

厚生労働科学研究費補助金
免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業

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 20 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 神田 善伸

平成 21 年 (2009) 3 月

厚生労働科学研究費補助金
免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業

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 20 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 神田 善伸

平成 21 年 (2009) 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	17
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 国立病院機構 大牟田病院 原田実根	22
3. 治療抵抗性 T 細胞性前リンパ球性白血病に対するアテムツズマブを前処置に 含む骨髄非破壊的臍帯血移植 金沢大学医薬保健学域医学系細胞移植学 中尾眞二	24
4. 成人前処置軽減臍帯血移植においてレシピエント HLA 抗体が生着に与える影響 に関する研究 国家公務員共済組合連合会 虎の門病院 血液科 谷口修一	27
5. 非血縁者間 HLA-DR 血清型一座不適合骨髄移植の検討 名古屋第一赤十字病院 血液内科 宮村耕一	30
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	33
7. 同種移植後の白血病細胞根絶と GVHD に関する研究 筑波大学大学院人間総合科学研究科 千葉滋	35
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	39
IV. 研究成果の刊行物・別刷	43

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

研究代表者 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

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、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。ドナーと患者の間に HLA の不一致が存在すると、お互いをより強く非自己であると見なすことによって、移植片拒絶と移植片対宿主病(graft-versus-host disease; GVHD)の頻度が増加する。そこで、本研究班ではアテムツズマブを用いた移植方法の開発を計画した。アテムツズマブはリンパ球などの細胞の表面に存在する CD52 に対するモノクローナル抗体である。移植前処置と併用することによって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で 18 症例のパイロット試験を行い、Grade III 以上の重症急性 GVHD の発症を 1 例のみに抑制することに成功した。そこで、アテムツズマブを用いた HLA 不一致移植を改正 GCP(good clinical practice)に則った医師主導治験として行うことにより、より信頼性の高いデータを得るとともに、本試験で品質保証されたデータに基づいて適応承認申請を行い、多くの国民に利益をもたらす。

厚生労働科学研究費補助金ヒトゲノム・再生医療等研究事業「アテムツズマブを用いた HLA 二座以上不一致血縁ドナーからの同種造血幹細胞移植療法の開発に関する研究」班において平成 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 17 年 1 月に治験を開始した。平成 17 年度に登録された 3 症例がいずれも治療の成功基準を満たしたため、アテムツズマブの投与量を減量した第二段階へと進んだ。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「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」班として連続再評価法による投与量の調節を行っている。平成 20 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。平成 20 年度に第 1、第 2 コホートの 6 症例の中間解析を行い、中間総括報告書を作成した。安全性、有効性、血中薬物動態を含め、海外のデータと比較しても優れた結果が得られていた。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。研究分担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。

研究分担者

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

金沢大学医薬保健研究域医学系
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 細菌免疫検査室 医長

千葉 滋

筑波大学大学院人間総合科学研究科
血液内科 教授

A. 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 細胞である。そこで、我々はアテムツズマブに着目した。アテムツズマブはリンパ球などの細胞の表面に存在する CD52 に対するモノクローナル抗体であり、強力なリンパ球抑制効果を示す。アテ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テ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、アテ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、アテムツズマブは本邦未承認薬であるため、本臨床試験は改正 GCP(good clinical practice)基準に則って医師主導治験として行う。アテムツズマブを用いた HLA 二座以上不一致血縁者間移植の安全性と有効性が証明された場合には、本試験で品質保証されたデータに基づいてアテムツズマブの移植前処置薬としての適応承認申請を行い、多くの国民に利益をもたらすことを目的とする。また、本試験は数多くの薬剤が適応外使用されている造血幹細胞移植領域における初の医師主導治験の試みであり、今後の移植領域の医師主導治験の礎となるべきものである。

研究分担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)に対する同種造血幹細胞移植 48 例の治療成績を解析した。中尾らは T 細胞性前リンパ球性白血病(T-PLL)に対して、アテムツズマブ単独療法とアテムツズマブを用いた臍帯血移植の有効性を示した。谷口らは臍帯血ミニ移植において患者 HLA 抗体が生着に及ぼす影響を解析した。宮村らは HLA-DR 一抗原不適

合非血縁者間骨髄移植の有用性の検討を行った。森らは高齢者の HLA 不適合造血幹細胞移植の安全性について検討を行った。千葉らは臍帯血中の CD3陽性細胞から機能的 NK 細胞を誘導する方法の研究開発を行った。

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 一致または一座不一致の血縁・非血縁ドナーがいないがために、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(TBI、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、研究分担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、原田らは福岡骨髄移植グループで行われた48例のATLに対する同種造血幹細胞移植の治療成績を解析した。中尾らはT-PLLに対してアレムツズマブ単剤による寛解導入療法を行い、さらにアレムツズマブを前処置に用いた臍帯血移植を行った。谷口らは自施設で行った157例の臍帯血ミニ移植の結果を解析し、患者のHLA抗体が臍帯血生着に及ぼす影響を評価した。宮村らは名古屋第一赤十字病院において行われた123例の非血縁者間骨髄移植におけるHLA・DR一抗原不適合の影響を解析した。森らは高齢者の非血縁者間骨髄ミニ移植においてTBIや抗ヒト胸腺細胞抗体(ATG)が移植成績におよぼす影響について検討を行った。千葉らはIL-15やDelta-Fcキメラ蛋白を用いて臍帯血CD3陽性細胞から機能的NK細胞を誘導することを試みた。

(倫理面への配慮)

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

臨床試験への登録に先立って、担当医は患者ならびにドナーに施設の審査委員会の承認が得られた同意説明文書を説明の前、または説明するときに患者ならびにドナーに渡し、その内容を口頭で詳しく説明した。患者が試験の内容をよく理解したことを確認した上で、試験への参加についての意思を確認した。患者ならびにドナー本人が試験への参加に同意した場合、添付の同意書または施設で定められた書式の同意書を用いて、説明をした医師名、説明を受け同意した患者ならびにドナー名、同意を得た日付を記載し、医師、患者ならびにドナー各々が署名した。未成年のドナーを対象とする場合には、代諾者の自由意思による同意を得た。

医師主導治験においては、患者およびドナーの情報はデータセンターに登録されるが、氏名や住所などの個人情報参加施設からデータセンターへ知らされることはない。また、モニター、監査担当者など本治験に関係する者は、本治験に関して知り得た情報は第3者に漏洩されることは禁じられている。

C. 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テムツズマブ(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名だけとアテ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、アテ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、アテ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、研究代表者および研究分担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。

CRM に移行することによって治験の進行が潤滑となり、平成 20 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。また、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、学会ホームページでも紹介されている。

平成 20 年度に第 1、第 2 コホートの 6 症例の中間解析を行い、中間総括報告書を作成した。安全性、有効性、血中薬物動態を含め、海外のデータと比較しても優れた結果が得られていた。治験コストの縮小のために、治験の早期終了の可能性について医薬品医療機器総合機構と相談したが、現時点での申請は時期尚早との判断であったため、平成 21 年度も治験は予定通り継続する。

造血幹細胞移植領域の医師主導治験を行うにあたって生じている問題点は、数多くの有害事象がやむをえず発生することである。元来、大量抗癌剤、全身放射線照射、免疫抑制剤の使用、GVHD の発症など、数々の重篤有害事象が生

じることを前提とした治療法であり、現実には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 に対する 48 例(急性型 38 例、リンパ腫型 10 例)の同種造血幹細胞移植を解析したところ、3 年生存率 30%と、他の治療法では極めて予後が不良である疾患に対して、有望な治療成績を示した。患者年齢と移植時の化学療法感受性が予後因子として同定された。臓器障害や感染症などの移植関連死亡も数多く認められたため、前処置などの移植方法のさらなる工夫が必要である。

中尾らは治療抵抗性 T-PLL を有する 72 歳

TPLL 患者に対して、アテムツズマブを用いた寛解導入療法を行った。既に CHOP 療法やクラドリンなどのプリンアナログ製剤が無効という状態であったにもかかわらず、アテムツズマブの単独投与によって末梢血中の白血球数は 71140/ μL から 7950/ μL まで減少した。しかし、その後には再増悪傾向が観察されたため、アテムツズマブ、フルダラビン、メルファランを併用した移植前処置に引き続いて臍帯血移植を行った。移植後 14 日目にドナー細胞の生着を認め、重篤な合併症を発症することなく、現在は完全寛解状態で外来通院中である。

谷口らは自施設で行った臍帯血ミニ移植 157 例について、抗 HLA 抗体が好中球生着に及ぼす影響を後方視的に解析した。このうち 28 例に移植前に Luminex 法で抗 HLA 抗体の検査が行われ、18 例が陽性であった。しかし、抗 HLA 抗体陽性例と陰性例の間に好中球や血小板の生着率に差は認められなかった。ただし、抗 HLA 抗体が陽性で、かつその抗体が臍帯血の不適合抗原に対応している症例において拒絶が観察されたため、ドナーの不適合抗原に対する抗 HLA 抗体については生着に影響を与える可能性を否定できない。

宮村らは自施設で行った非血縁者間骨髄移植 123 例について、HLA-DR 一抗原不適合が移植成績におよぼす影響を解析した。123 例中 12 例が HLA-DR 一抗原不適合、82 例は適合、19 例は HLA-DRB1 一アレル不適合、10 例は HLA クラス I 一アレル不適合であった。生着不全は HLA クラス I 一アレル不適合の 1 例のみで、122 例に生着が観察された。III 度以上の急性 GVHD は HLA-DR 一抗原不適合群では 27% と HLA 適合群の 10% よりも増加する傾向が認められたが、再発例はなく、4 年生存率は 63% と優れていた。しかし、慢性 GVHD による QOL の低

下が問題となる可能性が指摘された。

森らは自施設で行った減弱前処置を用いた非血縁者間骨髄移植 65 例を後方視的に解析した。前処置はフルダラビンあるいはクラドリンのいずれかとブスルファン[®]の二剤に加えて、TBI 4Gy (n=30)、TBI 2Gy (n=20)、あるいは ATG 10mg/kg (n=15) が投与された。生着不全は ATG 群で 20% と多かったが、III 度以上の急性 GVHD は TBI 4Gy 群で 31%、TBI 2Gy 群で 16%、ATG 群で 0% と ATG 群で少なく、ATG 群では移植関連死亡は認められなかった。再発率には有意差はなく、1 年生存率、無増悪生存率は ATG 群が最も優れていた。

千葉らは臍帯血から抗 CD34 抗体磁気ビーズを用いて CD34 陽性細胞を分離し、stem cell factor(SCF)、IL-15、Delta-Fc(可溶性 Notch リガンド)あるいはコントロール Fc をコーティングした培養皿、あるいは何もコーティングしない培養皿で培養し、機能的 NK 細胞の割合を評価した。2 週間の培養で Delta-Fc をコーティングした培養皿で CD56^{hi}CD161⁺ の成熟 NK 細胞の成熟 NK 細胞の表現型を有する細胞が過半数を占めるまでに増加した。これらの細胞は細胞傷害性試験でも機能的な NK 細胞であることが確認された。

D. 考察

HLA 一致血縁ドナーからの同種造血幹細胞移植は、他に有効な治療を持たない造血器疾患の根治的な治療として確立されているが、少子化の進む先進国において HLA 一致血縁ドナーが得られる確率は 30% にすぎない。骨髄バンクにもドナーが見つからない、あるいは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。一方、親子間では A、B、DR 座などの重要な HLA 座はひとつかたまり(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。

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。特に 55 歳以上の高齢者においては、研究分担者の森らの研究にでも明らかのように高齢者に対する移植では GVHD による移植関連死亡率が増加するため、体内でドナー T 細胞を抑制して GVHD を予防する方法は最終的な移植成績の向上につながる事が期待できる。一方、GVHD を増加させずに GVL 効果を発揮させるための手段として、千葉らが研究しているような NK 細胞を用いた細胞療法の臨床応用が期待される。

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 法を用いてアレムツズマブの至適投与量を決定する。既にパイロット試験で投与された量と同様用量を用いた第 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、治験は順調に進行している。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。

今回の治験では対象疾患には含まれていないが、将来的にはアレムツズマブ単剤での治療効果が証明されている ATL や T-PLL などについても、研究分担者の原田らや中尾らの報告でも示されているように同種造血幹細胞移植による根治も期待できる腫瘍であるので、アレムツズマブを用いた同種造血幹細胞移植が有用性を発揮する疾患として期待できる。また、非血縁者間骨髄移植でも HLA・DR の一抗原不適合が存在する場合には、宮村らが示したように重篤な急性 GVHD による死亡や、慢性 GVHD による QOL

の低下が問題となるため、少量のアレムツズマブを併用することによって移植関連死亡率の減少や長期的な QOL の向上が可能になるかもしれない。しかし、谷口らの報告にあるように、HLA の不適合が存在する移植においては抗 HLA 抗体の存在が生着不全にかかわる可能性が以前から指摘されており、アレムツズマブを用いた HLA 不適合移植においても多数例における解析が必要であろう。

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、これまでも一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。

E. 結論

この医師主導治験の結果として、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、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。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1) 国内

1. 論文発表

(研究代表者)

1. 神田善伸 アレムツズマブを用いた HLA 不一致造血幹細胞移植 *最新医学* 63:1635-1640,2008
2. 神田善伸 血液病と免疫抑制剤 ～造血幹細胞移植と造血障害～ 同種造血幹細胞移植における拒絶・移植片対宿主病の制御薬とその適応 アレムツズマブ (Campath-1H) *血液フロンティア* 18:1045-1053,2008

2. 学会発表

(研究分担者：中尾眞二)

1. 島樋茂, 近藤恭夫, 石山謙, 山崎宏人, 高見昭良, 奥村廣和, 中尾眞二 Alemtuzumab を前処置に含む臍帯血 RIST により完全寛解が得られた治療抵抗性 T 細胞性前リンパ球性白血病 第31回日本造血細胞移植学会 2008年

(研究分担者：宮村耕一)

1. 西脇聡史, 寺倉精太郎, 後藤辰徳, 瀬戸愛花, 渡邊慶介, 今橋伸彦, 塚本祥吉, 榎葉誠, 小澤幸泰, 宮村耕一, 伊藤雅文
皮膚 GVHD 病変への浸潤細胞と予後の検討：マクロファージ浸潤は難治性 GVHD の指標となる 第 31 回日本造血細胞移植学会総会 札幌 2009 年 2 月
2. 西脇聡史, 寺倉精太郎, 伊藤雅文, 後藤辰徳, 瀬戸愛花, 渡邊慶介, 今橋伸彦, 塚本祥吉, 榎葉誠, 小澤幸泰, 安田貴彦, 柳澤真弓, 宮村耕一
マクロファージ浸潤は同種造血細胞移植後の皮膚急性 GVHD の予後不良因子となる 第 70 回日本血液学会・第 49 回日本臨床血液学会 京都 2008 年 10 月
3. 今橋伸彦, 後藤辰徳, 瀬戸愛花, 渡邊慶介, 西脇聡史, 塚本祥吉, 柳澤真弓, 榎葉誠, 小澤幸泰, 宮村耕一
同種造血幹細胞移植後の好酸球血症は、急性 GVHD 発症後の全存在の予後良好因子である 第 70 回日本血液学会・第 49 回日本臨床血液学会 京都 2008 年 10 月

(研究分担者：森慎一郎)

1. 藤重夫, 森慎一郎他、非血縁骨髄ミニ移植における治療関連毒性に関する検討 第 29 回造血細胞移植学会総会 ワークショップ 14-6 福岡 2007 年 2 月

2) 海外

1. 論文発表

(研究代表者)

1. Oshima K, Kanda Y, Kako S, Asano-Mori Y, Watanabe T, Motokura T, Chiba S, Shiraki K, and Kurokawa

M. 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

2. Asano-Mori Y, Kanda Y, Oshima K, Kako S, Shinohara A, Nakasone H, Sato H, Watanabe T, Hosoya N, Izutsu K, Asai T, Hangaiishi A, Motokura T, Chiba S, Kurokawa M. Clinical features of late cytomegalovirus infection after hematopoietic stem cell transplantation. *International Journal of Hematology* 87:310-318, 2008
3. Kako S, Kanda Y, Oshima K, Nishimoto N, Sato H, Watanabe T, Hosoya N, Motokura T, Miyakoshi S, Taniguchi S, Kamiyo A, Takahashi K, Chiba S, Kurokawa M. Late onset of autoimmune hemolytic anemia and pure red cell aplasia after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation using in vivo alemtuzumab: successful treatment with rituximab and cyclosporine. *American Journal of Hematology* 83:247-249, 2008
4. Oshima K, Kanda Y, Yamashita T, Takahashi S, Mori T, Nakaseko C, Fujimaki K, Yokota A, Fujisawa S, Matsushima T, Fujita H, Sakura T, Okamoto S, Maruta A, Sakamaki H, for the Kanto Study Group for Cell

Therapy. Central nervous system relapse of leukemia after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biology of Blood and Marrow Transplantation* 14:1100-1107, 2008

5. Kanda Y, Omuro Y, Baba E, Oshima K, Nagafuji K, Heike Y, Takaue Y, Sasaki T, Sakamaki H, and Harada M. Allogeneic stem cell transplantation using reduced-intensity conditioning against advanced pancreatic cancer: a Japanese survey. *Bone Marrow Transplantation* 42:99-103, 2008

(研究分担者：原田実根)

1. Kikushige Y, Yoshimoto G, Miyamoto T, Iino T, Mori Y, Iwasaki H, Niuro H, Takenaka K, Nagafuji K, Harada M, Ishikawa F, Akashi K. Human flt3 is expressed at the hematopoietic stem cell and the granulocyte/macrophage progenitor stages to maintain cell survival. *The Journal of Immunology* 180:7358-7367, 2008
2. Kong Y, Yoshida S, Saito Y, Doi T, Nagatoshi Y, Fukata M, Saito N, Yang SM, Iwamoto C, Okamura J, Liu KY, Huang XJ, Lu DP, Shultz LD, Harada M, Ishikawa F. CD34+CD38+CD19+ as well as CD34+CD38-CD19+ cells are leukemia-initiating cells with self-renewal capacity in human B-precursor ALL. *Leukemia* 22:1207-1213, 2008

(研究分担者：中尾眞二)

1. Sugimori N, Kondo Y, Shibayama M, Omote M, Takami A, Sugimori C, Ishiyama K, Yamazaki H, Nakao S. Aberrant increase in the immature platelet fraction in patients with myelodysplastic syndrome: a marker of karyotypic abnormalities associated with poor prognosis. *European Journal of Haematology*. 82:54-60, 2009
2. Takamatsu H, Espinoza J L, 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. *The Journal of Immunology* 182:703-710, 2009
3. 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. *European Journal of Haematology*. 81:18-25, 2008
4. 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*.

- 112:2160-2162, 2008
5. Yamashita T, Sugimori C, Ishiyama K, Yamazaki H, Okumura H, Kondo Y, Takami A, Nakao S. Cord blood transplantation using minimum conditioning regimens for patients with hematologic malignancies complicated by severe infections. *International Journal of Hematology*. 2008 (in press)
- (研究分担者：谷口修一)
1. Uchida N, Wake A, Takagi S, Yamamoto H, Kato D, Matsushashi 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. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. 14:583-90, 2008
 2. 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. *International Journal of Hematology*. 87:225-30, 2008
 3. 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. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. 14:1057-1063, 2008
- (研究分担者：宮村耕一)
1. Sugimoto K, Murata M, Onizuka M, Inamoto Y, Terakura S, Kuwatsuka Y, Oba T, Miyamura K, Kodera Y, Naoe T. Decreased risk of acute graft-versus-host disease following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with the 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase 677TT genotype. *International Journal of Hematology* 87:451-458, 2008
 2. Kawase T, Nannya Y, Torikai H, Yamamoto G, Onizuka M, Morishima S, Tsujimura K, Miyamura K, Kodera Y, Morishima Y, Takahashi T, Kuzushima K, Ogawa S, Akatsuka Y. Identification of human minor histocompatibility antigens based on genetic association with highly parallel genotyping of pooled DNA. *Blood* 111:3286-3294, 2008
 3. Kamei M, Nannya Y, Torikai H, Kawase T, Taura K, Inamoto Y, Takahashi T, Yazaki M, Morishima S, Tsujimura K, Miyamura K, Ito T, Togari H, Riddell SR, Kodera Y, Morisima Y, Takahashi T, Kuzushima K, Ogawa S, Akatsuka Y. HapMap

scanning of novel human minor histocompatibility antigens. *Blood* 2008 (in press)

(研究分担者：森慎一郎)

1. Yamasaki S, Heike Y, Mori S, Fukuda T, Maruyama D, Kato R, Usui E, Koido K, Kim S, 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 Infectious Disease* 10:252-259, 2008
2. 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. *Biology of Blood and Marrow Transplantation* 14:1148-1155, 2008
3. Murashige N, Kami M, Mori S, Katayama Y, Kobayashi K, Onishi Y, Hori A, Kishi Y, Hamaki T, Tajima K, Kanda Y, Tanosaki R, Takaue Y. Characterization of acute graft-versus-host disease following reduced-intensity stem-cell

transplantation from an HLA-identical related donor. *American Journal of Hematology* 83:630-634, 2008

(研究分担者：千葉滋)

1. Sakata-Yanagimoto M, Nakagami-Yamaguchi E, Saito T, Kumano K, Yasutomo K, Ogawa S, Kurokawa M, Chiba S. Coordinated regulation of transcription factors through Notch2 is an important mediator of mast cell fate. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 105:7839-7844, 2008
2. Maekawa Y, Minato Y, Ishifune C, Kurihara T, Kitamura A, Kojima H, Yagita H, Sakata-Yanagimoto S, Saito T, Taniuchi I, Chiba S, Sone S, Yasutomo K. Notch 2 integrates signaling by the transcription factors RBP-J and CREB1 to promote T cell cytotoxicity. *Nature Immunology* 9:1140-1147, 2008
2. 学会発表
なし
- 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

II. 分担研究報告

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

研究代表者 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
研究分担者 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

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の結果、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 17 年 1 月に治験を開始した。平成 17 年度に第 1 コホート 3 症例を、平成 18 年度中に第 2 コホート 3 症例を完了した。平成 19 年度より CRM によってアレムツズマブの至適投与量を検討するとともに、当該用量において同種造血幹細胞移植が安全に実施することが可能であることを検討する段階に進んでいる。平成 20 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。平成 20 年度に第 1、第 2 コホートの 6 症例の中間解析を行い、中間総括報告書を作成した。安全性、有効性、血中薬物動態を含め、海外のデータと比較しても優れた結果が得られていた。

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 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 非発症率の期待値及び期待値が 60%を超える確率が 90%以上となることを基準とした CRM(Continual Reassessment Method、研究分担者の大橋靖雄らが開発した連続再評価法)による検討結果を参考として、3 例ずつのコホート法により、0.16 mg/kg、0.20 mg/kg、あるいは 0.25 mg/kg を投与し、CRM の開始用量を決定する。第 3 コホート以降の CRM においても、GVHD 非発症率の期待値が 60%を超える確率が 90%以上となることを基準として用量選択を行い、最も早く必要症例数に達した用量を推奨用量と定め、その結果を主要変数の評価に用いる。

C. 研究結果

東京大学医学部附属病院無菌治療部で同治療法のパイロット試験が行われ、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 基準に則った医師主導治験として行うことにより、アテムツズマブの適応承認申請を行う。

平成 15 年度から作成を開始した臨床試験計画書、同意説明文書について、平成 16 年 2 月 26 日に医師主導臨床試験の実行に関して、医薬品副作用被害救済・研究振興調査機構との治験相談を行い、指摘された事項について、平成 16 年度に試験計画書について必要な修正を加えた。その後、症例報告書の作成、データベースの構築(日本臨床試験支援ユニットに委託)、医薬品機構への医師主導治験実施の相談、各施設の審査機関での試験の承認を経て、平成 16 年 11 月に治験届を提出し、平成 16 年 12 月に治験を開始した。治験は多施設共同で行われ、研究代表者および研究分担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、アテ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 によってアテ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。CRM に移行することによって治験の進行が潤滑となり、平成 20 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。また、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、学会ホームページでも紹介されている。

平成 20 年度に第 1、第 2 コホートの 6 症例の中間解析を行い、中間総括報告書を作成した。安全性、有効性、血中薬物動態を含め、海外のデータと比較しても優れた結果が得られていた。治験コストの縮小のために、治験の早期終了の可能性について医薬品医療機器総合機構と相談したが、現時点での申請は時期尚早との判断であったため、平成 21 年度も治験は予定通り継続する。

また、有害事象の出現状況については、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