

201015611B

厚生労働科学研究費補助金
医療技術実用化総合研究事業

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

平成20年度～平成22年度 総合研究報告書

研究代表者 谷口 修一

平成23（2011）年3月

目 次

I. 総合研究報告

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

II. 研究成果の刊行に関する一覧表..... 9

III. 研究成果の刊行物・別刷.....13

I. 総合研究報告

厚生労働科学研究費補助金（医療技術実用化総合研究事業）

総合研究報告書

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

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

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

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

しかしわが国においては、移植領域という限られた分野の稀少医薬品であるために企業開発が望めず、国民医療の懸案の一つとなっている。本研究では、本剤の有用性を最も効率的に検証できる再生不良性貧血患者を対象に GCP に則った医師主導治験を実施し、アレムツズマブの移植前処置としての適応を取得すること計画した。これにより、対象を広く移植治療全般にまで拡大した新規治療の開発が可能となり、我が国の医療水準向上に大きく寄与する。さらに、本治験を通して移植領域における質の高い多施設共同臨床研究の運営体制を整備し、今後の本領域における研究発展にも貢献する。

本治験は第 I/II 相試験として実施されており、平成 16 年 12 月より登録を開始した。平成 19 年 10 月に第 II 相へ移行し、至適投与量の検討を開始した。平成 22 年 5 月末現在、第 II 相の目標症例数 11 例のうち 9 例が登録されている（第 I/II 相として、15/17 例登録完了）。現時点で 1 例を除く全例で主要評価項目である「移植後 60 日以内の移植片拒絶とグレード 2 以上の移植片対宿主病の発現の抑制」に成功している。目標症例まで、残すところ 2 例であったが、腫瘍評価項目はこの症例数で十分評価できることから平成 22 年 6 月末日をもって登録終了し、承認申請へ向けての成績の固定の作業へ入っている。

研究分担者

神田 善伸 治医科大学自治医科大学附属さいたま医療センター血液科 教授
中尾 眞二 金沢大学医薬保健研究域医学系 教授
高上 洋一 国立がんセンター中央病院 臨床検査部 部長^{※1}
福田 隆浩 国立がんセンター中央病院 血液腫瘍科・造血幹細胞移植科 副科長^{※2}
宮本 敏浩 九州大学病院 血液腫瘍内科 講師
宮村 耕一 名古屋第一赤十字病院 血液内科 部長

※1 2008/4/1～2010/8/31

※2 2010/9/1～2011/3/31

A. 研究目的

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

同種移植における移植片拒絶とGVHDの制御は移植後の死亡を左右する重要な課題であり、特に重症再生不良性貧血では顕著となる。国際的に移植片拒絶を予防する目的でATGが重要な前処置の一つとして使用されているが、ロット間の製品の差異や、T細胞だけを抑制して生じる移植後PTLDの増加が問題となる。アレムツズマブは抗CD52ヒト化モノクローナル抗体であり、強力なリンパ球枯渇作用を有する。海外ではB-CLLの治療薬として承認されている。海外では、同剤を用いて再生不良性貧血を含む造血器疾患患者を対象とした同種移植時の移植片拒絶及びGVHDの予防を検討した臨床研究が多く行われ、その良好な成績が報告

されている。また、同剤はT細胞だけでなくB細胞をも抑制するため、二次がんともいえるPTLDのリスクが低いことが期待されている。また同剤は、ドナーリンパ球も抑制しGVHDの発症も予防するため、移植片拒絶とGVHD発症双方の予防を可能とし、同種移植全体の安全性を画期的に向上させる可能性がある。

B. 研究方法

本研究は、多施設共同医師主導治験として実施する。対象は、免疫抑制治療が無効であった輸血依存性の20～65歳の再生不良性貧血患者であり、HLA一致又は一座不一致血縁ドナー、あるいはHLA一致又はDRB1一座不一致非血縁ドナーを有する患者である。移植前処置は、シクロホスファミド（25 mg/kg、4日間）、リン酸フルダラビン（30 mg/m²、6日間）に加えて、アレムツズマブを患者体重あたり0.16、0.2あるいは0.25 mg/kgを6日間併用（移植8日前から3日間）する（HLA一致血縁ドナー以外からの移植の場合は全身放射線照射（2Gyを1日）を追加）。ドナーから採取した骨髓を前処置終了後に輸注し、移植後の免疫抑制はシクロスポリンとメトトレキサートの併用で行う。本治験の主要評価項目は移植後60日以内の生着不全およびグレードⅡ以上の急性GVHDの発症率とし、副次的評価項目として、移植後1年後の生存率、移植前処置関連毒性、感染症発症率ならびに再生不良性貧血に対する治療効果を評価する。移植後60日以内に生着を確認し、かつ移植後60日の時点でグレードⅡ以上の急性GVHDを発症していない症例を成功例と定義する。また、アレムツズマブの血清中薬物濃度の検討を行う。目標症例数は、推奨用量群として14例（最小）として知見が開始された（本治験全体の最小目標症例数：17例）。

研究分担者は、本治験に参画するとともに、個々の分担研究を遂行した。

同種造血幹細胞移植では、移植片拒絶及びGVHDの予防としての抗がん剤あるいは免疫抑制剤の投与による移植後の感染症の対策が重要である。そ

こで、神田らは、少量アシクロビルの長期間投与による带状疱疹予防に対する有効性の検討およびイマチニブが TGF- β や PDGF-R 経路の抑制を介して慢性 GVHD 発症率を低下させるのではないかとという仮説を立て、関東造血細胞移植グループの多施設共同後方視的研究として解析を行った。また、宮本らは、経口バルガンシクロビルによるサイトメガロウイルス感染症の抑制の検討および同種造血幹細胞移植後症例における human herpes virus (HHV)-6 関連脳脊髄炎の発症頻度と危険因子に関して解析を行った。した。中尾らは、強力な GVL 効果を担っていると考えられるドナー由来の NK 細胞について、免疫抑制剤の影響の検討およびアレムツズマブを含む前処置で移植を受けた再生不良性貧血患者における T 細胞混合キメラの意義について研究を行った。高上らは、蛍光蛋白遺伝子導入マウス解析系や移植患者検体の詳細な免疫動態解析研究などの先端的基礎研究を行うことによって、移植領域における経験的治療に対する基礎科学の根拠をまとめた。更に、宮村らは、フィラデルフィア染色体陽性急性リンパ性白血病 (Ph+ALL) を対象に、同種造血幹細胞移植における微小残存病変 (MRD) の検出の有用性および同種造血幹細胞移植後の血清フェリチンおよび Non-transferrin bound iron の関連を検討した。千葉らは、臍帯血移植などの他の移植細胞源の開発の研究を行った。臍帯血造血幹細胞増幅技術開発は、その一端である。彼らはこれまでに、免疫不全マウスへの移植実験などにより、臍帯血中の造血幹細胞および未分化造血前駆細胞の試験管内増幅が可能であることを示しており、今後の臨床応用に向けて準備を整えている。

(倫理面への配慮)

医師主導治験の実施にあたっては、ヘルシンキ宣言に基づく倫理的原則及び ICH-GCP ガイドラインに基づく「医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令」(改正 GCP) に従う。

本治験への登録に先立って、担当医は患者並びにドナーに施設の治験審査委員会の承認が得られ

た同意説明文書 を説明の前、または説明するときに患者並びにドナーに渡し、その内容を口頭で詳しく説明するとともに、患者が治験の内容をよく理解したことを確認した上で、治験への参加についての意思を確認、文書による同意を得る。登録患者及びそのドナーの氏名は参加施設からデータセンターへ知らされることはない。また、モニター、監査担当者など本治験に関係する者は、本治験に関して知り得た情報は第三者に漏洩されることは禁じられている。

C. 研究結果

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

平成 21 年 5 月末現在、第 II 相の目標症例数 11 例のうち 9 例が登録されている。第 I 相及び II 相において、これまで 1 例を除く全例で主要評価項目である「移植後 60 日以内の移植片拒絶とグレード 2 以上の移植片対宿主病の発現の抑制」に成功しており、主要評価項目を十分に満たす症例数であることで、平成 22 年 6 月末日をもって登録を終了した(表 1)。今後、承認申請に向けて準備する。

共同研究としては、神田らは、少量アシクロビルの長期間投与による移植後带状疱疹予防の検討を行った。東京大学無菌治療部で同種移植を行った患者のうち、移植後 35 日以上生存し、242 例を対象に後方視的に解析した。その結果、带状疱疹の発症頻度は少量アシクロビル投与群で有意に低く、少量のアシクロビルを同種移植後に長期間投与することによって、带状疱疹発症を抑制できる

ことが示された。また、少量アシクロビル投与を中止した後には 30%強の患者に帯状疱疹が認められるが、予防投与を行っていない場合の発症と比較して症状が軽微になる結果が得られた。イマチニブの多施設による後方視的研究では、96 症例中 CML が 51 例、PhALL が 45 例で、このうちそれぞれ 2 例、18 例が移植後に 3 ヶ月以上にわたってイマチニブの投与を受けていた。移植からイマチニブ開始までの期間の中央値は 65 日(範囲 13~219 日)で、イマチニブの投与期間の中央値は 170 日(範囲 115~1284 日)であった。慢性 GVHD の発症頻度はイマチニブ投与群で 41.1%、非投与群で 71.3%、広範型慢性 GVHD の発症頻度はイマチニブ投与群で 22%、非投与群で 53%といずれも有意差が見られた。多変量解析ではイマチニブの投与(時間依存性変数)と臍帯血移植が慢性 GVHD 発症に対する独立して有意な因子として同定された。同種造血幹細胞移植後のイマチニブの投与によって慢性 GVHD の発症率が低下する可能性が示唆された。その機序として線維化の抑制以外にイマチニブによる直接的な免疫抑制効果も考えられる。

また、移植合併症である CMV 感染についての研究では、退院後に CMV 抗原血症が陽性化する症例が増加していることから、宮本らは、外来治療下での経口バルガンシクロビルによる CMV 感染症予防について検討した。退院後に CMV 抗原血症が陽性化した 10 例を対象に、バルガンシクロビル(900mg/day)を 21 日間経口投与することによって、CMV 再活性化に有効であることが示され、その有効性は静注ガンシクロビルと同等であることが示された。有害事象は軽微で、安全に投与可能であった。しかしながら、経口バルガンシクロビル投与後に 40%において CMV 再活性化を認めたことから、投与終了後も CMV 抗原血症のモニタリングの継続の必要性が考えられた。HHV6 脳脊髄炎は再移植としての臍帯血ミニ移植患者に高い発症率を認めた。複数回の移植であること、臍帯血中のリンパ球が免疫学的に未熟であること等が原因と考えられる。ガンシクロビルとフォスカビルの併用投与は有効ではあるが、神経学的後遺症は遅延

する傾向を認めた。従って、移植後早期からの HHV6 モニタリングおよび早期治療介入または予防的投与が必要と考えられた。

中尾らは、移植後早期に GVHD 予防目的に使用される各種免疫抑制剤が NK 細胞の増殖や機能にどのような影響を与えるかを検討した。シクロスポリン、タクロリムス、メトトレキサートの NK 細胞の増殖・機能に及ぼす影響は軽微であったが、ミコフェノール酸モフェチル(MMF)の活性体である MPA は、臨床的に使用される濃度で NK 細胞の増殖・細胞傷害活性を著明に抑制した。T 細胞においてみられる MPA の p27 発現低下抑制効果は、MPA 存在下で培養した NK 細胞においも確認された。したがって、MMF による GVHD 予防は NK 細胞による GVL 効果を減弱させる可能性が示唆された。また治療抵抗性の重症再生不良性貧血(severe aplastic anemia: SAA) 3 例に対して、アレムツズマブを用いた前処置後、HLA 一致非血縁ドナーから骨髓移植を行った。2 例は day 30 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たためドナーリンパ球輸注(DLI)を行ったところ完全キメラが得られた。残る 1 例は day 30 で 90%みられたドナー型 T 細胞が day 60 に約 40%まで低下し、day 180 ではほぼレシピエント型となった。血球数は安定していたため、DLI は行わずに経過を観察したところ、ドナー型細胞の比率が自然に増加した。移植片対宿主病(GVHD)は DLI 後も含めて 3 例とも発症していない。アレムツズマブを用いた移植では GVHD のリスクは低い、T 細胞混合キメラになりやすいため、T 細胞のキメリズムを頻回にモニターする必要がある。

高上らは、生体内蛍光イメージング法を中心にドナー細胞の動態を解析し、他の手法と比較検討した。生体内蛍光イメージング法は、異なる移植条件あるいは薬剤がドナー細胞の生着や増殖パターンに与える影響を詳細に解明することが可能であり、小動物を用いたドナー細胞の生着促進あるいは GVHD の抑制のスクリーニングに最適であると考えられた。また、移植後患者の免疫機能を解

析するためのモニタリング系として、抗原特異的リンパ球の解析技術確立を主たるテーマとし、テトラマー、ペンタマーとデキストラマーの比較試験を行った。その結果、マルチマー1分子毎の蛍光強度が異なるため検出感度は異なるものの、それに伴って非特異的蛍光もみられることから用途ごとの選択が望ましいことを明らかにした。

宮村らは、造血幹細胞移植を受けた MRD 陽性 Ph+ALL を対象に、移植後早期よりイマチニブを投与する群（予防投与群）と移植後 MRD+になってからイマチニブを投与する群（治療投与群）において、両者の予後について検討した。MRD 陽性 Ph+ALL 患者 34 例中 7 例が移植後にイマチニブが投与され、予防投与群及び治療群は、各々 3 例及び 4 例であった。その結果、予防投与群では 3 年生存率は有意に高かったものの、最終的には両群とも血液学的再発をおこすことが確認された。すなわち移植後のイマチニブ投与は生存期間を延ばすものの、必ずしも治癒をもたらすものではないことから、移植前に MRD を陰性にするのが重要であることが確認された。血清フェリチン値は、鉄過剰のみならず、炎症、腫瘍、肝疾患等の多くの病態で高値を示し、移植後において必ずしも鉄過剰症の指標とはいえない。鉄過剰状態でトランスフェリンの鉄結合能を超えた鉄は、他の血清蛋白質と結合するようになり、Non-transferrin bound iron (NTBI) と称され、組織に有害に働く。この NTBI は鉄過剰症の有用な指標といわれている。本研究では移植後の患者のフェリチンと NTBI を同時に測定したところ、高い相関を認め、移植後においても、血清フェリチン値は鉄過剰症のマーカーとなることを明らかにした。また鉄過剰は移植後長期生存者の肝障害、糖尿病に関与することを明らかにした。

千葉らは、今回の医師主導治験では、非血縁者間移植の場合、血清レベル照合で HLA が完全一致していることが条件とされ、移植適応があるにも関わらず、この条件を満たす非血縁者ドナーが見つからない患者は依然として少なからず存在する。今後はより HLA 合致度の低い非血縁者ドナー

からの移植が検討される必要があると思われた。一方、新たな移植片の開拓も求められることが痛感された。臍帯血造血幹細胞増幅技術開発は、その一端である。我々はこれまでに、免疫不全マウスへの移植実験などにより、臍帯血中の造血幹細胞および未分化造血前駆細胞の試験管内増幅が可能であることを示してきた。この知見に基づいて、筑波大学附属病院内に設置された細胞プロセッシング・ファクトリー (CPF) での臨床試験用 GMP 基準書の作成を行い、製品標準書と製造管理・衛生管理・品質管理の 3 基準書において GMP 関連書式の整備を筑波大学 CPF での使用に適した形式として整備した。

D. 考察

骨髓移植などの造血幹細胞移植では、抗癌剤の投与量を骨髓以外の臓器に重篤な障害の発生する一歩手前の極量まで増量させる、あるいは TBI を併用するなどの、いわゆる骨髓破壊的な移植前治療を行い、それに引き続いて正常な造血幹細胞を経静脈的に輸注する。造血幹細胞はやがて骨髓に定着し、正常な造血機能を再構築する。HLA が完全又はほぼ一致した正常ドナーの幹細胞を用いる同種移植の最大の障害は、患者側の細胞がドナー細胞を攻撃する「移植片拒絶」や、生着したドナー由来細胞が患者側の細胞を攻撃する「GVHD」である。特に再生不良性貧血に対する移植では顕著となる。急性 GVHD の典型例では、白血球の増加がみられる移植後 14~21 日頃に、最初皮疹が出現し、次いで胆汁うっ滞性の肝障害や水様性の下痢が生ずる。GVHD の治療適応は原則として重症度 grade II 以上が対象となるが、種々の臨床的所見を総合的に判断して決定される。再生不良性貧血に対する移植では、シクロホスファミドと全身放射線照射 (TBI) が移植前処置法として広く用いられている。また、免疫抑制作用の強化を目的として、抗胸腺免疫グロブリン (ATG) が移植前治療に併用される。しかしながら、頻回輸血による鉄過剰症に伴う心、肝などの臓器機能障害を持つ症例が多い輸血依存性の再生不良性貧血患者において

は、毒性の強いシクロホスファミドの投与量とTBIの照射量による前処置関連毒性が懸念される。ATGを用いた場合には製品にロット間のばらつきがあることや、T細胞だけを抑制することによって生じるEBウイルス感染によるPTLDのリスクが高くなるのが最大の欠点である。

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

移植片拒絶及びGVHDを確実に抑制することは移植成功の鍵を握る一方で、強力に免疫抑制を行うことによる日和見感染症が懸念される。時に致死的な結果となることから、神田らあるいは宮本らが示したように移植後の確実な感染症対策は重要である。また、中尾らの研究でも示されたように、免疫抑制剤の中には、T及びB細胞のみならずNK細胞の回復に影響を与える可能性がある薬剤があることから、GVL効果と免疫抑制剤の投与量調整については更なる検討を行う必要があると思われる。GVL効果だけでは移植後再発を防ぐことは困難であり、宮村らの研究で示されたようにMRDを移植前に確実に抑えることが重要であると考えられた。また、高上らによる検討は、臨床結果に

対する基礎科学の側面からの根拠として、アレムツズマブのみならず、将来の移植領域における適応症に対して利用することが有用であると考えられる。

本研究は、第I/II相多施設共同医師主導治験として実施されている。免疫抑制治療が無効であった輸血依存性の生不良性貧血患者を対象に、シクロホスファミド(25 mg/kg、4日間)、リン酸フルダラビン(30 mg/m²、6日間)に加えて、アレムツズマブを患者体重あたり0.16あるいは0.2 mg/kgを6日間併用(移植8日前から3日間)した(HLA一致血縁ドナー以外からの移植の場合は全身放射線照射(2Gyを1日)を追加)。本治験の主要評価項目は移植後60日以内の生着不全およびグレードII以上の急性GVHDの発症率である。平成21年3月現在、第I相及びII相全体で15例が登録されている。これまでに1例を除く全例で主要評価項目の要件を満たし、アレムツズマブによる移植片拒絶及びGVHDの抑制効果が示唆されている。また、第II相の実施と並行して、第I相から得られた治験結果に基づく早期承認申請の可能性を相談するため、平成20年8月に医薬品医療機器総合機構と対面助言が実施された。その結果、「第II相部分の成績も重要な位置づけを占めることが予想され、今後得られる試験成績を逐次精査した上で、承認申請について再度検討する」旨の助言を受け、本治験データを更に蓄積するとともに、承認申請に耐えうる質の高いデータを継続して収集するよう努める。また、医師主導治験では、モニタリング、症例報告書の固定あるいは次相への移行が、企業治験と比較して時間を要する傾向にある。これは、あらゆる治験関連業務を自ら治験を実施するものである治験責任医師が行わねばならないことだけではなく、症例報告書で収集されるデータ量の多さがあげられる。したがって、今後移植領域での医師主導治験を実施する場合にあたっては、収集すべきデータを取捨選択し、効率的なデータ収集方法を考慮する必要がある。また、本領域に共通した症例報告書或いはデータベースなどを標準化することによって、試験の効

率化しいては試験期間短縮を図る必要があると考
える。

E. 結論

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

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

- 1) Narimatsu H, Taniguchi S, et al. Chronic
graft-versus-host disease following
umbilical cord blood transplantation:
retrospective survey involving 1072
patients in Japan. Blood. 112:2579-2582,
2008.
- 2) Yazaki M, Taniguchi S, et al. Incidence and
risk factors of early bacterial infections
after unrelated cord blood transplantation.
Biol Blood Marrow Transplant. 15:439-446,
2009.
- 3) Waki F, Masuoka K, Fukuda T, Kanda Y, Nakamae
M, Yakushiji K, Togami K, Nishiwaki K, Ueda
Y, Kawano F, Kasai M, Nagafuji K, Hagihara
M, Hatanaka K, Taniwaki M, Maeda Y,
Shirafuji N, Mori T, Utsunomiya A, Eto T,
Nakagawa H, Murata M, Uchida T, Iida H,

Yakushiji K, Yamashita T, Wake A, Takahashi
S, Takaue Y, Taniguchi S. Feasibility of
Reduced-intensity Cord Blood
Transplantation as Salvage Therapy for
Graft Failure: Results of a Nationwide
Survey of 80 Adult Patients. Biol Blood
Marrow Transplant. 2010.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表 1

患者背景及び移植後の経過

・登録状況:15例

・第I相及び第II相パートの有効性

－ 1例を除き、移植後60日以内に移植片拒絶及びグレードII以上のGVHDは認められていない

用量 (mg/kg)	生着 (好中球数 500以上)	急性GVHD (グレード2以上)	生存 (移植後60日)
0.20	3	0	3
0.16	12 (二次不生着: 1例)	0	11 (死亡: 1例)

Ⅱ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Uchida N, Wake A, Takagi S, Yamamoto H, Kato D, Matsuhashi Y, Matsumura T, Seo S, Matsuno N, Masuoka K, Kusumi E, Yuji K, Miyakoshi S, Matsuzaki M, Yoneyama A, <u>Taniguchi S.</u>	Umbilical cord blood transplantation after reduced-intensity conditioning for elderly patients with hematologic diseases.	Biol Blood Marrow Transplant	14(5)	583-590	2008
Narimatsu H, Miyakoshi S, Yamaguchi T, Kami M, Matsumura T, Yuji K, Murashige N, Kusumi E, Kodama Y, Komatsu T, Sakamaki H, Kouzai Y, Okada M, Osugi Y, Kobayashi R, Inoue M, Takahashi S, Kai S, Kato K, Inoue-Nagamura T, <u>Taniguchi S</u> , Kato S; Japan Cord Blood Bank Network.	Chronic graft-versus-host disease following umbilical cord blood transplantation: retrospective survey involving 1072 patients in Japan.	Blood	112(6)	2579-2582	2008
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, <u>Taniguchi S.</u>	High incidence of haemophagocytic syndrome following umbilical cord blood transplantation for adults.	Br J Haematol	147	543-553	2009
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, <u>Taniguchi S.</u>	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
Yazaki M, Atsuta Y, Kato K, Kato S, <u>Taniguchi S</u> , Takahashi S, Ogawa H, Kouzai Y, Kobayashi T, Inoue M, Kobayashi R, Nagamura-Inoue T, Azuma H, Takanashi M, Kai S, Nakabayashi M, Saito H; Japan Cord Blood Bank Network	Incidence and risk factors of early bacterial infections after unrelated cord blood transplantation	Biol Blood Marrow Transplant	15	439-446	2009

Waki F, Masuoka K, Fukuda T, Kanda Y, Nakamae M, Yakushijin K, Togami K, Nishiwaki K, Ueda Y, Kawano F, Kasai M, Nagafuji K, Hagihara M, Hatanaka K, Taniwaki M, Maeda Y, Shirafuji N, Mori T, Utsunomiya A, Eto T, Nakagawa H, Murata M, Uchida T, Iida H, Yakushiji K, Yamashita T, Wake A, Takahashi S, Takaue Y, <u>Taniguchi S.</u>	Feasibility of Reduced-intensity Cord Blood Transplantation as Salvage Therapy for Graft Failure: Results of a Nationwide Survey of 80 Adult Patients.	Biol Blood Marrow Transplant		1-11	2010
Kako S, <u>Kanda Y</u> , et al.	A decision analysis of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for adult patients with Philadelphia chromosome-negative acute lymphoblastic leukemia in first remission who have an HLA-matched sibling donor.	Leukemia	25	259-265	2010
Nakasone H, <u>Kanda Y</u> , et al.	Association between serum high-molecular-weight adiponectin level and the severity of chronic graft-versus-host disease in allogeneic stem cell transplantation recipients.	Blood	117(12)	3469-3472	2011
Mochizuki K, Sugimori C, Qi Z, Lu X, Takami A, Ishiyama K, Kondo Y, Yamazaki H, Okumura H, <u>Nakao S.</u>	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
Ohata K, Espinoza JL, Lu X, Kondo Y, <u>Nakao S.</u>	Mycophenolic Acid inhibits natural killer cell proliferation and cytotoxic function: a possible disadvantage of including mycophenolate mofetil in the graft-versus-host disease prophylaxis regimen	Biol Blood Marrow Transplant	17	205-213	2011
Saito B, Fukuda T, Yokoyama H, Kurosawa S, Takahashi T, Fuji S, Takahashi N, Tajima K, Kim SW, Mori S, Tanosaki R, <u>Takaue Y</u> , Heike Y.	Impact of T-cell chimerism on clinical outcome in 117 patients who underwent allogeneic stem cell transplantation with a busulfan-containing reduced-intensity conditioning regimen.	Biol Blood Marrow Transplant,	14	1148-1155	2008

Mori Y, <u>Miyamoto T</u> , Nagafuji K, Kamezaki K, Yamamoto A, Saito N, Kato K, Takenaka K, Iwasaki H, Harada N, Abe Y, Teshima T, Akashi K.	High incidence of HHV6-associated encephalitis/myelitis following a second unrelated cord blood transplantation.	Biol Blood Marrow Transplant	16	1596-1602	2010
Nishiwaki S, Inamoto Y, Sakamaki H, Kurokawa M, Iida H, Ogawa H, Fukuda T, Ozawa Y, Kobayashi N, Kasai M, Mori T, Iwato K, Yoshida T, Onizuka M, Kawa K, Morishima Y, Suzuki R, Atsuta Y, <u>Miyamura K</u> .	Allogeneic stem cell transplantation for adult Philadelphia chromosome-negative acute lymphocytic leukemia: comparable survival rates but different risk factors between related and unrelated transplantation in first complete remission.	Blood	116	4368-4375	2010
Sakata-Yanagimoto, M, Sakai T, Miyake Y, Saito TI, Maruyama H, Morishita Y, Nakagami-Yamaguchi E, Kumano K, Yagita H, Fukayama M, Ogawa S, Kurokawa M, Yasutomo K, <u>Chiba S</u> .	Notch2 signaling is required for proper mast cell distribution and mucosal immunity in the intestine.	Blood	117 (1)	128-134	2011

Ⅲ. 研究成果の刊行物・別刷

Umbilical Cord Blood Transplantation after Reduced-Intensity Conditioning for Elderly Patients with Hematologic Diseases

Naoyuki Uchida, Atsushi Wake, Shinsuke Takagi, Hisashi Yamamoto, Daisuke Kato, Yoshiko Matsubashi, Tomoko Matsumura, Sachiko Seo, Naofumi Matsuno, Kazuhiro Masuoka, Eiji Kusumi, Koichiro Yuji, Shigesaburo Miyakoshi, Michio Matsuzaki, Akiko Yoneyama, Shuichi Taniguchi

Department of Hematology, Toranomon Hospital, Tokyo, Japan

Correspondence and reprint requests: Naoyuki Uchida, MD, 2-2-2 Toranomon, Minato-Ku, Tokyo 105-8470, Japan (e-mail: nuchida@toranomon.gr.jp).

Received October 13, 2007; accepted March 11, 2008

ABSTRACT

Although allogeneic hematopoietic stem cell transplantation is a potentially curative approach for advanced hematologic diseases, its application to elderly people is limited because of their comorbid physical conditions and lower chance of finding suitable related donors. Umbilical cord blood transplantation with reduced-intensity pretransplant conditioning (RI-UCBT) is 1 way to avoid these obstacles. We analyzed elderly patients aged 55 years and older with hematologic diseases who underwent RI-UCBT at our institute to assess feasibility and effectiveness of this treatment approach. Among the 70 patients included, 50 died, 74% of them from non-relapse causes. Infection was the primary cause of death. Estimated overall survival and progression-free survival at 2 years were both 23%. In multivariate analyses, standard-risk diseases, age younger than 61 years, grade 0-II acute graft-versus-host disease, and the absence of preengraftment immune reaction were significantly associated with better overall survival. RI-UCBT is a potentially curative and applicable approach for elderly patients. Higher mortality, especially from nonrelapse causes, is the biggest problem to be solved to increase the feasibility of this approach.

© 2008 American Society for Blood and Marrow Transplantation

KEY WORDS

Cord blood transplantation • Reduced intensity • Elderly patients • Hematologic diseases

INTRODUCTION

Although morbidity associated with hematologic malignant diseases in elderly patients is higher than that in younger patients [1], elderly patients are less likely to be candidates for allogeneic stem cell transplantation, because of the fact that they are more likely to have comorbid organ conditions, either clinically or subclinically, which result in a higher rate of procedure-related mortality [2], and that they are less likely to have HLA-matched related donors available, as siblings also tend to be elderly.

The development of reduced-intensity conditioning (RIC) for transplants, which results in less toxicity and depends largely on graft-versus-tumor effects rather than high-dose therapy to eliminate malignant cells, has been shown to allow elderly patients to undergo allogeneic transplants [3-5]. The use of umbilical

cord blood transplantation (UCBT) has been increasing because of the potential advantage of rapid availability and the lower risk of graft-versus-host disease (GVHD), thus permitting less stringent HLA matching [6,7]. The outcome of UCBT has been reported to be similar to unrelated bone marrow in the myeloablative setting [8-10]. UCBT with reduced-intensity pretransplant conditioning (RI-UCBT) for adults, mostly younger than 55 years old, has been increasingly reported, and has been shown to be applicable even in patients with a relatively low number of nucleated cells for their body weight [11-16]. However, little information has been available on whether elderly patients can tolerate slower engraftment, more infectious complications [17], and the unique preengraftment immune reaction (PIR) associated with UCBT [18,19]. PIR has been described by us and others [18,19], characterized

by the symptoms induced possibly by hypercytokinemia, which sometimes cause severe organ damage and fatal outcome. We therefore retrospectively evaluated the use of the RI-UCBT in patients aged 55 and older by analyzing engraftment, nonrelapse mortality (NRM), GVHD, progression-free (PFS), and overall survival (OS) to address the feasibility and effectiveness of this method in older patients.

PATIENTS, MATERIALS, AND METHODS

Patients

This study included patients aged 55 and older who underwent RI-UCBT at our institute from July 18, 2002 through October 28, 2005. Patients were eligible for this study if they had any hematologic malignancies at high risk for relapse or severe aplastic anemia (AA) refractory to standard immunosuppressive therapy, as well as if they were unable to find suitable related or unrelated bone marrow (BM)/peripheral blood (PB) donors within reasonable time periods relative to their disease conditions. Patients with acute leukemia could be at first remission but at high risk for relapse because of adverse cytogenetic abnormalities, have a prior hematologic disorder, or be at any status beyond first remission. Patients with myelodysplastic syndrome (MDS) had to be refractory anemia with excess of blasts or chronic myelomonocytic leukemia, or have refractory anemia with transfusion dependency and/or severe neutropenia. Patients with chronic myeloid leukemia (CML) had to be beyond the first chronic phase. Lymphoma patients had to be beyond the first remission except those with acute or lymphoma type adult T cell leukemia. Patients who had end-stage organ dysfunction (DLco <30% predicted or LVEF <35%), or active serious infection at the time of transplantation were not eligible. All patients gave written informed consent, and the study was approved by the appropriate institutional review boards.

Donor Selection

UCB units were obtained from Japanese Cord Blood Bank Network. HLA-A and HLA-B antigens were identified by serologic typing. HLA-DRB1 alleles were determined by high-resolution molecular typing using polymerase chain reaction (PCR) sequence-specific primers. UCB grafts had at least 4 of 6 HLA-A, B antigens, and DRB1 alleles that were matched to the recipient and had a cryopreserved cell dose of at least 1.8×10^7 nucleated cells per kg of recipient body weight. The median total nucleated cell number and median CD34⁺ cell number were 2.8 (range: 1.8 – 5.2) $\times 10^7$ /kg and 0.84 (0.11 – 3.28) $\times 10^5$ /kg, respectively.

Patient Characteristics

Seventy consecutive patients were included in this study. Their characteristics are shown in Table 1.

Table 1. Patient and Donor Umbilical Cord Blood Characteristics

Characteristic	No. (%) of Patients
Sex	
Male	45 (64)
Female	25 (36)
Age (years)	
Median (range)	61 (55-79)
Age distribution (years)	
55 to 59	31 (44)
60 to 64	16 (23)
65 to 69	17 (24)
At least 70	6 (9)
Diagnosis	
AML	28 (40)
MDS	3 (4)
CML	4 (6)
ALL	11 (16)
NHL	8 (11)
ATL	12 (17)
MM	1 (1)
PCL	1 (1)
AA	2 (3)
HCT-CI	
0	24 (34)
1	25 (36)
2	11 (16)
3 or greater	10 (14)
History of prior chemotherapy	
Yes	59 (84)
No	11 (16)
History of prior documented infections	
Yes	15 (21)
No	55 (79)
Disease status	
Standard risk	15 (21)
High risk	55 (79)
Conditioning regimen	
Flu/Mel/TBI	65 (93)
Flu/Bu/TBI	4 (6)
Others	1 (1)
GVHD prophylaxis	
Cyclosporine A alone	37 (53)
Tacrolimus alone	33 (47)
HLA disparity to UCB	
5/6	9 (13)
4/6	61 (87)
Sex mismatch to UCB	
Yes	51 (73)
No	19 (27)

AML indicates acute myeloid leukemia; MDS, myelodysplastic syndrome; CML, chronic myeloid leukemia; ALL, acute lymphoblastic leukemia; NHL, non-Hodgkin lymphoma; ATL, adult T cell leukemia; MM, multiple myeloma; PCL, plasma cell leukemia; AA, aplastic anemia; Flu, fludarabine; Mel, melphalan; TBI, total body irradiation; Bu, busulfan; UCB, umbilical cord blood; HCT-CI, hematopoietic cell transplantation-specific comorbidity index.

Of these 70 patients, 25 were women and 45 were men. Their median age was 61 years (range: 55-79 years). The patients' diagnoses included acute myeloid leukemia (AML; $n = 28$), acute lymphoblastic leukemia (ALL; $n = 11$), MDS ($n = 3$), CML ($n = 4$), non-Hodgkin lymphoma (NHL; $n = 8$), adult T cell

leukemia (n = 12), plasma cell leukemia (n = 1), multiple myeloma (n = 1), and AA (n = 2). Three patients had previous autologous hematopoietic cell transplantation. For disease status, those with hematologic malignancies in first or second complete remission at the time of transplant, those in the chronic phase or accelerated phase of CML, those with refractory anemia of MDS, and those with nonmalignant diseases were defined as being at standard risk (n = 15), whereas those in other situations were defined as being at high risk (n = 55). Patients were assessed for their comorbidity by the previously reported scoring system [20].

Conditioning Regimens and Postgrafting Immunosuppression

Pretransplant conditioning varied, and was determined by each attending physician according to the patient's disease, disease status, and history of prior therapy. Sixty-five patients underwent conditioning regimens with 125-180 mg/m² of fludarabine (Flu; 25 mg/m² for 5 days or 30 mg/m² for 6 days), along with 80 mg/m² of melphalan (Mel; 40 mg/m² for 2 days) and total-body irradiation (TBI) at a total dose of 4 Gy for 63 and 2 Gy for 2. Four patients in relatively poor performance status were conditioned with busulfan to avoid severe gastrointestinal tract toxicity induced by the use of Mel. One patient underwent a conditioning regimen with thiopeta (5 mg/kg for 2 days) in addition to 125 mg/m² of Flu and 80 mg/m² of Mel, because of the urgent transplant schedule that did not allow access to TBI. Valproate sodium (300 mg/day) was administered to all patients who received Bu. Immunosuppressive therapy with cyclosporine A (CsA, 3 mg/kg continuous infusion, aiming for a serum concentration of 250-400 ng/mL) or tacrolimus (Tac, 0.03 mg/kg continuous infusion, aiming for 12-17 ng/mL) was started on day -1. CsA was used for patients in the early phase of this study, and, based on our early experience of high early mortality related to PIR in the patients with CsA prophylaxis, Tac was subsequently used to substitute for CsA.

Supportive Care

Prophylactic antibiotics, including fluorquinolone, fluconazole, and acyclovir, were used routinely. Patients received ganciclovir or foscarnet for any sign of a cytomegalovirus reactivation, such as isolation of CMV or detection of viral proteins (pp65) or nucleic acid in any body fluid or tissue specimen. *Pneumocystis jiroveci* prophylaxis included trimethoprim-sulfamethoxazole as first-line therapy.

Definition of Engraftment, Preengraftment Immune Reaction, and End Points

OS and PFS were computed from the date of transplantation. Engraftment was defined as absolute neutrophil count $>0.5 \times 10^9/L$ for 3 consecutive

days. Chimerism was assessed using fluorescent in situ hybridization in sex-mismatched donor-recipient pairs. In sex-mismatched pairs, PCR for variable number of tandem repeats was used with donor cells detected at a sensitivity of 10%. Whole blood or BM cells were assessed at the time of granulocyte engraftment. PIR was characterized by the presence of at least 2 of the following symptoms with no direct consequences of infection or adverse effects of medication 6 or more days before engraftment, as described previously [12,18]; a high fever ($>38.5^\circ C$), skin eruptions, diarrhea, jaundice (serum levels of total bilirubin >2.0 mg/dL), or body weight gain $>10\%$ of baseline. NRM was defined as death in the absence of disease progression. Deaths occurring after disease progression were categorized as relapse regardless of the cause of death. Infection was considered the cause of death when bacterial, viral, or fungal infection was determined to be the proximate cause of death in patients who had not relapsed. Patients underwent BM aspiration at the time of engraftment or if clinically indicated. Relapse for AML, ALL, CML, or MDS was determined by flow cytometric, morphologic, or cytogenetic evidence of malignant or dysplastic cells with clonal markers similar to those observed before transplantation. Relapse for NHL was defined as progressive adenopathy or BM involvement. Acute and chronic GVHD (aGVHD, cGVHD) were defined and graded by standard criteria [21]. The following factors were considered potential predictors of outcomes: recipient's age, disease risk (standard versus high), ECOG performance status, HCT-specific comorbidity index score, history of prior chemotherapy (all cytoreductive chemotherapy excluding hydroxyurea and imatinib mesylate), history of prior documented infections (infectious episode with positive culture results for bacterial or yeast infections, and at least probable diagnosis of mold infection by EORTC/NIH-MSG criteria [22]), number of total nucleated cord blood cells, number of CD34⁺ cells, HLA disparity, conditioning regimen, GVHD prophylaxis, grade of aGVHD, and the presence or absence of PIR.

Statistical Methods

OS was calculated from the day of transplantation until death from any cause or last follow-up. Disease-free survival (DFS) was calculated from the day of transplantation until relapse or death from any cause or last follow-up. The probabilities of survival and DFS were estimated and plotted using the Kaplan-Meier method [23]. Relapse and NRM rates were estimated using cumulative incidence analysis and were considered competing risks [24]. Similarly, in the analysis of GVHD rates, death because of other causes or relapse leading to early withdrawal of immune suppression were considered competing risks. The effect

of various patient and disease categoric variables on survival probabilities was studied with the log-rank test. A Cox proportional hazard model with limited variables because of small sample was used to determine the significance of multiple variables in determining these outcomes. Cumulative incidence curves were drawn using Gray's method [25].

RESULTS

Engraftment

Ten of the 70 patients were not evaluable for donor engraftment because of early death (before 28 days posttransplant) from disease progression ($n = 1$), infection ($n = 7$), and complications of central nervous system ($n = 2$). Of the 60 evaluable patients, the cumulative incidence of primary donor engraftment was 92% at a median of 18 days after transplantation (range: 11–53 days). Platelet recovery $>20 \times 10^9/L$ was observed in 38 patients (63%), at a median of 35 days (range: 25–95 days). All patients required transfusions of platelets and red blood cells. Recovery of neutrophil counts $>0.5 \times 10^9/L$ did not occur in 5 patients who survived beyond 28 days posttransplant; these patients were classified as primary graft failures. Two of these patients received secondary RI-UCBT and died of infection. The remaining 3 patients died of infection. All engrafting patients without BM relapse were complete donor chimeras beyond 1 month after transplantation (data not shown). Remarkably, all 3 evaluated patients of 10 who died before day 28 showed complete donor chimerism (94%, 100%, and 94.6% on days 12, 15, and 20 posttransplant, respectively).

PIR and GVHD

Forty-three patients experienced clinical symptoms defined as PIR, as described previously [12,18]. Patients who received Tac as GVHD prophylaxis tended to have a lower chance of experiencing PIR compared with those who received CsA, although differences were not statistically significant (53% versus 72%, respectively; $P = .1$).

Among 54 evaluable patients, 33 patients (61%) developed aGVHD of grade II or higher, including 23 patients (43%) who developed that of grade III or IV. Of the 30 patients who survived longer than 100 days posttransplant, 12 (40%) developed cGVHD, including 7 with limited and 5 with extensive form (Table 2).

Survival, Disease Progression, and NRM

At the time of analysis, 20 of 70 patients survived a median of 512 days (range: 103–1213 days) after transplantation. The Kaplan-Meier estimates of OS and PFS at 2 years were both 23% (Figure 1). The median OS time was 114 days (range: 7–1213 days), and the median PFS time was 92 days (range: 7–1213 days).

Table 2. The Incidence and Severity of Graft-versus-Host Disease (GVHD)

Patients (n = 54)	
	No. (%)
Acute GVHD	45 (83)
Grade II-IV	33 (61)
Grade III-IV	23 (43)
Patients (n = 30)	
	No. (%)
Chronic GVHD	12 (40)
Limited	7 (23)
Extensive	5 (17)

Eighteen patients (26%) showed progression of the underlying disease at a median of 134 days (range: 13–785 days) after transplantation, and 15 of these patients died of their disease.

Thirty-seven patients died of nonrelapse causes (Table 3). Nineteen of them were from infections, which was the leading cause of NRM. Among 33 deaths observed before day 100 posttransplant, 30 were from nonrelapse causes and 3 from disease progression. The cumulative incidences curves of NRM and disease progression are shown in Figure 2.

Factors Contributing to OS and NRM

In univariate analyses, survival was associated with recipient's age ($P = .01$), disease risk ($P < .01$), aGVHD ($P < .01$), and PIR ($P < .01$), with favorable outcomes in younger recipients (<61 years), those with standard risk, those with lower grade aGVHD (grade 0-II), and those without PIR (Figure 3A-D). Potential risk factors such as ECOG performance status, HCT-specific comorbidity index score, history of prior documented infection, history of prior chemotherapy, HLA disparity,

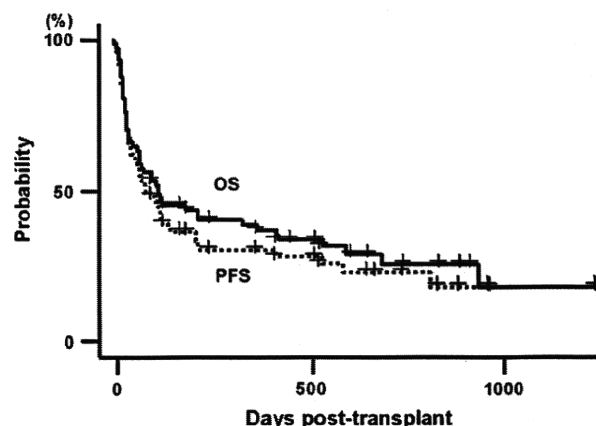


Figure 1. OS and PFS estimates for 70 patients with hematologic diseases treated with RI-UCBT.