelated bone marrow transplantation. *American Journal of Hematology* 82:386-390,2007
4. Oshima K, Kanda Y, Asano-Mori Y, Nishimoto N, Arai S, Nagai S, Sato H, Watanabe T, Hosoya N, Izutsu K, Asai T, Hangaishi A, Motokura T, Chiba S, Kurokawa M. Presumptive treatment strategy for aspergillosis in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 60:350-355,2007

(分担研究者：原田実根)

1. Kato K, Kanda Y, Eto T, Muta T, Gondo H, Taniguchi S, Shibuya T, Utsunomiya A, Kawase T, Kato S, Morishima Y, Kodera Y, Harada M; Japan Marrow Donor Program.

Allogeneic bone marrow transplantation from unrelated human T-cell leukemia virus-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* 13:90-99,2007

(分担研究者：中尾眞二)

1. Ishikawa T, Tohyama K, Nakao S, Yoshida Y, Teramura M, Motoji T, Takatoku M, Kurokawa M, Mitani K, Uchiyama T, Omine M. A prospective study of cyclosporine A treatment of patients with low-risk myelodysplastic syndrome: presence of CD55(-)CD59(-) blood cells predicts platelet response. *International Journal of Hematology* 86:150-157,2007
2. Okumura H, Ohtake S, Ontachi Y, Ozaki J, Shimadoi S, Waseda Y, Kondo Y, Yamazaki H, Takami A, Yasui M, Date H, Nakao S. Living-donor lobar lung transplantation for broncho-bronchiolitis obliterans after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: does bronchiolitis obliterans recur in transplanted lungs? *International Journal of Hematology* 86:369-373,2007
3. Okumura H, Yamaguchi M, Kotani T, Sugimori N, Sugimori C, Ozaki J, Kondo Y, Yamazaki H, Chuhjo T, Takami A, Ueda M, Ohtake S, Nakao S. Graft rejection and hyperacute graft-versus-host disease in stem cell transplantation from non-inherited maternal-antigen-complementary HLA-mismatched siblings. *European Journal of Haematology* 78:157-160,2007
4. Shimadoi S, Takami A, Kondo Y, Okumura H, Nakao S. Macrophage colony-stimulating factor enhances rituximab-dependent cellular cytotoxicity by monocytes. *Cancer Science* 98:1368-1372,2007
5. Takami A, Mochizuki K, Ito S, Sugimori C, Yamashita T, Asakura H, Okumura H, Nakao S. Safety and efficacy of foscarnet for preemptive therapy against cytomegalovirus reactivation after unrelated cord blood transplantation. *Transplantation Proceedings* 39:237-239,2007
6. Takatoku M, Uchiyama T, Okamoto S, Kanakura Y, Sawada K, Tomonaga M, Nakao S, Nakahata T, Harada M, Murate T, Ozawa K. Retrospective nationwide survey of Japanese patients with transfusion-dependent MDS and aplastic anemia highlights the negative impact of iron overload on morbidity/mortality. *European Journal of Haematology* 78:487-494,2007
7. Teramura M, Kimura A, Iwase S, Yonemura Y, Nakao S, Urabe A, Omine M, Mizoguchi H. Treatment of severe aplastic anemia with antithymocyte globulin and cyclosporin A with or without G-CSF in adults: a multicenter

- randomized study in Japan. *Blood* 110:1756-1761,2007
8. Yamazaki H, Sugimori C, Chuhjo T, Nakao S. Cyclosporine therapy for acquired aplastic anemia: predictive factors for the response and long-term prognosis. *International Journal of Hematology* 85:186-190,2007
- (分担研究者：谷口修一)
1. Miyakoshi S, Kami M, Tanimoto T, Yamaguchi T, Narimatsu H, Kusumi E, Matsumura T, Takagi S, Kato D, Kishi Y, Murashige N, Yuji K, Uchida N, Masuoka K, Wake A, Taniguchi S. Tacrolimus as prophylaxis for acute graft-versus-host disease in reduced intensity cord blood transplantation for adult patients with advanced hematologic diseases. *Transplantation* 84:316-322,2007
2. Miyakoshi S, Kusumi E, Matsumura T, Hori A, Murashige N, Hamaki T, Yuji K, Uchida N, Masuoka K, Wake A, Kanda Y, Kami M, Tanaka Y, Taniguchi S. Invasive fungal infection following reduced-intensity cord blood transplantation for adult patients with hematologic diseases. *Biology of Blood and Marrow Transplantation* 13:771-777,2007
3. Matsumura T, Narimatsu H, Kami M, Yuji K, Kusumi E, Hori A, Murashige N, Tanaka Y, Masuoka K, Wake A, Miyakoshi S, Kanda Y, Taniguchi S. Cytomegalovirus infections following umbilical cord blood transplantation using reduced intensity conditioning regimens for adult patients. *Biology of Blood and Marrow Transplantation* 13:577-583,2007
- (分担研究者：宮村耕一)
1. Kawase T, Akatsuka Y, Torikai H, Morishima S, Oka A, Tsujimura A, Miyazaki M, Tsujimura K, Miyamura K, Ogawa S, Inoko H, Morishima Y, Kodera Y, Kuzushima K, Takahashi T. Alternative splicing due to an intronic SNP in HMSD generates a novel minor histocompatibility antigen. *Blood* 110:1055-1063,2007
2. Saldanha J, Silvy M, Beaufile N, Arlinghaus R, Barbany G, Branford S, Cayuela JM, Cazzaniga G, Gonzalez M, Grimwade D, Kairisto V, Miyamura K, lawler M, Lion T, Macintyre E, Mahon FX, Muller MC, Ostergaard M, Pfeifer H, Saglio G, Sawyers C, Spinelli O, van der Velden VH, Wang JQ, Zoi K, Patel V, Phillips P, Matejtschuk P, Gabert J. Characterization of a reference material for BCR-ABL(M-BCR) mRNA quantitation by real-time amplification assays: towards new standards for gene expression measurements. *Leukemia* 21:1481-1487, 2007
3. Tokunaga M, Miyamura K, Ohashi H, Ishiwada N, Terakura S, Ikeguchi M, Kuwatsuka Y, Inamoto Y, Oba T, Tsuchiya S, Kodera Y. Successful nonmyeloablative bone marrow

transplantation for leukocyte adhesion deficiency type I from an unrelated donor. *International Journal of Hematology* 86:91-95,2007

(分担研究者：森慎一郎)

1. Fuji S, Kim SW, Mori S, Fukuda T, Kamiya S, Yamasaki S, Morita-Hoshi Y, Ohara F, Honda O, Kuwahara S, Tanosaki R, Heike Y, Tobinai K, Takaue Y. Hyperglycemia during the neutropenic period following conditioning is associated with a poor outcome in patients undergoing myeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transplantation* 84:814-20,2007
2. Onishi Y, Mori S, Kusumoto S, Sugimoto K, Akahane D, Morita Y, Kim SW, Fukuda T, Heike Y, Tanosaki R, Tobinai K, Takaue Y. Unrelated donor bone marrow transplantation with a conditioning regimen including fludarabine, busulfan and 4 Gy total body irradiation. *International Journal of Hematology* 85:256-263,2007
3. Saito A, Kami M, Mori S, Kanda Y, Suzuki R, Mineishi S, Takami A, Taniguchi S, Takemoto Y, Hara M, Yamaguchi M, Hino M, Yoshida T, Kim SW, Hori A, Ohashi Y, Takaue Y. Prospective phase II trial to evaluate the complications and kinetics of chimerism induction following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with fludarabine and busulfan. *American Journal of Hematology* 82:873-880,2007
4. Maruyama D, Fukuda T, Kato R, Yamasaki S, Usui E, Hoshi-Morita Y, Kim SW, Mori S, Heike Y, Makimoto A, Tajima K, Tanosaki R, Tobinai K, Takaue Y. Comparable anti-leukemia/lymphoma effects in non-remission patients undergoing allogeneic hematopoietic cell transplantation with a conventional cytoreductive or reduced-intensity regimen. *Biology of Blood and Marrow Transplantation* 13:932-941,2007
5. Kusumoto S, Mori S, Nosaka K, Morita Y, Onishi Y, SW Kim, Watanabe T, Heike Y, Tanosaki R, Takaue Y, Tobinai K. T-cell large granular lymphocyte leukemia of donor origin following cord blood transplantation. *Clinical Lymphoma & Myeloma* 7:475-479,2007
6. Ozawa S, Nakaseko C, Nishimura M, Maruta A, Cho R, Ohwada C, Sakamaki H, Sao H, Mori S, Okamoto S, Miyamura K, Kato S, Kawase T, Morishima Y and Kodera Y. Chronic graft-versus-host disease after allogeneic bone marrow transplantation from an unrelated donor: incidence, risk factors and association with relapse. A report from the Japan Marrow Donor Program.

British Journal of Haematology 137:
142-151,2007

学会発表

(分担研究者：中尾眞二)

1. Kondo Y, Ohata K, Nakao S.
Circulating Leukemic Myeloid
Dendritic Cells from Patient with
Leukemia Elicit CDK2-Specific CTLs
from Allogeneic HLA-A24+ Naive
CD8+ T Cells. *The American Society of
Hematology 49th Annual Meeting*.
Atlanta, Georgia. December, 2007

2. Lu X, Kondo Y, Takamatsu H,
Yamazaki H, Qi Z, Ohata K, Espinoza
L, Akasuka Y, Nakao S. CD16+CD56-
NK Cells in the Peripheral Blood of
Cord Blood Transplant Recipients: A
Unique Subset of Immature NK Cells
Possibly Associated with
Graft-Versus-Leukemia Effect. *The
American Society of Hematology 49th
Annual Meeting*. Atlanta, Georgia.
December, 2007.

II. 分担研究報告

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

アレムツズマブを用いた HLA 不一致同種造血幹細胞移植療法の医師主導治験および
造血幹細胞移植領域における医師主導治験発展のための研究

主任研究者 神田 善伸 自治医科大学附属さいたま医療センター 血液科 教授

分担研究者 大橋 靖雄 東京大学大学院医学系研究科 公共健康医学専攻生物統計学 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 准教授

研究要旨

東京大学医学部附属病院無菌治療部で行った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野結果、18 症例に対する HLA 二座以上不一致血縁者間移植においてグレード III 以上の急性 GVHD 発症頻度を 1 例のみに抑制された。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 症例も成功基準を満たし、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っている。また、本医師主導治験で生じている多数の有害事象について解析を加えることによって、先端医療領域における今後の医師主導治験のあり方を探る。

A. 研究目的

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

ずホストのリンパ球を抑制して拒絶を予防し、さらに移植後も 2 ヶ月程度有効血中濃度が維持されるため、ドナーのリンパ球を抑制して GVHD を予防する。本試験の目的は、他に有効な治療法を持たない造血器疾患患者で、かつ、HLA 適合または一座不一致の血縁・非血縁ドナーを有さない患者を対象とし、アレムツズマブを用いて移植片拒絶と重症の移植片対宿主病(graft-versus-host disease; GVHD)を防ぐことによって、HLA 二座以上不一致の血縁ドナーからの同種造血幹細胞移植を安全

に行うことが可能であることを示すことである。また、アレムツズマブは本邦未承認薬であるため、本臨床試験は改正 GCP(good clinical practice)基準に則って医師主導治験として行う。アレムツズマブを用いた HLA 二座以上不一致血縁者間移植の安全性と有効性が証明された場合には、本試験で品質保証されたデータに基づいてアレムツズマブの移植前処置薬としての適応承認申請を行い、多くの国民に利益をもたらすことを目的とする。また、本治験は造血幹細胞移植領域での初の医師主導治験である。実施困難が予想される先端医療領域の医師主導治験における問題点を体験、抽出、解析することによって、今後の医師主導治験のあり方を考察する。

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・非血縁ドナーがいないうえに、根治的な同種造血幹細胞移植を行うことができない 16~65 歳の患者であり、HLA 二座以上不一致の二親等以内の血縁ドナーを有する患者である。各施設の担当医師は本試験に登録可能と判断される患者およびドナーがいる場合、患者およびドナーから同意を取得した後に定められた手順で登録を行う。

移植前処置は、自家移植の既往のない 55 歳未満の患者においては通常の移植で行われるシクロホスファミド(60 mg/kg を 2 日間)と全身放射線照射(2Gy を 1 日 2 回、3 日間)に加えてアレムツズマブを患者体重あたり 0.2 mg/kg を 6 日間併用(移植 8 日前から 3 日前まで)する。自家移植の既往のある患者あるいは 55 歳以上の高齢患者においては、リン酸フル

ダラビン(30 mg/m² を 6 日間)、ブスルファン(4 mg/kg を 2 日間)、少線量全身放射線照射(2Gy を 1 日 2 回、1 日間)とアレムツズマブを併用する。ドナーから採取した末梢血幹細胞を前処置終了後に輸注する。移植後の免疫抑制はシクロスポリンとメトトレキサートの併用で行う。

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

アレムツズマブの投与量は 0.20 mg/kg を開始用量(第 1 コホート)として、GVHD 非発現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 非発現率の期待値が 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が行われ、18 症例に対する HLA 二座以上不一致血縁者間移植において、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

医師主導治験として行うことにより、アレムツズマブの適応承認申請を行う。

平成 15 年度から作成を開始した臨床試験計画書、同意説明文書について、平成 16 年 2 月 26 日に医師主導臨床試験の実行に関して、医薬品副作用被害救済・研究振興調査機構との治験相談を行い、指摘された事項について、平成 16 年度に試験計画書について必要な修正を加えた。その後、症例報告書の作成、データベースの構築(日本臨床試験支援ユニットに委託)、医薬品機構への医師主導治験実施の相談、各施設の審査機関での試験の承認を経て、平成 16 年 11 月に治験届を提出し、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 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 年度中に登録された 3 症例がいずれも成功基準を満たしたので、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している。

また、有害事象の出現状況についても解析を行っている。移植後 60 日以内の有害事象は第 1、第 2 コホートの計 6 症例において 234 件(平均 39 件)出現し、このうち「おそらく関連あり」または「明らかに関連あり」が 19

事象、26 件であった。一方、移植後 60 日以降 180 日以内の有害事象は第 1 コホートの 3 症例において 101 件(平均 34 件)出現し、「おそらく関連あり」または「明らかに関連あり」の事象はなかった。重篤な有害事象として報告されたものは、腎不全、意識障害などの移植関連のものは 2 件で、それ以外の 5 件は一過性の感染症、あるいは原疾患の再発に関連したものであった。大半の有害事象は治験薬との関連性が「関連あるかもしれない」に分類されており、その理由は関連性がないと断定する明らかな証拠を提示することができないからである。これらの現状を鑑みて、治験の安全性を損なうことなく合理的に有害事象を管理するための方策を検討する。

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。さらに、多数の薬剤が適応外使用されている造血幹細胞移植領域の医師主導治験のあり方を考察することにより、今後の造血幹細胞移植の健全な発展に寄与する。

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。また、合理的な医師主導治験のシステムを構築することによって造血幹細胞移植領域