

造血幹細胞移植後のステロイド抵抗性GVHDに対する  
骨髄間葉系細胞による新規治療法の安全性と有効性に  
関する臨床第1相試験

造血幹細胞移植における造血細胞生着促進を目的とし  
た間葉系幹細胞による新規治療法の安全性と有効性に  
関する臨床研究

研究代表者

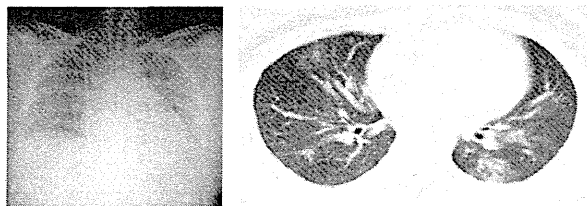
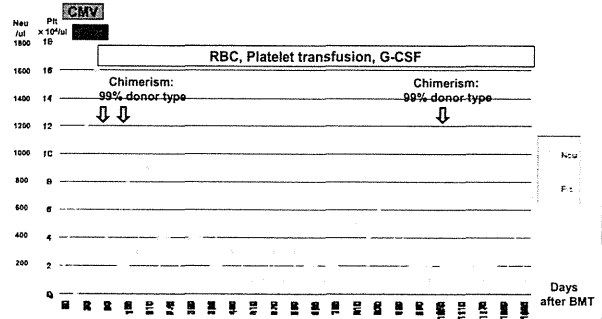
名古屋大学大学院医学系研究科小児科学 小島勢二

研究事務局

名古屋大学大学院医学系研究科小児科学講座

### Clinical course

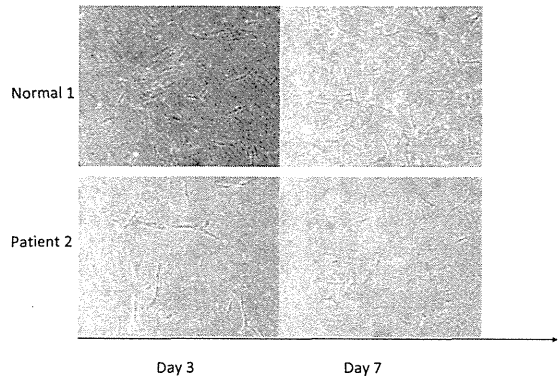
11yF, RCC, Donor: matched unrelated,  
Conditioning regimen: FLU+CY+Campath+TBI(3Gy),  
GVHD prophylaxis: FK506, Cell dose:  $1.5 \times 10^8$ /kg, aGVHD: grade 1,  
CMV antigenemia (+), EBV-LPD (+), Onset of aplasia after BMT: day110



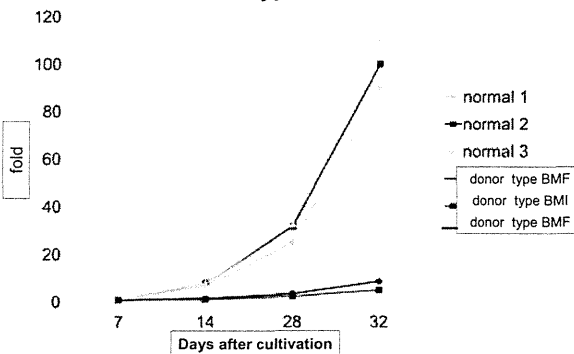
Day 1360

WBC1200、Neutro 0

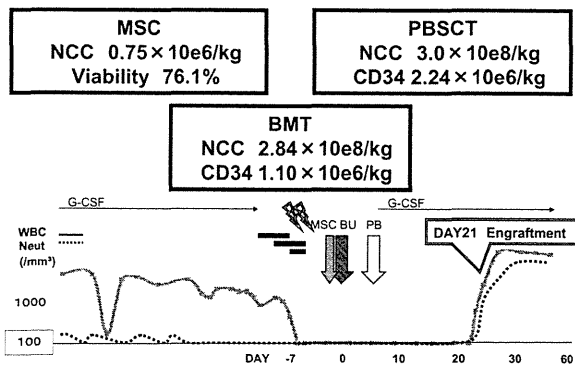
### Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell in SAA Patients with Donor Type Bone Marrow Failure



### Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell in SAA Patients with Donor Type Bone Marrow Failure



### (2) Co-infusion of MSC with bone marrow for donor type bone marrow dysfunction



### まとめ

ステロイドおよびInfliximab, Basilliximab抵抗性腸管GVHDに対し、MSCの投与後に明らかな下痢の改善を認め再燃もなかった。また投与に伴う重篤な急性副作用を認めなかった。本症例では、MSC投与後にCMV感染、EBV-DNAの上昇が見られた。

移植後ドナータイプ骨髄不全症の患者に対して、BMとMSCの同時輸注療法は安全に施行でき、99%ドナーキメラの生着が得られた。

### Acknowledgments

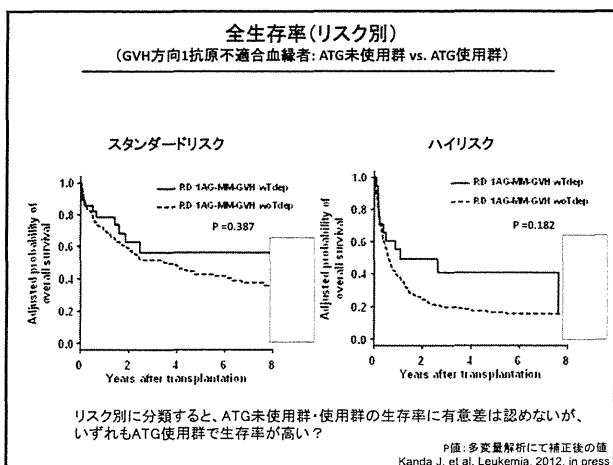
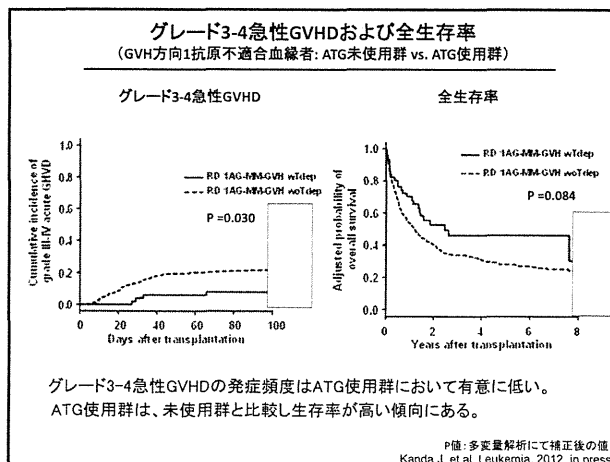
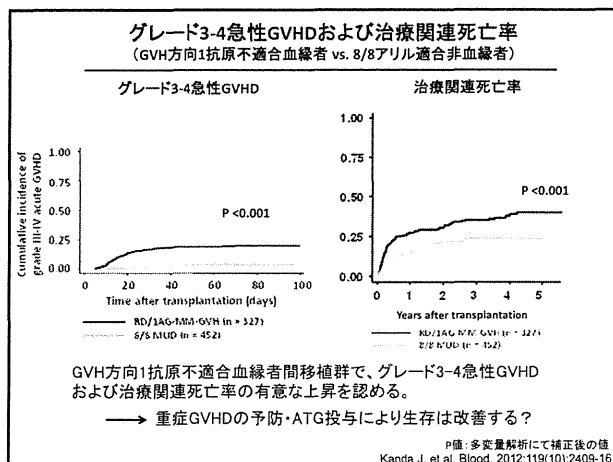
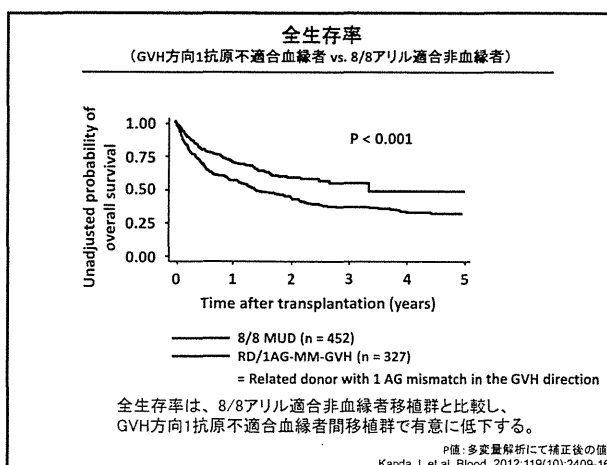
Dept. Pediatrics  
Nagoya University  
Graduate School of Medicine  
Hematology study group  
Seiji Kojima  
Asahito Hama  
Hideki Muramatsu  
Sayoko Doisaki  
Hirotohi Sakaguchi  
Atsushi Narita  
Nozomu Kawashima

Nagoya Univ. Hospital  
Cell Processing Center  
Tomoki Naoe  
Masaaki Mizuno  
Satoshi Suzuki

平成24年度 第2回 造血幹細胞移植 合同研究会  
 @国立がん研究センター 国際研究交流会館3階(国際会議室)(2013年1月13日~14日)  
 免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業 神田研  
 「HLA不適合血縁者間移植の安全性および有効性向上のための包括的研究」

**GVHD予防法に抗ヒト胸腺細胞免疫グロブリンを用いた  
 GVH方向HLA-抗原不適合血縁者からの  
 造血幹細胞移植療法の多施設共同第II相試験  
 ~日本造血細胞移植学会主導の臨床研究~**

自治医科大学附属  
 さいたま医療センター 血液科  
 諫田 淳也



**本研究の目的**

GVHDの発症頻度低下を目的としてGVHD予防法にATGを用いた、GVH方向HLA-抗原不適合血縁者からの造血幹細胞移植療法の有効性を多施設共同第II相試験により検討する。

### 選択基準 (1)

- ❖ AML, ALL: 病期は問わない。  
ただし、骨髄・末梢血中の芽球<50%
- ❖ ATL: 病期は問わない。  
ただし、骨髄・末梢血中の腫瘍細胞<50%
- ❖ CML: 第二慢性期以降の慢性期、移行期、急性転化期、  
あるいは2種類のTKIにFailureの症例  
ただし、骨髄・末梢血中の芽球<50%
- ❖ MDS: IPSS; intermediate-II/high, WPSS; high/very high  
または寛解後の再発症例
- ❖ ML 低悪性度: 化学療法抵抗性、自家移植後の再発  
中悪性度: 部分寛解期、第二寛解期以降の完全寛解期  
高悪性度: 部分寛解期、完全寛解期

### 選択基準 (2)

- ❖ 16歳以上65歳以下
- ❖ HLA-A, -B, -DR抗原適合の血縁者が存在しない
- ❖ 骨髄/バンクにHLA-A, -B, -C, -DRB1 8/8座適合のドナー候補  
がない、もしくは病状より骨髄/バンクからの骨髄・末梢血  
幹細胞提供までの期間の移植実施の延期が困難である
- ❖ GVH方向HLA-A, -B, -DR一抗原不適合の血縁者が存在する
- ❖ ドナーの年齢が16歳以上65歳以下
- ❖ PSがECOGの基準で0、1または2
- ❖ 心臓、肺、肝臓、腎臓に重篤な臓器障害がない

### 除外基準

- ❖ ドナー特異的HLA抗体が陽性である
- ❖ HBs抗原、HIV抗体が陽性である
- ❖ コントロール不良な精神症状を有し、試験への参加  
が困難と判断される
- ❖ 妊婦、授乳婦又は妊娠している可能性がある女性
- ❖ 活動性の重複癌の現有
- ❖ コントロール不良な活動性の感染症の現有
- ❖ ATGに対する重篤なアレルギーの既往

### 移植源

- ❖ GVH方向HLA-A, -B, -DR一抗原不適合の血縁者  
(アリル不適合やC抗原不適合の有無は問わない。)
- ❖ 移植する幹細胞は骨髄、末梢血幹細胞のいずれでも  
可とする。ただし体外ドナーT細胞除去は認めない。

### GVHD予防法

Tac+MTX+サイモグロブリン

- 1) Tac day-1～; Tac目標血中濃度 12-15 ng/ml
- 2) MTX 10mg/m<sup>2</sup> day1, 7 mg/m<sup>2</sup> day3, 6  
非感染性発熱を認める場合はday11 MTX 7 mg/m<sup>2</sup>の投与可
- 3) サイモグロブリン 1.25mg/kg/day day-4, -3

### 移植前処置

移植前処置は、下記から選択する。

ただし個々の抗癌剤・全身放射線照射の投与量は、患者の年齢や全身状態、疾患の種類により異なるため各施設の方針に委ねる。

A 骨髄破壊的前処置

- (a) TBI (12Gy) + CPA (120 mg/kg) ± Ara-C (2-12g/m<sup>2</sup>)
- (b) ivBU (12.8 mg/kg) + CPA (120 mg/kg)

B 緩和的前処置

- (a) FLU (120-180mg/m<sup>2</sup>) + ivBU (6.4-12.8mg/kg) ± TBI (2-4 Gy)
- (b) FLU (120-180mg/m<sup>2</sup>) + MEL (80-140 mg/m<sup>2</sup>) ± TBI (2-4 Gy)

### PTLDの評価

day 30±3からday 100±3まで、週1回、血漿中EBウイルスDNAをPCR法で定量する。

検体は随時SRLにて測定する。(検査費用はJSHCT臨床研究委員会が負担)

PTLDは、血漿中EBウイルスDNAの上昇と疑わしい組織の生検による病理学的診断によって確定する。治療は各施設の方針に従う。

### 評価項目

主要評価項目: 移植1年後の治療成功率  
移植後1年以内に以下のいずれにも該当しない場合に治療の成功とみなす。

- (a) 死亡
- (b) 再発
- (c) グレード3以上の急性GVHDの発症
- (d) NIH 基準による重度の慢性GVHDの発症

症例数 39症例

### 今後の予定

日本造血細胞移植学会主導の臨床研究

✓ プロトコル作成



✓ JSHCT臨床研究委員会の  
プロトコルレビュー



データセンター(C-SHOT)の  
プロトコルレビュー (進行中)



**第 1 日目**：平成 25 年 1 月 13 日（日）午後

平成 25 年 1 月 13 日（日）

15：30～16：00 菊田班

「造血細胞移植における肝中心静脈閉塞症（VOD）に対する本邦未承認薬 defibrotide の国内導入のための研究：第Ⅰ相および第Ⅱ相試験（医師主導治験）」厚生労働科学研究 医療技術実用化総合研究事業（H24-被災地域-一般-006（復興））

研究代表者 菊田 敦

1. 造血細胞移植における肝中心静脈閉塞症（VOD）に対する本邦未承認薬 defibrotide の国内導入のための研究：第Ⅰ相および第Ⅱ相試験（医師主導治験）

菊田 敦、小川千登世（福島県立医科大学 臨床腫瘍センター小児腫瘍部門）

平成24年度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)

造血細胞移植における肝中心静脈閉塞症(VOD)に対する本邦未承認薬defibrotideの国内導入のための研究:第I相および第II相試験(医師主導治験)  
(H24-被災地域一般-006(復興))

公立大学法人福島県立医科大学附属病院  
臨床腫瘍センター小児腫瘍部門  
菊田 敦、小川 千登世(事務局)

1

## Defibrotide薬剤概要

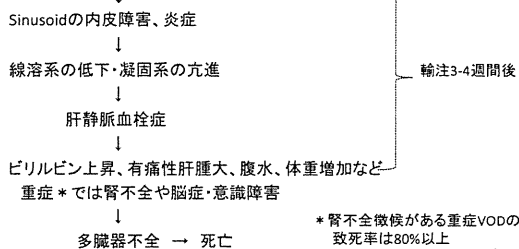
- 造血幹細胞移植時の骨髄破壊の前処置などに関連する合併症である肝VODの唯一の治療・予防薬
- 豚の小腸組織から抽出し、加熱処理にて生成したポリデオキシリボヌクレオチド
- 平均長は50mer、平均分子量は17±3kDaで、40%以上が12kDa以上の分子量である。
- 作用機序:内皮細胞保護作用、線溶系亢進作用、血栓形成阻害作用、抗炎症作用、抗凝血作用、抗接着作用など。
- 全身の抗凝固作用を亢進させないため、出血傾向を助長することなく(PT、aPTT、VWf、VIII、Xa因子への影響なし)、VOD症状を改善する。
- 世界的にはcompassionate useで標準的に使用されており、EMA、FDAでオーファン使用、現在EMA申請中、FDA申請予定。

2

## VOD:Veno-occlusive disease

肝臓の類洞静脈(Sinusoid)の閉塞性疾患であることから  
Sinusoidal obstructive syndrome(SOS)とも呼ばれる

造血細胞移植時の骨髄破壊の化学療法(大量化学療法)  
高用量の全身放射線照射、GO治療後の前処置(大量化学療法)



3

## 日本での現時点の治療

- 標準治療なし
- ヘパリン/低分子ヘパリン投与±tPA投与
- ウルソデオキシコール酸投与
- トロンボモジュリン

いずれも有効性は不明または限定的  
しかし、副作用としての出血リスクは高まる

- DF:出血傾向が増強しないという特徴  
有効性とともに安全性に大きな期待  
欧米では治療・予防ともにOrphan指定されており、  
実質的には標準使用薬剤に近い。

4

## Defibrotideの開発経緯

- 1986年:深部静脈血栓症(DVT)予防および血栓性静脈炎の治療薬としてProciclide®、Noravid®、Dinelas®という製品名でCrinos SpAという製造販売元から伊国で承認を得て使用されていた薬剤。現在は、どの国でも適応症なし。
- 2000年頃:VODに対する治療としての有効性が症例報告以後、世界的に急速に用いられるようになる
- 2001年: Crinos SpAが吸収合併されてGentium SpAとなる
- 2003年:米国医薬品食品局(FDA)で治療についてオーファン指定
- 2004年:欧州医薬品庁(EMA)で治療と予防の両方でオーファン指定
- 2007年: FDAで予防についてもオーファン指定
- 2010年:日本造血細胞移植学会より「医療上の必要性の高い未承認薬・適応外薬検討会議」へ申請
- 2011年5月: EMAに承認申請、2012年12月に最終申請
- 2013年中頃: FDAに承認申請提出予定

5

## 本薬剤の有効性: 予防投与

Defibrotide for prophylaxis of hepatic VOD in pediatric HSCT:  
an open-label, phase 3, randomized controlled trial

Corbacioglu S. et.al. Lancet,379: 1301-9, 2012

対象:VODリスクを持つ18歳未満の造血細胞移植症例(n=356)

予防投与量:25mg/kg/day(1回6.25mg/kg, 2h div, 1日4回投与)  
予防投与期間:前処置開始日から移植後30日

主要評価項目:30日までのVOD発症割合  
副次評価項目:aGVHD予防、100日での生存

### 30日までのVOD発症:

	Defibrotide group	Control group	Difference in risk	p value
VOD diagnosed by day 30 exclusion of hepatic sinusoids	22 (6%) (12/9)	35 (9%) (20/9)	-12.5%	0.042
Competing-risk analysis*	23% (5/13)	29% (15/27)	-6.2%	0.042
Kaplan-Meier analysis	23% (5/13)	29% (15/27)	-6.2%	0.0507
VOD diagnosed by day 30 open for risk of hepatic sinusoids	18 (5%) (12/9)	34 (9%) (20/9)	-9.2%	0.015
Competing-risk analysis*	21% (7/27)	28% (15/27)	-7.2%	0.025
Kaplan-Meier analysis	21% (7/27)	28% (15/27)	-7.2%	0.025
Median time to diagnosis, days	27 (95% CI 20-30)	34 (95% CI 28-40)	-7.4%	0.02
VOD not diagnosed by day 30 exclusion of hepatic sinusoids	17 (5%) (12/9)	16 (4%) (12/9)	+3.4%	0.81
DF prophylaxis with or without VOD frequency reduced	15 (4%) (12/9)	25 (6%) (18/9)	-1.6%	0.56
DF prophylaxis with or without VOD frequency reduced	15 (4%) (12/9)	25 (6%) (18/9)	-1.6%	0.56

6



### 本薬剤の安全性： 予防投与

Corbacioglu S. et.al.  
Lancet,379: 1301-9, 2012

対象: VODリスクを持つ18歳未満のHSCT症例  
予防投与量: 25mg/kg/day

**有害事象:**  
全てのグレードの出血;  
予防群: 22%, コントロール群: 21%

**致死の有害事象(新生物等)**  
予防群: 7%, コントロール群: 8%

**致死の有害事象(感染症等)**  
予防群: 3%, コントロール群: 6%

上記、いずれも有意差なし

耐容性は良好で、有害事象、重篤な有害事象、投薬中止に至るようなイベントの発生は両群で同様であった。

	Defibrotide group (n=177)	Control group (n=174)
<b>Blood and lymphatic system disorders</b>		
Coagulopathy	0	1 (2%)
<b>Gastrointestinal disorders</b>		
Gastrointestinal hemorrhage	2 (1%)	3 (2%)
Abdominal pain	1 (2%)	0
Hemorrhagic diathesis	1 (2%)	0
Maculopathy	3 (2%)	0
Mouth hemorrhage	3 (2%)	0
Nausea	1 (2%)	0
Upper gastrointestinal hemorrhage	0	1 (2%)
Stomatitis	1 (2%)	0
<b>Investigations</b>		
Prothrombin time/activated partial thromboplastin time	6	2 (2%)
Prothrombin time	3 (2%)	1 (2%)
<b>Respiratory, thoracic, and mediastinal disorders</b>		
Epididymitis	2 (1%)	1 (2%)
Pneumothorax	1 (2%)	1 (2%)
Exacerbated pneumothorax	0	1 (2%)
<b>Vascular disorders</b>		
Hemorrhage	1 (2%)	2 (2%)
Mucosal atrophy	0	1 (2%)

Data are the related adverse events are those identified by the investigator as possibly likely, or certainly related to study drug. Adverse events unrelated to the drug or of uncertain etiology are not included in this table.

Table 3. Drug-related adverse events in patients included in the safety analysis

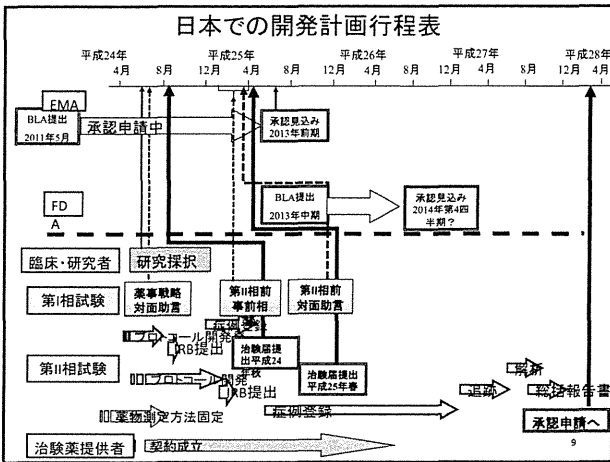
### 本薬剤の有効性・毒性： 治療投与

Defibrotide in the Treatment of Severe Hepatic VOD with Multi-Organ Failure Following SCT: Results of a Phase 3 Study Utilizing a Historical Control.  
Richardson P. et.al. Blood,114: 654, 2009

**試験デザイン**  
対象: 成人および小児の造血細胞移植症例(DF;102例)  
21日目までにBaltimore criteriaを満たさかつ28日目までの腎/呼吸不全肝または消化管のaGVHD、出血傾向のある症例は除外  
対照はヒストリカルコントロール(HC;32例)  
主要評価項目: 100日でのVOD完治率  
副次評価項目: 100日での死亡率  
投与量: 6.25mg/kg x 4/day

**結果**  
完治: 全体 DF群: 24% (HC群: 9%) p=0.015  
小児 DF群: 36% (HC群: 7%) p=0.04  
自家移植 DF群: 75% (HC群: 0%) p=0.005

死亡率: DF群: 62% (HC群: 75%) p=0.051  
出血: DF群: 65% (HC群: 69%) 有意差なし



### 日本での開発計画

- オーファン指定による薬事承認を目指す。
- ICH-E5によるFDA承認申請パッケージを利用
- 日本人における薬物動態と安全性確認
- 日本人における一定精度の有効性確認

ブリッジング試験 ?

- PMDA事前相談を2回終了 (H24年4月11日、5月28日)
- PMDA対面助言 (H24年7月13日)
- 平成25年1月 第I相試験開始 (年度内終了予定)
- 平成25年度 第II相試験開始
- 平成26年度中の登録完了を目指す
- 平成27年度 追跡完了、データ固定、結果解析、承認申請
- 平成28年内の薬事承認を目指す

### 治験概要

#### 第I相試験概要

治験名: 健康成人に対するデフィブロタイド(以下DF)の安全性試験および薬物動態試験

目的  
 主要目的  
 日本の健康成人におけるDFの安全性を確認し、DFの体内薬物動態を評価する

副次目的  
 DFの線溶・凝固系への影響を評価する

評価項目  
 主要評価項目: DFによる2用量(3mg/kg、6.25mg/kg)についての用量制限毒性の出現の有無  
 副次的評価項目:  
 DFによる有害事象プロファイル  
 DFの体内薬物動態  
 体内線溶・凝固系因子

治験のデザイン  
 (1)2用量レベルを設定したプラセボ対照非ランダム化第I相試験  
 (2) DFに関連する薬物動態試験

目標症例数  
 1用量につき実薬8例、プラセボ2例、全20例

治験実施期間  
 平成25年1月～平成25年4月

### 治験概要

#### 第II相試験概要

対象: VOD リスクのある骨髄破壊的前処置を受ける50歳未満の造血細胞移植例 35-40例

試験タイプ: 予防的単群第II相試験 (移植治療中の連続投与実行可能性検討) + 小児薬物動態+治療例調査

主要評価項目: 重篤な出血エピソード  
 副次的評価項目: 30日までのVOD発症割合、100日までのaGVHD発症割合、有害事象、薬剤関連有害事象、180日の生存割合、VOD発症例の生存割合  
 POC: 凝固・線溶系マーカーへの影響

### 現在の実施組織構成と治験薬提供者

研究代表者: 福島県立医科大学: 菊田敦  
分担研究者: 試験統計家(吉村健一)、薬物動態専門家(木村利美)、臨床薬理専門かつ健康成人第I相専門家(梅村和夫)、薬事承認審査経験者(PMDA出向者: 芝崎康宏、渡邊協孝)、事務局(福島県立医科大学: 小川千登世)および第II相試験参加施設治験責任医師。  
研究協力者: 薬師神公和、佐野秀樹、Kenneth Nollet

モニタリング、データマネージメント、統計解析、監査業務については委託。

第I相試験: 浜松医科大学(梅村和夫)にて実施  
第II相参加施設: 国立がん研究センター中央病院(福田隆浩、田中千賀)  
虎の門病院(谷口修一)  
国立病院機構名古屋医療センター(堀部敬三)  
神奈川県立こども医療センター(後藤裕明)  
福島県立医科大学(小川千登世、菊田敦)

国内治験薬提供者: リンクヘルスケアジャパン

13

**第1日目**：平成25年1月13日（日）午後

平成25年1月13日（日）

16:00～17:30 宮村班

「非血縁者間同種末梢血幹細胞移植開始におけるドナーおよびレシピエントの安全性と移植成績向上に関する研究」（H23-免疫-一般-014）

研究代表者 宮村 耕一

座長：宮村 耕一

(1) 研究班報告

1. 研究概略とURPBSCTの進行状況（8分）  
宮村 耕一 名古屋第一赤十字病院血液内科
2. 米国でのURPBSCT（12分）  
上田 恭典 倉敷中央病院血液内科
3. URPBSCを利用した養子免疫療法の検討（8分）  
西田 徹也 名古屋大学医学部附属病院 血液内科
4. 血縁造血幹細胞移植ドナー保険の適確基準と運用状況（8分）  
飯田 美奈子、小寺 良尚 愛知医科大学造血細胞移植推進講座

(2) 非血縁者間末梢血幹細胞移植推進に向けて

5. URPBSCTコーディネートの現状（10分）  
宮村 耕一 名古屋第一赤十字病院血液内科
6. 非血縁者間末梢血幹細胞移植ドナー拡大に向けて（10分）  
日野 雅之 大阪市立大学大学院医学研究科血液腫瘍制御学
7. 非血縁者間末梢血幹細胞採取・移植認定施設の拡大へに向けて（10分）  
田中 淳司 北海道大学大学院血液学分野

総合討論（15分）

(課題名) 非血縁者間同種末梢血幹細胞移植開始におけるドナーおよび  
レシピエントの安全性と移植成績向上に関する研究

研究代表者	宮村耕一 名古屋第一赤十字病院造血細胞移植センターセンター長
研究分担者	
岡本真一郎	慶應義塾大学医学部内科学 教授
日野雅之	大阪市立大学大学院医学研究科血液腫瘍制御学 教授
豊嶋 崇徳	北海道大学大学院医学研究科内科学講座血液内科学分野 教授
上田恭典	倉敷中央病院血液内科 主任部長
田中淳司	北海道大学大学院医学研究科内科学講座血液内科学分野 准教授
長藤宏司	久留米大学医学部内科学講座血液・腫瘍内科部門 准教授
高橋聡	東京大学医科学研究所・血液腫瘍学 准教授
西田徹也	名古屋大学医学部附属病院血液内科 助教
飯田美奈子	愛知医科大学医学部造血細胞移植振興講座 助教

## 「非血縁者間同種末梢血幹細胞移植開始におけるドナーおよびレシピエントの安全性と移植成績向上に関する研究」

研究代表者：宮村耕一

非血縁者間末梢血幹細胞移植が開始されてから 2 年経過している。開始当初は骨髄採取経験ドナーに限り、財団中央の少人数の手作業で行っていたこともあり平成 23 年末までは 1 例が行われたただけであった。24 年度半ばでこれらの制限が解除されたものの、その他の条件やコーディネートが複雑なため、12 月末までに施行された移植数は 15 例であった。一方非血縁者間末梢血幹細胞移植ではドナー登録から移植までの期間は非血縁者間骨髄移植と比較して 2 週間短く、これは当初予想されていた自己血貯血のための期間が短縮されたためと考えられる。実際両方とも可能なドナーにおいて、末梢血幹細胞の方が早期に採取が可能であるためこれを選択された症例が 3 例あり、地域によっては末梢血幹細胞の方が数ヶ月早いことがあった。

現在非血縁者間末梢血幹細胞移植は月 1 例あまりと少ないが、これは血縁者間において半数以上が末梢血幹細胞を選択していることと比較して極めて少ない。この要因については、上述した施設が少なく、これに通える範囲に住んでいるという条件で 8 割のドナーがコーディネートからはずれることが一番大きいと考えられる。また最初の 50 例は HLA8/8 アレル適合ドナーという条件もある。実際採取歴、適合地域、HLA、前回コーディネート時に判明した健康問題等により 96%のドナーが BM/PB コーディネートから除外されている。すなわち、最初の段階で、PB が可能なドナーは極めて少ないことになる。さらに採取施設＝移植施設の原則により、非血縁者間末梢血幹細胞移植を希望することができる施設も制限されている。

一方移植施設側からは約 1/3 が骨髄のみのコーディネートを希望している。どちらかと言えば骨髄を併せると 2/3 以上が骨髄を希望していることになる。これは非血縁者間末梢血幹細胞移植において慢性 GVHD を危惧しているものと考えられる。

非血縁者間末梢血幹細胞移植は今後増える高齢者の RIST に必要なソースであり、将来の細胞治療においても必須のものである。また何よりも、海外と比較して長いコーディネートのため、バンクに登録しても移植にいたらない症例が 6 割あり、その期間の大幅な短縮が求められており、この観点からも非血縁者間末梢血幹細胞移植の基盤整備は緊急の課題である。研究班では、非血縁者間末梢血幹細胞移植の開始にあたり、これらの期待と不安を 50 例の前向き観察研究で科学的な事実として確認する作業を行うとともに、今まで作成したドナ

一安全のための基準やマニュアルの評価を行うことが必須の課題である。また適切な GVHD の予防法の確立、海外で広く普及している ECP の導入などを行い、非血縁者間末梢血幹細胞移植の問題点を克服し、さらには品質管理、細胞治療の基盤整備を行う。

開始において様々な問題をかかえる非血縁者間末梢血幹細胞移植を本邦に定着させるために、「移植に用いる造血幹細胞の適切な提供の推進に関する法律」に沿い、またこれを後押しに上記の問題点を合同班会議で議論し、解決していく必要がある。

#### <参考資料>

##### 移植に用いる造血幹細胞の適切な提供の推進に関する法律

###### 第1 基本理念

- ① 造血幹細胞移植を必要とする者がこれを受ける機会が十分に確保されることを旨として、移植に用いる造血幹細胞の提供の促進が図られなければならないこと。
- ② 移植に用いる造血幹細胞の提供は、任意にされたものでなければならないこと。
- ③ 造血幹細胞移植を受ける機会が公平に与えられるよう配慮されなければならないこと。
- ④ 移植に用いる造血幹細胞の安全性が確保されなければならないこと。
- ⑤ 移植に用いる骨髄又は末梢血幹細胞の提供者の健康の保護が図られなければならないこと。
- ⑥ 移植に用いる臍帯血の品質の確保が図られなければならないこと。

# 非血縁ドナーからの末梢血幹細胞採取、CD34 陽性細胞数測定の標準化についての検討ならびに 米国における非血縁者間末梢血幹細胞採取の現状報告

分担研究者 上田恭典 倉敷中央病院 血液内科・血液治療センター 主任部長

## A. 目的

非血縁者間末梢血幹細胞移植 (URPBSCT) を、我が国で定着させるに当たって、遠心分離法による治療的アフェレシスが日常的におこなわれていない我が国においては、ボランティアドナーへの G-CSF 投与下で行われる遠心分離法による体外循環を用いた末梢血幹細胞採取(以下 PBSCH)法の標準化と、必要採取 (=移植) 幹細胞数の根拠となる CD34 陽性細胞数の測定法の標準化は急務である。国際ガイドラインに基づいた CD34 測定法の有効性、ドナー、患者にとって安全かつ必要十分な PBSCH の方法について検討する。また、年間約 4000 件の URPBSCT が行われている米国の現状を視察し、汎用されている事情を理解する。

## B. 方法

### I CD34 陽性細胞数測定法の標準化についての検討

当院で、Spectra Optia を用いて、同種末梢血幹細胞採取 (ドナーより)、もしくは、自家末梢血幹細胞採取 (患者より) を実施するにあたって、

- a. 開始直前の末梢血、b. 実施途中の採取バッグ中の幹細胞浮遊液、c. 終了時の採取バッグ中幹細胞浮遊液について、現在 ISCT (International Society for Cellular Therapy) のガイドラインにおいて標準化されている、Single platform 法 (以下 S 法) で測定が可能で、我が国で入手可能な 3 社の Kit と、当院で従来用いていた 1 社の Dual platform 法 (以下 D 法) で、4 種類の測定を行い、比較検討した。また当院で移植した URPBSC についても検討した。

### II 末梢血幹細胞採取法の標準化

- 1、当院で、新型の遠心分離装置である Spectra Optia を用いて、DonationPBSCH(ドナーより)、もしくは、自家 PBSCH (患者より) を実施する際に、従来当院で実施している、Calcium gluconate 大量投与下の Large volume leukapheresis (以下 LVL) に準じた方法で実施し、特に採取開始時の CD34 陽性細胞数と処理血液量当たりの CD34 陽性細胞の収量との関係、処理血液量と末梢血血小板数の低下との関係、副作用の出現等を中心に検討した。

- 2、URPBSCT が URBMT より多数行われている米国の現状を視察した。

NIH, MDAnderson Cancer Center, Emory University, Gulf Coast Blood Center

NMDP (National Marrow Donor Program) を訪問して米国の実情を調査した。

## C. 結果

### I CD34 陽性細胞数測定法の標準化についての検討

ドナー 7 例、患者 13 例の PBSCH 時の、採取前末梢血、採取途中採取バッグ中、終了時採取バッグ中の検体、URPBSC 2 例について検討した、S 法での検討は、1Kit がプログラム再調整を要したため、今回は 2Kit での検討であるが、平均値より 10%以上測定値がばらついた例は、62 測定中 6 測定 (9.7%) であった。また、当院で使用している D 法での測定値と比較すると、S 法平均値に比して D 法の結果が 10%以上ばらつく例が、62 測定中 36 測定 (58.1%) と高率に認められた。

### II 末梢血幹細胞採取法の標準化

1. 自家 13 例、Donation 7 例 (4 日目採取) の PBSCH について検討した。CD34 陽性細胞数は S 法の結果を用いた。採取前 CD34 陽性細胞濃度と処理血液量当たりの CD34 陽性細胞収量との間には直線的相関が認められ、末梢血中血小板数の低下も処理血液量と直線的相関を認めた。低カ

ルシウム血症で採取を中止した例はなく、Donation 例は全例 1 回で必要量採取可能であった。

2. NMDP を通しての年間移植数は 6600 件。(昨年事業年度) 内訳は BM19%、PB62%、CB29%。過去に通算 20000 件の PBSC の Donation が行われている。各施設からは、採取後のドナー負担が PBSCH で明らかに少ないことが強調された。1000 万人が登録し、US 内に 95 のアフエレスセンターを持つ。G-CSF 投与は、初日は医療施設で行われるが、2、3、4 日については、医療資格のある家族などがドナー宅で投与可。非公式には自己注射も可。途中の WBC の検討はなく、身体症状での減量中止規定あり。特にドナーと採取施設の距離の制限は無い。採取施設には、医療スタッフがいることが必要条件で、15 分程度で救急隊が駆けつけられれば良く、エピペンの常備が必要とのことであった。末梢ルートが確保できない場合、血液センターであれば、医療設備の充実した採取施設に搬送され、専門医によって中心静脈路 (CV) が挿入されアフエレスが実施される。CV 挿入は全体の 9% で、男性の 3%、女性の 19%。血液処理量の上限は患者の体重によって規定され、最大 24L の処理が許容される (ドナー体重 80kg 程度を想定)。1 日での採取も可。規定血液処理量を採取して終了するか、移植施設と相談して目標量を設定し、規定量以内で目標量まで採取も可能。次第に  $Ca^{2+}$  の輸注を行いながら、LVL で 1 日での採取を行う方向に向かっており、現在 3 分の 2 の例が 1 日採取である。NIH は、30L (1 日) までの処理を試験的に許容され、 $CaCl_2$  大量投与下、ほぼ全例 1 日での採取が行われていた。

#### D. 考察

CD34 陽性細胞の測定については、ISCT のガイドラインにおいて、CD34 陽性細胞を内部標準粒子を用いて Flow Cytometer 内で直接測定する S 法による測定が標準化されている。現在我が国では、従来の D 法による測定を行っている施設が多いが、我が国の URPBSCT では採取 CD34 陽性細胞数の下限が規定されているため、CD34 陽性細胞測定の標準化は急務である。今回の検討でも、S 法の安定性が示された。S 法は pipetting 等基本的な技術の習得が必要であるが、今後標準化すべき方向と考えられた。

我が国においては、2010 年の JSHCT の統計では、同種、自家あわせて 2112 例の末梢血幹細胞移植が、合計 224 施設で行われており、1 移植 2 採取がおこなわれたとしても、1 年間のアフエレスは平均 18.9 回にとどまる。治療的へムアフエレスの大部分が膜や吸着器で行われている日本の現状では、アフエレスの標準化も急務である。現在我が国の URPBSCH においては、CD34 陽性細胞数  $2 \times 10^6$ /患者体重 kg が必要最低細胞数、血液処理量 250ml/kg が上限となっている。PBSCH 施行時のドナーのリスクは、主に血小板低下と低カルシウム血症である。当院での成績と米国の状況を勘案すると、使用機器と施設の実施条件によって係数は異なることが予想されるが、開始時の末梢血 CD34 陽性細胞濃度により、血液処理量当たりの CD34 陽性細胞採取量が概算可能である。また血液処理量当たりの血小板減少率が概算可能であり、LVL による血液処理量の増加によって生じる低カルシウム血症に対しても、Calcium gluconate 大量投与で安全に対応可能である。ドナーととも施設にとっても負担の少ない 1 日での採取を、適切かつ安全に行うための条件は整いつつある。現在の 250ml/kg の 1 日血液処理量の上限については、ドナーの安全を確保しつつ再検討が可能であると思われる。

#### E. 結論

我が国における URPBSCT(H)実施の必須条件となっている CD34 陽性細胞数測定法の標準化は急務であり、国際標準となっている Single platform 法の導入がのぞまれる。採取開始時の末梢血 CD34 陽性細胞濃度と患者体重より、必要血液処理量を概算し、血小板減少予測も概算しつつ、 $Ca^{2+}$  の補充を行いながら、1 日採取を念頭にドナーの状態にあわせた処理血液量を決定することが、ドナーの安全を担保しつつ、非血縁者間末梢血幹細胞移植の実施を容易にするために有効と考えられる。また、ドナーの安全を確保しつつ、URPBSCH(T)を実施しやすい環境を整備することが、重要であると思われる。



## UR-PBSCを利用した養子免疫療法の検討

西田 徹也

名古屋大学医学部附属病院 血液内科

1

## 非血縁ドナーリンパ球の臨床研究への利用

非血縁ドナーからの「臨床研究を伴うドナーリンパ球輸注(DLI)」は可能であるが、これまでの申請および実施はわずかである。

臨床研究を伴うDLIを申請する際の条件 (2010.7.15)

(ドナーから新たに採血した検体を研究に用いる場合や、検体に研究目的で何らかの操作を加える場合に求められる条件)

- ① 施設内倫理委員会に提出し、承認を得られた申請書、研究計画書を提出すること
- ② 同様の症例があれば文献報告例を提出すること
- ③ 患者がDLIに同意していること
- ④ ドナーへの説明書が準備されていること
- ⑤ ドナーへの説明と同意の確認を採取施設が代行することを採取施設が了承すること  
(当財団コーディネーターからは説明しません。)
- ⑥ ドナーの同意があること
- ⑦ ドナーに対する対応の手続きを、具体的に提案すること
- ⑧ 採取施設内の倫理委員会でも承認を得ること

2

「同種造血幹細胞移植後において生じる難治性CMV感染症に対するCMV抗原特異的CTLを用いた治療の安全性に関する臨床第I相試験」

### 対象患者

- ・ HLA-A\*02:01/02:06 または HLA-A\*24:02陽性の同種造血幹細胞移植患者
- ・ CMV 感染症に対して、ガンシクロビルを2週間投与しても CMV 抗原または CMV DNA が $1/10$  以下に減少しない。  
or  
・ CMV 感染症に対して、ガンシクロビルを4週間投与しても CMV 抗原が消失またはCMV DNA が検出感度以下まで減少しない。

### 対象ドナー

- ・ 造血幹細胞を提供した(血縁 or 非血縁)あるいは提供する予定の血縁ドナー
- ・ 被験者と共通のHLA-A\*02:01/02:06 または HLA-A\*24:02を有する
- ・ 抗CMV抗体が陽性
- ・ 年齢1歳以上または体重10kg以上

3

「同種造血幹細胞移植後において生じる難治性CMV感染症に対するCMV抗原特異的CTLを用いた治療の安全性に関する臨床第I相試験」の問題点

- ・ 登録から輸注までに要する時間: 血縁者間移植では予めCTLを培養・保存しておくことができるが、非血縁者間移植においては難治性CMV感染症を合併してから準備(約1ヶ月)を行う。

骨髄バンク申請から採血までの期間

- ・ CMV-01: 2ヶ月(規程がなく、特例として認められた)
- ・ CMV-03: 42日(CMV-CTL培養中に病状が悪化し、輸注できず)
- ・ CMV-06: 33日

治療が必要な時に速やかに細胞輸注ができる方法の検討

「同種造血幹細胞移植後において生じる難治性CMV感染症に対するCMV抗原特異的CTLを用いた治療の安全性に関する臨床第I相試験」の問題点

「臨床研究として実施されるDLI輸注」申請条件の変更について  
現在、骨髄移植推進財団にて検討中。

- ・ 財団の倫理委員会など適切な場で、臨床研究について検討し承認を得る。
- ・ 財団より承認が得られた臨床研究のためのDLI用採血には、採取施設内での倫理委員会承認は不要とする。
- ・ DLI用の説明同意文書に臨床研究として用いる可能性があることを追記し、臨床研究を伴うDLIの場合も通常のDLIと同一の説明同意文書を用いる。

5

## UR-PBSCを利用した養子免疫療法実施への検討課題

1. 臨床研究を伴うDLIの申請条件の見直し

2. UR-PBSCの二次利用へのルール策定

- ・ 現在、必要以上に末梢血幹細胞が採取できた場合、一部を凍結保存し、DLI等に使用することは可能(財団に報告)。但し、研究目的の使用や細胞培養・増殖は認められていない。  
→凍結保存されたUR-PBSCを用いた養子免疫療法についても「臨床研究を伴うDLI」同様の条件で実施できる様に検討する。

- ・ 患者に対して使用予定がなくなった凍結細胞の第三者への利用などについても検討する。

6

## 血縁造血幹細胞移植ドナー保険の 適格基準と運用状況

愛知県医科大学医学部 造血細胞移植医科講座  
 伊藤美奈子 小寺良尚  
 名古屋大学医学部 造血細胞移植情報管理・生物統計学  
 鈴木健樹 熱田由子 長尾誠  
 イーピーエス株式会社

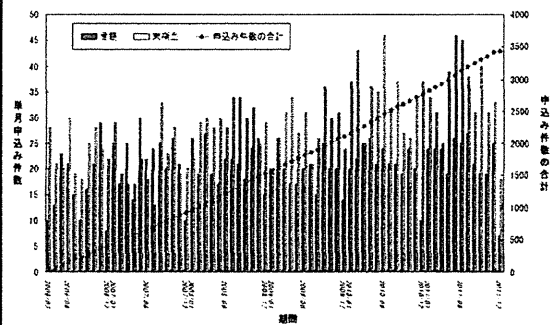
## ドナー保険

- 血縁ドナーに対するドナー保険は、2005年4月に血縁造血幹細胞ドナー登録事業が開始されたのち、2006年3月から開始された。
- 2012年11月末現在、ドナー登録件数6,134件(骨髓ドナー2,382件 末梢血ドナー3,752件)のうち4,098件(66.8%)の保険申込みがあり、判定依頼件数は798件、判定により保険不適格とされたドナーは147件であった。

## 適格基準の改訂

- 血縁造血幹細胞ドナー傷害保険加入適格基準は2006年8月にVersion 1.0が作成された後、3度の改訂が行われ現在は2011年3月改訂のVersion 2.0が用いられている。
- それに伴いドナーの登録票も改訂が加えられ、現在は第4版の登録票が用いられている。

血縁造血幹細胞ドナー傷害保険申込み状況



## 適格性確認項目 ver.2.0 (1) ドナーに関する確認事項

年齢	妊娠・授乳中・出産後・流産・中絶後	全身状態	高度肥満 低体重(成人)	感染症検査	血圧 HIV HTLV-1 その他	HBV関連 HCV関連 梅毒関連	検査値異常	貧血 肝機能 呼吸機能 総コレステロール 食後2時間血糖値 心電図
----	-------------------	------	-----------------	-------	----------------------------	------------------------	-------	--

## 適格性確認項目 ver.2.0 (2) 治療中・服薬中の疾患(合併症)と既往歴

治療中・服薬中の疾患(合併症)	血液疾患	心疾患	呼吸器疾患	肝疾患	腎疾患	脳血管障害・神経疾患	痛風	甲状腺機能異常	悪性腫瘍	喘息	膠原病・アレルギー疾患	骨・関節の異常	眼疾患	G-CSFに対する過敏症	悪性高熱症	臓器移植のドナー・レシピエント	ショック既往	6か月以内の手術・骨折	その他
既往歴	血液疾患・脾腫・マラリア	心疾患	呼吸器疾患	肝疾患	腎疾患	脳血管障害・血性症	痛風	甲状腺機能異常	悪性腫瘍	喘息	膠原病・アレルギー疾患	骨・関節の異常	眼疾患	G-CSFに対する過敏症	悪性高熱症	臓器移植のドナー・レシピエント	ショック既往	6か月以内の手術・骨折	その他

### 主な不適格の事由(1)

不適格の事由	骨髄	末梢血	合計
高コレステロール血症(240mg/dL超)	16	19	35
貧血	13	6	19
肝機能検査異常	2	13	15
薬物治療中の糖尿病	7	8	15
薬物治療中の痛風	2	8	10
甲状腺機能異常	2	5	7

2006年3月から2012年11月までのドナー適格性判定結果

### 主な不適格の事由(2)

不適格の事由	骨髄	末梢血	合計
妊娠・授乳中・出産後1年以内	1	3	4
治療中の心疾患	1	3	4
BMI ≥30の肥満	2	1	3
呼吸機能検査異常	2	1	3
前立腺肥大	1	2	3
服薬治療中の精神疾患	1	2	3

2006年3月から2012年11月までのドナー適格性判定結果

### 主な不適格の事由(3)

不適格の事由	骨髄	末梢血	合計
悪性腫瘍の既往	1	1	2
高血圧	2	0	2
治療中の脳血管障害・神経疾患	1	1	2
心疾患の既往	1	1	2
呼吸器疾患の既往	1	1	2

2006年3月から2012年11月までのドナー適格性判定結果

### 参考:感染症(適格症例)

事由	骨髄	末梢血	合計
その他(HBV,HCV,梅毒関連)	14	22	36
HTLV-1	10	22	32
その他+HTLV-1	0	1	1

2006年3月から2012年11月までのドナー適格性判定結果

### まとめ

- 血縁ドナーによる採取件数の増加に伴い、ドナー傷害保険加入者も年々増加している。
- 保険加入に際してのドナーの適格性の判定により、ある一定数の不適格者が生じるが、これらすべてがドナーとなる要件を否定するものではない。
- しかし、やや厳しすぎるという意見もある適格基準は、過去の採取に伴う有害事象を基に検討された項目であり、ドナーの安全性に大いに寄与していると考えられる。
- ドナー保険の適格性判定の結果は、臨床医が今後のドナー選択を行う際の基準として十分活用されるべきである。

## 非血縁者間末梢血幹細胞移植 推進に向けての検討会

平成24年12月22日

田中淳司、上田恭典、日野雅之、宮村耕一  
骨髓移植推進財団

	1例目	2例目	3例目	4例目	5例目
PB/BM希望 患者登録日	PB>BM 2010/12/17	PB=BM 2011/10/12	PB<BM 2011/12/19	PB>BM 2011/11/24	PB=BM 2012/1/26
ドナー選定	2011/1/28	2011/12/2	2012/1/25	2012/1/26	2012/4/27
最終同意面談	2011/2/8	2011/12/22	2012/2/6	2012/2/9	2012/5/16
前処置開始日	2011/3/9	2012/1/25	2012/2/28	2012/3/18	2012/6/19
移植日予症 【初回輸注日 登録～移植 (日)	2011/3/15	2012/1/31	2012/3/5	2012/3/26	2012/6/26
	88	111	77	123	152
	6例目 PB=BM 2012/3/19	7例目 PBのみ 2012/2/28	8例目 PB<BM 2012/3/5	9例目 PB<BM 2012/4/13	10例目 PB=BM 2012/5/21
	2012/5/1	2012/5/1	2012/5/23	2012/6/6	2012/7/23
	2012/5/11	2012/5/21	2012/6/1	2012/6/22	2012/7/31
	2011/6/4	2012/6/19	6月29日	8月15日	9月13日
	2012/6/11	2012/6/27	2012/7/3	2012/8/21	2012/9/19
	84	120	120	131	121
	11例目 PB>BM 2012/6/29	12例目 PB<BM 2012/4/3	13例目 PB>BM 2012/6/13	14例目 PB>BM 2012/7/17	15例目 PB=BM 2012/7/30
	2012/7/2	2012/5/23	2012/9/10	2012/9/28	2012/10/2
	2012/8/28	2012/9/20	2012/9/21	2012/10/18	2012/10/16
	9月26日	10月10日	11月18日	11月21日	11月27日
	2012/10/2	2012/10/15	2012/11/26	2012/11/29	2012/12/4
	95	195	165		

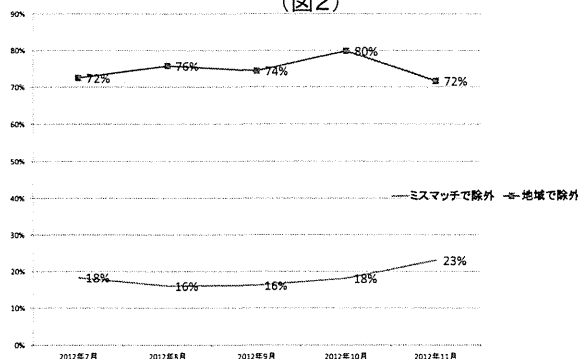
## コーディネートの現状と課題

- 平成22年1例、23年14例の非血縁者間末梢血幹細胞移植が施行された。
- ドナー選定から採取までは、骨髓77日、PB59日で PBの方が短くなっている。
- 末梢血幹細胞採取行程には自己血採血がないため、当初の予想どおりその期間が短縮効果として表れていると考えられる。

## コーディネートの現状と課題

- 地域、HLA、採取歴(現在はなし)、前回コーディネート時に判明した健康問題等により96%のドナーがBM/PBコーディネートから除外されている。
- 約75%の適合ドナーが、居住地近くに採取施設がないことにより、約20%がHLA8/8でないことよりBMコーディネートとなっている。
- ドナーの意向はPBのみが8%、BMのみが8%、84%がどちらでもよいであった。

◆BM/PBコーディネートから除外された条件の内訳 (図2)



※ドナーによっては複数の条件により除外されています(重複している)。  
※2012年12月に一部対象地域を拡大したため、地域で除外されるドナー数の減少が期待されます。

## コーディネートの現状と課題

- PBコーディネートは財団本体から各地区へ移行したばかりであり、徐々に拡大しているところである。ドナー安全のための「採取施設へ通える範囲」を1時間とすることにより、対象ドナーは増えると期待される。