

表⑤ Fanconi 貧血に対する GVHD 予防(筆者作成)

	HLA 一致同胞ドナー		代替ドナー
	10 歳未満	10 歳以上	すべての年齢
CyA	1.5 mg/kg × 2/ 日単独	1.5 mg/kg × 2/ 日	
Tacrolimus			0.02 ~ 0.03 mg/kg/ 日持続点滴
MTX		+ 1 : 15 mg/m ² (max 15 mg) + 3, 6, 11 : 10 mg/m ² (max 10 mg) 体重 10 kg 以下は体重換算	+ 1 : 15 mg/m ² (max 15 mg) + 3, 6, 11 : 10 mg/m ² (max 10 mg) 体重 10 kg 以下は体重換算
MMF			15 mg/kg/ 日 HLA 不一致例では +14 より考慮

CyA : cyclosporine, MTX : methotrexate, MMF : mycophenolate mofetil

えに、移植前処置で使用する放射線やアルキル化剤の感受性も高く、また慢性 GVHD の合併に伴い、より固形がんの発生が高まるため長期的な観察が必要である。

約 40% の FA 患者は移植後 15 ~ 20 年のあいだに何らかの悪性腫瘍を合併する²²⁾。とくに頭頸部の扁平上皮がん(舌がんや食道がん)は全身型の慢性 GVHD 合併患者では移植後比較的早期に(中央値 8.2 年)発症しており⁸⁾、ほかの報告でも、移植を受けた FA 患者では移植を受けていない FA 患者にくらべ、頭頸部の扁平上皮がんの発症は 4.4 倍におよび、急性および慢性 GVHD の合併が大きな危険因子であった²³⁾。

おわりに

Flu の使用により、FA 患者の非血縁者間移植の成績は飛躍的に向上した。FA 患者では放射線やアルキル化剤に対する感受性が高度であるため、これらの薬剤の使用は極力回避すべきである。Flu レジメンはこうした問題を最小限にとどめていると思われるが、Flu 自身の細胞あるいは臓器毒性はまだ慎重に検討すべきであり、長期的な観察が必要である。

文 献

- Guardiola Ph *et al* : Outcome of 69 allogeneic stem cell transplantation for Fanconi anemia using HLA-matched unrelated donors : a study on behalf of the European group for blood and marrow transplantation. *Blood* 95 : 422-429, 2000
- Gluckman E *et al* : Bone marrow transplantation for Fanconi anemia. *Blood* 86 : 2856-2862, 1995
- Yabe H *et al* : Allogeneic haematopoietic cell transplantation from alternative donors with a conditioning regimen of low-dose irradiation, fludarabine and cyclophosphamide in Fanconi anaemia. *Br J Haematol* 134 : 208-212, 2006
- 小原 明 : 日本における小児再生不良性貧血などの造血障害性疾患の現状, 日本小児血液学会雑誌 22 : 53-62, 2008
- 小島勢二ほか : Fanconi 貧血診療の参照ガイド. 臨床血液 47 : 791-802, 2006
- Gluckman E *et al* : Results of unrelated cord blood transplant in Fanconi anemia patients : risk factor analysis for engraftment and survival. *Biol Blood Marrow Transplant* 13 : 1073-1082, 2007
- Mehta PA *et al* : Chemotherapy for myeloid malignancy in children with Fanconi anemia. *Pediatr Blood-Cancer* 48 : 668-672, 2007
- Socie G *et al* : Transplantation for Fanconi's anemia : long-term follow-up of fifty patients transplanted from a sibling donor after low-dose cyclophosphamide and thoraco-abdominal irradiation for conditioning. *Br J Haematol* 106 : 249-255, 1998
- Dufour C *et al* : Stem cell transplantation from HLA-matched related donor for Fanconi's anaemia : a retrospective review of the multicentric Italian experience on behalf of Associazione Italiana di Ematologia ed Oncologia Pediatria(AIEOP)-Gruppo Trapianto di Midollo Osseo(GITMO). *Br J Haematol* 112 : 796-805, 2001
- Farzin A *et al* : Matched sibling donor haematopoietic stem cell transplantation in Fanconi anaemia : an update of the Cincinnati Children's experience. *Br J Haematol* 136 : 633-640, 2007
- Bonfim CM *et al* : HLA-matched related donor hematopoietic cell transplantation in 43 patients with Fanconi anemia conditioned with 60 mg/kg of cyclophosphamide. *Biol Blood Marrow Transplant* 13 :

- 1455-1460, 2007
- 12) Ayas M *et al* : Matched-related allogeneic stem cell transplantation in Saudi patients with Fanconi anemia : 10 year's experience. *Bone Marrow Transplant* 42 ; Suppl1 : S45-S48, 2008
 - 13) Tan PL *et al* : Successful engraftment without radiation after fludarabine-based regimen in Fanconi anemia patients undergoing genotypically identical donor hematopoietic cell transplantation. *Pediatr Blood Cancer* 46 : 630-636, 2006
 - 14) Pasquini R *et al* : HLA-matched sibling hematopoietic stem cell transplantation for fanconi anemia : comparison of irradiation and nonirradiation containing conditioning regimens. *Biol Blood Marrow Transplant* 14 : 1141-1147, 2008
 - 15) Yabe M *et al* : Bone marrow transplantation for Fanconi anemia : adjustment of the dose or cyclophosphamide for preconditioning. *J Pediat Hematol Oncol* 15 : 377-382, 1993
 - 16) Yabe M *et al* : *In vitro* effect of fludarabine, cyclophosphamide, and cytosine arabinoside on chromosome breakage in Fanconi anemia patients : relevance to stem cell transplantation. *Int J Hematol* 85 : 354-361, 2007
 - 17) MacMillan ML *et al* : Haematopoietic cell transplantation in patients with Fanconi anaemia using alternative donors : results of a total body irradiation dose escalation trial. *Br J Haematol* 109 : 121-129, 2000
 - 18) Boyer MW *et al* : Low risk of graft-versus-host disease with transplantation of CD34 selected peripheral blood progenitor cells from alternative donors for Fanconi anemia. *J Pediat Hematol Oncol* 25 : 890-895, 2003
 - 19) Wagner JE *et al* : Unrelated donor bone marrow transplantation for the treatment of Fanconi anemia. *Blood* 109 : 2256-2262, 2007
 - 20) Chaudhury S *et al* : Fludarabine-based cytoreductive regimen and T-cell-depleted grafts from alternative donors for the treatment of high-risk patients with Fanconi anaemia. *Br J Haematol* 140 : 644-655, 2008
 - 21) Guardiola Ph *et al* : Acute graft-versus-host disease in patients with Fanconi anemia or acquired aplastic anemia undergoing bone marrow transplantation from HLA-identical sibling donors : risk factors and influence on outcome. *Blood* 103 : 73-77, 2004
 - 22) Deeg HJ *et al* : Malignancies after marrow transplantation for aplastic anemia and Fanconi anemia : a joint Seattle and Paris analysis of results in 700 patients. *Blood* 87 : 386-392, 1996
 - 23) Rosenberg PS *et al* : Risk of head and neck squamous cell cancer and death in patients with Fanconi anemia who did and did not receive transplants. *Blood* 105 : 67-73, 2005

YABE Miharu

やべ・みはる

1953年、静岡県生まれ

1978年、神戸大学医学部卒業

1984年、同大学医学部大学院医学研究科卒業

1984年、東海大学医学部小児科学教室 助手

1990年、同 講師

2003年、同 助教授

2006年、東海大学医学部基盤診療学系臨床検査学・細胞移植科 准教授(現職)

専門は、小児血液疾患、造血幹細胞移植、染色体

研究テーマは、先天性骨髄不全症候群の診断と造血幹細胞移植

小児再生不良性貧血に対する同種造血幹細胞移植

——移植前処置の変遷——

矢 部 普 正

東海大学再生医療科学

Allogeneic Stem Cell Transplantation for Childhood Aplastic Anemia:
Change of Preparative Regimen

Hiromasa YABE

Department of Cell Transplantation and Regenerative Medicine, Tokai University School of Medicine

Abstract Allogeneic bone marrow transplantation is an effective treatment for patients with severe aplastic anemia (SAA), but graft rejection remains a significant problem especially in patients who have been treated by multiple transfusions and/or immunosuppressive therapy. Many trials including the addition of total body or limited-field irradiation to cyclophosphamide have been applied to prevent graft rejection. Such trials reduced the risk of graft rejection, but survival was not improved because of the increased incidences of graft-versus-host disease and secondary malignancies. Meanwhile, the use of cyclophosphamide and antithymocyte globulin was reported as a successful preparative regimen in HLA-identical sibling transplant; however, this conditioning was insufficient for unrelated donor transplants in the United States, and even in HLA-identical sibling transplants for Japanese patients who have a history of previous immunosuppressive therapy. Recently, new preparative regimens including fludarabine or monoclonal antibodies have emerged as non-radiotherapy conditioning or low-dose radiotherapy conditioning for HLA-identical sibling transplants or alternative donor transplants. This review presents an overview of the history and the current progress of preparative regimens for aplastic anemia.

要 旨 同種骨髄移植は重症再生不良性貧血の治療として有効であるものの、とくに頻回輸血歴を有する例や免疫抑制療法を受けている例では移植骨髄の拒絶が依然として大きな問題として残されている。全身放射線照射や限局放射線照射を cyclophosphamide に加えた前処置が種々試みられ、拒絶の頻度を低下させたが移植片対宿主病や二次癌の増加により生存率の向上にはつながらなかった。一方、cyclophosphamide と抗胸腺細胞グロブリンによる前処置は HLA 一致同胞間移植においてすぐれた成績をもたらしたが、米国の非血縁者間移植の経験では不十分であり、日本においては免疫抑制療法の既往を有する HLA 一致同胞間移植においてさえも拒絶が問題となった。近年、fludarabine やモノクローナル抗体を含む前処置が考案され、HLA 一致同胞間移植や代替ドナー移植において、放射線を用いない前処置や少線量放射線を併用した前処置として行われている。本稿では、再不貧に対する移植前処置の歴史と最近の進歩について概説する。

Key words: stem cell transplantation, aplastic anemia, preparative regimen, cyclophosphamide, fludarabine

I. はじめに

重症再生不良性貧血（以下、再不貧）は同種造血幹細胞移植（SCT）の適応として、非腫瘍性疾患の中でもっとも多く症例が移植されてきた。日本造血細胞移植学会平成 19 年度全国調査報告書によれば、1991 年から 2006 年までに行われた 16 歳未満の再不貧に対する SCT は 581 例で、毎年 30 ないし 50 例が移植されている。

2009 年 5 月 19 日受理

別刷請求先：〒259-1193 伊勢原市下糟屋 143 東海大学医学部基盤診療学系再生医療科学 矢部普正

Reprint requests to Hiromasa Yabe, Department of Cell Transplantation and Regenerative Medicine, Tokai University School of Medicine, 143, Shimokasuya, Isehara, 259-1193 Japan

特発性および肝炎後再不貧は年間 60~90 例が登録されていることから²⁾、再不貧症例の少なくとも 1/3 は SCT による治療を受けている。しかしながら、わが国で造血細胞移植を行っている小児専門の施設は 70 を超えており、大部分の施設では年間 0~1 例の再不貧に移植を行っていることになる。このように稀少疾患に対する SCT が散発的に施行されている現状では、再不貧における移植の問題点が明確にならず、移植成績の向上が得られにくい懸念がある。世界的にみれば再不貧に対する SCT の歴史はすでに 40 年近くになろうとしているが、いまだに過去の臨床研究に学ぶべき知見は少なくない。本稿では、再不貧に対する SCT の歴史を移植前処置を中心に振り返りながら、今後の方向性を検討し移植成績の向上の一助としたい。

II. 移植前処置の推移

再不貧に対する SCT においては、非腫瘍性疾患であることから妊孕能の維持を含めて移植後の生活の質 (QOL) がとくに重視される。多くの症例は頻回の輸血歴を有するために拒絶のリスクが高く、またヘモクロマトーシスなどの臓器障害を伴うこともある。そのため、移植前処置は性腺、心臓、肝臓、膵臓への毒性が少なく、かつ強力な免疫抑制効果を有することが必要である。

このような条件の中で多くの移植前処置が試みられてきたが、再不貧の前処置で選択される薬剤の種類はさほど多くはないために、移植前処置も一定の選択肢に集約されつつある。造血細胞移植は集学的治療であり、移植片対宿主病 (GVHD) 予防法や感染症対策などの進歩によって、従来の前処置を用いてもその成績は過去のものよりも向上することがある。つまり、過去に用いられた前処置による移植において、当時何が問題点として挙げられていたのか、それが現在の移植技術でも克服できない問題であるのかを検討することで、過去の財産を現在に生かすことができる可能性がある。

III. CY を中心とした非照射前処置 (Table 1)

再不貧に対する SCT の黎明期においては、1974 年に Seattle より cyclophosphamide (CY) 50 mg/kg × 4 日間による前処置を中心に、一部の例では procarbazine 12.5 mg/kg × 3 日間と抗胸腺細胞グロブリン (ATG) の併用などの前処置が報告された³⁾。18 例の HLA 一致同胞間移植が行われ、methotrexate (MTX) 単独の GVHD 予防との組み合わせで 10 例が生存し、死亡の原因は拒絶と GVHD、感染症が大部分であった。これらの前処置施行例ではとくに頻回輸血例において拒絶の頻度が 30% を超えることが問題となり、donor buffy coat (BC) の追加

Table 1 HLA-identical bone marrow transplantation for severe aplastic anemia

Study [Ref.]	n	Median age (Range)	Donor	Conditioning	GVHD prophylaxis	Graft failure (%)	Survival (%)
Seattle [3]	18	19(3-60)	MSD	CY(200 mg/kg)	MTX	24	56
Seattle [4]	22	20(3-53)	MSD	CY(200 mg/kg)	MTX	32	50
	43			CY(200 mg/kg)+BC		9	70
Seattle [7]	23	12(2-17)	MSD(80)+	CY (200 mg/kg)(untransfused)	MTX	9	83
	58	12(1.9-17)	MRD(1)	CY(200 mg/kg)+BC/PCB (112.5 mg/kg) (transfused)		26	65
Seattle [10]	39	24.5(2-52)	MSD(38)+	CY(200 mg/kg)+ATG	MTX+CyA	5	92 (3y)
			MRD(1)				
IBMTR [11]	60	26(4-51)	MSD	CY(200 mg/kg)	MTX+CyA	18	74 (5y)
	70	23(1-51)		CY(200 mg/kg)+ATG		16	80 (5y)
Minneapolis [12]	40	13(1-40)	MSD	CY(200 mg/kg)+TLI(7.5 Gy)	MTX MTX+ATG+PSL	3	72
UCLA [13]	29	19(7-41)	MSD	CY(200 mg/kg)+TLI(3 Gy)	MTX+CyA	14*	78
New York [14]	23	13(2.5-32)	MSD	CY(160 mg/kg)+TLI(6 Gy)	CyA or MTX+CyA	14	69 (5y)
Spain [15]	22		MSD	CY(200 mg/kg)+TLI(7 Gy)	MTX+CyA	0	73 (5y)
Italy [16]	17	20(2-42)	MSD	CY(200 mg/kg)+TLI(7.5 Gy)	Varied**	0	76
France [17]	107	19(5-46)	MSD	CY(150 mg/kg)+TAI(6 Gy)	Varied**	2	68 (5y)

MSD: matched sibling donor, CY: cyclophosphamide, MTX: methotrexate, BC: buffy coat, MRD: matched related donor, PCB: procarbazine, ATG: antithymocyte globulin, CyA: cyclosporine A, TLI: total lymphoid irradiation, PSL: prednisolone, TAI: thoracoabdominal irradiation. *23% in transfused patients, **MTX or CyA or MTX plus CyA.

輸注が行われた”。BC追加輸注の試みは1988年に追加報告されており、10年生存率では1976年までの移植例は43%にとどまったが、その後の輸血歴のある骨髄(BM)移植例の10年生存率は52%と若干の改善を得て、BM+BC群では67%まで改善している”。しかしながら、BM+BC群では広範型慢性GVHDが30例中20例に合併し、長期にわたって免疫抑制剤から離脱できない症例が問題となった。これは後に報告されたBM移植群と末梢血幹細胞移植群の比較においてもTリンパ球が多量に移植されると慢性GVHDの頻度が高いという結果と共通しており⁹⁾、移植細胞によるQOLへの影響という点で重要である。

1986年には小児再不貧の81例に対する移植成績も報告されており⁷⁾、前処置は輸血歴に応じてCY 200 mg/kgかBCの併用あるいはprocarbazineおよびATGの併用が用いられている。全体の生存率は70%であったが、急性GVHDがgrade Iまでにとどまった45例中44例が生存しており、GVHD予防の重要性が示された。拒絶は16例(20%)に合併し、BCの有無で有意差を認めなかったが、これは移植細胞数の中央値が 4.0×10^6 /kgと多かったことに由来していると考察された。

この期間に得られた知見として、CYが再不貧の前処置におけるkey drugとしての地位を確立したものの、とくに頻回輸血例を中心に拒絶対策の必要性が明らかとなり、またHLA一致同胞間移植においてもGVHDをより確実に予防することが生存率の向上に必須であることが示された。CYの投与における注意としては心毒性が重要であり、50 mg/kg/dayを体表面積換算して1.55 g/m²/day以上になる場合に有意に心毒性が多く、致命的なうっ血性心不全を合併しうることが明らかとされた⁸⁾。体重が50 kg以上の場合に50 mg/kg/dayを体表面積換算すると1.55 g/m²/day以上になりやすいことから、とくに年長児で注意を要する。CYの妊孕能への影響は蓄積投与量として350 mg/kgを超えると無精子症が生じるが、200 mg/kgでは造精能への影響は最小限にとどめられ、卵巣機能の耐用量はさらに大きいことから⁹⁾、50 mg/kg/dayの4日間投与は前処置としてのCYの最大投与量とされる。

IV. CY+ATGの開発

1993年、Storbらによって報告されたCY 200 mg/kgとATG 90 mg/kgの併用¹⁰⁾はHLA一致血縁ドナーからの39例の移植において3年生存率92%という成績を報告し、historical controlの72%から有意に向上して、その後の再不貧に対するHLA一致同胞間移植の前処置の

gold standardの位置を占めるに至った。拒絶は2例(5%)に認めており、historical controlでは3例(7%)で、拒絶に関しては両群に差を認めなかった。Grade II以上の急性GVHDの頻度は対象群16%、historical control群20%で差がなかったが、慢性GVHDについては対象群34%、historical controlが61% ($p=0.58$)と少ない傾向があり、生存率の向上につながった可能性が高い。実際に死因の内訳をみると、対象群は移植前からの真菌感染やdyskeratosis congenita例の原因不明の肺炎、GVHDに伴う感染症であったが、historical control群では急性GVHDに伴う間質性肺炎が3例、慢性GVHDに伴う感染症が4例とGVHDが死因に関与している例が多い。すなわち、ATG追加の効果はGVHDを軽減することで生存率の向上に寄与した可能性がある。

CY+ATGはHLA6抗原一致非血縁移植の5例でも試みられたが、生存は骨髄低形成あるいは無形成の状態が2例のみで、死亡した3例のうち1例も長期にわたって造血能が回復せず、安定した生着を得ることさえ困難であった。診断から移植までの期間が1.5~12年と長い例が多かったものの、非血縁ドナーからの移植においては付加的免疫抑制の必要性が示唆された。

Storbらの報告¹⁰⁾はhistorical controlとの比較であったために、その後International Bone Marrow Transplant RegistryによってCY単独とCY+ATGの無作為比較試験が行われ、2007年にその結果が報告された¹¹⁾。5年生存率はCY単独群が74%、CY+ATG群が80%で両群に差を認めず、さらに生着や急性あるいは慢性GVHD、感染症の合併頻度についても両群に差を認めなかった。両群とも従来の多施設共同研究の成績を上回ったために、支持療法の進歩が成績向上の主因とされた。

V. 放射線照射を加えた前処置 (Table 2)

1. CY+全リンパ照射 (TLI)

1970年初頭には10 Gyの全身放射線照射(TBI)単独による前処置が一部の症例で試みられたが¹²⁾、GVHDや感染症の頻度が高く、CY 200 mg/kgとの併用で照射量の減量と照射部位の制限が行われるようになった。1980年代には局所放射線照射としてTLI 7.5 GyとCY 200 mg/kgを組み合わせた前処置が報告されるようになり、Minnesotaの成績ではHLA一致同胞間移植の40例で、2年生存率が72%、晩期拒絶は1例のみとしている¹³⁾。その後、同量のCYとの併用でTLIを3 Gyまで減量する試みが行われたが、輸血歴のある25例中4例(23%)が拒絶されており、これは当時のCY単独による生着率と差がないことから、3 GyのTLIは拒絶予防

に無効と結論された¹³⁾。2000年までは TLI/CY の前処置による HLA 一致同胞間移植の報告が散見され^{14) 15)}、TLI は 6 ないし 7.5 Gy に CY は 160 mg/kg と減量している施設もあるが、生存率は 69~76% と大差はない。しかし、拒絶の頻度は TLI 7.5 Gy と CY 200 mg/kg を用いた報告はそれぞれ 22 例、17 例の移植で全例が持続生着しているのに対して¹⁶⁾、TLI 6 Gy、CY 160 mg/kg と減量した報告¹⁴⁾では 23 例中 3 例に拒絶を認めている。これらの報告では大半の症例で GVHD 予防は cyclosporine A (CyA) あるいは MTX と CyA の併用が用いられており、それが生存率の向上に寄与していることも否定できない。

2. CY+胸腹部放射線照射 (TAI)

局所放射線照射としては TAI もよく用いられており、CY 150~200 mg/kg との組み合わせで前処置が行われた。Gluckman ら¹⁷⁾は TAI 6 Gy と CY 150 mg/kg の前処置で 107 例の HLA 一致同胞間移植を行い、生存率は 68% であったが、生存率に悪影響を及ぼす因子として grade II 以上の急性 GVHD、女性ドナー、特発性再不貧でないことに加えて、末梢血多核顆粒球 200/ μ l 以上であることを挙げている。末梢血所見が移植後の予後因子となりうるという報告はほかにみあたらないが、ATG と CyA を用いた免疫抑制療法が中等症よりも重症のほうが有効であることと類似しており、興味深い。本研究では CY が 150 mg/kg とやや少量であるが拒絶はわずか 2 例のみであり、骨髓密度が高いために骨髓抑制が不十分で生着しなかったということではなく、再不貧発症の免疫学的背景のためと推測される。

Gluckman らによる TAI/CY は、その後、二次癌の増加が問題となり¹⁸⁾、Seattle と同じ CY/ATG の前処置に変更して 2004 年に両者の前処置による長期観察の結果を報告している¹⁹⁾。2つの前処置は移植時期や観察期間が

異なるために、結果の解釈には注意を要するが、二次癌の危険因子は多変量解析によると年齢が 15 歳以上、移植前に CyA による免疫抑制療法を行っていたことであった。同様に多変量解析による生存率に悪影響を与えた因子は、年齢が 15 歳以上、前処置が CY/TAI、移植前のあらゆる治療歴、grade II~IV の急性 GVHD であった。すなわち HLA 一致同胞がいる場合には CyA による免疫抑制療法を行わずに、速やかに移植を行い、前処置は TAI を含まず、GVHD 予防は MTX と CyA の併用によって grade II 以上の急性 GVHD を予防することが重要であることが示された。

3. 至適照射量と照射範囲

非血縁移植における CY+ATG の限界が示された中で、代替ドナー移植のための前処置の開発が必要になったが、このような症例は免疫抑制療法の先行で頻回の輸血を含み治療歴の長いことが多いために、生着を得るためにさまざまな試みが行われている (Table 2)。白血病に対する移植前処置が CY 120 mg/kg との併用で TBI 12 Gy が分割照射されているが、再不貧では CY 200 mg/kg が前提であり、さらに少ない照射量が期待される。韓国からは非血縁移植の前処置として、CY 120 mg/kg に加えて TBI を 12 Gy、10 Gy、8 Gy で併用したところ、生存率はそれぞれ 40%、44%、92% であったと報告され²⁰⁾、TBI 減量の妥当性が示唆された。さらに Kojima らの非血縁移植の報告²¹⁾には、CY 120 mg/kg に加えて TBI 5 Gy あるいは 8 Gy では 3 例中 2 例で拒絶されたが、CY 200 mg/kg であれば 2~5 Gy でも HLA 不一致移植 4 例を含む 10 例中 10 例が生着したことが紹介されている。

Seattle からは非血縁移植における TBI の dose-finding study が行われ、CY 200 mg/kg と ATG 90 mg/kg に加えて、TBI 3×2 Gy から開始して毒性と生着不全に応じて

Table 2 Alternative donor bone marrow transplantation for severe aplastic anemia

Study [Ref.]	n	Median age (Range)	Donor	Conditioning	GVHD prophylaxis	Graft failure (%)	Survival (%)
Kojima [21]	154	17(1-46)	MUD, MMUD	Varied	Varied	11	56 (5y)
Bacigalupo [30]	38	14(3-37)	MMRD, UD	Flu(120 mg/m ²) + CY(1,200 mg/m ²) + ATG	MTX + CyA	18	73 (2y)
Deeg [22]	87	18.6(1.3-53.4)	MUD, MMUD	CY(200 mg/kg) + TBI(2-6 Gy) + ATG	MTX + CyA	5	55 (7y)
Maury [43]	37 52	17(0-52)	MUD, MMUD MUD, MMUD	Varied Varied	CyA, MTX + CyA CyA, MTX + CyA	20 10	29 (5y) 50 (5y)
Perez-Albuerne [44]	48 70	(<20)	Allele-match Allele-mismatch	Varied Varied	T-cell dep, MTX + CyA T-cell dep, MTX + CyA		39 (5y) 57 (5y)

MUD: matched unrelated donor, MMUD: mismatched unrelated donor, MMRD: mismatched related donor, UD: unrelated donor, Flu: fludarabine, T-cell dep: T-cell depletion.

2 Gy ずつ増減された²¹⁾。その結果、TBI 2 Gy でも満足すべき生着率が得られており、HLA 一致非血縁ドナー移植の 62 例中 1 例 (2%) と HLA 不一致非血縁移植の 25 例中 3 例に拒絶を認めたのみであった。しかも後者の拒絶のうち、初期生着不全は 1 例のみで、他の 2 例は CMV (サイトメガロウイルス) 感染症の合併により、ganciclovir を投与された後の晩期拒絶であった。

われわれは HLA 一致同胞ドナー以外の代替ドナーからの移植においては、3 Gy の TAI を用い、fludarabine (Flu) 25 mg/m²×4, CY 750 mg/m²×4, ATG 1.25 mg/kg×4 による前処置を 13 例に行っているが、アスペルギルス肺炎を合併した再移植の 1 例を除いて 12 例が生着しており、良好な成績が得られている²²⁾。HLA 適合度ではハプロ一致の親をドナーとした場合にも生着が得られているが²³⁾、さい帯血移植ではまだ試みられていない。

照射範囲としては、施設の事情によって TBI, TLI, TAI が選択されているが、これらの方法の優劣を検証した報告はない。2 Gy の TBI は T リンパ球を 1 log 減少させるといわれており²⁴⁾、われわれは照射範囲が縮小されることから TAI の 3 Gy を選択している。具体的な照射範囲は頭尾方向がワルダイヤ輪 (鼻頭位) から恥骨結合までの大腿領域、側方は腋窩、体幹が入る範囲としており、性腺と甲状腺を遮蔽している。TLI はマントル照射・逆 Y 字照射、脾臓照射で構成されており²⁵⁾、TAI との差は肝、回盲部を含む腹腔リンパ節となるが、この照射範囲の違いによる免疫抑制効果の差は明らかではない。

VI. ATG の至適投与量

現在わが国で入手可能な ATG は Thymoglobuline と Zetbulin があり、後者の適応は再不貧に対する免疫抑制療法のみであるが、前者は 2008 年 11 月に移植前処置と GVHD 予防および治療において承認されている。この両薬剤ともウサギにヒトの胸腺細胞あるいは T 細胞株を免疫して作成したものであるが、両者の力価は異なるために通常の投与量も異なる。また前処置に用いる場合と GVHD の治療に用いる場合でもその投与法は確立しているとはいえない。前処置における Thymoglobuline の投与量については血液腫瘍性疾患における非血縁移植で dose-finding study が行われている。162 例において 4 mg/kg, 6 mg/kg, 8 mg/kg, 10 mg/kg の Thymoglobuline が TBI/CY あるいは busulfan (Bu)/CY に併用され、GVHD 予防はほとんどの例で MTX と CyA の併用が行われた²⁶⁾。その結果、4 mg/kg 投与群では grade II 以上の急性 GVHD の頻度が高く、GVHD に関連した死亡が多くなり、10 mg/kg 投与群では有意差には至らなかつ

たものの感染症に関連した死亡が増えて、6 mg/kg ないし 8 mg/kg 投与群がもっとも生存率が良好であった。しかし、重症 GVHD の頻度が低いとされているわが国において、6 mg/kg ないし 8 mg/kg が適切な投与量であるとは断定できない。同様な研究は Zetbulin についても行われており、血液腫瘍患者における非血縁移植で疾患に応じた前処置に加えて 30 mg/kg あるいは 60 mg/kg を加え、GVHD 予防は MTX と CyA の併用で行ったところ、高用量群で感染症の増加によって移植関連死亡が増加し、小用量群で無病生存が良好な傾向が見られたとしている²⁷⁾。このように、ATG の至適投与量はまだ確立されているとは言えず、GVHD の重症度の民族差などを考慮すると、わが国でも独自に検討すべき課題であると思われる。

VII. その他の前処置：Flu, Bu, モノクローナル抗体の追加

わが国において Flu は 2000 年 4 月に慢性リンパ性白血病の適応で承認されたが、間もなく reduced-intensity conditioning transplant (RIST) の中心的薬剤の地位を確立し、それを追って 2008 年 6 月には AML, MDS, CML などの腫瘍性疾患に対する前処置薬剤の適応が承認された。海外からも 2000 年以降に再不貧に対する Flu の使用が散見されるようになり、HLA 一致同胞間移植や代替ドナー移植で CY/ATG との併用が行われている²⁸⁻³⁰⁾。当初は代替ドナー移植において、Flu の追加による免疫抑制効果の強化で放射線を用いない前処置として行われ、あるいはフェンコニ貧血のように十分な量のアルキル化剤や放射線が使えない疾患の前処置として、少線量の放射線と投与された。併用薬の投与量はさまざまであるが、EBMT-SAA Working Party から報告された 38 例の代替ドナー移植では Flu 30 mg/m²×4, CY 300 mg/m²×4, ATG 3.75 mg/kg×4 が用いられ、73%が長期生存し、7 例で生着不全あるいは拒絶が認められた³⁰⁾。しかし、その後の症例の蓄積で、さらに生着不全あるいは拒絶の頻度が問題となり、少線量の放射線を併用することとなった (Bacigalupo, 私信)。

Flu を用いた前処置の経験はいまだ豊富とはいえ、併用薬を含めた用量設定については慎重でなければならない。RIST ではおもに melphalan (L-PAM) との併用が行われているが、重篤な肝毒性、心毒性の報告があり^{31,32)}、同じアルキル化剤である CY を併用する場合にも同様の可能性がある。移植後の高ビリルビン血症のリスク因子となっていることも示され³³⁾、*in vitro* の培養系ではヒト血管内皮細胞への傷害機序についても解明さ

れている³⁴⁾。

拒絶予防のための前処置強化として、免疫抑制効果よりもむしろ骨髓抑制作用の強い Bu を CY 200 mg/kg に追加した試みも報告されている³⁵⁾。HLA 一致同胞間移植の 81 例において Bu 4 mg/kg を 1 回のみ追加して前処置としたが、2 例で早期生着不全、10 例が晩期拒絶となり、8 年生存率は 56% であった。輸血回数と拒絶との関係を見ると、50 単位未満の例の拒絶率は 16% であったものの、50 単位以上の例の拒絶率は 43% に及び、生存率も前者が 67%、後者は 28% と不良であった。

抗腫瘍剤以外でより強力な免疫抑制を加えるという目的でモノクローナル抗体も試みられている。ヒト化 CD52 抗体である alemtuzumab (Campath 1H) を Flu, CY に加えた報告³⁶⁾ や OKT-3 を用いた報告³⁷⁾ もあるが、まだ少数例で評価しうる段階ではない。

VIII. 今後の展望

以上、再不貧に対する移植前処置を振り返ってみたが、1970 年代に始まった数多くの臨床研究の蓄積にもかかわらず、HLA 一致同胞間移植における晩期拒絶の問題さえも解決できていない。前処置などの単一の治療要因のみで生存率が向上することは難しく、GVHD 予防における CyA の採用³⁸⁾ および短期 MTX との併用³⁹⁾ が成績向上に寄与したように、集学的治療である造血細胞移植の支持療法全体を標準化することが重要である。晩期拒絶に対しては、QOL の低下を招くような前処置の強化は避けるべきであり、移植後のキメリズム解析を経時的に行うことで、拒絶のリスクの高い進行性混合キメラを早期に把握し、対策を講じる必要がある⁴⁰⁾。混合キメラに対してドナーリンパ球輸注が奏効した例も報告されており⁴¹⁾、慢性 GVHD の合併には十分注意を要するものの、ドナー型造血への転換を図る細胞療法として検討すべき課題である。移植前の輸血歴や免疫抑制療法の既往なども移植の成功率に影響することが明らかにされており⁴²⁾、HLA 一致同胞ドナーがいれば速やかに移植を行うことが重要であるが、代替ドナーしかない場合にはどの時点で移植を選択すべきかが明確になることが期待される。非血縁者間移植においては、移植手技以外にも適切なドナー選択が重要であり、2000 年前後に HLA の allele typing が導入された後は国内外より成績の向上が報告されている^{43,44)}。

引用文献

1) 日本造血細胞移植学会平成 19 年度全国調査報告書。Monograph 12: 2008

- 2) 小原 明: 小児血液学会再生不良性貧血委員会. 日小血会誌 17: 531-538, 2003
- 3) Storb R, Thomas ED, Buckner CD, et al: Allogeneic marrow grafting for treatment of aplastic anemia. *Blood* 43: 157-180, 1974
- 4) Storb R, Doney KC, Thomas ED, et al: Marrow transplantation with or without donor buffy coat cells for 65 transfused aplastic anemia patients. *Blood* 59: 236-246, 1982
- 5) Anasetti C, Storb R, Longton G, et al: Donor buffy coat cell infusion after marrow transplantation for aplastic anemia. *Blood* 72: 1099-1100, 1988
- 6) Schrezenmeier H, Passweg JR, Marsh CW, et al: Worse outcome and more chronic GVHD with peripheral blood progenitor cells than bone marrow in HLA-matched sibling donor transplants for young patients with severe acquired aplastic anemia. *Blood* 110: 1397-1400, 2007
- 7) Sanders JE, Whitehead J, Storb R, et al: Bone marrow transplantation experience for children with aplastic anemia. *Pediatrics* 77: 179-186, 1986
- 8) Goldberg MA, Antin JH, Guinan EC, et al: Cyclophosphamide cardiotoxicity: An analysis of dosing as a risk factor. *Blood* 68: 1114-1118, 1986
- 9) Ray H, Mattison D: How radiation and chemotherapy affect gonadal function. *Contemp Obstet Gynecol* 109: 106-115, 1985
- 10) Storb R, Etzioni R, Anasetti C, et al: Cyclophosphamide combined with antithymocyte globulin in preparation for allogeneic marrow transplants in patients with aplastic anemia. *Blood* 84: 941-949, 1994
- 11) Champlin RE, Perez WS, Passweg JR, et al: Bone marrow transplantation for severe aplastic anemia: A randomized controlled study of conditioning regimens. *Blood* 109: 4584-4585, 2007
- 12) Ramsay NKC, Kim TH, McGrave P, et al: Total lymphoid irradiation and cyclophosphamide conditioning prior to bone marrow transplantation for patients with severe aplastic anemia. *Blood* 62: 622-626, 1983
- 13) Champlin RE, Ho WG, Nimer SD, et al: Bone marrow transplantation for severe aplastic anemia: Effect of a preparative regimen of cyclophosphamide-low-dose total-lymphoid irradiation and posttransplant cyclosporine-methotrexate therapy. *Transplantation* 49: 720-724, 1990
- 14) Castro-Malaspina H, Childs B, Laver J, et al: Hyperfractionated total lymphoid irradiation and cyclophosphamide for preparation or previously transfused patients undergoing HLA-identical marrow transplantation for severe aplastic anemia. *Int J Rad Oncol Biol Phys* 29: 847-854, 1994
- 15) Zapatero A, Marin A, Lopez M, et al: Successful bone marrow transplantation in sensitized aplastic anemia patients using total lymphoid irradiation for conditioning: Long-term follow-up. *Hematol Oncol* 14: 165-172, 1996
- 16) Gaziev D, Giardini C, Galimberti M, et al: Bone marrow

- transplantation for transfused patients with severe aplastic anemia using cyclophosphamide and total lymphoid irradiation as conditioning therapy: Long-term follow-up from a single center. *Bone Marrow Transplant* 24: 253-257, 1999
- 17) Gluckman E, Socie G, Devergie A, et al: Bone marrow transplantation in 107 patients with severe aplastic anemia using cyclophosphamide and thoraco-abdominal irradiation for conditioning: Long-term follow-up. *Blood* 78: 2451-2455, 1991
 - 18) Socie G, Amar MH, Cosset JM, et al: Increased incidence of solid malignant tumors after bone marrow transplantation for severe aplastic anemia. *Blood* 78: 277-279, 1991
 - 19) Ades L, Mary JY, Robin M, et al: Long-term outcome after bone marrow transplantation for severe aplastic anemia. *Blood* 103: 2490-2497, 2004
 - 20) Kim SY, Lee JW, Lim J, et al: Unrelated donor bone marrow transplantation for severe aplastic anemia with conditioning using total body irradiation and cyclophosphamide. *Biol Blood Marrow Transplant* 13: 863-870, 2007
 - 21) Kojima S, Matsuyama T, Kato S, et al: Outcome of 154 patients with severe aplastic anemia who received transplants from unrelated donors: The Japan Marrow Donor Program. *Blood* 100: 799-803, 2002
 - 22) Deeg HJ, O'Donnell M, Tolar J, et al: Optimization of conditioning for marrow transplantation from unrelated donors for patients with aplastic anemia after failure of immunosuppressive therapy. *Blood* 108: 1485-1491, 2006
 - 23) 矢部みはる, 井上裕靖, 松本正栄, 他: *TAI (3Gy), Fludara, CYによる前処置で移植した再生不良性貧血の15例. *臨床血液* 46: 239, 2005
 - 24) Yabe H, Inoue H, Matsumoto M, et al: Unmanipulated HLA-haploidentical bone marrow transplantation for the treatment of fatal, nonmalignant diseases in children and adolescents. *Int J Hematol* 79: 78-82, 2004
 - 25) van Bekkum DW, Wielenga JJ, van Gils F, et al: Factors influencing reconstitution by bone marrow transplantation. *The Biology of Hematopoiesis*, Danial N ed Wiley-Liss New York 1990, 479-491
 - 26) Remberger M, Svahn BM, Mattsson J, et al: Dose study of Thymoglobulin during conditioning for unrelated donor allogeneic stem-cell transplantation. *Transplantation* 78: 122-127, 2004
 - 27) Ayuk F, Diachenko G, Zabelina T, et al: Comparison of two doses of antithymocyte globulin in patients undergoing matched unrelated donor allogeneic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 14: 913-919, 2008
 - 28) Chan KW, Li CK, Worth LL, et al: A fludarabine-based conditioning regimen for severe aplastic anemia. *Bone Marrow Transplant* 27: 125-128, 2001
 - 29) Kang HJ, Shin HY, Choi HS, et al: Fludarabine, cyclophosphamide plus thymoglobulin conditioning regimen for unrelated bone marrow transplantation in severe aplastic anemia. *Bone Marrow Transplant* 34: 939-943, 2004
 - 30) Bacigalupo A, Locatelli F, Lanino E, et al: Fludarabine, cyclophosphamide and anti-thymocyte globulin for alternative donor transplants in acquired aplastic anemia: A report from the EBMT-SAA Working Party. *Bone Marrow Transplant* 36: 947-950, 2005
 - 31) van Besien K, Devine S, Wickrema A, et al: Regimen-related toxicity after fludarabine-melphalan conditioning: A prospective study of 31 patients with hematological malignancies. *Bone Marrow Transplant* 32: 471-476, 2003
 - 32) Ritchie DS, Seymour JF, Roberts AW, et al: Acute left ventricular failure following melphalan and fludarabine conditioning. *Bone Marrow Transplant* 28: 101-103, 2001
 - 33) Hogan WJ, Maris M, Storer B, et al: Hepatic injury after nonmyeloablative conditioning followed by allogeneic hematopoietic cell transplantation: A study of 193 patients. *Blood* 103: 78-84, 2004
 - 34) Eissner G, Multhoff G, Gerbitz A, et al: Fludarabine induces apoptosis, activation, and allogenicity in human endothelial cells: Protective effect of defibrotide. *Blood* 100: 334-340, 2002
 - 35) Dullely FL, Vigorito AC, Aranha FJP, et al: Addition of low-dose busulfan to cyclophosphamide in aplastic anemia patients prior to allogeneic bone marrow transplantation to reduce rejection. *Bone Marrow Transplant* 33: 9-13, 2004
 - 36) Gupta V, Ball SE, Sage D, et al: Marrow transplant from matched donors for aplastic anemia using alemtuzumab, fludarabine, and cyclophosphamide based conditioning. *Bone Marrow Transplant* 35: 467-471, 2005
 - 37) Urban C, Benesch M, Sykora KW, et al: Non-radiotherapy conditioning with stem cell transplantation from alternative donors in children with refractory severe aplastic anemia. *Bone Marrow Transplant* 35: 591-594, 2005
 - 38) Passweg JR, Socie G, Hinterberger, et al: Bone marrow transplantation for severe aplastic anemia: Has outcome improved? *Blood* 90: 858-864, 1997
 - 39) Locatelli F, Bruno B, Zecca M, et al: Cyclosporine A and short-term methotrexate versus cyclosporine A as graft versus host disease prophylaxis in patients with severe aplastic anemia given allogeneic bone marrow transplantation from an HLA-identical sibling: Results of a GITMO/EBMT randomized trial. *Blood* 96: 1690-1697, 2000
 - 40) Lawler M, McCann SR, Marsh JCW, et al: Serial chimerism analyses indicate that mixed haemopoietic chimerism influences the probability of graft rejection and disease recurrence following allogeneic stem cell transplantation (SCT) for severe aplastic anaemia (SAA):

- Indication for routine assessment of chimerism post SCT for SAA. *Br J Haematol* 144: 933-945, 2008
- 41) Hoelle W, Beck JF, Dueckers G, et al: Clinical relevance of serial quantitative analysis of hematopoietic chimerism after allogeneic stem cell transplantation in children for severe aplastic anemia. *Bone Marrow Transplant* 33: 219-223, 2004
- 42) Kobayashi R, Yabe H, Hara J, et al: Preceding immunosuppressive therapy with antithymocyte globulin and ciclosporin increases the incidence of graft rejection in children with aplastic anemia who underwent allogeneic bone marrow transplantation from HLA-identical siblings. *Br J Haematol* 135: 693-696, 2006
- 43) Maury S, Appert MLB, Chir Z, et al: Unrelated stem cell transplantation for severe acquired aplastic anemia: Improved outcome in the era of high-resolution HLA matching between donor and recipient. *Haematologica* 92: 589-596, 2007
- 44) Perez-Albuerna ED, Eapen M, Klein J, et al: Outcome of unrelated donor stem cell transplantation for children with severe aplastic anemia. *Br J Haematol* 141: 216-223, 2008

