

200934011A

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 21 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 神田 善伸

平成 22 年 (2010) 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 21 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 神田 善伸

平成 22 年 (2010) 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 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 .....	19
2. 重症再生不良性貧血に対するアテムツズマブ (Campath-1H) を前処置薬とした 非血縁者間同種骨髄移植後の遷延性混合キメラの検討 金沢大学医薬保健研究域医学系細胞移植学 中尾眞二 .....	25
3. 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 .....	29
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 血液内科 谷口修一 .....	31
5. Campath 1H による移植後免疫回復能の検討に関する研究 名古屋第一赤十字病院 血液内科 宮村耕一 .....	34
6. 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 宮本敏浩 .....	38
7. 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 .....	41
III. 研究成果の刊行に関する一覧表 .....	47
IV. 研究成果の刊行物・別刷 .....	53

# I . 総括研究報告

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）  
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

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。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」班において平成 16 年 11 月に治験届けを提出し、同 12 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、アレムツズマブの投与量を減量した第二段階へと進出した。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」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。当初の目標だった、平成 21 年度中の症例登録完了は困難な状況であるが、0.16 mg/kg に減量後の症例が 9 症例となり、1 例の早期死亡、1 例の早期再発を除く 7 例が成功基準を満たしており、逐次検定に移行することによって治験の早期終了を目指している。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。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

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

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

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

宮本 敏浩

九州大学病院  
血液腫瘍内科 講師

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

### 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 適合または一重不一致の血縁・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 二重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 二重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。中尾らは重症再生不良性貧血に対するアレムツズマブ (Campath-1H) を前処置薬とした非血縁者間同種骨髄移植後の遷延性混合キメラの検討を行なった。千葉らはヒト臍帯中の単核球か

ら誘導した NK 細胞の解析を行った。同種移植後の白血球細胞根絶と GVHD に関する研究を行なった。谷口らはステロイド抵抗性消化管 GVHD に対するインフリキシマブ投与の研究を行なった。宮村らはアレムツズマブを用いた同種骨髄移植の免疫回復の解析を行った。宮本らは成人 T 細胞性白血病リンパ腫に対する同種移植 100 症例の移植成績を後方視的に解析した。森らは骨髄移植推進財団のデータを用いて非血縁者間移植における肥満の影響を解析した。

## 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/m<sup>2</sup> 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(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、中尾らはアレムツズマブを用いて骨髄移植を行なった 3 症例の重症再生不良性貧血患者において、定期的な末梢血キメリズム検査で混合キメラ状態が疑われた患者に対しては、遠心分離により顆粒球と単核球を分離後、磁気ビーズを用いたネガティブセレクションにより CD3 陽性細胞(T 細

胞)を分離した。分離した細胞から DNA を抽出し、反復配列多型分析法によりそれぞれの細胞分画におけるドナー由来細胞の割合を決定した。

千葉らは臍帯血から単核球を分離し、抗 CD34 抗体磁気ビーズを用いて CD34+細胞を分取した。得られた CD34+細胞を、stem cell factor (SCF)、flt-3 ligand (FL)、interleukin-6 (IL-6)、IL-7 を含む培養液中で、Delta4-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た。経時的に、総細胞数、および、未熟ないし機能的 NK 細胞の割合をフローサイトメトリー法および細胞傷害性アッセイで解析した。さらに IL-15 の有無で細胞傷害性タンパクなどの発現を比較した。

谷口らは 9 症例のステロイド抵抗性消化管 GVHD 患者を対象としてインフリキシマブは 5mg/kg を週 1 回静注、エタネルセプトは 0.4mg/kg を週 1-2 回皮下注とし、症状に応じて追加投与を行った。

宮村らはフルダラビン、シクロホスファミドおよびアレムツズマブによる前処置後に HLA 適合同胞から骨髄移植を受けた 25 歳女性患者における移植後の免疫回復能については、CD3、CD4、CD8、CD19、CD56 抗体および CMV、EBV に対する HLA-A2402 テトラマーを用いフローサイトメトリーを使用して評価した。これらの結果をアレムツズマブを前処置に使用しなかった 18 名の患者と比較した。

宮本らは福岡骨髄移植グループにて、1998 年から 2008 年 6 月までに施行された 100 症例の ATLL に対する同種造血幹細胞移植成績を後方視的に解析した。

森らは 1998 年から 2005 年の間に行なわれた非血縁者間骨髄移植 3827 例について、骨髄移植推進財団のデータを用いて後方視的に検討した。WHO の定義に従い、低 BMI (BMI < 18/kg/m<sup>2</sup>) 群 (n = 295)、正 BMI (18 ≤ BMI < 25/kg/m<sup>2</sup>) 群 (n = 2906)、超過体重 (25 ≤ BMI < 30/kg/m<sup>2</sup>) 群 (n = 565)、肥満 (30 < BMI/kg/m<sup>2</sup>) 群 (n = 61) の四群に分類し、移植結果を群間比較した。

#### (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：当時)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 16 年 11 月に治験計画届を提出し、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。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。

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。当初の目標だった、平成 21 年度中の症例登録完了は困難な状況であるが、0.16 mg/kg に減量後の症例が 9 症例となり、1 例の早期死亡、1 例の早期再発を除く 7 例が成功基準を満たしており、後述するように逐次検定に移行することによって治験の早期終了を目指している。

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。

中尾らの分担研究では、重症再生不良性貧血に対して骨髄移植を行った 3 症例中の 2 例は移植後 day 30、day 60 に CD3 陽性細胞が 95%以上ドナー型となったものの、その後ドナー型細胞の割合が低下し、症例 1 では day 198 にはドナー型細胞の割合が顆粒球で 84%、T 細胞で 50%、症例 2 では day 134 にそれぞれ 84%、53%となり、汎血球減少が進行した。このため、それぞれ day 217、169 にドナーリンパ球輸注 (DLI、 $1 \times 10^6/\text{kg}$ 、 $0.5 \times 10^6/\text{kg}$ ) を行った。その結果汎血球減少

症は改善し、末梢血中のドナー型顆粒球、T 細胞の割合は症例 1 で 100%、95%となった。症例 2 では顆粒球におけるドナー型細胞の割合は 93%まで回復した (T 細胞は細胞数少なく評価不能)。症例 3 は移植後 day 30 の時点でドナー T 細胞が 90%であったが、day 68 にはドナー型顆粒球は 100%であるものの T 細胞の割合がほぼ 0%となった。血球数は安定していたため経過を観察しているが、day 180 現在、ドナー型細胞の割合は顆粒球で 86%、T 細胞で 10%以下となっている。血球減少は依然として見られていない。GVHD は 3 例とも発症しなかった。

千葉らの分担研究では、ヒト臍帯血由来 CD34+細胞を、IL-15 が存在しない条件で Delta4-Fc をコーティングした培養皿で培養することにより、細胞傷害活性を持つ NK 細胞が産生された。さらに、IL-15 を加えることにより、CD56 の発現が高くなり、細胞傷害性タンパクの発現も増加した。以上から、ヒト臍帯血 CD34 陽性細胞を Delta4-Fc と IL-15 を用いて培養することにより、高い細胞傷害活性をもつ NK 細胞を産生し得ることが明らかになった。

谷口らの分担研究では、ステロイド抵抗性 GVHD に対してインフリキシマブを用いた 7 症例の奏効率は 57.1%であった。エタネルセプトを用いた 2 例は効果が認められなかったが、インフリキシマブに変更しても無効であった。ステージ 4 で重症度の高い症例や TMA の合併例では、インフリキシマブが奏効しない傾向にあった。また、インフリキシマブを使用した全例で細菌感染や真菌感染症の合併を認めた。

宮村らの分担研究では、アテムツズマブを用いて重症再生不良性貧血に対する骨髄移植

を行った患者において、サイトメガロウイルス感染症を繰り返すなどの重度の免疫抑制状態が観察された。リンパ球サブセットの解析は移植後 17、28、44、55、84、112、167、230 日において行った。すべてのリンパ球サブセットにおいて、移植後 100 日までの回復が認められなかった。テトラマー解析においても、移植後半年まで、サイトメガロウイルスおよび EB ウイルス特異的な細胞傷害性 T 細胞がほとんど検出されていなかった。アレムツズマブを用いなかった患者と比較して、明らかに免疫回復が遅延していると考えられた。

宮本らの分担研究では、成人 T 細胞性白血病に対して同種造血幹細胞移植を行った 100 例中の 43 例が移植後 100 日以内に早期死亡した。100 日以内に早期死亡した 43 例の死因は原疾患 12 例、感染症 14 例、GVHD 4 例、その他 13 例であった。1 年以内の死亡を 17 例に認め、7 例が原疾患、3 例が GVHD、4 例が感染症、その他 3 例であった。全症例における 3 年生存率は 20%で、CR/PR で移植を施行した群では、血縁者間と非血縁者間移植において 3 年生存率がどちらも 30%程度であったが、病期が進行した群では、血縁者移植 19 例では 3 年生存率 17%、非血縁者間移植 15 例では全例一年以内に死亡した。近年開始した臍帯血移植 19 症例では 2 年生存率が約 20%であった。

森らの分担研究では、非血縁者間骨髄移植後の累積非再発死亡率は低 BMI 群 29%、正 BMI 群 31%、超過体重群 32%、肥満群 40%と肥満群で高率であった。原病再発率には差がみられず、結果的に全生存割合では肥満群が他 3 群と比較して低下していた。グレード II 以上の急性移植片対宿主病累積発症割合

は低 BMI 群 42%、正 BMI 群 45%、超過体重群 48%、肥満群 58%と BMI と発症率に正の相関を認めた ( $p = 0.03$ )。また、全身性感染症の合併頻度も BMI と正の相関を認めた。

また、付随的な基礎研究では、成人 T 細胞性白血病に対する造血幹細胞移植後に、発症原因ウイルスである HTLV-I の Tax タンパク質に対する細胞傷害性 T 細胞(CTL)が誘導され、移植後の免疫学的な抗腫瘍効果に関与していることが知られているが、研究代表者の神田らはテトラマーを用いて CTL を単離し、single-cell RT-PCR で T 細胞受容体レパトアを調べたところ、PDR という特徴的なアミノ酸配列を有するレパトアが全ての症例で、かつ同一症例の移植前後で検出された。また、この PDR 配列を有するレパトアを持つ CTL は HTLV-I 感染細胞に対して強い細胞傷害能を発揮することが示され、今後の移植後の免疫学的抗腫瘍効果を高める治療法の開発につながる可能性が示唆された。

#### 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。一方で、中尾らや宮村らの分担研究で明らかにされたように、アテムツズマブが過剰に働くと混合キメラの出現や免疫回復の遷延を招くおそれがある。今後はアテムツズマブの投与量について、患者背景やドナーとの関係などに対応して至適化していく必要があるのかもしれない。また、GVHD を増加させずに免疫回復を促進す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)に則つ

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。平成 21 年度中に症例登録を完了することは困難な状況であるが、0.16 mg/kg での症例が 9 症例となり、1 例の早期死亡、1 例の早期再発を除く 7 例が成功基準を満たしており、逐次検定に移行することによって治験の早期終了を目指している。すなわち、推奨用量として 11 例集積された時点から正確な逐次検定にデザインを変更し、第 1 種の過誤を保ったまま、あらかじめ設定する基準を超えた場合に有効性が検証されたとみなし試験を終了することとした。これによって、検出力も当初の計画とほぼ同等に維持しつつ、早期での有効性の判断が可能となる。

目標症例数	棄却域	第 1 種の過誤	検出力
11 例	無効 2 以下	3.3%	61.7%
12 例	無効 2 以下	3.3%	61.7%
13 例	無効 2 以下	3.3%	61.7%
14 例	無効 3 以下	4.2%	73.1%
15 例	無効 3 以下	4.2%	73.1%
16 例	無効 3 以下	4.2%	73.1%
17 例	無効 4 以下	4.9%	80.3%
18 例	無効 4 以下	4.9%	80.3%

17 症例時点で検出力 80%を超えることから、本試験の目標症例数を 17 症例と再設定する。平成 22 年 1 月に医薬品医療機器総合機構と相談を行い、解析計画の変更は可能であるという見解が得られた。

今回の治験では対象疾患には含まれていないが、将来的にはアテ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、研究分担者の宮本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、アテ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、谷口らの研究成果にあるように、インフリキシマブなどの移植後の GVHD 治療法の改善によって、予防段階での過剰な免疫抑制を回避する戦略が可能になる可能性が考えられる。

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。

## F. 健康危険情報

該当なし

## G. 研究発表

### 1) 国内

#### 1. 論文発表

なし

#### 2. 学会発表

(研究分担者：中尾眞二)

1. 石山謙, 近藤恭夫, 望月果奈子, 山崎宏人, 高見昭良, 奥村廣和, 谷口修一, 中尾眞二 アテムツズマブ (Campath-1H) を前処置とする非血縁者間同種骨髄移植後混合キメラ状態が遷延している再生不良性貧血の 3 例 第 32 回日本造血細胞移植学会総会 2010.2

(研究分担者：宮村耕一)

1. 小澤幸泰, 小山大輔, 小野寺晃一, 後藤辰徳, 瀬戸愛花, 渡邊慶介, 今橋伸彦, 塚本

- 祥吉, 宮村耕一 Ph 陽性急性リンパ性白血病に対する同種造血細胞移植施行群とイマチニブ併用化学療法継続群の治療成績の検討 第 71 回日本血液学会 京都 2009.10
2. 渡邊慶介, 青山功, 小山大輔, 後藤辰徳, 小野寺晃一, 瀬戸愛花, 今橋伸彦, 塚本祥吉, 小澤幸泰, 宮村耕一 造血細胞移植後の腎合併症の検討 第 71 回日本血液学会 京都 2009.10
  3. 後藤辰徳, 小山大輔, 小野寺晃一, 瀬戸愛花, 渡邊慶介, 今橋伸彦, 塚本祥吉, 小澤幸泰, 宮村耕一 当院における fludarabine と melphalan を用いた減量強度前処置による同種造血幹細胞移植 86 例の検討 第 71 回日本血液学会 京都 2009.10
  4. 塚本祥吉, 西脇聡史, 後藤辰徳, 瀬戸愛花, 渡邊慶介, 今橋伸彦, 椎葉誠, 小澤幸泰, 宮村耕一 当院における悪性リンパ腫に対する同種造血幹細胞移植の成績 第 31 回日本造血細胞移植学会総会 札幌 2009.2
  5. 今橋伸彦, 伊藤雅文, 池口美代子, 後藤辰徳, 瀬戸愛花, 渡邊慶介, 塚本祥吉, 西脇聡史, 椎葉誠, 小澤幸泰, 宮村耕一 急性骨髄性白血病に対する同種造血幹細胞移植後早期の CD8+細胞及び CD56+細胞による抗白血病効果の検討 第 31 回日本造血細胞移植学会総会 札幌 2009.2
  6. 瀬戸愛花, 後藤辰徳, 渡邊慶介, 今橋伸彦, 塚本祥吉, 西脇聡史, 小澤幸泰, 宮村耕一 同種造血幹細胞移植生着後の非感染性発熱症例の検討-GVHD との関連について 第 31 回日本造血細胞移植学会総会 札幌 2009.2
- 2) 海外
1. 論文発表  
(研究代表者)
    1. Kimura SI, Oshima K, Okuda S, Sato K, Sato M, Terasako K, Nakasone H, Kako S, Yamazaki R, Tanaka Y, Tanihara A, Higuchi T, Nishida J, Kanda Y. Pharmacokinetics of cyclosporine during the switch from continuous intravenous infusion to oral administration after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplantation* (in press)
    2. Kanda Y, Yamashita T, Mori T, Ito T, Tajika K, Mori S, Sakura T, Hara M, Mitani K, Kurokawa M, Akashi K, Harada M. A randomized controlled trial of plasma real-time PCR and antigenemia assay for monitoring cytomegalovirus infection after unrelated bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplantation* (in press)
    3. Terasako K, Sato K, Sato M, Kimura SI, Nakasone H, Okuda S, Kako S, Tanaka Y, Yamazaki R, Oshima K, Tanihara A, Higuchi T, Nishida J, Kanda Y. The effect of different ATG preparations on immune recovery after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for severe aplastic anemia. *Hematology* (in press)
- (研究分担者：中尾眞二)
1. 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.

- The Journal of Immunology* 182:703-710, 2009.
2. Sugimori C, Mochizuki K, Qi Z, Sugimori N, Ishiyama K, Kondo Y, Yamazaki H, Takami A, Okumura H, Nakao S: Origin and fate of blood cells deficient in glycosylphosphatidylinositol-anchored protein among patients with bone marrow failure. *British Journal of Haematology* 147:102-112, 2009.
  3. Espinoza JL, Takami A, Onizuka M, Sao H, Akiyama H, Miyamura K, Okamoto S, Inoue M, Kanda Y, Ohtake S, Fukuda T, Morishima Y, Kodera Y, Nakao S: NKG2D gene polymorphism has a significant impact on transplant outcomes after HLA-fully-matched unrelated bone marrow transplantation for standard risk hematologic malignancies. *Haematologica* 94:1427-1434, 2009.
- (研究分担者：千葉滋)
1. Haraguchi K, Suzuki T, Koyama N, Kumano K, Nakahara F, Matsumoto A, Yokoyama Y, Sakata-Yanagimoto M, Masuda S, Takahashi T, Kamiyo A, Takahashi K, Takanashi M, Okuyama Y, Yasutomo K, Sakano S, Yagita H, Kurokawa M, Ogawa S, Chiba S. Notch Activation Induces the Generation of Functional NK Cells from Human Cord Blood CD34-Positive Cells Devoid of IL-15. *Journal of Immunology* 182:6168-6178, 2009
  2. Yokoyama Y, Suzuki T, Sakata-Yanagimoto M, Kumano K, Higashi K, Takato T, Kurokawa M, Ogawa S, Chiba S. Derivation of functional mature neutrophils from human embryonic stem cells. *Blood* 113:6584-6592, 2009
  3. Kato M, Sanada M, Kato I, Sato Y, Takita J, Takeuchi K, Niwa A, Chen Y, Nakazaki K, Nomoto J, Asakura Y, Muto S, Tamura A, Iio M, Akatsuka Y, Hayashi Y, Mori H, Igarashi T, Kurokawa M, Chiba S, Mori S, Ishikawa Y, Okamoto K, Tobinai K, Nakagama H, Nakahata T, Yoshino T, Kobayashi Y, Ogawa S. Frequent inactivation of A20 in B-cell lymphomas. *Nature* 459:712-716, 2009
- (研究分担者：谷口修一)
1. Takagi S, Masuoka K, Uchida N, Ishiwata K, Araoka H, Tsuji M, Yamamoto H, Kato D, Matsuhashi Y, Kusumi E, Ota Y, Seo S, Matsumura T, Matsuno N, Wake A, Miyakoshi S, Makino S, Ohashi K, Yoneyama A, Taniguchi S. High incidence of haemophagocytic syndrome following umbilical cord blood transplantation for adults. *British Journal of Haematology* 147:543-553,2009
  2. Yamamoto H, Uchida N, Ishiwata K, Araoka H, Takagi S, Tsuji M, Kato D, Matsuhashi Y, Seo S, Matsuno N, Masuoka K, Wake A, Yoneyama A, Makino S, Taniguchi S. Possible

- graft-versus-host disease involving the central nervous system soon after cord blood transplantation. *American Journal of Hematology* 84:764-766, 2009
3. Matsuno N, Wake A, Uchida N, Ishiwata K, Araoka H, Takagi S, Tsuji M, Yamamoto H, Kato D, Matsuhashi Y, Seo S, Masuoka K, Miyakoshi S, Makino S, Yoneyama A, Kanda Y, Taniguchi S. Impact of HLA disparity in the graft-versus-host direction on engraftment in adult patients receiving reduced-intensity cord blood transplantation. *Blood* 114:1689-1695, 2009

(研究分担者：宮村耕一)

1. Inamoto Y, Ito M, Suzuki R, Nishida T, Iida H, Kohno A, Sawa M, Murata M, Nishiwaki S, Oba T, Yanada M, Naoe T, Ichihashi R, Fujino M, Yamaguchi T, Morishita Y, Hirabayashi N, Kodera Y, and Miyamura K. Clinicopathological manifestations and treatment of intestinal transplant-associated microangiopathy. *Bone Marrow Transplantation* 44:43-49, 2009
2. Kuwatsuka Y, Miyamura K, Suzuki R, Kasai M, Maruta A, Ogawa H, Tanosaki R, Takahashi S, Koda K, Yago K, Atsuta Y, Yoshida T, Sakamaki H, and Kodera Y. Hematopoietic stem cell transplantation for core binding factor acute myeloid leukemia: t(8;21) and inv(16) represent different clinical outcomes. *Blood* 113:2096-2103, 2009
3. Nishiwaki S, Terakura S, Ito M, Goto T, Seto A, Watanabe K, Yanagisawa M, Imahashi N, Tsukamoto S, Shimba M, Ozawa Y, and Miyamura K. Impact of macrophage infiltration of skin lesions on survival after allogeneic stem cell transplantation: a clue to refractory graft-versus-host disease. *Blood* 114:3113-3116, 2009

(研究分担者：宮本敏浩)

1. Takenaka K, Eto T, Nagafuji K, Kamezaki K, Matsuo Y, Yoshimoto G, Harada N, Yoshida M, Henzan H, Takase K, Miyamoto T, Akashi K, Harada M, Teshima T. Oral valganciclovir as preemptive therapy is effective for cytomegalovirus infection in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients. *International Journal of Hematology* 89:231-237, 2009
2. Kohno K, Nagafuji K, Tsukamoto H, Horiuchi T, Takase K, Aoki K, Henzan H, Kamezaki K, Takenaka K, Miyamoto T, Teshima T, Harada M, Akashi K. Infectious complications in patients receiving autologous CD34-selected hematopoietic stem cell transplantation for severe autoimmune diseases. *Transplant Infectious Disease* 11:318-323, 2009
3. Teshima T, Nagafuji K, Henzan H, Miyamura K, Takase K, Hidaka M, Miyamoto T, Takenaka K, Akashi K, Harada M. Rituximab for the



treatment of corticosteroid-refractory chronic graft-versus-host disease. *International Journal of Hematology* 90:253-260,2009

(研究分担者：森慎一郎)

1. Fuji S, Kim SW, Yoshimura K, Akiyama H, Okamoto S, Sao H, Takita J, Kobayashi N, Mori S. Possible association between obesity and posttransplantation complications including infectious diseases and acute graft-versus-host disease. *Biology of Blood and Marrow Transplantation* 15: 73, 2009
2. 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, and Fukuda T. Intensive glucose control after allogeneic hematopoietic stem cell

transplantation: a retrospective matched-cohort study. *Bone Marrow Transplantation* 44 : 105-111, 2009

3. Fuji S, Kim SW, Mori S, Furuta K, Tanosaki R, Heike Y, Takaue Y, Fukuda T. Decreased insulin secretion in patients receiving tacrolimus as GVHD prophylaxis after allogeneic hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplantation* (in press)

## 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

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）  
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

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 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 例のみに抑制することができた。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 11 月に治験届けを提出し、同 12 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。当初の目標だった、平成 21 年度中の症例登録完了は困難な状況であるが、0.16 mg/kg に減量後の症例が 9 症例となり、1 例の早期死亡、1 例の早期再発を除く 7 例が成功基準を満たしており、逐次検定に移行することによって治験の早期終了を目指している。

#### 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/m<sup>2</sup> 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。

## 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