

2008/8026A

厚生労働科学研究費補助金
医療技術実用化総合研究事業

多施設共同医師主導治験による新規医薬品の効果に関する
臨床的エビデンス創出と新移植技術の開発研究
(H20 - 臨床研究 - 一般 - 007)

平成20年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 谷口 修一

平成21 (2009) 年3月

目 次

I. 総括研究報告

再生不良性貧血に対するアレムツズマブを用いた同種造血幹細胞移植法の開発を 意図した多施設共同医師主導治験に関する研究.....	1
	谷口 修一

II. 研究分担報告

1. 再生不良性貧血に対するアレムツズマブを用いた同種造血幹細胞移植法の 開発を意図した多施設共同医師主導治験に関する研究.....	7
	神田 善伸
2. アレムツズマブを用いた幹細胞移植後の免疫能の解析：GVHD予防による NK細胞の抑制効果：各種免疫抑制剤間の比較.....	9
	中尾 眞二
3. 基礎医学研究成果に基づいた新たな造血幹細胞移植技術の開発.....	11
	高上 洋一
4. 再生不良性貧血に対するアレムツズマブを用いた同種造血幹細胞移植法の 開発を意図した多施設共同医師主導治験に関する研究.....	16
	宮本 敏浩
5. フィラデルフィア染色体陽性急性リンパ性白血病(Ph+ALL)の造血幹細胞移植 における微小残存病変(MRD)の解析.....	18
	宮村 耕一

III. 研究成果の刊行に関する一覧表.....	21
--------------------------	----

VI. 研究成果の刊行物・別刷.....	25
----------------------	----

I. 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金（医療技術実用化総合研究事業）

総括研究報告書

「再生不良性貧血に対するアレムツズマブを用いた同種造血幹細胞移植法の開発を意図した多施設共同医師主導治験に関する研究（総括）」

研究代表者 谷口 修一 国家公務員共済組合連合会 虎の門病院 血液内科 部長

研究要旨：骨髄移植などの同種造血幹細胞移植の課題として重要なものは移植片拒絶と移植片宿主病（GVHD）であり、特に再生不良性貧血に対する移植では顕著となる。再生不良性貧血に対する移植では、シクロホスファミドと全身放射線照射（TBI）が移植前処置法として広く用いられている。また、免疫抑制作用の強化を目的として、抗胸腺免疫グロブリン（ATG）が移植前治療に併用される。しかしながら、頻回輸血による鉄過剰症に伴う心、肝などの臓器機能障害を持つ症例が多い輸血依存性の再生不良性貧血患者においては、毒性の強いシクロホスファミドの投与量と TBI の照射量による前処置関連毒性が懸念され、また、ATG を用いた場合には、製品にロット間のばらつきがあることや EB ウイルス感染による移植後リンパ増殖性疾患（PTLD）のリスクが高くなることが最大の欠点と言われている。

アレムツズマブは、抗 CD52 ヒト化モノクローナル抗体であり、強力なリンパ球枯渇作用を有する。海外では B 細胞性慢性リンパ性白血病（B-CLL）の治療薬として承認されている。移植領域においてはその特性を活かして「移植片拒絶」及び「GVHD」を同時に克服する有用な薬剤として、1990 年代後半より臨床研究が行われている。造血器疾患を対象とした同種造血幹細胞移植において、移植片拒絶及び重症 GVHD（grade III 以上 GVHD 発症率：0～10%）が抑えられたことが報告されている。

しかしわが国においては、移植領域という限られた分野の稀少医薬品であるために企業開発が望めず、国民医療の懸案の一つとなっている。本研究では、本剤の有用性を最も効率的に検証できる再生不良性貧血患者を対象に GCP に則った医師主導治験を実施し、アレムツズマブの移植前処置としての適応を取得すること計画した。これにより、対象を広く移植治療全般にまで拡大した新規治療の開発が可能となり、我が国の医療水準向上に大きく寄与する。さらに、本治験を通して移植領域における質の高い多施設共同臨床研究の運営体制を整備し、今後の本領域における研究発展にも貢献する。本治験は第 I/II 相試験として実施されており、平成 16 年 12 月より登録を開始した。平成 19 年 10 月に第 II 相へ移行し、至適投与量の検討を開始した。平成 21 年 3 月末現在、第 II 相の目標症例数 11 例のうち 9 例が登録されている（第 I/II 相として、15/17 例登録完了）。現時点で 1 例を除く全例で主要評価項目である「移植後 60 日以内の移植片拒絶とグレード 2 以上の移植片対宿主病の発現の抑制」に成功している。目標症例まで、残すところ 2 例である。分担研究者は本治験の遂行と同時に、造血幹細胞移植を安全かつ有効に行うための研究を継続する。

研究分担者

神田 善伸	治医科大学自治医科大学附属さいたま医療センター血液科 教授	宮本 敏浩	九州大学病院 血液腫瘍内科 講師
中尾 眞二	金沢大学医薬保健研究域医学系 教授	宮村 耕一	名古屋第一赤十字病院 血液内科 部長
高上 洋一	国立がんセンター中央病院 臨床検査部 部長		

A. 研究目的

本研究では、重症再生不良性貧血患者を対象として、本邦未承認薬であるアレムツズマブを用いた同種造血幹細胞移植の有効性・安全性をGCPに則った多施設共同医師主導治験として検討し、本治験から得られた成績に基づいて本剤の移植前処置としての適応を取得し、白血病などを対象とする移植医療全般に用いる新規治療を提供して成績向上に寄与する。さらに、本治験を通して移植領域における質の高い多施設共同臨床研究の運営体制を整備し、今後の本領域における研究発展にも寄与する。

同種移植における移植片拒絶とGVHDの制御は移植後の死亡を左右する重要な課題であり、特に重症再生不良性貧血では顕著となる。国際的に移植片拒絶を予防する目的でATGが重要な前処置の一つとして使用されているが、ロット間の製品の差異や、T細胞だけを抑制して生じる移植後PTLDの増加が問題となる。アレムツズマブは抗CD52ヒト化モノクローナル抗体であり、強力なリンパ球枯渇作用を有する。海外ではB-CLLの治療薬として承認されている。海外では、同剤を用いて再生不良性貧血を含む造血器疾患患者を対象とした同種移植時の移植片拒絶及びGVHDの予防を検討した臨床研究が多く行われ、その良好な成績が報告されている。また、同剤はT細胞だけでなくB細胞をも抑制するため、二次がんともいえるPTLDのリスクが低いことが期待されている。また同剤は、ドナーリンパ球も抑制しGVHDの発症も予防するため、移植片拒絶とGVHD発症双方の予防を可能とし、同種移植全体の安全性を画期的に向上させる可能性がある。

B. 研究方法

本研究は、多施設共同医師主導治験として実施する。対象は、免疫抑制治療が無効であった輸血依存性の20～65歳の再生不良性貧血患者であり、HLA一致又は一座不一致血縁ドナー、あるいはHLA一致又はDRB1一座不一致非血縁ドナーを有する患者である。移植前処置は、シクロホスファミド

(25 mg/kg、4日間)、リン酸フルダラビン(30 mg/m²、6日間)に加えて、アレムツズマブを患者体重あたり0.16、0.2あるいは0.25 mg/kgを6日間併用(移植8日前から3日間)する(HLA一致血縁ドナー以外からの移植の場合は全身放射線照射(2Gyを1日)を追加)。ドナーから採取した骨髓を前処置終了後に輸注し、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。本治験の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II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、移植前処置関連毒性、感染症発症率ならびに再生不良性貧血に対する治療効果を評価する。移植後60日以内に生着を確認し、かつ移植後60日の時点でグレードII以上の急性GVHDを発症していない症例を成功例と定義する。また、アレムツズマブの血清中薬物濃度の検討を行う。目標症例数は、推奨用量群として14例(最小)とする(本治験全体の最小目標症例数：17例)。

分担研究者は、本治験に参画するとともに、個々の分担研究を遂行した。

同種造血幹細胞移植では、移植片拒絶及びGVHDの予防としての抗がん剤あるいは免疫抑制剤の投与による移植後の感染症の対策が重要である。そこで、神田らは、少量アシクロビルの長期間投与による帯状疱疹予防に対する有効性を検討した。また、宮本らは、経口バルガンシクロビルによるサイトメガロウイルス感染症の抑制について検討した。中尾らは、強力なGVL効果を担っていると考えられるドナー由来のNK細胞はについて、免疫抑制剤の影響を検討した。高上らは、蛍光蛋白遺伝子導入マウス解析系や移植患者検体の詳細な免疫動態解析研究などの先端的基礎研究を行うことによって、移植領域における経験的治療に対する基礎科学の根拠をまとめた。更に、宮村らは、フィラデルフィア染色体陽性急性リンパ性白血病(Ph+ALL)を対象に、同種造血幹細胞移植における微小残存病変(MRD)の検出の有用性を検討した。

(倫理面への配慮)

医師主導治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及び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)に従う。

本治験への登録に先立って、担当医は患者並びにドナーに施設の治験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並びにドナーに渡し、その内容を口頭で詳しく説明するとともに、患者が治験の内容をよく理解したことを確認した上で、治験への参加についての意思を確認、文書による同意を得る。登録患者及びそのドナーの氏名は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。

C. 研究結果

本治験は第I/II相試験である。平成19年10月に第II相へ移行し、至適投与量の検討を開始した。平成20年度は、第II相の実施と並行して、第I相から得られた6例の結果を中間総括報告書としてまとめた。更に、本報告書を主体とした本剤の早期承認申請の可能性を相談するため、平成20年8月に治験薬提供者による医薬品医療機器総合機構と対面助言が実施された。その結果、「第II相部分の成績も重要な位置づけを占めることが予想され、今後得られる試験成績を逐次精査した上で、承認申請について再度検討する」旨の助言を受けた。

平成21年3月末現在、第II相の目標症例数11例のうち9例が登録されている。第I相及びII相において、これまで1例を除く全例で主要評価項目である「移植後60日以内の移植片拒絶とグレード2以上の移植片対宿主病の発現の抑制」に成功している。

共同研究としては、神田らは、少量アシクロビルの長期投与による移植後帯状疱疹予防の検討を行った。東京大学無菌治療部で同種移植を行った

患者のうち、移植後35日以上生存し、242例を対象に後方視的に解析した。その結果、帯状疱疹の発症頻度は少量アシクロビル投与群で有意に低く、少量のアシクロビルを同種移植後に長期間投与することによって、帯状疱疹発症を抑制できることが示された。また、少量アシクロビル投与を中止した後は、30%強の患者に帯状疱疹が認められるが、予防投与を行っていない場合の発症と比較して症状が軽微になる結果が得られた。

また、移植合併症であるCMV感染についての研究では、退院後にCMV抗原血症が陽性化する症例が増加していることから、宮本らは、外来治療下での経口バルガンシクロビルによるCMV感染症予防について検討した。退院後にCMV抗原血症が陽性化した10例を対象に、バルガンシクロビル(900mg/day)を21日間経口投与することによって、CMV再活性化に有効であることが示され、その有効性は静注ガンシクロビルと同等であることが示された。有害事象は軽微で、安全に投与可能であった。しかしながら、経口バルガンシクロビル投与後に40%においてCMV再活性化を認めたことから、投与終了後もCMV抗原血症のモニタリングの継続の必要性が考えられた。

中尾らは、移植後早期にGVHD予防目的に使用される各種免疫抑制剤がNK細胞の増殖や機能にどのような影響を与えるかを検討した。シクロスポリン、タクロリムス、メトトレキサートのNK細胞の増殖・機能に及ぼす影響は軽微であったが、ミコフェノール酸モフェチル(MMF)の活性体であるMPAは、臨床的に使用される濃度でNK細胞の増殖・細胞傷害活性を著明に抑制した。T細胞においてみられるMPAのp27発現低下抑制効果は、MPA存在下で培養したNK細胞においも確認された。したがって、MMFによるGVHD予防はNK細胞によるGVL効果を減弱させる可能性が示唆された。

高上らは、生体内蛍光イメージング法を中心にドナー細胞の動態を解析し、他の手法と比較検討した。生体内蛍光イメージング法は、異なる移植条件あるいは薬剤がドナー細胞の生着や増殖パターンに与える影響を詳細に解明することが可能であり、小動物

を用いたドナー細胞の生着促進あるいはGVHDの抑制のスクリーニングに最適であると考えられた。また、移植後患者の免疫機能を解析するためのモニタリング系として、抗原特異的リンパ球の解析技術確立を主たるテーマとし、テトラマー、ペンタマーとデキストラマーの比較試験を行った。その結果、マルチマー1分子毎の蛍光強度が異なるため検出感度は異なるものの、それに伴って非特異的蛍光もみられることから用途ごとの選択が望ましいことを明らかにした。

宮村らは、造血幹細胞移植を受けたMRD陽性Ph+ALLを対象に、移植後早期よりイマチニブを投与する群（予防投与群）と移植後MRD+になってからイマチニブを投与する群（治療投与群）において、両者の予後について検討した。MRD陽性Ph+ALL患者34例中7例が移植後にイマチニブが投与され、予防投与群及び治療群は、各々3例及び4例であった。その結果、予防投与群では3年生存率は有意に高かったものの、最終的には両群とも血液学的再発をおこすことが確認された。すなわち移植後のイマチニブ投与は生存期間を延ばすものの、必ずしも治癒をもたらすものではないことから、移植前にMRDを陰性にするのが重要であることが確認された。

D. 考察

骨髄移植などの造血幹細胞移植では、抗癌剤の投与量を骨髄以外の臓器に重篤な障害の発生する一歩手前の極量まで増量させる、あるいはTBIを併用するなどの、いわゆる骨髄破壊的な移植前治療を行い、それに引き続いて正常な造血幹細胞を経静脈的に輸注する。造血幹細胞はやがて骨髄に定着し、正常な造血機能を再構築する。HLAが完全又はほぼ一致した正常ドナーの幹細胞を用いる同種移植の最大の障害は、患者側の細胞がドナー細胞を攻撃する「移植片拒絶」や、生着したドナー由来細胞が患者側の細胞を攻撃する「GVHD」である。特に再生不良性貧血に対する移植では顕著となる。急性GVHDの典型例では、白血球の増加がみられる移植後14～21日頃に、最初皮疹が出現し、次いで胆汁うっ滞性の肝障害や水様性の下痢が生ずる。GVHDの治療適応は原則として重

症度 grade II以上が対象となるが、種々の臨床的所見を総合的に判断して決定される。再生不良性貧血に対する移植では、シクロホスファミドと全身放射線照射（TBI）が移植前処置法として広く用いられている。また、免疫抑制作用の強化を目的として、抗胸腺免疫グロブリン（ATG）が移植前治療に併用される。しかしながら、頻回輸血による鉄過剰症に伴う心、肝などの臓器機能障害を持つ症例が多い輸血依存性の再生不良性貧血患者においては、毒性の強いシクロホスファミドの投与量とTBIの照射量による前処置関連毒性が懸念される。ATGを用いた場合には製品にロット間のばらつきがあることや、T細胞だけを抑制することによって生じるEBウイルス感染によるPTLDのリスクが高くなることが最大の欠点である。

アレムツズマブは、リンパ球枯渇による強力な免疫抑制作用を有し、同種造血幹細胞移植において、前処置に用いる他の抗癌剤と併用することによって、まず移植直後に患者のリンパ球を完全に抑制することにより、ドナーの移植片の拒絶を抑制する。更に本剤はその後とも長期にわたって有効血中濃度を維持するため、やがて患者体内で増え始めるドナーのリンパ球も抑制することによって重症GVHDの発症を予防することが可能と考えられ、移植治療成績の改善が期待できる。また、CD52に対するモノクローナル抗体である本剤は、ロット間の品質が安定していることや、T細胞のみならずB細胞も抑制することから、ATGと比較してPTLDのリスクが低いことが報告されており、同種造血幹細胞移植の安全性を高めることに大きく寄与することが期待されている。海外においては、再生不良性貧血を含む造血器疾患を対象として、本剤を用いた同種造血幹細胞移植成績が報告されており、移植片拒絶及び重症GVHD予防に対する有効性が示されている。

移植片拒絶及びGVHDを確実に抑制することは移植成功の鍵を握る一方で、強力に免疫抑制を行うことによる日和見感染症が懸念される。時に致死的な結果となることから、神田らあるいは宮本らが示したように移植後の確実な感染症対策は重要である。また、中尾らの研究でも示されたよう

に、免疫抑制剤の中には、T 及び B 細胞のみならず NK 細胞の回復に影響を与える可能性がある薬剤があることから、GVL 効果と免疫抑制剤の投与量調整については更なる検討を行う必要があると思われる。GVL 効果だけでは移植後再発を防ぐことは困難であり、宮村らの研究で示されたように MRD を移植前に確実に抑えることが重要であると考えられた。また、高上らによる検討は、臨床結果に対する基礎科学の側面からの根拠として、アレムツズマブのみならず、将来の移植領域における適応症に対して利用することが有用であると考えられる。

本研究は、第 I / II 相多施設共同医師主導治験として実施されている。免疫抑制治療が無効であった輸血依存性の生不良性貧血患者を対象に、シクロホスファミド (25 mg/kg、4 日間)、リン酸フルダラビン (30 mg/m²、6 日間) に加えて、アレムツズマブを患者体重あたり 0.16 あるいは 0.2 mg/kg を 6 日間併用 (移植 8 日前から 3 日間) した (HLA 一致血縁ドナー以外からの移植の場合は全身放射線照射 (2Gy を 1 日) を追加)。本治験の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 II 以上の急性 GVHD の発症率である。平成 21 年 3 月現在、第 I 相及び II 相全体で 15 例が登録されている。これまでに 1 例を除く全例で主要評価項目の要件を満たし、アレムツズマブによる移植片拒絶及び GVHD の抑制効果が示唆されている。また、第 II 相の実施と並行して、第 I 相から得られた治験結果に基づく早期承認申請の可能性を相談するため、平成 20 年 8 月に医薬品医療機器総合機構と対面助言が実施された。その結果、「第 II 相部分の成績も重要な位置づけを占めることが予想され、今後得られる試験成績を逐次精査した上で、承認申請について再度検討する」旨の助言を受け、本治験データを更に蓄積するとともに、承認申請に耐える質の高いデータを継続して収集するよう努める。また、医師主導治験では、モニタリング、症例報告書の固定あるいは次相への移行が、企業治験と比較して時間を要する傾向にある。これは、あらゆる治験関連業務を自

ら治験を実施するものである治験責任医師が行わねばならないことだけではなく、症例報告書で収集されるデータ量の多さがあげられる。したがって、今後移植領域での医師主導治験を実施する場合にあたっては、収集すべきデータを取捨選択し、効率的なデータ収集方法を考慮する必要がある。また、本領域に共通した症例報告書或いはデータベースなどを標準化することによって、試験の効率化については試験期間短縮を図る必要があると考える。

E. 結論

医師主導治験からの結果から、アレムツズマブは、同種造血幹細胞移植において移植片拒絶及び重症 GVHD を予防するために有効な薬剤であることが示唆されている。移植前処置として ATG が用いられる再生不良性貧血では、ATG に代わってアレムツズマブを使用することにより、PTLD のリスクを低くし、更に、移植前治療に用いられる抗癌剤の投与量や TBI の照射量を減らすことによって移植関連毒性を軽減させるなど、同種造血幹細胞移植をより安全に施行するために重要な薬剤として期待され、わが国の医療水準の向上に寄与する、また、治験関連文書や手順の標準化を図ることによって、今後の造血幹細胞移植における臨床研究の発展に貢献すると考える。

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

- 1) Atsuta Y, Suzuki R, Nagamura-Inoue T, Taniguchi S, Takahashi S, Kai S, Sakamaki H, Kouzai Y, Kasai M, Fukuda T, Azuma H, Takanashi M, Okamoto S, Tsuchida M, Kawa K, Morishima Y, Kodera Y, Kato S Disease-specific analyses of unrelated cord blood transplant compared with unrelated bone marrow transplant in adult patients with acute leukemia. Blood. 2008 Dec 22.

[Epub ahead of print]

- 2) Yoshimi A, Kojima S, Taniguchi S, Hara J, Matsui T, Takahashi Y, Azuma H, Kato K, Nagamura-Inoue T, Kai S, Kato S; Japan Cord Blood Bank Network. Unrelated cord blood transplantation for severe aplastic anemia. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2008 Sep;14(9):1057-63.
- 3) Nagamura-Inoue T, Kai S, Azuma H, Takanashi M, Isoyama K, Kato K, Takahashi S, Taniguchi S, Miyamura K, Aoki K, Hidaka M, Nagamura F, Tojo A, Fang X, Kato S; Japan Cord Blood Bank Network. Unrelated cord blood transplantation in CML: Japan Cord Blood Bank Network analysis. *Bone Marrow Transplant.* 2008 Aug;42(4):241-51. Epub 2008 Jun 23.
- 4) Kurosu T, Tsuji K, Ohki M, Miki T, Yamamoto M, Kakihana K, Koyama T, Taniguchi S, Miura O. A variant-type MLL/SEPT9 fusion transcript in adult de novo acute monocytic leukemia (M5b) with t(11;17)(q23;q25). *Int J Hematol.* 2008 Aug;88(2):192-6. Epub 2008 Jul 19.
- 5) Narimatsu H, Miyakoshi S, Yamaguchi T, Kami M, Matsumura T, Yuji K, Murashige N, Kusumi E, Kodama Y, Komatsu T, Sakamaki H, Kouzai Y, Okada M, Osugi Y, Kobayashi R, Inoue M, Takahashi S, Kai S, Kato K, Inoue-Nagamura T, Taniguchi S, Kato S; Japan Cord Blood Bank Network. Chronic graft-versus-host disease following umbilical cord blood transplantation: retrospective survey involving 1072 patients in Japan. *Blood.* 2008 Sep 15;112(6):2579-82. Epub 2008 Jun 16.
- 6) Kusumi E, Kami M, Hara S, Hoshino J, Yamaguchi Y, Murashige N, Kishi Y, Shibagaki Y, Shibata T, Matsumura T, Yuji K, Masuoka K, Wake A, Miyakoshi S, Taniguchi S. Postmortem examination of the kidney in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation recipients: possible involvement of graft-versus-host disease. *Int J Hematol.* 2008 Mar;87(2):225-30. Epub 2008 Feb 9.
- 7) Uchida N, Wake A, Takagi S, Yamamoto H, Kato D, Matsuhashi Y, Matsumura T, Seo S, Matsuno N, Masuoka K, Kusumi E, Yuji K, Miyakoshi S, Matsuzaki M, Yoneyama A, Taniguchi S. Umbilical cord blood transplantation after reduced-intensity conditioning for elderly patients with hematologic diseases. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2008 May;14(5):583-90.
- 8) Kinoshita Y, Masuoka K, Miyakoshi S, Taniguchi S, Takeuchi Y. Vitamin D insufficiency underlies unexpected hypocalcemia following high dose glucocorticoid therapy. *Bone.* 2008 Jan;42(1):226-8.

※研究分担者分は分担報告書に準ずる

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

II. 分担研究報告

厚生労働科学研究費補助金（医療技術実用化総合研究事業）

分担研究報告書

「再生不良性貧血に対するアレムツズマブを用いた同種造血幹細胞移植法の開発を意図した
多施設共同医師主導治験に関する研究」

研究分担者 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：再生不良性貧血を含めた造血器疾患に対する同種造血幹細胞移植においては、ドナー造血幹細胞の生着を確実なものにするために、そして、移植後の移植片対宿主病を抑制するために、移植前に抗がん剤や免疫抑制剤などを投与し、さらに移植後にも免疫抑制剤を投与する。そのため、移植後の日和見感染症が問題となる。我々は少量のアシクロビルを長期間投与することによって帯状疱疹の発症をほぼ完全に抑制することに成功した。

A. 研究目的

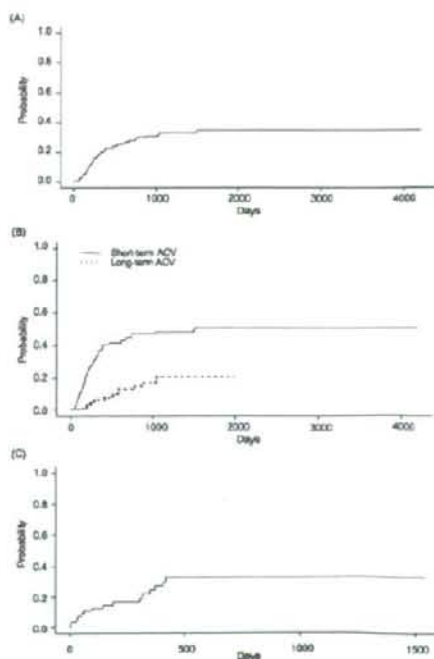
再生不良性貧血を含めた造血器疾患に対する同種造血幹細胞移植においては、ドナー造血幹細胞の生着を確実なものにするために、そして、移植後の移植片対宿主病を抑制するために、移植前に抗がん剤や免疫抑制剤などを投与し、さらに移植後にも免疫抑制剤を投与する。そのため、移植後の日和見感染症が問題となる。帯状疱疹ウィルスの再活性化は同種移植後の 20-50%の患者に認められる合併症であり、時に全身播種を介して致死的となる。そこで、我々は少量のアシクロビルを長期間投与することによる帯状疱疹の発症予防の有効性を検討した。

B. 研究方法

1995年6月から2006年11月の間に東京大学無菌治療部で同種移植を行った患者のうち、移植後35日以上生存し、データの解析が可能な242例を対象とした。2001年6月までに移植を行った105例は通常の移植後35日間のみのアシクロビルの短期予防投与を受けていたが、2001年7月以降に移植を行った137例は少量(200mg/day)のアシクロビルを免疫抑制剤が終了し、移植後1年を経過するまで長期間内服していた。

C. 研究結果

移植後の中央値248日(範囲50-1494日)に、66例が帯状疱疹を発症した。累積発症率は34.7%であった(図1A)。発症頻度は少量アシクロビル投与群で有意に低かった(図1B、20% vs 50%、 $P < 0.0001$)。少量アシクロビル投与中の発症は1例のみであった。しかし、少量アシクロビル中止後に32.1%に帯状疱疹の発症が認められた(図1C)。アシクロビ



ル中止後に免疫抑制剤が投与された患者に発症率が高い傾向が認められた(44% vs 20%、 $P=0.12$)。

帯状疱疹発症者の中では、少量アシクロビル投与後の発症は3例の帯状疱疹後疼痛を含めて症状は軽微であったが、少量アシクロビルを投与していない群の帯状疱疹発症者には中枢神経症状、眼症状などを伴う重症例が多かった。

D. 考察

少量のアシクロビルを同種移植後に長期間投与することによって、帯状疱疹発症を抑制できることが示された。また、少量アシクロビル投与を中止した後は30%強の患者に帯状疱疹が認められるが、予防投与を行っていない場合の発症と比較して症状が軽微になることも判明した。しかし、少量アシクロビル中止後に免疫抑制剤を投与した患者に帯状疱疹の発症が多い傾向が認められることから、免疫抑制剤を投与継続している場合、あるいは投与を再開する場合には少量アシクロビルも継続ないし再開するか、より本質的な解決方法としては少量アシクロビルを終了した時点で不活化ワクチンを投与することによってウィルス特異的な免疫力を高めることが望まれる。しかし、残念ながら現時点では国内で帯状疱疹ウィルスの不活化ワクチンを用いることはできない。

E. 結論

本研究の結果から、同種移植後の高度な免疫抑制状態の患者においては長期間の少量アシクロビルの投与によって、重篤な帯状疱疹の発症を抑制できることがわかった。保険適応外の使用であるという問題点があり、今後の適応拡大を含めて、対応を検討する必要がある。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

論文発表

- 1) Asano-Mori Y, Kanda Y, et al. False-positive Aspergillus galactomannan antigenaemia after haematopoietic stem cell transplantation. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 61:411-416, 2008
- 2) Asano-Mori Y, Kanda Y, et al. Long-term ultra-low-dose acyclovir against varicella-zoster virus reactivation after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *American Journal of Hematology* 83:472-476, 2008
- 3) Oshima K, Kanda Y, et al. Persistent cytomegalovirus (CMV) infection after haploidentical hematopoietic stem cell transplantation using in vivo alemtuzumab: Emergence of resistant CMV due to mutations in the UL97 and UL54 genes. *Journal of Medical Virology* 80:1769-1775, 2008

学会発表

なし。

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

厚生労働科学研究費補助金（医療技術実用化総合研究事業）

分担研究報告書

「アレムツズマブを用いた幹細胞移植後の免疫能の解析：
GVHD 予防による NK 細胞の抑制効果；各種免疫抑制剤間の比較」

研究分担者 中尾 真二 金沢大学医薬保健学域医学系細胞移植学 教授

研究要旨：KIR リガンド不適合造血幹細胞移植の結果から、移植後に回復するドナー由来の NK 細胞は強力な GVL 効果を担っていると考えられる。このため移植後早期には、NK 細胞の働きを抑制しない GVHD 予防薬を使用することが望ましい。現在 GVHD 予防として主に T 細胞、B 細胞抑制を目的に免疫抑制剤が使われているが、それらの NK 細胞に対する影響は明らかにはされていない。NK 細胞の温存は、アレムツズマブを用いた移植後に GVL 効果を保つという意味でも重要である。そこで我々は、各種 GVHD 予防薬による NK 細胞抑制効果を検討した。シクロスポリン、タクロリムス、メトトレキサートの NK 細胞の増殖・機能に及ぼす影響は軽微であったが、ミコフェノール酸モフェチル (MMF) の活性体である MPA は、臨床的に使用される濃度で NK 細胞の増殖・細胞傷害活性を著明に抑制した。T 細胞においてみられる MPA の p27 発現低下抑制効果は、MPA 存在下で培養した NK 細胞においも確認された。したがって、MMF による GVHD 予防は NK 細胞による GVL 効果を減弱させる可能性が示唆された。

A. 研究目的

移植後早期に GVHD 予防目的に使用される各種免疫抑制剤が NK 細胞の増殖や機能にどのような影響を与えるかを検討した。

B. 研究方法

健常者末梢血単核球からマグネティック・ビーズを用いてネガティブセレクションした NK (CD3⁺CD56⁺) 細胞 (90%以上) を IL-2 100U/ml、IL-15 10ng/ml の存在下で 7 日間培養し、免疫抑制剤を添加しないコントロールと免疫抑制剤添加群について、NK 細胞の増殖活性、白血病細胞株 (K562、Daudi) に対する細胞傷害活性、細胞表現抗原 (CD16、CD56 および NK 細胞レセプター (NKG2D、Nkp30、Nkp44、Nkp46)) の変化を比較した。免疫抑制剤は cyclosporine A (CsA) 1000ng/ml、tacrolimus (TAC) 20ng/ml、mycophenolic acid (MPA) 10 μ g/ml、methotrexate (MTX) 5 μ g/ml を用いた。細胞増殖活性 CFSE assay、培養後の生細胞数はトリパンブルー染色で評価した。NK 細胞の傷害活性は ⁵¹Cr release assay で、細胞表面抗原は

フローサイトメトリーで解析した。p27 の発現は Western blotting で解析した。

C. 研究結果

NK 細胞の増殖はコントロール群と比較して CsA 添加群、TAC 添加群、MPA 添加群で有意に抑制されていたが、MTX 添加群では抑制はみられなかった。細胞傷害活性はコントロール群に比べ MPA 添加群で有意に低下したが (K562: 69% vs 18% p<0.05 n=4、Daudi: 46% vs 3% p<0.05 n=4、E:T=1:1)、CsA 添加群、TAC 添加群、MTX 添加群では有意な変化を認めなかった。

コントロール群と比較して、CsA 添加群、TAC 添加群ではともにサイトカイン産生能の強い CD16^{negative}56^{bright} 細胞の割合が増加し、細胞傷害活性が強いとされる CD16^{positive}56^{dim} 細胞の割合が低下したのに対し、MPA 添加群では逆に CD16^{negative}56^{bright} 細胞の割合が減少し、CD16^{positive}56^{dim} 細胞の割合が増加した。MTX 添加群では NK 細胞サブセットの有意な変化を認めなかった。

NK 細胞活性化レセプターである NKG2D、NKp30、NKp44、NKp46 の発現は、コントロール群と比較して MPA 添加群で有意に低下した。NKG2D の発現は TAC 投与群で有意に低下した。また、NKp30 の発現は CsA 投与群と TAC 投与群で有意に増加した。MTX 投与群では、いずれのレセプター発現についても有意な変化はみられなかった。

Mycophenolate mofetil (MMF) は生体内で MPA に加水分解される。MPA は、GTP の de novo 合成経路における律速酵素 IMP dehydrogenase (IMPDH) を特異的に抑制することで、GTP 産生を選択的、可逆的かつ不整合的に阻害する。したがって MPA は、guanidine nucleotide の供給を主として de novo 系に依存している T および B リンパ球の増殖、活性化を選択的に阻害し、細胞傷害性 T 細胞産生の抑制あるいは抗体産生能の抑制などの免疫抑制作用を発現する。

MPA による NK 細胞増殖抑制、細胞傷害活性減弱効果は、代謝経路産物である guanosine の添加によって部分的に解除された (細胞増殖 11%→31% $p < 0.05$ $n=3$ 、細胞傷害活性 15%→33% $p < 0.05$ $n=3$ target : k562)。一方、サイクリン依存性キナーゼ p27 はサイクリンと結合して細胞増殖を制御している。IL-2 添加による培養後 T 細胞では p27 は分解されているが、培この p27 の分解は MPA 添加により抑制されることが報告されている。培養後 NK 細胞でも p27 発現は減弱したが、MPA の添加によって p27 の発現減弱が抑制された。

D. 考察

カルシニューリンインヒビターや MTX に比べて、MPA は CD16^{negative}56^{bright} の細胞比率を減少させ、NK 細胞による抗白血病効果を減弱させる可能性が示唆された。また、MPA による NK 細胞抑制効果は、T 細胞の抑制と同様に IMPDH 活性の抑制を介したものであると考えられた。

E. 結論

移植後の GVHD 予防に MMF を用いた場合、NK 細胞による GVL 効果が減弱する可能性がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

- 1) Lu X, Kondo Y, Takamatsu H, Ohata K, Yamazaki H, Takami A, Akatsuka Y, Nakao S. CD16+ CD56- NK cells in the peripheral blood of cord blood transplant recipients: a unique subset of NK cells possibly associated with graft-versus-leukemia effect. *Eur J Haematol.* 2008; 81:18-25
- 2) Mochizuki K, Sugimori C, Qi Z, Lu X, Takami A, Ishiyama K, Kondo Y, Yamazaki H, Okumura H, Nakao S. Expansion of donor-derived hematopoietic stem cells with PIGA mutation associated with late graft failure after allogeneic stem cell transplantation. *Blood.* 2008;112: 2160-2162
- 3) Takamatsu H, Espinoza JL, Lu X, Qi Z, Okawa K, Nakao S. Anti-moesin antibodies in the serum of patients with aplastic anemia stimulate peripheral blood mononuclear cells to secrete TNF-alpha and IFN-gamma. *J Immunol.* 2009;182: 703-710

学会発表

2008 年 日本血液学会総会

GVHD 予防薬による NK 細胞の抑制効果: 各種免疫抑制剤の比較

大畑欣也、近藤恭夫、盧緒章、石山謙、山崎宏人、高見昭良、奥村廣和、中尾眞二

H. 知的財産権の出願・登録状況

- 1) 特許取得 なし
- 2) 実用新案登録 なし
- 3) その他 なし

厚生労働科学研究費補助金（医療技術実用化総合研究事業）

分担研究報告書

「基礎医学研究成果に基づいた新たな造血幹細胞移植技術の開発」

研究分担者 高上 洋一 国立がんセンター中央病院 臨床検査部・部長

研究要旨：造血幹細胞移植は他領域とは異なり、基礎科学的根拠に基づいた治療開発が遅れ新治療開発と普及の支障となっている。本研究では、探索的・希少領域における未承認薬や適応外医薬品の臨床開発手順を確立すると同時に、蛍光蛋白遺伝子導入マウス解析系や移植患者検体の詳細な免疫動態解析研究などの先端的基礎研究を行い、経験的に行われている治療に基礎科学的根拠を付与した。また、新規検査法の開発を目指して企業との共同研究や国際的な標準化パネル作りを推進して我が国の国際貢献と標準化に大きく寄与した。

A. 研究目的

骨髄移植などの同種造血幹細胞移植の課題として特に重要なものは移植片拒絶、移植片対宿主病 (GVHD) と移植片対白血病効果 (GVL) である。本分担研究では、探索的・希少領域の治療法や薬剤の臨床根拠を専門的観点からまとめ、これに基づいてアテムツズマブなどの新規薬剤の導入を目指した医師主導治験を企画して参画し、医薬品医療機器総合機構 (PMDA) の治験相談などの規制当局との協議を推進する。造血幹細胞移植は他の治療領域とは異なり、基礎科学的根拠に基づいた治療開発が遅れがちで新治療開発の支障となっている。これを克服するために造血幹細胞移植に関する基礎研究を推進し、得られる知見を未承認薬や適応外医薬品の臨床開発に役立てる。具体的には、アテムツズマブは強力なリンパ球枯渇作用を有するため、移植後の細胞動態の解明や免疫回復、特にリンパ球に与える量的、質的影響を詳細に検討する必要がある。また、輸注した後の細胞動態や作用は未知の点が多いために、蛍光蛋白遺伝子導入マウス解析系を導入した先端的研究や治療患者の詳細な免疫動態解析研究を行う。

B. 研究方法

1) 探索的・希少領域における新薬・適応外医薬品の臨床開発手順の策定

現在までに行った①フルダラビンの移植前処置療法への適応拡大研究(再生医療分野「骨髄非破壊的前処置療法を用いた同種造血幹細胞移植の確立と普及に関する研究」:15071601)、②自滅遺伝子組み込みリンパ球輸注療法の治験協議(治験開始済み)、③同様の遺伝子治療の臨床研究申請(承認済み)、④抗ウイルス剤であるフォスカビルや移植後免疫抑制剤であるセルセプトの適応拡大などに関する PMDA や厚生労働省担当部局との協議の過程などで培った手順を基に、希少薬であるアテムツズマブ承認の手順を開発し、その成果を他の医薬品の臨床開発にも応用する。

2) 蛍光蛋白遺伝子導入マウス解析系の確立

輸注後の細胞動態を詳細に解明する目的で、蛍光蛋白遺伝子導入マウス (C57/BL6-GFP 或いは C57/BL6-RFP) をドナーとし、C57/BL6 と BDF-1 マウスをレシピエントとした移植系を用いて、様々な異なる移植条件下でのドナー細胞の生着と増殖パターンの違い、あるいは増殖後の肺・腸管等の GVHD の標的臓器における増殖形態や細胞分化を、in vivo imaging system 並びにフローサイトメト

リー法を用いて解析する。

3) 治療患者の免疫動態解析研究

アレムツズマブは抗 CD52 ヒト化モノクローナル抗体であり、強力なリンパ球枯渇作用を有する。この際、T 細胞だけでなく B 細胞をも排除するため、二次がんともいえるリンパ球増殖症のリスクが低いことが期待されている。また同剤は、ドナーリンパ球も抑制し GVHD の発症も予防するため、移植片拒絶と GVHD 発症双方の予防を可能とする。一方、治療効果である GVL も抑制する懸念もあるため、移植患者の免疫学的特性を各種の最新手法を用いて詳細に検討する。

C. 研究結果

1) 希少領域における新薬・適応外医薬品の臨床開発手順の策定

PMDA との協議に基づいてアレムツズマブの臨床試験計画を策定し、医師主導臨床治験を開始した結果、患者登録も順調に進んでいる。

2) 蛍光蛋白遺伝子導入マウス解析系の確立

本年度は特に生体内蛍光イメージング法を中心にドナー細胞の動態を解析し、他の手法と比較検討した。本法では、マウス全組織でのドナー細胞の分布を単一細胞レベルでリアルタイムに観察することが可能であった(図参照)。従来のドナー細胞の同定、定量法であるフローサイトメトリー法と比較検討するために、本法で得られた脾臓の蛍光量と、脾臓を単核球に調整してフローサイトメーターでドナー細胞の比率を測定して比較したところ、両者は相関する傾向であった。つまり、生体内蛍光イメージング法を用いることで、単核球細胞に調整することなくドナー細胞の浸潤の程度を比較することが可能である。以上の成果は、異なる移植条件あるいは薬剤がドナー細胞の生着や増殖パターンに与える影響を詳細に解明することが可能なことを示し、小動物を用いたドナー細胞の生着促進あるいは GVHD の抑制のスクリーニングに最適であると考えられる。これらの成果を、

ビジュアルを駆使して各種会合で紹介し啓蒙に努めた。

図の説明: マウス急性 GVHD モデルにおけるドナー細胞の蛍光イメージング

マウス急性 GVHD モデルとして、C57BL/6-Tg(CAG-EGFP) マウスの脾細胞(1×10^7 個)を(C57BL/6xDBA2) F1 に移植し、35 日目の蛍光画像を示した。緑色蛍光で検出されるドナー細胞が腸管、肝臓、脾臓、皮膚、骨に浸潤あるいは増殖していることが認められた。



3) 治療患者の免疫動態解析研究

本年度は、移植後患者の免疫機能を解析するためのモニタリング系を確立し、その標準化のための作業を行った。特に抗原特異的リンパ球の解析技術確立を主たるテーマとし、テトラマー、ペンタマーとデキストラマーの比較試験を行った。その結果、マルチマー1分子毎の蛍光強度が異なるため検出感度は異なるものの、それに伴って非特異的蛍光もみられることから用途ごとの選択が望ましいことを明らかにした。これらの成果を踏まえ、国際的な研究組織である Cancer Vaccine Consortium

(<http://www.cvc-sabin.org/>)の抗原特異的免疫評価法の国際標準化パネルにわが国唯一の機関として参加し、免疫モニタリングの標準化へ力を注ぐ。

D. 考察

希少薬であるアレムツズマブを用いた造血幹細胞などの探索的治療開発のための手順開発は、よ

り有効で安全な新薬を効率良く医療に導入するために必須であり国民医療の向上に寄与する。一方、造血幹細胞移植は他の治療領域とは異なり、基礎科学的根拠に基づいた治療開発が遅れがちで新治療開発の支障となっている。本分担研究では、治療に科学的根拠を付与するために医師主導治験の推進と並行して基礎研究を行った。治療開発に直結した研究は特徴的で厚生労働科研の特性に合致したものである。その結果、蛍光蛋白遺伝子導入マウス解析系を確立し、輸注後の細胞動態と機能の解析を飛躍的に向上させた。また通常の臨床検査として行われる各免疫担当細胞の分画に加え、フローサイトメトリーを用いた詳細な免疫担当細胞分画、マルチマーを用いた抗原特異的リンパ球の解析、細胞内サイトカイン産生解析法を用いた質的解析方法を企業とも共同して確立し、国際的な標準化パネル作りにも参加したことは、我が国の国際貢献と標準化に大きく寄与する。

E. 結論

本研究では、探索的・希少領域における未承認薬や適応外医薬品の臨床開発手順を確立しつつあり、この手順は他の医薬品にも応用可能となることから国民医療水準の向上に大きく寄与する。また、造血幹細胞移植法の科学的根拠を示すために先端的研究を行い、経験的に行われている治療に基礎科学的根拠を付与したことの意義は大である。

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

本研究課題に直接関連したもののみを以下に記す。

<論文発表>

1) Yamasaki S, Heike Y, Mori S, Fukuda T, Maruyama D, Kato R, Usui E, Koido K, Kim SW, Tanosaki R, Tobinai K, Teshima T, Takaue Y: Infectious complications in chronic

graft-versus-host disease: a retrospective study of 145 recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with reduced- and conventional-intensity conditioning regimens. *Transplant Infect Dis*, 10:252-259, 2008.

- 2) Kanda Y, Omuro Y, Baba E, Oshima K, Nagafuji K, Heike Y, Takaue Y, Sasaki T, Sakamaki H, Harada M: Allo-SCT using reduced-intensity conditioning against advanced pancreatic cancer: a Japanese survey. 42:99-103, 2008.
- 3) O Fuji S, Kim SW, Fukuda T, Mori S, Yamasaki S, Morita-Hoshi Y, Ohara-Waki F, Heike Y, Tobinai K, Tanosaki R and Takaue Y: Preengraftment Serum C-Reactive Protein (CRP) Value May Predict Acute Graft-versus-Host Disease and Nonrelapse Mortality after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 14:510-517, 2008.
- 4) O Morita-Hoshi M, Heike Y, Kawakami M, Ebisawa M, Miura O, Kim SW, Mori S, Fukuda T, Tanosaki R, Tobinai K, Takaue Y: Functional analysis of cytomegalovirus-specific T lymphocytes compared to tetramer assay in patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*, 41:515-521, 2008.
- 5) Imataki O, Heike Y, Makiyama H, Iizuka A, Ikarashi Y, Ishida T, Wakasugi H, Takaue Y: Insufficient ex vivo expansion of V α 24⁺ natural killer T cells in malignant lymphoma patients related to the suppressed expression of CD1d molecules on CD14⁺ cells. *Cytotherapy*, 10:497-506, 2008.
- 6) O Saito B, Fukuda T, Yokoyama H, Kurosawa S, Takahashi T, Fuji S, Takahashi N, Tajima K, Kim SW, Mori S, Tanosaki R, Takaue Y, Heike

- Y: Impact of T-cell chimerism on clinical outcome in 117 patients who underwent allogeneic stem cell transplantation with a busulfan-containing reduced-intensity conditioning regimen. *Biol Blood Marrow Transplant*, 14:1148-1155, 2008.
- 7) Hosono A, Makimoto A, Kawai A, Takaue Y: Segregated graft-versus-tumor effect between CNS and non-CNS lesions of Ewing's sarcoma family of tumors. *Bone Marrow Transplant*, 41:1067-1068, 2008.
- 8) Kim SW, Matsuo K, Fukuda T, Hara M, Matsue K, Taniguchi S, Eto T, Tanimoto M, Wake A, Hatanaka K, Nakao S, Ishida Y, Harada M, Utsunomiya A, Imanura M, Kanda Y, Sunami K, Kawano F, Takaue Y, Teshima T: Reduced-intensity unrelated donor bone marrow transplantation for hematologic malignancies. *Int J Hematol*, 88:324-330, 2008.
- 9) Kim SW, Mori S, Tanosaki R, Fukuda T, Kami M, Sakamaki H, Yamashita T, Kodera Y, Terakura S, Taniguchi S, Miyakoshi S, Usui N, Yano S, Kawano Y, Nagatoshi Y, Harada I M, Morishima Y, Okamoto S, Saito AM, Ohashi Y, Ueda R and Takaue Y: 1Busulfex (i.v. BU) and CY regimen before SCT: Japanese-targeted phase II pharmacokinetics combined study. *Bone Marrow Transplant*, 2008 (Nov 17),
- 10) Fuji S, Kim-SW, Fukuda T, Kamiya S, Kuwahara S, Takaue Y: Positive impact of maintaining minimal caloric intake above 1.0 x basal energy expenditure on the nutritional status of patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *American Journal of Hematology*, 84:63-64, 2009.
- 11) Fuji S, Kim SW, Mori S, Kamiya S, Yoshimura K, Yokoyama H, Kurosawa S, Saito B, Takahashi T, Kuwahara S, Heike Y, Tanosaki R, Takaue Y, Fukuda T: Intensive glucose control after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a retrospective matched-cohort study. *Bone Marrow Transplant*, 2009 (Jan 19),
- <学会発表>
- 1) Yokoyama H, Fukuda T, Kobayashi Y, Kim SW, Maruyama D, Mori S, Watanabe T, Tanosaki R, Tajima K, Tobinai K, Takaue Y: Hematopoietic cell transplantation for chemoradiotherapy-related myelodysplastic syndrome and acute leukemia: a single-center analysis of 47 patients. American Society for Blood and Marrow Transplantation Annual Meeting, San Diego, February 13-17, 2008.
- 2) Tanosaki R, Kodama T, Oguni S, Yoshida A, Hotate Y, Kuroda R, Wada H, Hamaguchi Y, Takaue Y: Enumeration of "HPC" as a possible alternative for CD34-positive cells in collecting peripheral blood stem cell for transplantation. International Society for Cellular Therapy 2008 Annual Meeting, Miami, May 16-21, 2008.
- 3) Ohishi K, Ryuu H, Yamamura K, Masuya M, Heike Y, Takaue Y, Katayama N: rGM-CSF on the generation of early megakaryocytic as well as erythroid precursors from human hematopoietic precursors. The 50th American Society of Hematology Annual Meeting, San Francisco, December 6-9, 2008.
- 4) Kim SW, Fukuda F, Hagiwara S, Komatsu T, Goto T, Ueda Y, Ito T, Hino M, Sunami K, Tanosaki R, Mori S, Kami M, Tajima K, Takaue Y: Randomized phase II trial comparing cyclosporine (CSP) and tacrolimus (TAC) for methotrexate (MTX)-free graft-versus-host disease (GVHD) prophylaxis after allogeneic transplantation from a matched related donor (MRD) with a reduced-intensity

- regimen containing cladribine and busulfan. The 50th American Society of Hematology Annual Meeting, San Francisco, December 6-9, 2008.
- 5) Tanosaki R, Kim SW, Asakura Y, Kurosawa S, Yakushijin K, Azuma T, Mori S, Fukuda T, Tobinai K, Takaue Y: Outcomes among patients with relapsed malignant lymphoma after allogeneic stem cell transplantation. The 50th American Society of Hematology Annual Meeting, San Francisco, December 6-9, 2008.
- 6) Ito T, Kim SW, Fukuda T, Tanosaki R, Ueda Y, Wake A, Komatsu T, Kami M, Mori S, Tajima K, Ishida F, Takaue Y: Prospective feasibility trial of allogeneic transplantation from a serologically HLA one antigen-mismatched related donor with a reduced-intensity regimen that includes cladribine, busulfan and rabbit ATG. The 50th American Society of Hematology Annual Meeting, San Francisco, December 6-9, 2008.
- 7) Asakura Y, Tanosaki R, Kim SW, Kurosawa S, Yakushijin K, Azuma T, Dai Maruyama, Shin-ichiro Mori, Takahiro Fukuda, Takashi Watanabe, Yukio Kobayashi, Kensei Tobinai, Takaue Y: Cytoreductive Regimen Containing Ranimustine (MCNU), Carboplatin, Etoposide and cyclophosphamide (MCEC) before autologous peripheral blood stem cell transplantation for relapsed or refractory lymphoma. The 50th American Society of Hematology Annual Meeting, San Francisco, December 6-9, 2008.
- 8) Fukuda T, Sugita T, Takakura S, Takata T, Kushima H, Takaue Y, Tamura K, Tokimatsu I: Clinical characteristics and treatment outcome of disseminated Trichosporonosis (DT): Survey of 67 patients with hematological disease. The 50th American Society of Hematology Annual Meeting, San Francisco, December 6-9, 2008.
- 9) Yakushijin K, Fukuda T, Saito B, Kurosawa S, Asakura Y, Azuma T, Kim SW, Mori S, Tanosaki R, Heike Y, Takaue Y: Absolute lymphocyte count kinetics may predict the clinical outcome after related allogeneic peripheral blood stem cell transplantation with a busulfan-based reduced-intensity conditioning regimen. The 50th American Society of Hematology Annual Meeting, San Francisco, December 6-9, 2008.
- H. 知的財産権の出願・登録状況
該当事項なし

厚生労働科学研究費補助金（医療技術実用化総合研究事業）

分担研究報告書

「再生不良性貧血に対するアレムツズマブを用いた同種造血幹細胞移植法の開発を意図した多施設共同医師主導治験に関する研究」

研究分担者 宮本 敏浩 九州大学病院血液腫瘍内科 講師

研究要旨：同種造血幹細胞移植においては、移植前処置、移植片対宿主病発症抑制のための免疫抑制剤投与、移植片対宿主病およびその治療等のため免疫不全状態となり、移植後のサイトメガロウイルス再活性化が問題となる。我々は経口バルガンシクロビルを投与することによってサイトメガロウイルス感染症発症を安全に抑制することに成功した。

A. 研究目的

再生不良性貧血に代表される造血不全や白血病など造血器腫瘍に対する根治的治療法の一つとして同種造血幹細胞移植療法が確立されつつある。同種造血幹細胞移植では、移植前処置、移植片対宿主病発症抑制のための免疫抑制剤投与、移植片対宿主病およびその治療等のため免疫不全状態となり、移植後の日和見感染症が問題となる。さらに近年、アレムツズマブ等を用いた移植前処置の改良により HLA 不一致移植も可能となる反面、移植後の日和見感染症がさらに重要な問題となっている。サイトメガロウイルス (CMV) の再活性化は同種移植後の 50-80% の患者に認められる合併症であり、時に CMV 肺炎を発症して致死的となり得る。近年、移植後 100 日目以降、すなわち退院後に CMV 抗原血症が陽性化する症例が増加し、外来通院での CMV 治療の重要性が増している。そこで、我々は経口バルガンシクロビルを投与することで CMV 発症予防の有効性と安全性を検討した。

B. 研究方法

2007 年 6 月から 2008 年 4 月の間に九州大学病院無菌治療部で同種移植を行った患者のうち、退院後に CMV 抗原血症が陽性化した 10 例を対象とした。バルガンシクロビル (900mg/day) を 21 日間内服し、CMV 抗原血症の推移、CMV 感染症発症を観察し、骨髄抑制や肝腎機能をモニタリングした。

C. 研究結果

対象となった 10 例の患者は、8 例が急性骨髄性白血病、1 例が骨髄異形成症候群、1 例が悪性リンパ腫であった。移植ソースは、8 例が HLA 一致非血縁骨髄、1 例が HLA 一致血縁骨髄、1 例が一座不一致非血縁骨髄移植であった。移植前に 10 例全例が CMV 既感染であった。移植前治療は、5 例が TBI/Cy、4 例が ivBU/CY、1 例が Flu/BU/TBICMV で行った。GVHD 予防は 9 例が FK/MTX、1 例が CSP/MTX で施行した。7 例で急性 GVHD II 度、2 例で III 度を発症し、うち 8 例において PSL 投与が必要であった。

CMV 抗原血症が陽性化したのは、移植後中央値 69 日 (範囲 25-252 日) であった。バルガンシクロビル投与により、10 例全例において速やかに CMV 抗原血症は減少し、10 例中 9 例においてバルガン

