

移植免疫反応と遺伝子多型の 解析



金沢大学

Jルイス・エスピノーザ

高見昭良

中尾眞二

目的と方法

- がん監視機構や自己免疫疾患の疾患感受性・感染免疫・同種移植への影響が示唆され、TaqMan PCR法で解析可能な免疫関連遺伝子多型を解析し、同種移植後転帰との関連を後方視的に解析した。

対象

- JMDPを通じてHLAアレル一致非血縁者間骨髄移植を受けた血液がん患者とそのドナー(360例)。

IL-17(A)

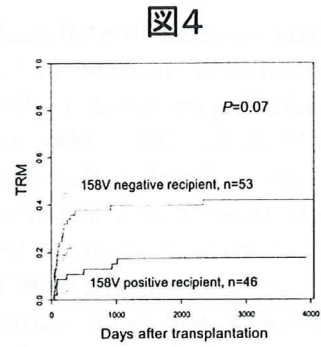
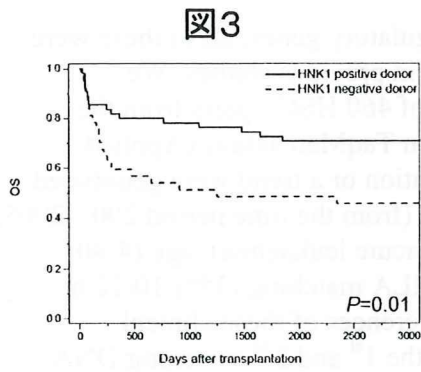
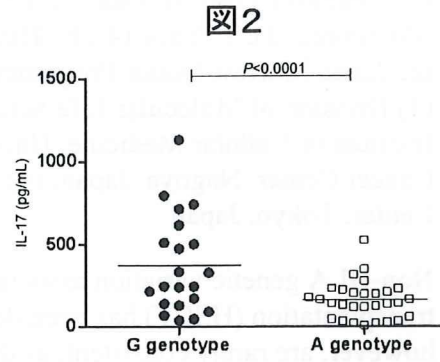
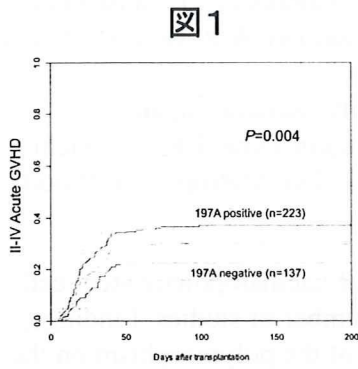
- プロモーター領域のSNP(rs2275913, G197A)を解析。
- 患者側197A遺伝子型はII-IV急性GVHDの有意な危険因子(HR 1.87; 95%CI 1.23-2.85; $P=0.004$)であった(図1)。
- 急性GVHD関連死亡に関与する傾向もみられた($P=0.095$)。
- 健常人の末梢血単核球をIL2とIL-15で刺激し、IL-17産生量を検討したところ、197A遺伝子型保有者の誘導能は有意に低かった(図2)。
- したがって、IL-17 197A遺伝子型を有する患者は、IL-17低誘導能の結果、急性GVHD発症率が高まる可能性が示唆された。

NKG2D

- SNP(rs1049174)に基づく、高NK活性型(NKG2D-HNK1)と低NK活性型(NKG2D-LNK1)のハプロタイプ保有を解析。
- HNK1ハプロタイプ陽性ドナーを持つ患者の移植関連死亡率(TRM)は低く、全生存率(OS)も良好であった(HR 0.44; 95% CI 0.23-0.85; $P=0.01$)(図3)。

FCGR3A

- SNP(rs396991)に基づく、高ADCC型158Vと低ADCC型158Fの保有を解析。
- 158V陽性患者のTRMは低く(図4)、OSも良好であった(HR 0.49; 95% CI 0.26-0.93; $P=0.03$)。



Single nucleotide polymorphisms in immunoregulatory genes associate with HSCT outcomes in a Japanese population

C. Harkensee (1,2), A. Oka (1), P.G. Middleton (2), M. Onizuka (1), H. Inoko (1), Y. Morishima (3), T. Yabe (4), K. Hirayasu (4), K. Kashiwase (4), A.R. Gennery (2), for the Japan Marrow Donor Programme (JMDP)

(1) Division of Molecular Life Sciences, Tokai University, Isehara, Japan; (2) Institute of Cellular Medicine, University of Newcastle upon Tyne, UK; (3) Aichi Cancer Center, Nagoya, Japan; (4) Japanese Red Cross Tokyo Metropolitan Blood Center, Tokyo, Japan

Non-HLA genetic variation associating with outcomes of haematopoietic stem cell transplantation (HSCT) has been described by a large number of studies. Findings, however, are rarely consistent, as the overall effect size of the polymorphism on the outcome is often small and may be affected by variation in population and clinical characteristics (ethnicity, related/unrelated transplant, HLA matching, clinical risk factors).

The aim of this study is to identify in a robust way single nucleotide polymorphisms (SNP) that display consistent association over a longer period of time, withstanding changes in clinical characteristics of the transplantation.

We have selected 39 SNP markers in 20 immunoregulatory genes, all of these were described as being associated with HSCT outcomes in previous studies. We individually genotyped all 39 markers on a first set of 460 HSCT pairs from the JMDP registry (1993-2000) using standard or custom TaqMan assays (Applied Biosystems). Markers that showed a positive association or a trend were genotyped for confirmation on a second set of 460 HSCT pairs (from the time period 2001-2005). Both cohorts were stratified for underlying disease (acute leukaemia), age (4-40 years), conditioning regimen (myelo-ablative) and HLA matching (35% 10/12 or 12/12 match) and had no statistically significant differences of these clinical characteristics (these two cohorts are identical with the 1st and 2nd screening DNA pools of the microsatellite study). Investigated outcomes include acute Graft-versus-host disease (aGVHD), chronic GVHD (cGVHD), engraftment, relapse and survival, analysed also in a subgroup containing the 10/12 and 12/12 HLA matched pairs. Fisher's Exact Test and Kaplan-Meier analyses were performed using SPSS (v15.0). All p-values were corrected for multiple testing using Bonferroni's correction according to the number of SNP tested in each step of the study.

At the first screening step 5 SNP showed significant association or trend with HSCT outcomes (Donor: IL10-1082 AG genotype risk for survival, $p=0.0018$; recipient: CTLA4 rs231777 TT genotype risk for severe aGVHD, $p=0.0018$; TNF-1031 TT-CC genotype match risk for aGVHD grade 4, $p=0.0017$; trend for genotype mismatch with aGVHD grade 4, $p=0.0224$; FAS-670 TT genotype risk for aGVHD, $p=0.0013$; CT genotype protective against relapse, $p=0.0025$; IL2-330 GG genotype risk for aGVHD grade 4, $p=0.0014$, GT genotype protective for survival, $p=0.0021$, and a trend of the GT genotype with risk of cGVHD in the HLA subgroup only ($p=0.0391$). At the confirmatory typing, the IL2-330 GT genotype associated with cGVHD ($p=0.013$), which was even more marked in HLA-matched subgroup analysis ($p=0.0004$). The TNF-1031 TT genotype showed association with aGVHD ($p=0.0094$); and genotype mismatch correlated with aGVHD grade 4 ($p=0.0053$).

When combining the data of both screenings (920 pairs), associations of the TNF-1031 TT genotype with aGVHD ($p=0.0275$, OR 1.47) and genotype mismatch with aGVHD grade 4 ($p=0.0002$, OR 2.91), as well as the IL2-330 GT genotype association with cGVHD ($p=0.0217$, OR 1.39 overall; $p=0.00005$, OR 2.54, in HLA matched subgroup) were confirmed.

This study has identified the recipient IL2-330 GT SNP genotype (cGVHD) and TNF-1031 genotype mismatch (aGVHD) as consistent risk factors in both screening steps and combined analysis. Other associations were less consistent, suggesting that significance may depend on variation in clinical risk factors. For clinical application as a risk predictive tool, SNP associations independent of subtle changes in clinical factors would be desirable.

A systematic scanning of the immunogenome with microsatellite markers in a Japanese HSCT population reveals multiple genetic risk loci for graft-versus-host disease

C. Harkensee (1,2), A. Oka (1), P.G. Middleton (2), M. Onizuka (1), A.R. Gennery (2), H. Inoko (1), Y. Morishima (3), for the Japan Marrow Donor Programme (JM DP)

(1) Division of Molecular Life Sciences, Tokai University, Isehara, Japan; (2) Institute of Cellular Medicine, University of Newcastle upon Tyne, UK; (3) Aichi Cancer Center, Nagoya, Japan

Non-HLA gene polymorphisms contribute to the immune response leading to Graft-versus-host Disease (GVHD). We applied a systematic approach using microsatellite (ms) marker typing for a large number of immune response genes on pooled DNA of Japanese donors and recipients of haematopoietic stem cell transplants (HSCT) to identify recipient and donor risk loci for GVHD. Ms, due to their multiple alleles, are more informative than single nucleotide polymorphisms (SNP).

We selected 4,231 ms markers, tagging 3,093 target genes (representing the 'immunogenome') at close proximity (<100kb). We selected 922 unrelated HSCT donor/recipient pairs from the Japan Marrow Donor Programme (JM DP) registry, based on clinical homogeneity (acute leukaemia, age 4-40 years, myeloablative conditioning, bone marrow source). 35% of pairs had a 10/12 or 12/12 HLA match. The population was split into discovery and confirmation cohorts with 460/462 pairs each. Eight DNA pools, four for each of the two independent screening steps were created using a highly accurate DNA pooling method. While 4,321 ms were typed on the four pools of the 1st screening step, only markers positive here were typed on the 2nd screening pools. Fisher's exact test for 2x2 (each ms allele) and 2xm ChiSquare tests were performed, comparing allele frequencies of recipients with GVHD grade 0-1 with GVHD grade 2-4 (donors accordingly). Markers positive after both independent screening steps (p-value <0.05, same associated allele, consistent odd's ratio (OR)) were genotyped for confirmation on individual samples of all 922 pairs.

The independent, 2-step pooled DNA screening process has effectively reduced false-positive associations. In the final analysis, 39 (recipient) and 58 (donor) ms loci remain associated with risk or protection from GVHD. Of 14 microsatellite loci so far investigated by individual typing, four loci were confirmed while two showed a trend (donor: DXS0629i: $p=0.001$, OR 0.293; D6S0035i: $p=0.005$, OR 0.725; D17S0219i: $p=0.001$, OR 0.464; TNFc: $p=0.052$, OR 1.264; recipient: DXS0324i: $p=0.008$, OR 1.352; D16S3082: $p=0.065$, OR 1.372).

Our data show that genetic susceptibility to GVHD following HSCT is complex and depends on multiple recipient and donor risk loci. Large-scale genomic screening with microsatellites on pooled DNA, here described for the first time in a HSCT population, is a useful method for the systematic evaluation of multigenic traits.

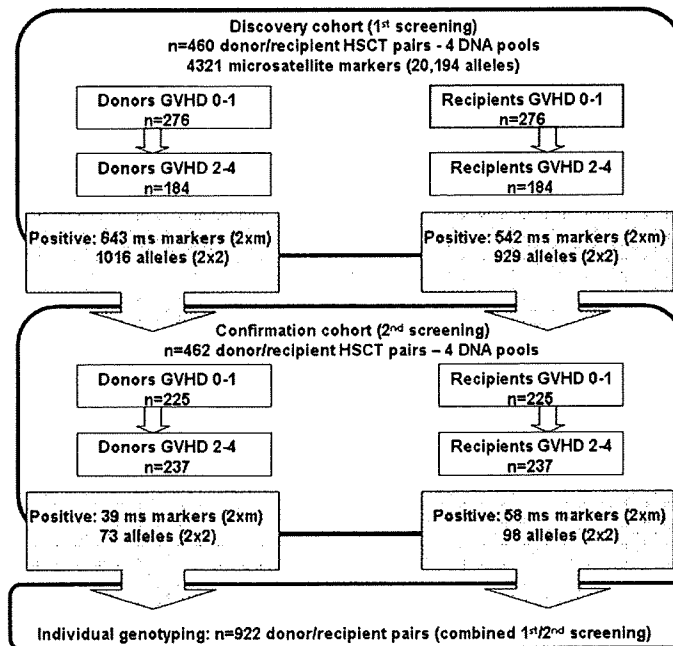


Fig. 1. Study design and results, comparing microsatellite allele frequencies in pooled DNA. Allele frequencies were derived from allele peak height in microsatellite typing

ドナー由来の T 細胞から見た HLA-C の適合度と NK 細胞受容体(KIR2DL ligand)適合度に基づいた治療成績の分析

川瀬孝和(1) 柏瀬貢一(2) 森島泰雄(1) 組織適合性部会

1. 愛知県がんセンター研究所 2. 東京都赤十字血液センター

ドナー・患者間での HLA の適合度が非血縁者間骨髄移植の臨床成績に関与している事がこれまでの解析で明らかにされてきた。HLA-C の適合度に関しては、ドナー由来の T 細胞から見た適合度(適合、GVH 方向に適合、HVG 方向に不適合、両方向に不適合、以下 HLA-C 適合度と略す)と NK 細胞受容体(KIR2DL ligand)の適合度(以下 NK 細胞受容体適合度と略す)がある。JMDP を介した移植における各々の臨床的重要性はこれまでの解析で明らかとなっているが、相互の関係については十分な解析がなされていない。そこで今回、HLA-A、B、DR の血清型が適合した JMDP5210 症例を、ドナー由来の HLA-C 適合度と NK 細胞受容体適合度で下表のように群分けし解析を行った。方法は多変量解析の手法を用い、HLA-C 適合群を基準として、各群の重度急性 GVHD 発症リスク・死亡リスク(Hazard ratio (HR)) および 95%信頼区間(95%CI) を算出した。調整因子として臨床的因子と他座の適合度を用いた。

NK細胞受容体 (KIR2DL ligand)適合度	ドナー由来のT細胞から見たHLA-Cの適合度			
	適合	HVG方向不適合 (Hetero to Homo)	GVH方向不適合 (Homo to Hetero)	両方向に 1アリル不適合 2アリル不適合
適合	①	②	④	⑥
HVG方向不適合				
GVH方向不適合		③		
両方向不適合				⑤

【結果】

HLA-C、NK 細胞受容体の HVG 方向の不適合はともに重症急性 GVHD 発症リスク、死亡リスクの上昇はわずかであり、一方、GVH 方向の不適合は重症急性 GVHD 発症リスク、死亡リスクを上昇させることが示唆された。さらに、HLA-C の GVH 方向の不適合、NK 細胞受容体の GVH 方向の不適合がともにある群(⑧)の重症急性 GVHD 発症リスクが最も高かった。

今後の更なる検討が必要であるが、今回の解析により、JMDP を介した移植におけるドナー由来の T 細胞から見た HLA-C の適合度と NK 細胞受容体(KIR2DL ligand)適合度の相互関係がある程度明らかとなった。

免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業「組織適合性に基づく非血縁者間造血幹細胞移植の成績向上に関する研究」班 平成21年度第2回班会議

「NK細胞受容体、サイトカイン遺伝子多型および検体保存事業協力」

東京都赤十字血液センター

○屋部登志雄、平安恒幸、中本貴之、峯元睦子、柏瀬貢一

1、KIR遺伝子型、HLAリガンド型適合性

昨年度までに1993～2000年の非血縁者間骨髄移植症例を解析しHLA-C抗原のKIRリガンド型 (C1, C2) GVH方向不適合の場合に急性GVHDの重症化および全生存率の低下が見られること、その効果はATG投与およびドナー活性化型KIR遺伝子の有無に影響されることを報告してきた。今年度は2001～2005年までの移植症例の解析を行い、これまでの結果の再現性確認およびHLA適合症例におけるKIR型と成績との関連について検討した。

2、LILR遺伝子型多型

マウスMHCクラスI抗原認識受容体PIR-Bが骨髄移植急性GVHD重症化と関連することが報告されている (Nat Immunol 2004)。ヒトの相同分子と考えられるLILRはNK, DC, 顆粒球細胞などで発現する活性化型ならびに抑制型の11種類からなるHLAクラスI抗原認識ペア型受容体ファミリーである。昨年度は機能的にPIR-Bと類似するLILRB2のSNPタイピングを行った。今年度はさらに他のLILR遺伝子SNPについてもHLA6座アレル一致症例ペアをタイピングして、移植成績との関連解析を行っている。

3、サイトカイン/サイトカイン受容体遺伝子多型

昨年度までに非血縁者間骨髄移植において、患者の抑制性のサイトカインであるIL-10遺伝子のプロモーター領域3か所のSNPハプロタイプが急性重症GVHD発症および無病生存率と関連することを報告した。本研究では、米国での血縁者間HLA一致骨髄移植解析 (New Eng J Med 2003) と関連するハプロタイプが全く異なる結果となり、白人と東アジア人集団でのハプロタイプ多様性の違いによるものと考えられた。そこで今年度はさらに周辺領域のSNPと成績との関連を解析した。

4、検体保存事業協力

後方視野的研究のためにJMDPが収集、保存する患者ドナー検体の血液から抽出されたDNAを用いてHLA-AからDPの6座を蛍光ビーズ法でアレルタイピングしており、本年は2007年度に保存された1588検体について行った。またこれまでに保存されていたDNAの全ゲノム増幅 (WGA) 系の構築と検証作業および検体セットをロボットシステムで作成、配布する系の構築を終了し、解析希望研究者への検体配布作業 (東海大学担当) に協力した。

厚生労働科学研究 がん研究助成金

「成人難治性造血器腫瘍に対する非血縁者間の同種造血幹細胞移植法の確立に関する研究」班
(主任研究者 森島泰雄)

平成 21 年度第 2 回班会議プログラム

2010 年 1 月 30 日 (土) 午後 6 時~7 時

会場 東京医科歯科大学 5 号館 4 階講堂

座長 岡本真一郎

(発表 8 分 討議 2 分)

1. 成人血液悪性腫瘍患者における HLA 不一致非血縁者間骨髄移植と臍帯血移植の比較
熱田由子、鈴木律朗、森島泰雄、加藤俊一
名古屋大学 愛知県がんセンター 東海大学
2. 成人各種移植法の単一施設における評価—骨髄異形成症候群・多発性骨髄腫・悪性リンパ腫
などにおける生存率の比較
大橋一輝、坂巻 壽、秋山秀樹、山下卓也、小林 武
都立駒込病院
3. 移植後早期ホスカルネット投与による HHV-6 脳炎予防の試み
石山謙 大畑欣也 近藤恭夫 中尾眞二
金沢大学付属病院
4. 再発性濾胞性リンパ腫に対する非血縁者間骨髄移植
小野由佳子 森毅彦 岡本真一郎
慶應義塾大学血液内科

座長 森島泰雄

5. 急性リンパ性白血病患者に対する Medium-dose VP/ CY/TBI 前処置を用いた同種造血
幹細胞移植法の有用性の検討 (臨床第 II 相試験) : 進捗状況 (8 分)
重松昭男 今村雅寛
北海道大学血液内科
6. 成人難治性血液悪性腫瘍に対する非血縁者間臍帯血移植の有用性に関する研究
(臨床第 II 相試験) : 進捗状況 (8 分)
西田徹也 宮村耕一
名古屋大学血液・腫瘍内科学 名古屋第 1 赤十字病院
7. 研究班総括
森島泰雄
愛知県がんセンター中央病院

1. 成人血液悪性腫瘍患者における HLA 不一致非血縁者間骨髄移植と臍帯血移植の比較

熱田由子、鈴木律朗、森島泰雄、加藤俊一
名古屋大学 愛知県がんセンター 東海大学

HLA 一致同胞に対する第一の代替ドナー・幹細胞は HLA 8/8 一致非血縁ドナーの、本邦であれば骨髄である。HLA 8/8 一致非血縁者ドナーが見つからず、第二の代替ドナー・幹細胞が必要となる患者も少なくない。近年の非血縁者間臍帯血移植の飛躍的な開発により、第二の代替ドナー・幹細胞の選択肢が増加している。

この、第二の代替ドナー・幹細胞の位置づけの模索のために、我々は HLA 不一致度による移植成績の比較を非血縁者間骨髄移植 (UBMT) および非血縁者間臍帯血移植症例 (UCBT) を対象として実施した。対象は、1196 例の HLA1 座もしくは 2 座 high resolution 不一致 UBMT (class I 1 座不一致 491 例、クラス II 一座不一致 314 例、2 座不一致 391 例)、および HLA-A, B low resolution, HLA-DRB1 high resolution の 0 から 2 座不一致 UCBT (一致 25 例、1 座不一致 105 例、2 座不一致 288 例) であり、移植時 16 歳以上の成人で、骨髄破壊性前処置を用いた初回移植を血液悪性腫瘍に実施されたものであった。

現在推奨されている第二代替ドナー・幹細胞である HLA-DRB1 アリル 1 座不一致を基準とした、補正比較を実施した。

HLA1 座不一致 UCBT (relative risk [RR]=1.00, 95% confidence interval [CI], 0.73-1.37, P=0.99)、2 座不一致 UCBT (HR=0.97, 95%CI, 0.76-1.22, P=0.77)、および HLA-C アリル一座不一致 UBMT (RR=0.96, 95%CI, 0.77-1.20, P=0.74) は HLA-DRB1 アリル 1 座不一致 UBMT と同等の生存成績を示した。

UCBT では、より高い再発率を示し (RR=2.47 for matched, RR=1.93 for one-antigen mismatched, RR=1.53 for two-antigen mismatched, P=0.013, 0.0051, 0.025, respectively)、好中球回復が劣った (RR=0.69 for matched, RR=0.51 for one-antigen mismatched, RR=0.48 for two-antigen mismatched, P=0.062, <0.0001, <0.0001, respectively)。

詳細な解析結果を表 1 に示す。

HLA 0 から 2 座不一致 UCBT は、HLA-DRB1 アリル 1 座不一致 UBMT とほぼ同等の生存成績を示す良好な第二の代替ドナー・幹細胞と考えられた。しかしながら、再発リスクは UCBT で高く、そのため患者の疾患状態・臨床状態から注意深く決定する必要があると考えられた。

表 1 HLA-DRB1 アリル座ミスマッチ UBMT を基準とした補正比較 (手法: 多変量解析)

Group	N	OS			RFS		
		RR	95%CI	P	RR	95%CI	P
DRB1	314	1.00			1.00		
A/B	137	1.11	0.85 - 1.46	0.45	1.14	0.87 - 1.50	0.326
C	354	0.96	0.77 - 1.20	0.743	0.99	0.79 - 1.23	0.894
C + DRB1	185	1.19	0.92 - 1.55	0.187	1.23	0.95 - 1.59	0.109
A/B + C	104	1.46	1.11 - 1.94	0.008	1.40	1.06 - 1.86	0.019
Other 2 loci	102	1.43	1.06 - 1.93	0.019	1.34	0.99 - 1.81	0.056
Matched	25	1.30	0.76 - 2.23	0.335	1.54	0.93 - 2.55	0.097
UCBT 1 mismatch	105	1.00	0.73 - 1.37	0.988	1.28	0.95 - 1.73	0.107
2 mismatches	288	0.97	0.76 - 1.22	0.77	1.13	0.90 - 1.42	0.284

Group	N	Rel			TRM		
		RR	95%CI	P	RR	95%CI	P
DRB1	314	1.00			1.00		
A/B	137	0.87	0.52 - 1.46	0.61	1.26	0.92 - 1.73	0.16
C	354	0.77	0.51 - 1.18	0.23	1.05	0.81 - 1.37	0.69
C + DRB1	185	0.87	0.53 - 1.43	0.58	1.30	0.97 - 1.75	0.083
A/B + C	104	0.94	0.55 - 1.60	0.83	1.51	1.09 - 2.09	0.014
Other 2 loci	102	0.78	0.43 - 1.42	0.41	1.49	1.05 - 2.12	0.027
Matched	25	2.47	1.21 - 5.04	0.013	0.78	0.36 - 1.71	0.54
UCBT 1 mismatch	105	1.93	1.22 - 3.07	0.0051	0.83	0.54 - 1.28	0.4
2 mismatches	288	1.53	1.06 - 2.23	0.025	0.85	0.63 - 1.14	0.28

Group	N	Neut			Plt		
		RR	95%CI	P	RR	95%CI	P
DRB1	314	1.00			1.00		
A/B	137	1.15	0.92 - 1.44	0.21	1.05	0.81 - 1.36	0.7
C	354	1.15	0.97 - 1.37	0.11	1.05	0.86 - 1.27	0.63
C + DRB1	185	1.03	0.85 - 1.24	0.79	0.78	0.62 - 0.99	0.038
A/B + C	104	1.18	0.93 - 1.50	0.16	0.89	0.66 - 1.20	0.43
Other 2 loci	102	0.86	0.67 - 1.10	0.22	0.88	0.67 - 1.17	0.39
Matched	25	0.69	0.46 - 1.02	0.062	0.59	0.38 - 0.92	0.02
UCBT 1 mismatch	105	0.51	0.40 - 0.65	<0.0001	0.58	0.45 - 0.76	<0.0001
2 mismatches	288	0.48	0.40 - 0.57	<0.0001	0.49	0.40 - 0.59	<0.0001

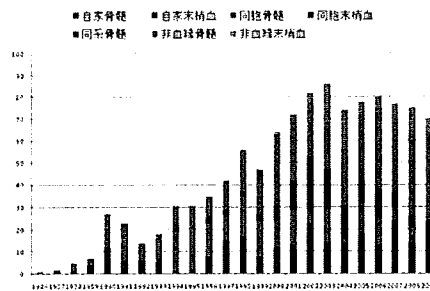
厚生労働科学研究 がん研究助成金
「成人難治性造血器腫瘍に対する非血縁者間の同種造血幹細胞移植法の確立に関する研究」班

平成21年度第2回班会議 2010年1月30日

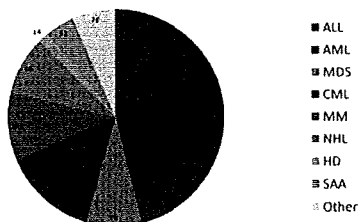
成人各種移植法の単一施設における評価
-骨髄異形成症候群・多発性骨髄腫・悪性リンパ腫などにおける生存率の比較-

がん・感染症センター 都立駒込病院血液内科
大橋一輝、坂巻 壽、秋山秀樹、山下卓也、小林 武

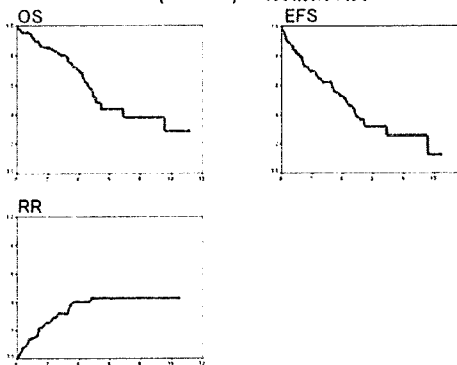
がん・感染症センター 都立駒込病院の移植件数の推移
2009年12月末で1,096例



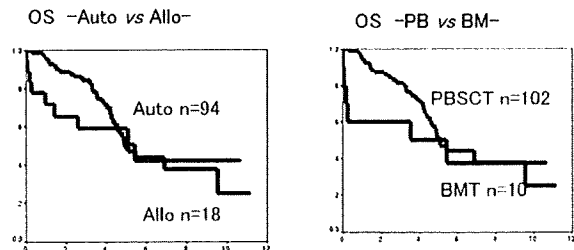
2009年12月末疾患別移植件数



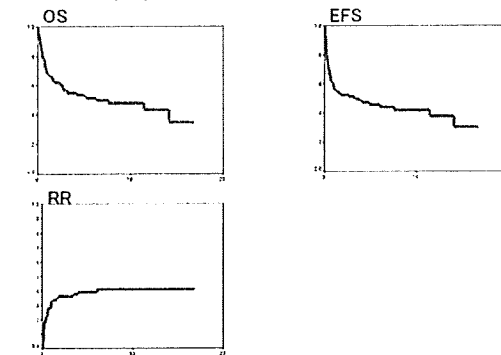
MM (n=112)の治療成績



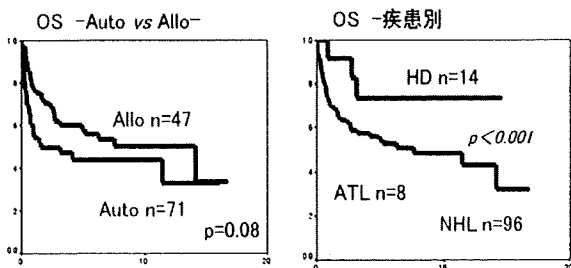
MMの治療成績



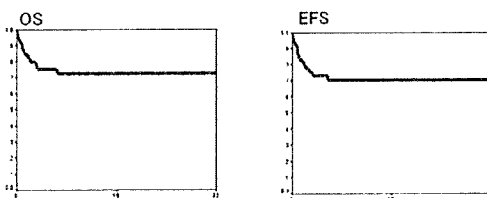
Lymphoma (n=118)の治療成績



Lymphomaの治療成績

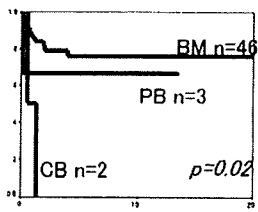


AA (n=51)の治療成績

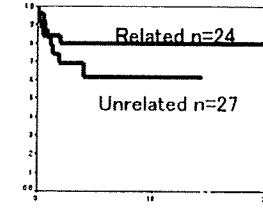


AA の治療成績

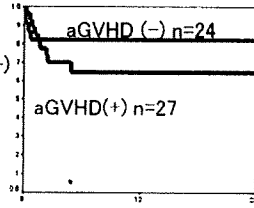
OS -BM vs PB vs CBT-



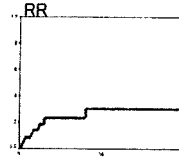
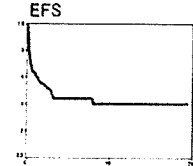
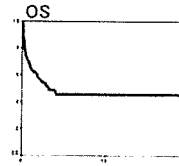
OS -related vs unrelated-



OS -aGVHD(+) vs aGVHD(-)-



MDS (n=98) の治療成績



移植後早期ホスカルネット投与による HHV-6 脳炎予防の試み

石山 謙、大畑欣也、近藤恭夫、中尾眞二
金沢大学附属病院血液内科

【背景】同種移植後の辺縁系脳炎はヒトヘルペスウイルス 6 型 (HHV-6) が原因の一つとして知られる予後不良の合併症である。治療にはガンシクロビル (GCV) またはホスカルネット (PFA) が用いられるが、どちらも HHV-6 感染症に対しては保険適応がない。これまでに我々は、前方視的多施設共同臨床試験により、PFA を用いた移植後早期の preemptive therapy が安全であり、HHV-6 脳炎予防効果を持つことを明らかにしてきた。しかし、preemptive therapy では頻回に HHV-6 モニタリングを行う必要があることや、HHV-6 の再活性化を完全には予防できないことなどが問題であった。これらの問題点を克服するためには、移植後早期からの PFA 予防投与が有用と考えられたが、好中球生着前の PFA 投与の安全性はまだ確立されていない。そこで我々は、好中球生着前の PFA 投与の安全性と、PFA 投与後の HHV-6 DNA 量を検討する前方視的試験を開始した。【方法】2009 年 3 月～2010 年 1 月に金沢大学附属病院にて行われた造血器悪性腫瘍に対する血縁者間 HLA ミスマッチ移植および臍帯血移植 (CBT) を含む非血縁者間移植症例を対象として、移植後 day 6 から day 29 (CBT では day 35) まで血漿 HHV-6 DNA を週 3 回測定した。HHV-6 DNA 量にかかわらず、移植後 day 7 または白血球数が $100/\mu\text{L}$ を上回った日のどちらか早い方から 14 日間 (CBT では 18 日間)、PFA 90mg/kg の 1 日 1 回予防投与を行った。【結果】血縁者間移植 2 例、非血縁者間骨髄移植 (URBMT) 5 例、CBT 1 例の計 8 例が登録され、全例で生着が得られた。CBT の 1 例は生着前に肺炎、敗血症を合併して死亡、また URBMT の 1 例で PFA 投与開始後に腎機能障害が出現し PFA 投与は day 14 に中止された。他の 6 例では投与が完遂されたが、うち 2 例では PFA 投与中の腎機能障害により PFA が減量された。Grade 3 以上の有害事象は死亡例を除いた 7 例中 3 例に認められた。URBMT 後の 1 例では PFA 投与にもかかわらず好中球生着日 (day 18) に血漿 HHV-6 DNA が陽性となり、day 25 に陰性化した。また、URBMT 後の別の 1 例では PFA を投与した day 20 までは陰性であった HHV-6 DNA が day 23 に陽性化した。脳炎を疑わせる神経症状の出現は全例で認められなかった。【考察】まだ少数例の検討ではあるが、PFA は腎機能の変動に合わせて投与量を調節すれば、好中球生着期前であっても重篤な副作用なく投与が可能であった。ただし、これだけ早期の PFA 予防投与であっても HHV-6 の再活性化を完全には予防できない可能性が示唆された。

治療抵抗性あるいは再発期濾胞性リンパ腫
に対するreduced-intensity regimen
による同種造血幹細胞移植

慶應義塾大学医学部血液内科
小野 友佳子 森 毅彦 加藤 淳 相佐好伸
岡本真一郎

背景

治療抵抗性あるいは再発期濾胞性リンパ腫に対する同種造血幹細胞移植の有用性が報告されてきている。しかし、その至適な移植方法は確立していない。今回、当院における治療抵抗性あるいは再発期の濾胞性リンパ腫に対するreduced-intensity regimen (Fludarabin+ Melphalan) による同種造血幹細胞移植 (RIST) の成績を後方視的に検討したので報告する。

対象と方法

対象は当院にて2002年6月から2009年1月までに同種造血幹細胞移植が施行された治療抵抗性あるいは再発期の濾胞性リンパ腫22例。

移植前処置はFludarabine125mg/m²+Melphalan 140mg/m²で行い、臍帯血移植ではTBI4または8Gyを追加した。なお2003年4月以降、Melphalan投与時は口腔内 cryotherapyによる口内炎予防を行った (Support Care Cancer ; 2005 & 2006)。

GVHD予防はCsA (血縁者間) またはTacrolims (非血縁者間 骨髄および臍帯血) と短期MTXにより行った。当科のデータベースおよび診療記録を用いて後方視的に解析した。

Patient characteristics (n=22)

Median age (range)	49.5 (34-62)
Gender	
Male/Female	9/13
Disease status at transplant	
Primary induction failure	7
Relapse (1st/2nd)	15
Prior chemotherapy Regimens	
1-2	7
3-5	12
>5	3
HCT	4
Courses	
< 10 courses	8
≥10 courses	14

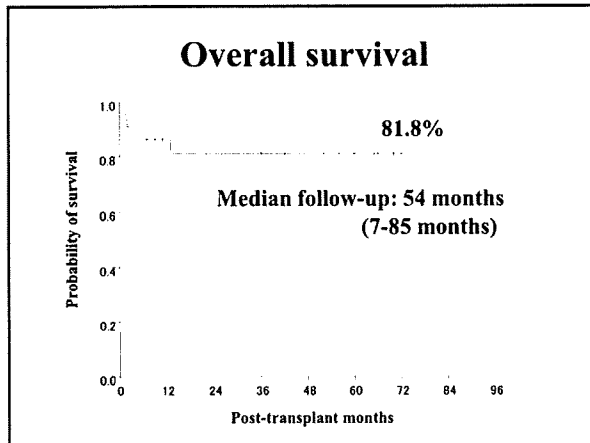
Patient characteristics (n=22)

Stem cell donor	
Related (BM/PBSC)	6 (4/2)
Unrelated BM	14
Unrelated cord blood	2
GVHD prophylaxis	
CsA and methotrexate	6
Tacrolimus and methotrexate	16

Engraftment and acute/chronic GVHD

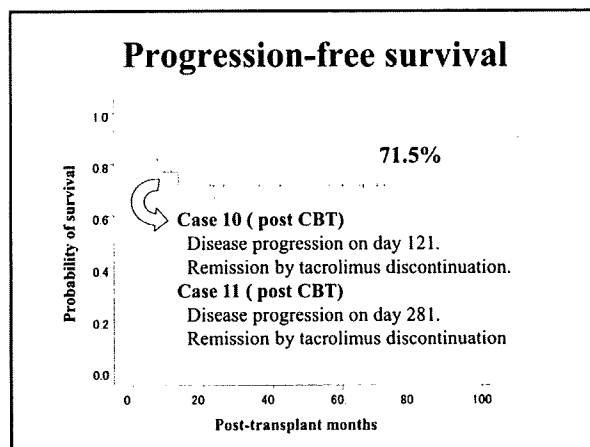
Engraftment	22 (100%)
Full donor chimerism	21/21 (100%)*
Acute GVHD (n=22)	
0	4
I	5
II	11
III	2
IV	0
Chronic GVHD (n=20)	
None	7
limited-type	1
extensive-type	12

* 1例の生着後早期死亡例を除く



Causes of death

Septicemia + MOF	2 (day 37, 69)
GVHD	2 (day173, 402)



考案

前処置にFludarabineとMelphalan、非血縁者間移植ではGVHD予防にTacrolimusを用いるRISTにより、治療抵抗性濾胞性リンパ腫に対して移植関連死亡は低く抑えられていた。また、疾患の特性上、より長期の観察が必要ではあるが、フォローアップ期間中央値50カ月で高い生存率が得られていた。このことから、我々の移植方法は治療抵抗性の濾胞性リンパ腫に対する安全かつ有効な移植方法になりうると考えられた。

また、再発例において免疫抑制剤の中止により原病の再寛解が得られており、GVL効果が期待できることが示唆された。但し、GVHDや感染症などの合併症対策が成績の向上に不可欠であり、今後更なる改善方法を検討したい。

成人難治性造血器腫瘍に対する非血縁者間の同種造血幹細胞移植の確立に関する研究班 (がん研究助成金19-1 主任研究者 森島泰雄)

急性リンパ性白血病患者に対する中等量VP-16、シクロフォスファミド、全身放射線照射(Medium-dose VP/CY/TBI) 前処置を用いた同種造血幹細胞移植法の有用性の検討
~臨床第II相試験~

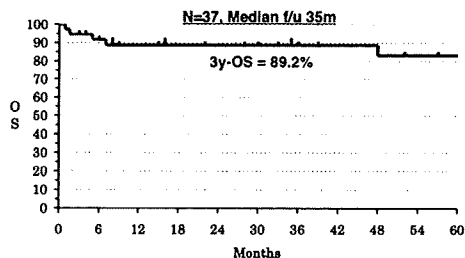
-進捗状況-
2009年1月13日現在

(C-SHOT 0901試験/ UMIN ID 1672/ JSHCTS09002試験)

北海道大学病院造血細胞治療センター/血液内科
重松明男、今村雅寛

Meldum-dose VP/CY/TBI for Adult ALL

-Hokkaido Univ. Experience-



BBMT 14:568:2008

Study Design & Eligibility

試験デザイン: 多施設共同非対照、非盲検臨床第II相試験

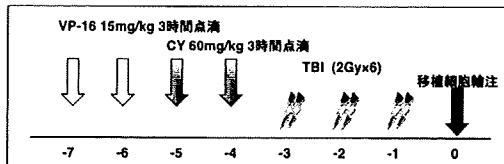
目的: 同種移植が適応となる15-49歳のALLまたはABL患者を対象として、本前処置を用いた同種移植の有用性を前向きに検討する。

プライマリーエンドポイント: 移植後1年EFS (Event: 再発 or 死亡)
必要症例数: 50例
試験期間: 2009年2月から2年間 (フォローアップ2年間)

症例選択基準

1. 疾患: ALL, ABL ...L3は除外
2. 年齢: 15歳~49歳
3. 血液学的完全寛解...non-CR例は除外
4. 初回移植症例
5. PS 0-2、主要臓器機能が保たれている
6. 移植細胞; BM, PBSC...CBは除外
7. HLA表現型6座一致ドナー
7. 文書で同意が得られた患者

Conditioning regimen



TBIの分割方法の詳細は移植施設の方法によることを許容する。

抗腫瘍薬 (CY, VP-16) の投与日、TBI照射日は、前後させてもかまわない。

支持療法、GVHD予防の規定はなし

しばりが少なく、入りやすい臨床試験です。

患者登録方法

1. 適格基準を満たしていると思われたら、文書にて同意を得る。
2. 登録前検査を行い、
3. 「登録適格性確認票」に記入し、データセンターへFAXする。
4. 登録後7日以内に「治療前症例報告書」をデータセンターへ郵送する。
5. 登録後14日以内に移植前処置を開始する。

症例報告書

基本的に移植登録一元管理プログラム(TRUMP)のデータベースの調査項目に準じる (TRUMPに含まれていない項目は別途記載が必要)

*本試験においてはTRUMPにおいて記載される電子データについては、TRUMP提出データのコピーを記憶媒体CD-R等で郵送することとする。

参加施設の先生方の負担も比較的小さい臨床試験です

有害事象報告

1. 急送報告義務のある有害事象
以下の有害事象発症時、発症後72時間以内に「有害事象急送1次報告書」に記入してデータセンターにFAXを送信する (1次報告)、より詳しい報告書 (有害事象通常報告書) を14日以内にデータセンターにFAX送信する (2次報告)。
・移植後100日までのすべての死亡
・生着不全および2次性生着不全
・予期されないgrade 4の非血液毒性
2. 通常報告義務のある有害事象
以下の有害事象発症時、「有害事象通常報告書」に記入して発症後14日以内にデータセンターにFAXする。
・予期されるgrade 4の非血液毒性
・移植後101日以降の死亡でプロトコル治療(移植前処置)との因果関係が否定できないもの
・2次性毒性腫瘍
・永続する障害
・その他重大な有害事象

プロトコル変更
-メモランダム1, 2009.10.21-

ジェネリック医薬品、エトポシド「サンド」® の使用も許容する

7. プロトコル治療

7-1. 移植前処置

7-1-2. 試験薬剤の投与方法…

1. VP-16 (etoposide, ラステット®, ペブシド®, エトポシド「サンド」®)

本試験におけるキードラッグVP-16につきましては、従来製品であるラステットおよびペブシドをプロトコル上に記載していましたが、ジェネリック医薬品としてエトポシド「サンド」という商品がサンドはより発売されておりました。研究責任者、事務局、プロトコル委員およびデータセンターにおいて検討した結果、ジェネリック医薬品の使用に関しては今後、各試験参加施設において問題となる可能性があることから、プロトコル上に明記した方が良いと判断いたしました。

また、ジェネリック医薬品につきましては、品質の問題が生じる可能性があります。VP-16はサンド社で開発および製剤化したものであり、製造権を他社に販売したものである経緯および、サンド社はバルブテイスのジェネリック部門であることを考慮し、本薬剤は品質的に大きな問題は無いと考えられました。

以上より、本試験におきましてはエトポシド「サンド」® の使用も許容することとし、本メモランダムを発行することといたしました。

プロトコル変更
-メモランダム2, 2009.10.27-

ケアレスミス; 単位間違い

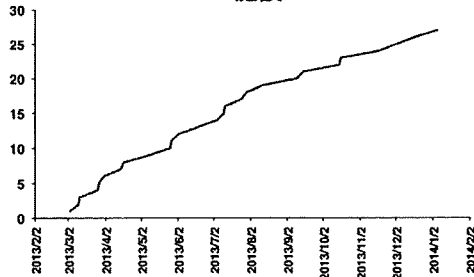
2. 背景と試験計画の根拠

2-2. Medium-dose VP/CY/TBI前処置による成人ALLの移植成績
VP-16 を用いた移植前処置における投与量 (計60 mg/kg または1.5-1.8 g/m²)と比較して、少ない投与量である。

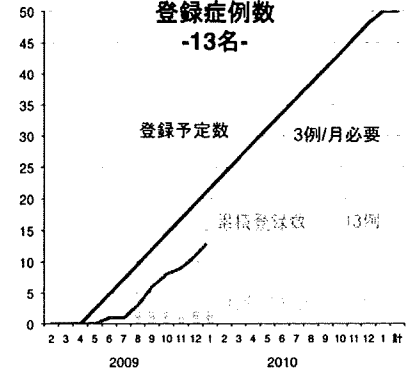
Medium-dose VP/CY/TBI 前処置におけるキードラッグであるVP-16 (etoposide) につきましては、従来試みでの前処置で投与されていたVP-16 投与量と比較して少ない投与量であることが、非再発死亡率を増加させていない大きな理由の一つと考えております。プロトコル上にもその点を記載しましたが、1.5-1.8mg/m²と単位を誤って記載しておりました。単位の修正が必要と考えられましたので本メモランダムを発行することといたしました。

本試験プロトコルの根拠に関する内容ではありませんのでメモランダム扱いとして発行することといたしました。

IRB通過施設数
-27施設-



登録症例数
-13名-



研究組織

がん研究助成金(19-1) 成人難治性造血器腫瘍に対する非血縁者間の同種造血幹細胞移植の確立に関する研究班(主任研究者 森島泰雄)

- 研究代表者: 北海道大学病院造血細胞治療センター/血液内科 今村 雅寛
- 監査・安全性評価委員
 - 名古屋第一赤十字病院小児医療センター/血液腫瘍科 加藤 剛二
 - 北橋倉 札幌北橋倉院小児科 小林 貞二
- 統計解析担当者: 名古屋大学医学部造血細胞移植情報管理室 鈴木 伸朗
- プロトコル委員
 - 慶応義塾大学医学部血液内科 岡本 真一郎
 - 国立がんセンター中央病院幹細胞移植療法科 森 慎一郎
 - 九州大学病院造血細胞移植科 豊崎 剛彦
 - 東京大学医学部研究所内科 高橋 聡
 - 名古屋第一赤十字病院血液内科 宮村 伸一
 - 北海道大学病院造血細胞治療センター 近藤健、西尾克史、遠藤知之、重松明男
- 研究事務局: 北海道大学病院造血細胞治療センター/血液内科 星松 明男
〒060-8638 札幌市北区北15条西7丁目
TEL: 011-706-7214 FAX: 011-706-7823
E-mail: shigema@med.hokudai.ac.jp
- データセンター: C-SHOT
TEL: 052-719-1983 FAX: 052-719-1984
E-mail: support@c-shot.or.jp

急性リンパ性白血病 / 急性混合性白血病
・完全寛解
・移植歴なし
・年齢15歳-49歳
・臓器合併症無し

1. 骨髄破壊的同種造血幹細胞移植の適応あり
2. ドナーが存在する (臍帯血は除外)
 - ・HLA表現型 (A, B, DR) 一致血縁骨髄・末梢血幹細胞
 - ・HLA表現型 (A, B, DR) 一致非血縁骨髄

「同意文書」取得
「症例適格性確認票」のFAX (C-SHOT) → 登録・返信

Medium-dose VP/CY/TBI前処置による造血幹細胞移植の施行 (登録後14日以内)
前処置以外の補助療法の詳細は規定しない。

- 生存例は2年間のフォローアップ
- ・移植後14日報告書
 - ・移植後100日報告書
 - ・移植後1年報告書
 - ・移植後2年報告書
- 多くはTRUMPを流用

厚生労働省がん研究助成金「成人難治性造血器腫瘍に対する非血縁者間の同種造血幹細胞移植法の確立に関する研究」班(従19-1)
2010年1月30日

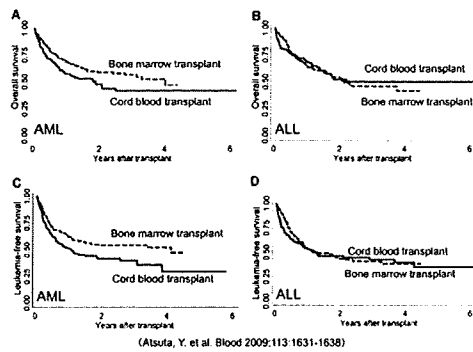
成人難治性血液悪性腫瘍に対する非血縁者間臍帯血移植の有効性に関する研究(臨床第Ⅱ相試験、G-SHOT 0601)
概要と進捗状況について

名古屋大学大学院医学系研究科 血液・腫瘍内科学 西田 敬也
名古屋第一赤十字病院 血液内科 宮村 耕一

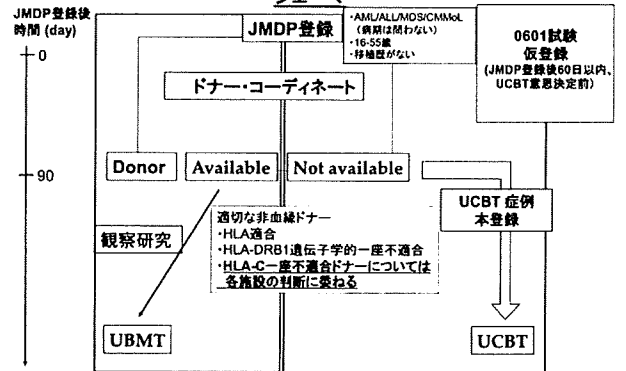
目的

- ・再発高リスク血液悪性疾患患者
- ・適切な血縁・非血縁ドナーが得られない患者
- ・寛解期患者
- ・均一な前治療(AraC/CY/TBI with or without G-CSF) および免疫抑制療法(sMTX+Tacrolimus)
- ・UCBTの安全性と有効性を評価する。
(主要評価項目: Day180生着生存)

非血縁者間骨髄移植と臍帯血移植の成績(全国データ)



シエマ



適格基準(本登録)

- AML : ① CR1; ・ Poor risk Karyotype features
・ FAB, M0, M6, M7
・ 寛解導入に2コース以上(染色体予後良好群を除く)
・ FLT3/ITD変異を有する(JALSG studyに登録)
- ② CR2 or later CR except M3 in molecular remission
③ AML transformed from MDS
- B-ALL : ① CR1; a. WBC at onset $> 30,000/\mu\text{l}$ and > 30 y.o.
b. Ph chromosome (+)
c. 11q23 translocation or MLL recombination (+)
d. Poor primary response or delayed CR
(4 weeks or more needed)
- ② CR2 or later CR
- T-ALL : ① CR1; a. WBC at onset $> 50,000/\mu\text{l}$ and > 30 y.o.
d. Poor primary response or delayed CR
- ② CR2 or later CR
- MDS : IPSS Int-2 or high risk category
Other : Proliferative CMMoL

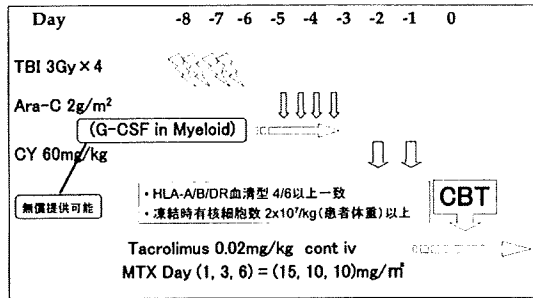
除外基準(本登録)

- 1) HBs抗原、HCV抗体、HIV抗体のいずれかが陽性の患者
- 2) T細胞除去などの移植細胞処理を行う予定のある患者
- 3) 過去6ヶ月以内に gemtuzumab ozogamicin 投与歴のある患者
- 4) 妊娠・授乳中の患者
- 5) 活動性の重複癌を有する患者
- 6) コントロール不良な精神疾患を有する患者
- 7) コントロール不良な活動性の感染症を有する患者
- 8) 前治療ならびに急性GVHD予防に用いる薬剤に対して過敏症の既往のある患者
- 9) 重篤な臓器機能障害を有する患者
- 10) 担当医師が不適格と判断した患者

登録時の患者除外基準における肺機能検査(5.2.(9)(b))の基準の変更:

現基準: 肺機能検査において%DLCO/一秒率/予測肺活量のいずれか一つでも予測値の30%以下
改訂後: 肺機能検査において%DLCO/一秒率/予測肺活量のいずれか一つでも予測値の30%以下。
DLCOが測定できない施設の場合: 一秒率/予測肺活量のいずれかが予測値の30%以下。または、胸部CTなどで肺線維化の所見を有する。

治療計画



有害事象報告

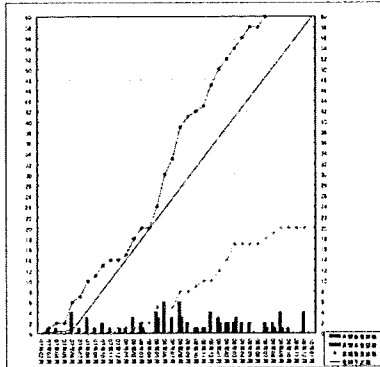
整理番号: 0601-ADR-001
登録番号: 0601-046-011
54歳 男性
移植前処置開始から移植後100日までのすべての死亡: 死因 間質性肺炎

整理番号: 0601-ADR-003
登録番号: 0601-052-014
37歳 女性
移植前処置開始から移植後100日までのすべての死亡: 死因 間質性肺炎

経過: Day27 生着
Day67 両側肺炎発症
抗生剤、抗真菌剤を投与したが改善を認めず、気管支鏡検査にて非特異的肺炎と診断。
Day 85 ステロイドパルス 1000mg × 2日間
Day 93 ステロイドパルス 1000mg × 3日間
Day 100 死亡

研究代表者の対応: 移植後に一定の割合で発症し、死亡原因となる非特異的
間質性肺炎であり、試験の継続が妥当である。
効果安全性評価委員へ報告し、試験継続とした。

進捗状況



本登録ができなかった理由

- ・UR-BMTが決定したため 21
- ・非寛解のため 8
- ・移植実施が困難 7
- ・その他 5

登録期間
3年→6年(～2012年12月)

参加施設

- | | |
|----------------------------|-------------------------|
| 1 名古屋大学医学部附属病院 血液内科 | 17 金沢医科大学病院 血液・リウマチ膠原病科 |
| 2 安城更生病院 血液内科 | 18 国立国際医療センター 血液内科 |
| 3 愛知県がんセンター中央病院 血液・細胞療法科 | 19 静岡県立総合病院 第一内科 |
| 4 愛知県厚生連昭和病院 血液化学療法科 | 20 札幌医科大学附属病院 第四内科 |
| 5 名古屋第一赤十字病院 血液内科 | 21 北海道大学病院 第二内科 |
| 6 名古屋第二赤十字病院 血液内科 | 22 徳島赤十字病院 血液科 |
| 7 豊橋市立病院 血液内科 | 23 愛媛県立中央病院 血液腫瘍内科 |
| 8 名鉄病院 血液内科 | 24 岐阜大学付属病院 血液感染症内科 |
| 9 トヨタ記念病院 血液内科 | 25 熊本医療センター 内科 |
| 10 三重大学医学部附属病院 血液内科 | 26 中京病院 血液科 |
| 11 岡崎市立病院 血液内科 | 27 鳥栖大学医学部附属病院 血液内科 |
| 12 東北大学医学部附属病院 血液リウマチ膠原病内科 | 28 九州がんセンター 血液内科 |
| 13 鳥取県立中央病院 血液腫瘍内科 | 29 仙台医療センター 血液内科 |
| 14 市立函館病院 内科 | 30 愛知県立中央病院 血液内科 |
| 15 宮城県立がんセンター病院 血液内科 | 31 鳥取県立中央病院 血液内科 |
| 16 札幌北産病院 血液内科 | 32 札幌医科大学附属病院 第四内科 |
| | 33 鶴立病院 血液内科 |
- (IRB承認番号封鎖)

研究グループ
Nagoya Blood and Marrow Transplantation Group

研究代表者
宮村 耕一 名古屋第一赤十字病院 血液内科

事務局
西田 徹也 名古屋大学医学部附属病院 血液内科
Inishida@med.nagoya-u.ac.jp
Tel: 052-744-2145
Fax: 052-744-2161

データセンター
NPO 血液疾患臨床研究サポートセンター(C-SHOT)
support@c-shot.or.jp

C-SHOTホームページ(<http://www.c-shot.or.jp/>)より
最新プロトコルをダウンロードできます。