

歳以上の高齢患者においては、リン酸フルダラビン(30 mg/m²を6日間)、ブスルファン(4 mg/kgを2日間)、少線量全身放射線照射(2Gyを1日2回、1日間)とアレムツズマブを併用した。ドナーから採取した末梢血幹細胞を前処置終了後に輸注する。移植後の免疫抑制はシクロスポリンとメトトレキサートの併用で行った。

主要評価項目は移植後60日以内の生着不全およびグレードIII以上の急性GVHDの発症率とし、副次的評価項目として、移植後1年後の生存率、無増悪死亡率、移植前処置関連毒性、感染症発症率を評価した。

アレムツズマブの投与量は0.20 mg/kgを開始用量(第1コホート)として、GVHD非発現率の期待値が60%を超える確率が90%以上となることを基準としたCRM(Continual Reassessment Method、研究分担者の大橋靖雄らが開発した連続再評価法)による検討結果を参考として、3例ずつのコホート法により、0.16 mg/kg、0.20 mg/kg、あるいは0.25 mg/kgを投与し、CRMの開始用量を決定した。第3コホート以降のCRMにおいても、GVHD非発現率の期待値が60%を超える確率が90%以上となることを基準として用量選択を行い、最も早く必要症例数に達した用量を推奨用量と定め、その結果を主要変数の評価に用いることとした。

HLA不適合移植後の最大の問題である免疫回復の遷延について、病原微生物や、腫瘍抗原に対する特異的な免疫能の質的、量的評価を行う系を確立するとともに、腫瘍特異的免疫能を増強するための治療を開発する。

また、データベースの効率的利用のために、無料の統計ソフトであるRを基盤としてTcl/Tk言を用いたプログラムを作成し、複雑なスクリプトの入力を必要とせずマウス操作だけで簡単に統計解析が可能になる統計ソフトウェアの開発を行う。

C. 結果

平成16年11月に治験届を提出し、平成16年12月に治験を開始した。平成17年に登録された3症例がいずれも治療の成功基準を満たしていることが確認されたため、アレムツズマブの投与量を0.16 mg/kg/dayに減量した。この第2コホートの3症例もいずれも成功基準を満たしたので、平成19年度よりCRMによってアレムツズマブの至適投与量を検討する段階に移行した。登録は緩徐ながらも着実に進行し、平成22年6月に登録を終了し、さらに平成23年6月に観察期間を終了した。

CRMの期間はアレムツズマブの用量が変更されることはなく、最終的に0.16 mg/kg/dayの投与を受けた11症例が主要評価項目の解析対象となり、9症例が成功基準を満たしたため、本治療法は有効と判断された。グレードII以上の急性GVHDは2例のみ、移植関連死亡は1例のみと、本治療法が安全な移植方法であることが確認された。

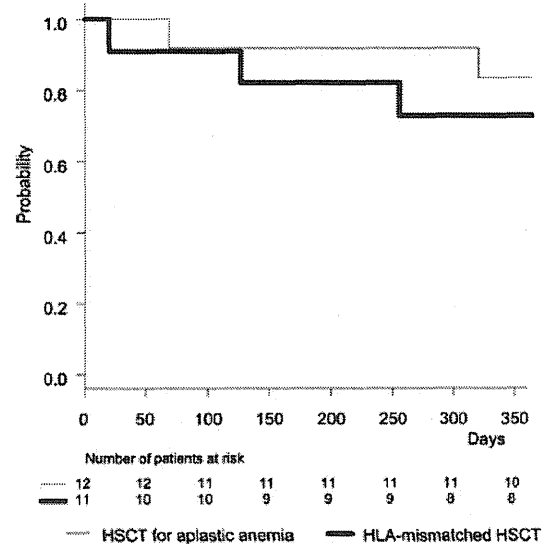


図 移植後生存曲線 (Am J Hematol 2013;88:294-300)

しかし、移植後に免疫抑制に伴うサイトメガロウイルス(CMV)の再活性化が頻発したことから、現在はさらにアレムツズマブの投与量を減少(総量で0.5 mg/kg)した臨床試験を実施している。既に7症例の移植が行われ、今のところGradeII以上の急性GVHDの発症はなく、安全に移植が実施できている。

また、通常の移植方法で日常診療として行われているHLA一抗原不適合移植の治療成績について前年度に日本造血細胞移植学会のデータベースを用いて解析した。その結果、HLA一抗原不適合血縁者間移植の治療成績はHLA適合血縁者間移植やHLA-A、B、C、DRB1遺伝子型適合非血縁者間移植よりも有意に劣るということが示された。診断から移植までの期間の差異による影響を補正するために臨床決断分析を加えたが、それでも一抗原不適合血縁者間移植の成績はHLA-A、B、C、DRB1遺伝子型適合非血縁者間移植の成績よりも劣っていた。そこで、抗胸腺細胞抗体を併用することによって一抗原不適合血縁者間移植の治療成績が改善するかどうかを検証する前方視的臨床試験を日本造血細胞移植学会の主導臨床試験として平成25年度に開始した。

特異的免疫能の評価系についてはサイトメガロ

ウイルスおよびEBウイルスに特異的に働く細胞傷害性T細胞をテトラマーによって同定する系が確立された。さらに細胞傷害性T細胞を単一細胞に分離した上でT細胞受容体レパトアの解析を行ったところ、ドナー由来の細胞傷害性T細胞がサイトメガロウイルス再活性化の抑制に貢献していることや、細胞傷害性T細胞の形質によって抗ウイルス能が異なることが示唆された。

統計ソフトウェア開発についてはマウス操作だけで一般的な名義変数、連続変数、生存期間の解析に加えて、移植領域の統計解析で必須となる時間依存性変数を扱う解析や競合イベントを扱う解析が実行できるソフトウェア(EZR)が完成し、自治医科大学附属さいたま医療センターのホームページ(<http://www.jichi.ac.jp/saitama-sct/>)で無料公開するとともに、HLA-WGで同ソフトを共有することによって統計解析の活性化を図っている。同ソフトウェアの開発を報告する論文がBone Marrow Transplantation誌に掲載され、当該論文のダウンロード数は同誌の論文の中で常に上位10位内を維持している。

D. 考察

HLA 適合血縁ドナーからの同種造血幹細胞移植は、他に有効な治療を持たない造血器疾患の根治的な治療として確立されているが、少子化の進む先進国において HLA 適合血縁ドナーが得られる確率は30%にすぎない。骨髄バンクにもドナーが見つからない、あるいはバンク登録から移植までに約半年を要するために最適な移植時期を逸することも多い。このように移植に適したドナーが見つからないような場合には、臍帯血移植がひとつの選択肢となりえるが、移植片拒絶の危険が高いことと、造血回復までに長期間を要することが問題となっている。一方、親子間ではA、B、DR座などの重要なHLA座はひとつかたまり(ハプロタイプ)として遺伝するため、A、B、DR座の各2座の合計6座のうち、少なくとも3座は適合していることになる。そこで、HLAが二座あるいは三座不適合であっても安全な同種造血幹細胞移植が可能となる方法が開発されれば、ほとんどの患者が同種造血幹細胞移植療法の恩恵を受けることができるということになる。

本臨床試験は改正GCP(good clinical practice)に則って医師主導治験として行うことにより、より信頼性の高いデータを得るとともに、本試験で品質保証されたデータに基づいて適応承認申請を行い、多くの国民に利益をもたらす。平成22年に

登録終了、平成23年6月に観察期間を終了した。良好な成績が得られており、来年度中の承認申請を予定している。それまでに本研究班の自主臨床研究においてこの移植方法の安全性、有効性に関するエビデンスをさらに蓄積する。ウイルス特異的細胞傷害性T細胞のレパトアを同定することは将来の免疫療法の開発につながる。

E. 結論

本研究によってアレルツズマブを用いたHLA不適合移植法の利点、欠点を明確にすることができる。同時にHLA-WGの研究を推進し、HLA不適合移植を本当に必要とする患者層を同定し、ガイドラインを作成することを目指す。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Kanda Y, Kanda J, Atsuta Y, Fuji S, Maeda Y, Ichinohe T, Takanashi M, Ohashi K, Fukuda T, Miyamura K, Mori T, Sao H, Kobayashi N, Iwato K, Sawada A, Mori S. Changes in the clinical impact of high-risk HLA allele mismatch combinations on the outcome of unrelated bone marrow transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 20:526-535,2014
2. Nakasone H, Terasako-Saito K, Yamazaki R, Sato M, Tanaka Y, Sakamoto K, Kurita M, Yamasaki R, Wada H, Ishihara Y, Kawamura K, Machishima T, Ashizawa M, Kimura SI, Kikuchi M, Tanihara A, Kanda J, Kako S, Nishida J, Yamada S, and Kanda Y. Impact of high-/middle-molecular-weight adiponectin on the synthesis and regulation of extracellular matrix in dermal fibroblasts. *Exp Hematol* (in press)
3. Sato M, Nakasone H, Terasako-Saito K, Sakamoto K, Yamazaki R, Tanaka Y, Akahoshi Y, Nakano H, Ugai T, Wada H, Yamasaki R, Ishihara Y, Kawamura K, Ashizawa M, Kimura SI, Kikuchi M, Tanihara A, Kanda J, Kako S, Nishida J, and Kanda Y. Prediction of infectious complications by the combination of plasma procalcitonin level and localized infection before

- allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 49:553-560,2014
4. Sakamoto K, Nakasone H, Wada H, Yamasaki R, Ishihara Y, Kawamura K, Ashizawa M, Sato M, Terasako-Saito K, Machishima T, Kimura SI, Kikuchi M, Kako S, Kanda J, Yamazaki R, Tanihara A, Nishida J, and Kanda Y. Evaluation of the validity of preemptive therapy against Cytomegalovirus disease based on antigenemia assay with a cutoff of 20 positive cells per two slides. *PLoS One* (in press)
 5. Nakasone H, Tanaka Y, Yamazaki R, Sato M, Terasako K, Sakamoto K, Yamasaki R, Wada H, Ishihara Y, Kawamura K, Machishima T, Ashizawa M, Kimura SI, Kikuchi M, Tanihara A, Kanda J, Kako S, Nishida J, Kanda Y. Single-cell analysis of T-cell receptor- β repertoire of HLA-A*2402-restricted cytomegalovirus pp65-specific cytotoxic T-cells in donor-patient pairs undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 49:87-94,2014
 6. Sato M, Nakasone H, Wada H, Yamasaki R, Ishihara Y, Sakamoto K, Kawamura K, Ashizawa M, Machishima T, Terasako K, Kimura SI, Kikuchi M, Tanihara A, Yamazaki R, Tanaka Y, Kanda J, Kako S, Nishida J, and Kanda Y. Prediction of infectious events by the high-sensitivity C-reactive protein level before autologous hematopoietic cell transplantation for lymphoma and multiple myeloma. *Transplant Infectious Disease* 15:E169-171,2013
 7. Kako S, Morita S, Sakamaki H, Iida H, Kurokawa M, Miyamura K, Kanamori H, Hara M, Kobayashi N, Morishima Y, Kawa K, Kyo T, Sakura T, Jinnai I, Takeuchi J, Miyazaki Y, Miyawaki S, Ohnishi K, Naoe T, Kanda Y. The role of HLA-matched unrelated transplantation in adult patients with Philadelphia chromosome-negative acute lymphoblastic leukemia in first remission. A decision analysis. *Bone Marrow Transplant*. 48:1077-1083,2013
 8. Yamazaki R, Nakasone H, Tanaka Y, Sato M, Terasako K, Wada H, Ishihara Y, Kawamura K, Sakamoto K, Ashizawa M, Machishima T, Kimura SI, Kikuchi M, Okuda S, Kako S, Kanda J, Tanihara A, Nishida J, Kanda Y. Allotype analysis to distinguish the origin of varicella-zoster virus immunoglobulin G after allogeneic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 19:1013-1020,2013
 9. Kanda Y, Kanda J, Atsuta Y, Maeda Y, Ichinohe T, Ohashi K, Fukuda T, Miyamura K, Iida H, Mori T, Iwato K, Eto T, Kawa K, Morita S, Morishima M. Impact of a single HLA allele mismatch on the outcome of unrelated bone marrow transplantation over two time periods. A retrospective analysis of 3003 patients from the HLA Working Group of the Japan Society for Blood and Marrow Transplantation. *Br J Haematol*. 161:566-577,2013
 10. Sato M, Nakasone H, Oshima K, Ishihara Y, Wada H, Sakamoto K, Kawamura K, Ashizawa M, Machishima T, Terasako K, Kimura SI, Kikuchi M, Okuda S, Tanihara A, Yamazaki R, Tanaka Y, Kanda J, Kako S, Nishida J, Kanda Y. Prediction of transplant-related complications by C-reactive protein levels before hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 48:698-702,2013
 11. Kanda Y, Oshima K, Kako S, Fukuda T, Uchida N, Miyamura K, Kondo Y, Nakao S, Nagafuji K, Miyamoto T, Kurokawa M, Okoshi Y, Chiba S, Ohashi Y, Takaue Y, Taniguchi S. In vivo T-cell depletion with alemtuzumab in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: Combined results of two studies on aplastic anemia and HLA-mismatched haploidentical transplantation. *Am J Hematol*. 88: 294-300,2013
 12. Kako S, Kanamori H, Kobayashi N, Shigematsu A, Nannya Y, Nakamae M, Shigeno K, Suzukawa K, Takeuchi M, Tsuzuki M, Usuki K, Hatanaka K, Ogawa K, Mitani K, Nawa Y, Hatta Y, Mizuno I, and Kanda Y. Outcome after first relapse in adult patients with Philadelphia chromosome-negative acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol*. 16:95-103,2013

13. Kanda Y. Investigation of the freely-available easy-to-use software "EZR" (Easy R) for medical statistics. *Bone Marrow Transplant.* 48:452-458,2013
14. Kanda J, Ichinohe T, Kato S, Uchida N, Terakura S, Fukuda T, Hidaka M, Ueda Y, Kondo T, Taniguchi S, Takahashi S, Nagamura-Inoue T, Tanaka J, Atsuta Y, Miyamura K, Kanda Y. Unrelated cord blood transplantation vs. related transplantation with HLA 1-antigen mismatch in the graft-versus-host direction. *Leukemia* 27:286-294,2013
15. Kanda J, Atsuta Y, Wake A, Ichinohe T, Takanashi M, Morishima Y, Taniguchi S, Takahashi S, Ogawa H, Ohashi K, Ohno Y, Aotsuka N, Onishi Y, Kato K, Nagamura-Inoue T, and Kanda Y., on behalf of the HLA Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. Impact of the direction of HLA mismatch on transplant outcome in single unrelated cord blood transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 19:247-254,2013
16. Ashizawa M, Oshima K, Wada H, Ishihara Y, Kawamura K, Sakamoto K, Sato M, Terasako K, Machishima T, Kimura SI, Kikuchi M, Nakasone H, Okuda S, Kako S, Kanda J, Yamazaki R, Tanihara A, Nishida J, Kanda Y. Hyperbilirubinemia in the early phase after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: Prognostic significance of the alkaline phosphatase / total bilirubin ratio. *Bone Marrow Transplant.* 48:94-98,2013

2. 学会発表

特になし

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得

特になし

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし

多剤併用GVHD予防によるHLA不適合移植の開発・不適合移植後のHLA抗体の解析

研究分担者 小川 啓恭 兵庫医科大学 内科学講座血液内科教授

研究要旨

HLA半合致移植の最大の問題点は、GVHDである。この移植を安全に実施可能にするためには、GVHDのmonitoring法を確立する必要がある。当科で、HLA半合致ドナーからRISTを受けた77人の患者のdataを用いて、sIL-2RのGVHD biomarkerとしての有用性を検討した。重症GVHDの発症は、sIL-2R高値時に限定されず、sIL-2R値の正常化後にも発症する例が存在することが判った。したがって、sIL-2Rの上昇は、急性GVHDの発症を危惧する要素となるものの、それを指し示すものではない。一方、GVHD患者の多くは、移植後早期に、高いsIL-2R値を示していた。そこで、移植早期のsIL-2R値と重症GVHDの発症との関係を解析したところ、多変量解析の結果、day 7 sIL-2Rが、唯一の有意な因子として検出された。よって、day 7 sIL-2RがHLA半合致RIST後のGVHDのpredictorとして、有用であることが判明した。

A. 研究目的

同種造血幹細胞移植は、化学療法抵抗性の悪性血液疾患患者を治癒に導く唯一の治療法である。しかし、移植を必要とする患者で、HLA適合同胞が存在するのは25%程度に過ぎず、さらに昨今の少子化の影響もあり、今後、ますます血縁でHLA適合ドナーが見つかる可能性は低くなると考えられる。このドナー不足を補うため、骨髄バンクや臍帯血バンクが設立されているが、それぞれ、ドナーのコーディネート期間が長い、拒絶の頻度が高いといった問題点が存在する。

一方、HLAが半分だけ合っているドナー(HLA半合致ドナー)は、ほぼ血縁内に見つかるので、このようなHLA半合致ドナーからの移植が安全に施行可能になると、同種移植においてドナーの問題が解消されることになる。私共は、厚生省班研究の中で、HLA半合致ドナーからのRISTをprospectiveかつ多施設研究として、phase I/II studyを行い、生着率97.1%、100日生存率88.2%と、予後不良症例を対象としていることを考慮すると、良好な成績が得られた(論文執筆中)。ただ、このHLA半合致移植の問題点は、移植片対宿主病(graft-versus-host disease=GVHD)である。GVHDのコントロールの精度を上げるためには、GVHDの予測を的確に行う必要がある。同種移植後のGVHDのbiomarkerとしては、soluble interleukin-2 receptor (sIL-2R), tumor necrosis factor receptor-1, interleukin-8, hepatocyte growth factorなど、種々のマーカーが有用とされてきた。その中でも、sIL-2Rは、最も優れたマーカーと報告されている。GVHDは、移植時の幹細胞とともに入るドナーリンパ球が、hostの正常組織を免疫学

的に攻撃する反応である。一般に、T細胞がいったん活性化されると、T細胞は、細胞表面にIL-2Rを発現する。IL-2Rは、 α , β , γ の少なくとも3つのsubunitで構成されるが、ligandであるIL-2がつくことで、IL-2Rの α subunitが切り出され、末梢血中でsIL-2Rとして、検出される。したがって、血中のsIL-2Rは、T細胞の活性化の総量を反映していると考えられる。そのため、多くの移植の研究で、sIL-2RのGVHD biomarkerとしての有用性が証明されてきた。しかし、これらの研究は、主として、骨髄破壊的前処置を用いた、HLA適合移植で行われたものであり、HLA半合致ドナーからのRISTの条件下で、sIL-2RがGVHDのbiomarkerとして有用であるか否かについては、明らかになっていない。

そこで、最近、当科で実施したHLA半合致RIST症例のdataを用いて、sIL-2RのGVHD biomarkerとしての有用性を検討した。

B. 研究方法

対象：sIL-2Rは、重症感染症、VODや腫瘍性にも上昇することが知られている。そこで、2009年1月から2012年6月までの間に、兵庫医科大学病院でHLA半合致RISTを受けた患者の中で、ドナー由来の生着を示し、かつ上記に示す非特異的sIL-2Rの上昇のない77人の患者のdataを抽出し、後方視的にsIL-2RのGVHD biomarkerとしての有用性を解析した。対象患者の基礎疾患は、AML/MDS 39例、ALL 14例、lymphoma 14例、CMLを含むその他の疾患 10例であった。移植前病期は、CR/MDS-RA/CML-CPのgood risk群 4例、PR/MDS-RAEB/CML-APのintermediate risk群 6例、non-CR/MDS-overt/CML-BCのpoor risk群 67例で

あった。HLA disparityについては、A抗原、B抗原、DR抗原に関して、GVH方向2抗原不適合 40例、GVH方向3抗原不適合 37例であった。移植回数は、初回移植 44例、2回目以降の移植 33例であった。

移植前処置は、Flu+Bu+ATGをbaseにする regimen 20例、Flu+Mel+ATGをbaseにする regimen 59例、その他 8例であった。GVHD予防は、FK506+mPSL 1 mg/kgで行った。sIL-2Rは、ELISAキット(Thermo Fisher Scientific Inc.)を用いて、測定した。統計解析は、EZR (自治医大さいたま医療センター 神田善伸博士開発)を用いて、行った。

(倫理面への配慮)

「血縁者間HLA2-3抗原不適合移植」のプロトコールは、平成18年3月22日、兵庫医科大学の倫理委員会にて承認を受けている。患者とドナーから、書面によるinformed consentを得た後、試験は実施された。移植の前処置が開始されるまでであれば、いつでも患者の自由意思で撤回することが可能であった。また、試験結果が公表される際は、患者個人が特定できないように、匿名化がなされるなど、ヘルシンキ宣言に基づいて、試験は実施された。

C. 研究結果

対象となった77例の移植患者のGVHDのgradeは、grade 0 38例、grade I 14例、grade II-III 25例であった。GVHDを発症しなかった患者のsIL-2Rは、移植後終始 740 U/ml以下の低値を示した。一方、II度以上のGVHDを発症した患者のsIL-2Rの中央値は、移植後上昇し、day 11にピーク値(1,663 U/ml)に達した後、下降に転じ、day 30以降は1,000 U/ml以下に低下した。重症GVHDの発症は、sIL-2R高値時に限定されておらず、sIL-2R値の正常化後に発症する例も存在した。一方、このような患者の多くは、移植後早期に、高いsIL-2R値を示していた。

このような状況を背景に、day 7 sIL-2RのGVHDのpredictorとしての有用性を解析した。day 7 sIL-2R値のROC解析から、810 U/mlがcutoff値となることが判った。donor source、患者の性別、患者年齢、移植前病期、移植回数、GVH方向のHLA disparity、原疾患、day 7 sIL-2Rを変数として、GVHD発症に関係する因子を、Cox proportional hazards modelを用いて多変量解析を行ったところ、day 7 sIL-2Rが、唯一の有意な因子として検出された。

D. 考察

sIL-2Rは、重症感染症、VOD、および腫瘍性にも上昇することが知られている。sIL-2Rが、T細胞の非特異的活性化を示すマーカーであるため、

これらのGVHD以外でのsIL-2Rの上昇は避けられず、GVHD biomarkerとしての有用性を下げることにつながる。Ferraraらは、sIL-2Rのbiomarkerとしての意義を解析する論文の中で、非特異的上昇を除くため、全症例の15%を除外した(Blood 2009; 113: 273-8)。私共は、非寛解期症例を多く含んでいたため、20%の症例を除外することになった。しかし、これらのsIL-2Rの上昇を伴う病的状態を、臨床的に同定することは比較的容易である。したがって、sIL-2RをGVHDのbiomarkerとして適用可能な症例を選別することが重要と思われる。

前述したように、重症GVHDの発症は、sIL-2R高値時に限定されておらず、sIL-2R値の正常化後に発症する例も存在したが、これらの患者の多くは、移植後早期に高いsIL-2R値を示していた。したがって、sIL-2Rの上昇は、急性GVHDの発症を危惧する要素とはなるものの、それを直接指し示すものではない。regenerating islet-derived 3-alphaなどの組織側の要因が、GVHDの発症に関係しているためと考えられる。一方、移植早期のsIL-2R値、day 7 sIL-2Rは、GVHDのpredictorとして、有用であることが判明した。

E. 結論

sIL-2Rが、HLA 半合致 RISTにおいても、有用なGVHDのbiomarkerとなり得ることが明らかになった。特に、day 7 sIL-2Rは、GVHDのpredictorとして、有用である。

F. 健康危険情報

本研究は、その多くは非寛解期症例を対象としているが、通常に認められる移植後合併症以外に、特記すべき有害事象は観察されていない。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ikegame K, Kato R, Fujioka T, Okada M, Kaida K, Ishii S, Yoshihara S, Inoue T, Taniguchi K, Tamaki H, Soma T, Ogawa H. Detection of donor-derived CMV-specific T cells in cerebrospinal fluid in a case of CMV meningoencephalitis after cord blood stem cell transplantation. *International Journal of Hematology* 97: 289-290, 2013.
- 2) Morishita S, Kaida K, Yamauchi S, Wakasugi T, Yoshihara S, Taniguchi K, Ishii S, Ikegame K, Kodama N, Ogawa H, Domen K. Gender differences in health-related quality of life, physical function and psychological status among patients in the early phase following

- allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Psychooncology* 22: 1159-1166, 2013.
- 3) Fujioka T, Tamaki H, Ikegame K, Yoshihara S, Taniguchi K, Kaida K, Kato R, Inoue T, Nakata J, Ishii S, Soma T, Okada M, Ogawa H. Frequency of CD4(+)FOXP3(+) regulatory T-cells at early stages after HLA-mismatched allogeneic hematopoietic SCT predicts the incidence of acute GVHD. *Bone Marrow Transplant* 48: 859-864, 2013.
- 4) Kurosawa S, Kurosawa S, Yakushijin K, Yamaguchi T, Atsuta Y, Nagamura-Inoue T, Akiyama H, Taniguchi S, Miyamura K, Takahashi S, Eto T, Ogawa H, Kurokawa M, Tanaka J, Kawa K, Kato K, Suzuki R, Morishima Y, Sakamaki H, Fukuda T. Recent decrease in non-relapse mortality due to graft-versus-host disease and infection after allogeneic hematopoietic cell transplantation in non-remission acute leukemia. *Bone Marrow Transplantation* 48: 1198-1204. 2013.
- 5) Morishita S, Kaida K, Yamauchi S, Sota K, Ishii S, Ikegame K, Kodama N, Ogawa H, Domen K. Relationship between corticosteroid dose and declines in physical function among allogeneic hematopoietic stem cell transplantation patients. *Support Care Cancer* 21: 2161-2169, 2013.
- 6) Eguchi R, Kubo S, Ohta T, Kunimasa K, Okada M, Tamaki H, Kaji K, Wakabayashi I, Fujimori Y, Ogawa H. FK506 induces endothelial dysfunction through attenuation of Akt and ERK1/2 independently of calcineurin inhibition and the caspase pathway. *Cellular Signalling* 25: 1731-1738, 2013.
- 7) Kawakami M, Taniguchi K, Yoshihara S, Ishii S, Kaida K, Ikegame K, Okada M, Watanabe S, Nishina T, Hamada H, Nakagawa M, Ogawa H. Irreversible neurological defects in the lower extremities after haploidentical stem cell transplantation: possible association with nelarabine. *American Journal of Hematology* 88: 853-857, 2013.
- 8) Nakasone H, Onizuka M, Suzuki N, Fujii N, Taniguchi S, Kakihana K, Ogawa H, Miyamura K, Eto T, Sakamaki H, Yabe H, Morishima Y, Kato K, Suzuki R, Fukuda T. Pre-transplant risk factors for cryptogenic organizing pneumonia/bronchiolitis obliterans organizing pneumonia after hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplantation* 48: 1317-1323, 2013.
- 9) Murata, M, Nishida T, Taniguchi S, Ohashi K, Ogawa H, Fukuda T, Mori T, Kobayashi H, Nakaseko C, Yamagata N, Morishima Y, Nagamura-Inoue T, Sakamaki H, Atsuta Y, Suzuki R, MD, Naoe T. Allogeneic transplantation for primary myelofibrosis with bone marrow, peripheral blood, or umbilical cord blood: An analysis of the JSHCT. *Bone Marrow Transplantation* in press.
- 10) Kaida K, Ikegame K, Ikemoto J, Murata R, Irie R, Yoshihara S, Ishii S, Okada M, Inoue T, Tamaki H, Soma T, Fujimori Y, Kai S, Ogawa H. Soluble interleukin-2 receptor level on day 7 as a predictor of graft-versus-host disease after HLA-haploidentical stem cell transplantation using reduced intensity conditioning. *International Journal of Hematology* in press.

2. 学会発表

- 1) Yamahista T, Taniguchi S, Fukuda T, Ogawa H, Morishima Y, Nagamura T, Sakamaki H, Atsuta Y, Takami A. Clinical outcomes of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with intravenous busulfan-based reduced-intensity conditioning for acute myeloid leukemia: A nationwide retrospective study from the adult AML working group of JSHCT. The 39th EBMT annual meeting in 2013, 2013, 4.7-10, London, UK.
- 2) Murata M, Nishida T, Taniguchi S, Ohashi K, Ogawa H, Fukuda T, Morishima Y, Nagamura-Inoue T, Sakamaki H, Atsuta Y, Suzuki R, Naoe T. Transplantation for primary myelofibrosis using bone marrow, peripheral blood and umbilical cord blood: a retrospective analysis of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. The 39th EBMT annual meeting in 2013, 2013, 4.7-10, London, UK.
- 3) Tanaka J, Takahashi Y, Yabe T, Morishima Y, Oba K, Takahashi S, Taniguchi S, Ogawa H, Ohnishi Y, Miyamura K, Kato K, Kato S, Atsuta Y, Kanda Y. KIR-ligand incompatibility in the

graft-versus-host direction did not affect outcomes of single umbilical cord blood transplantation without ATG for acute leukemia in complete remission: A Study From the HLA Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation (JSHCT). The 18th congress of European Hematology Association, 2013. 6.13-16, Stockholm, Sweden.

4) Kondo E, Mizuta S, Ito T, Ogawa H, Sakamaki H, Kato K, Morishima Y, Suzuki R, Suzumiya J. High dose chemotherapy with autologous stem cell support for Primary Mediastinal large B-cell Lymphoma: a retrospective analysis from the Adult Malignant Lymphoma Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation (JSHCT). The 12th International Conference on Malignant Lymphoma, 2013, 6.19-22, Lugano, Switzerland.

5) 小川啓恭, 宮村耕一, 岡本真一郎. 本邦における同種造血幹細胞移植に用いる無菌室の実態調査.

(一般口演) 第35回日本造血細胞移植学会総会

2013.3 金沢

6) 池亀和博, 海田勝仁, 石井慎一, 吉原哲, 谷口享子, 加藤るり, 井上貴之, 岡田昌也, 相馬俊裕, 小川啓恭. 血縁HLA半合致ミニ移植 (haplo-mini) の他施設前向き臨床試験 (第I/II相試験).

(一般口演) 第35回日本造血細胞移植学会総会 2013.3 金沢

7) 石井慎一, 池亀和博, 海田勝仁, 岡田昌也, 井上貴之, 加藤るり, 玉置広哉, 藤盛好啓, 甲斐俊朗, 相馬俊裕, 小川啓恭. high risk悪性血液疾患患者に対する, 低容量ATGとステロイドを用いたHLA半合致ミニ移植の治療成績. (ポスターセッション) 第35回日本造血細胞移植学会総会 2013.3 金沢

8) Ikegame K, Kaida K, Ishii S, Yoshihara S, Taniguchi K, Kato R, Inoue T, Okada M, Tamaki H, Soma T, Ogawa H. Transition of conditioning regimen in haplo-mini in connection with survival results. (一般口演) 第75回日本血液学会学術集会 2013.10 札幌

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

なし

造血幹細胞移植後にシクロフォスファミドを用いた HLA 半合致移植に関する研究

研究分担者 千葉 滋 筑波大学医学医療系 教授

研究要旨：移植後早期に大量シクロフォスファミドを用いた HLA 半合致移植は、重篤な GVHD を抑制できる一方、高い再発率が問題であった。これを克服するため、我々は骨髄破壊的前処置と移植後シクロフォスファミドを組み合わせた HLA 半合致移植を計画した。我々の 5 例の経験では、生着は速やかで、重篤な GVHD を認めなかった。現時点では再発に関する評価は困難であるが、同法を用いた HLA 半合致移植は安全に施行できるものと考えられた。

A. 研究目的

HLA 半合致移植（以下、ハプロ移植）は、HLA 合致血縁ドナーや非血縁ドナーがない造血器疾患患者における有望な選択肢のひとつである。ハプロ移植に伴う生着不全や重篤な GVHD、強い免疫抑制による感染症に対するアプローチとして、移植後早期にシクロフォスファミドを用いる移植法（以下、移植後 CY）の有効性が示されている。しかし移植後 CY では、高い再発率が依然問題である。これを克服する試みとして、骨髄破壊的前処置と組み合わせた移植後 CY の有効性が最近報告された。

そこで、我が国で使用可能な薬剤を用いた骨髄破壊的前処置と移植後 CY の安全性と効果を検討するパイロット試験を、単施設研究として開始した。

B. 方法

（本研究における倫理面への配慮）

計画内容は筑波大学附属病院の研究倫理審査委員会承認を受けた。レシipientおよびドナーには研究の趣旨を理解してもらい、研究への参加は本人の自由意志によってのみ行われ、参加しない場合も何ら臨床的不利益を蒙らないことを保障する。提供者の個人を特定できる情報は、いかなる場所にも公表されない。また効果・安全委員会を組織し、本研究の中止あるいは変更の必要性を諮る。

対象：血縁者および骨髄バンクに HLA 全合致ドナーが見つからず、ハプロ移植の適応につき診療グループ内で施行のコンセンサスが得られ、文書による同意が得られた造血器腫瘍および再生不良性貧血の患者。

ドナー：HLA 8 座中、アリル 4 座以上 6 座以下合致した血縁者。幹細胞ソースは末梢血幹細胞または骨髄いずれも可とする。

前処置：症例および疾患背景により、いずれかを選択。

〈前処置 1〉全身放射線照射（12 Gy/6 Fr）、リン酸フルダラビン（150 mg/m²）

〈前処置 2〉静注ブスルファン（12.8 mg/kg）、リン酸フルダラビン（150 mg/m²）、全身放射線照射（2 Gy）

免疫抑制：シクロフォスファミド（Day 3 および day 5、50 mg/kg × 2 日間）、サイクロスポリン（Day -1 から持続静注）、MMF（Day -1 から day 30 まで）2000 mg/日

C. 結果

難治性のリンパ球系腫瘍 5 例（節外性 NK/T 細胞リンパ腫・鼻型 1 例、ATL 2 例、ホジキンリンパ腫 1 例。うち ATL 以外の 2 例は active disease）、および治療抵抗性 AML 1 例に対して、本レジメンを用いて移植を行った。年齢中央値 34 歳。移植片は骨髄 2 例、末梢血幹細胞 3 例。4 例は速やかに生着した（生着日中央値：16 日）が、抗 HLA 抗体陽性の AML 症例では生着が得られなかった。生着した 4 例のうち 1 例に GVHD（grade2）を認めたが、他症例には GVHD は出現しなかった。Day100 以内には重篤な感染症は生じなかったが、1 例で移植約 7 ヶ月後にウイルス性肺炎が疑われる肺炎が生じた。1 例は 34 日目に再発し、免疫抑制剤中止および DLI を行ったが効果なく、127 日目に原病により死亡した。他の 3 例は無再発生存している。また移植後のリンパ球の各サブセットの回復も、HLA 一致ドナーからの移植後 CY を用いない移植と同等であった。

D 考察

骨髄非破壊的前処置と移植後 CY を用いたハプロ移植の報告（Luznik, BBMT 2008）において、GVHD、TRM とも良好であったが、1 年後の再発率は 51%に達した。これに対して、骨髄破壊的前処置と移植後 CY を用いた 50

例の報告 (Bacigalupo, BBMT 2013) では, GVHD (II-III) 12%, TRM 18%であり, 再発率も 26%と良好な成績であった。同報告では骨髄破壊的前処置と移植後 CY を用いたハプロ移植は, (1)移植した造血幹細胞への悪影響を生じないこと (2)生着不全を予防できること (3)重篤なGVHDを予防できること (4)移植後の免疫再構築に優れることが示唆された。我々の症例において, 現時点では再発に関する評価は困難であるものの, 通常のHLA合致移植と比較しても安全に施行できたものとする。

E. 結論

移植後シクロフォスファミドを用いたHLA半合致移植は, 国内でも種々な施設で試みられつつある。経験を共有し, プロトコールの最適化を図りつつ, 試験規模の拡大を考慮すべきである。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. Kanda Y, Oshima K, Kako S, Fukuda T, Uchida N, Miyamura K, Kondo Y, Nakao S, Nagafuji K, Miyamoto T, Kurokawa M, Okoshi Y, Chiba S, Ohashi Y, Takaue Y, Taniguchi S. In vivo T-cell depletion with alemtuzumab in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: Combined results of two studies on aplastic anemia and HLA-mismatched haploidentical transplantation. *Am J Hematol* 88(4):294-300, Apr, 2013 (doi: 10.1002/ajh.23392)
2. Fukuda K, Kurita N, Sakamoto T, Nishikii H, Okoshi Y, Sugano M, Chiba S. Post-transplant gastric antral vascular ectasia after intra-venous busulfan regimen. *Int J Hematol* 98(1):135-138, Jul, 2013 (doi: 10.1007/s12185-013-1342-8)
3. Sakamoto T, Obara N, Kurita N, Sakata-Yanagimoto M, Nishikii H, Yokoyama Y, Suzukawa K, Hasegawa Y, Chiba S. Effectiveness and safety of rabbit anti-thymocyte globulin in Japanese patients with aplastic anemia. *International Journal of Hematology* 98:319-322, 2013.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

臍帯血移植におけるハプロタイプ一致の臨床的意義に関する研究(第2報)

研究分担者 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
研究協力者 石綿一哉 国家公務員共済組合連合会虎の門病院血液内科・医員

研究要旨

同種臍帯血移植(Cord blood transplantation; CBT)後の生着不全はいまだ大きな課題である。生着不全のリスクファクターとして、少ない有核細胞数や CD34 陽性細胞、抗 HLA 抗体の存在などがあげられている。一般的に HLA ミスマッチ数も生着不全のリスクとして挙げられるが、6 抗原中 2 抗原までの HLA ミスマッチを許容している臍帯血移植においては、結果的に 2 ハプロタイプミスマッチで移植を行っている可能性が高い。本研究では臍帯血移植においてハプロタイプミスマッチの頻度がどの程度認められているかを推測し、ハプロタイプミスマッチが臍帯血生着に与える影響を検討する。対象 164 例の年齢中央値は 61(17-74)歳で、141 例(91.9%)が非寛解期移植であった。全例において、Fludarabine-based の前処置と GVHD 予防法として Tacrolimus+MMF が用いられた。ハプロタイプ一致群は 37 例で、不一致群は 127 例であった。ハプロタイプ一致群における好中球生着率は 94.6%、不一致群では 80.3%と、ハプロタイプ一致は生着に有意な影響を与えていた ($p=0.0027$)。生着の多変量解析ではハプロタイプ一致が生着に有意な影響を与えていた (HR:1.51, 95%CI:1.04-2.21, $p=0.032$)、HLA-B の不一致が生着に有意に負の影響を与えていた (HR:0.62, 95%CI:0.41-0.92, $p=0.018$)。本研究において同種臍帯血移植において HLA ハプロタイプ一致が生着に有意な影響を与える可能性が示唆された。

A. 研究目的

同種臍帯血移植(Cord blood transplantation; CBT)後の生着不全の多さはいまだ問題となっている。生着不全のリスクファクターとして、少ない有核細胞数や CD34 陽性細胞、抗 HLA 抗体の存在などがあげられる。一般的に HLA ミスマッチ数も生着不全のリスクとして挙げられるが、6 抗原中 2 抗原までの HLA ミスマッチを許容している臍帯血移植においては、結果的に 2 ハプロタイプミスマッチで移植を行っている可能性が高く、調べられていない HLA-C, -DQ, -DP が一致していない可能性も少なくないと考えられる。しかし、その頻度や臨床的意義は十分には評価されていない。本研究では臍帯血移植においてハプロタイプミスマッチの頻度がどの程度認められているかを

推測し、ハプロタイプミスマッチが臍帯血生着に与える影響を検討する。

B. 研究方法

虎の門病院で 2006 年 8 月から 2010 年 12 月までにおいて造血器腫瘍に対しておこなわれた同種臍帯血移植の患者を対象に後方視的に解析した。

- ① 同種移植歴のある患者は除外した
- ② PS (ECOG) < 3 の患者は除外した
- ③ 同種移植時に活動的な感染を有する者は除外した
- ④ GVHD 予防として FK+MMF を使用した患者に限定した

以上より、164 名の患者における臍帯血移植が対象となった。

これら臍帯血移植におけるハプロタイプ一致に関して下記のように定義づけを行った。

- ① 移植を行った 164 人の患者とそのドナーはすべて A, B, DR においてアリルレベルで HLA タイピングをおこなった。
- ② 患者とドナーのハプロタイプの組み合わせは 4 通りずつとなる。
- ③ すでに明らかにされている日本人におけるハプロタイプの頻度のデータから、患者側で最も頻度の高い組み合わせ、ドナー側で最も頻度が高い組み合わせをそれぞれ同定する。
- ④ それぞれの最も頻度が高い組み合わせにおいてハプロタイプが一致していた場合、その確率を計算しその可能性が 95% を超えた移植に関してハプロタイプ一致群と定義づけた。

(倫理面への配慮)

後方視的解析であり、特にない。

C. 研究結果

対象 164 例の年齢中央値は 61 (17-74) 歳で、141 例 (91.9%) が非寛解期移植であった。全例において、Fludarabine-based の前処置と GVHD 予防法として Tacrolimus+MMF が用いられた。上記の定義に基づいたハプロタイプ一致群は 37 例で、不一致群は 127 例であった。患者・ドナー間の HLA 適合度 (HLA-A/-B/-DR 抗原:拒絶方向) は、6/6 一致:ハプロタイプ一致群 2 例 (3.0%)、ハプロタイプ不一致群 3 例 (2.4%)、5/6:一致群 18 例 (48.6%)、不一致群 24 例 (18.9%)、4/6:一致群 17 例 (45.9%)、不一致群 100 例 (78.7%) であった ($p < 0.001$)。ハプロタイプ一致群と不一致群で移植に用いた臍帯血の有核細胞数や CD34 陽性細胞数に有意差はなかった。164 例中 137 例で、移植後 19 (11-52) 日で好中球生着が得られた。ハプロタイプ一致群における好中球生着率は 94.6%、不一致群では 80.3% と、ハプロタイプ一致は生着に有意な影響を与え

ていた ($p=0.0027$)。生着の多変量解析ではハプロタイプ一致が生着に有意な影響を与え (HR:1.51, 95%CI:1.04-2.21, $p=0.032$)、HLA-B の不一致が生着に有意に負の影響を与えていた (HR:0.62, 95%CI:0.41-0.92, $p=0.018$)。また、HLA-A, B, DR のアリルレベルにおける不一致数 (0-3 座不一致, 4-5 座不一致) では多変量解析においては有意な影響は認められなかった (HR:0.83, 0.57-1.20, $p=0.32$)。

D. 考察

本研究では、ハプロタイプ一致は、臍帯血生着に有意な影響を与えていた。一方で多変量解析において、HLA-A, -B, -DR の不一致数 (0-3 座不一致, 4-5 座不一致) は生着に影響を与えていなかったことから、HLA-C, -DP, -DQ の一致が生着に影響を与えている可能性が示唆された。現在、国内の臍帯血バンクでは HLA-C/-DP/-DQ 抗原はルーチンでは測定していない。より多数例で、臍帯血 HLA タイピングの適正化の検討が必要と思われる。

E. 結論

同種臍帯血移植において HLA ハプロタイプ一致が生着に有意な影響を与える可能性が示唆された。

G. 研究発表

1. Nagafuji K, Miyamoto T, Eto T, Kamimura T, Taniguchi S, Okamura T, Ohtsuka E, Yoshida T, Higuchi M, Yoshimoto G, Fujisaki T, Abe Y, Takamatsu Y, Yokota S, Akashi K, Harada M. Monitoring of minimal residual disease (MRD) is useful to predict prognosis of adult patients with Ph-negative ALL: results of a prospective study (ALL MRD2002 Study). *J Hematol Oncol*. 2013;6:14.

2. Matsuno N, Yamamoto H, Watanabe N, Uchida N, Ota H, Nishida A, Ikebe T, Ishiwata K, Nakano N, Tsuji M, Asano-Mori Y, Izutsu K, Masuoka K, Wake A, Yoneyama A, Nakauchi H, Taniguchi S. Rapid T-cell chimerism switch and memory T-cell expansion are associated with pre-engraftment immune reaction early after cord blood transplantation. *Br J Haematol*. 2013;160(2):255-258.
3. Kai S, Wake A, Okada M, Kurata M, Atsuta Y, Ishikawa J, Nakamae H, Aotsuka N, Kasai M, Misawa M, Taniguchi S, Kato S. Double-unit Cord Blood Transplantation after Myeloablative Conditioning for Patients with Hematological Malignancies: a Multicenter Phase II Study in Japan. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2013.

H. 知的財産権の出願・登録状況

- 1.特許取得
なし
- 2.実用新案登録
なし
- 3.その他
なし

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

研究分担者 田中 淳司 東京女子医科大学血液内科学講座 主任教授

研究要旨

再生不良性貧血に対する同種造血幹細胞移植では、重症度、年齢、罹病期間、輸血量、HLA抗体の有無などが予後に影響するとされているが、最近では罹病期間の長い高齢者に対する移植が増加する傾向にある。こうした高齢の再生不良性貧血に対して、FluやATGなどを含む減量レジメンは有望である可能性が示唆された。

A. 研究目的

再生不良性貧血に対する同種造血幹細胞移植では、重症度、年齢、罹病期間、輸血量、HLA抗体の有無などが予後に影響するとされている。本研究では、近年増加している罹病期間の長い高齢者に対する移植成績を向上させるためには、どのような移植前処置が有効であるのかを検討する事を目的とした。

B. 研究方法

当科では、再生不良性貧血患者7人に、同種造血細胞移植が行われていた。年齢中央値38歳(21~65歳)、患者の年齢構成は20歳代2人、30歳代3人、60歳代2人であった。性別は男性2人、女性5人。発症から移植までの期間は中央値98.5カ月(6.9~587カ月)であった。

これらの患者さんの移植前のフェリチン値、HLA抗体の有無、ドナー、移植前処置と移植成績について解析するとともに、文献的に考察を加えて報告する。

C. 研究結果

移植前のフェリチン値は1270ng/mL(19~8700 ng/mL)、総赤血球輸血が50単位を超える症例は4例(最大約600単位)、HLA抗体陽性例は1例であった。ドナーはHLA一致同胞からの

移植が6人、非血縁者骨髄移植が1人で行われていた。

前処置はcyclophosphamide (CY) 200mg/kg + total lymphoid irradiation (TLI) 5Gyが4例、CY + anti-thymocyte globulin (ATG) 1例、fludarabine (Flu) + CY + ATG ± total body irradiation (TBI) 2例で用いられていた。好中球生着は全例で認められ、中央値で移植後20日(16~24日)であった。

最近経験した症例は65歳女性で18歳時に他院で再生不良性貧血と診断され通院、2000年頃より輸血依存となったが、2013年6月HLA-C 2座+DR 1座が不適合の血清型5/8一致非血縁ドナーよりFlu+CY+ATG+TBI 2Gyを前処置として同種骨髄移植を行った。FK506+Short MTXによる免疫抑制剤を用い、移植後Day21で生着し、現在Day100を超えGVHDなく外来通院している。

このように再生不良性貧血の長期罹患症例で高齢者であってもFluやATGを含む減量レジメンが有効である可能性が示唆された。

D. 考察

当科における再生不良性貧血に対する移植の特徴として、罹病期間の長いことが挙げられる。中央値で約8年であるが、発症から2年以内の移植は2例にとどまり、最長は発症から約49

年の症例があった。軽症あるいは中等症で発症し、輸血依存の重症型に進行した症例が含まれるためと考えられる。再生不良性貧血においては、一般的に発症から6か月～1年以内の移植が推奨されており長期罹患例は成績が悪いとされる。

また、再生不良性貧血患者に対する同種造血幹細胞移植においては年齢も大きな要因といわれる。2012年kimらの韓国で行われた重症再生不良性貧血に対する後方視的調査では、40歳以下の168人と41歳以上の57人の患者で比較した場合、5年生存率は76.6%vs 55.9%($p=0.007$)で、若年者が優れていた。40歳を超える57人のうち41人が50歳以下で、51歳以上は16人と少なく、5年のOverall survivalはそれぞれ67.9%と0%とされ、高齢者の再生不良性貧血の同種移植の難しさがうかがえる。2013年の日本造血細胞移植学会データをみると1991年～2011年にかけて、1784症例の再生不良性貧血に対して造血細胞移植が行われており、40～49歳が147例(8.2%)、50～59歳が103例(5.8%)、60～69歳が26例(1.5%)、70歳以上に対して5例(0.3%)の移植が行われている。その成績は高齢者を含めて40歳以上としてまとめられているが、5年生存率が血縁者間骨髄で67.9%、非血縁者間骨髄移植で53.3%と報告されている。50歳以上の症例が含まれている割には比較的良好な成績と思われるが、やはり依然として高齢者では予後不良であるのが実情である。

E. 結論

今後、高齢化の進行により50歳、60歳以上でかつ罹病期間の長い症例の増加が予想される。こうした高齢の再生不良性貧血に対して、Flu+CY+ATG+TBIなどの減量レジメンは有望である可能性が示唆されたが、移植のタイミングや至適な前処置などについてさらに検討する必要があると考えられた。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Imahashi N, Suzuki R, Fukuda T, Kakihana K, Kanamori H, Eto T, Mori T, Kobayashi N, Iwato K, Sakura T, Ikegame K, Kurokawa M, Kondo T, Iida H, Sakamaki H, Tanaka J, Kawa K, Morishima Y, Atsuta Y, Miyamura K. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for intermediate cytogenetic risk acute myeloid leukemia in first complete remission. **Bone Marrow Transplant** 48(1):56-62, 2013.
2. Kanda J, Ichinohe T, Kato S, Uchida N, Terakura S, Fukuda T, Hidaka M, Ueda Y, Kondo T, Taniguchi S, Takahashi S, Nagamura-Inoue T, Tanaka J, Atsuta Y, Miyamura K, Kanda Y. Unrelated cord blood transplantation vs. related transplantation with HLA 1-antigen mismatch in the graft-versus-host direction. **Leukemia** 27(2):286-294, 2013.
3. Kurosawa S, Yakushijin K, Yamaguchi T, Atsuta Y, Nagamura-Inoue T, Akiyama H, Taniguchi S, Miyamura K, Takahashi S, Eto T, Ogawa H, Kurokawa M, Morishima Y, Tanaka J, Sakamaki H, Fukuda T. Changes in incidence and causes of non-relapse mortality after allogeneic hematopoietic cell transplantation in patients with acute leukemia/myelodysplastic syndrome. **Bone Marrow Transplant** 48(4):529-536, 2013.

4. Nishiwaki S, Miyamura K, Ohashi K, Kurokawa M, Taniguchi S, Fukuda T, Ikegame K, Takahashi S, Mori T, Imai K, Iida H, Hidaka M, Sakamaki H, Morisima Y, Kato K, Suzuki R, Tanaka J. Impact of donor source on adult Philadelphia chromosome-negative acute lymphoblastic leukemia: a retrospective analysis from the Adult Acute Lymphoblastic Leukemia Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. **Ann Oncology** 24:1594-1602, 2013.
5. Wakao H, Yoshikiyo K, Koshimizu U, Furukawa T, Enomoto K, Matsunaga T, Tanaka T, Yasutomi Y, Yamada T, Minakami H, Tanaka J, Oda A, Sasaki T, Wakao R, Lantz O, Udagawa T, Sekiya Y, Higuchi K, Harada N, Nishimura K, Ohtaka M, Nakanishi M, Fujita H. Expansion of Functional Human Mucosal-Associated Invariant T Cells via Reprogramming to Pluripotency and Redifferentiation. **Cell Stem Cell**. 12(5):546-558, 2013.
6. Kurosawa S, Yakushijin K, Yamaguchi T, Atsuta Y, Nagamura-Inoue T, Akiyama H, Taniguchi S, Miyamura K, Takahashi S, Eto T, Ogawa H, Kurokawa M, Tanaka J, Kawa K, Kato K, Suzuki R, Morishima Y, Sakamaki H, Fukuda T. Recent decrease in non-relapse mortality due to GVHD and infection after allogeneic hematopoietic cell transplantation in non-remission acute leukemia. **Bone Marrow Transplant**. 48:1198-1204, 2013.
7. Torimoto Y, Sato K, Ikuta K, Hayashi T, Hirayama Y, Inamura J, Kobayashi H, Kobayashi R, Koda K, Kurosawa M, Mori A, Ota S, Sakai H, Shigematsu A, Shindo M, Shinzaki H, Takahashi F, Takimoto R, Tanaka J, Yamamoto S, Kohgo Y, Fukuhara T. A retrospective clinical analysis of Japanese patients with peripheral T-cell lymphoma not otherwise specified: Hokkaido Hematology Study Group. **Int J Hematol**. 2013 Aug;98(2):171-178.
8. Tanaka J, Morishima Y, Takahashi Y, Yabe T, Oba K, Takahashi S, Taniguchi S, Ogawa H, Onishi Y, Miyamura K, Kanamori H, Aotsuka N, Kato K, Kato S, Atsuta Y, Kanda Y. Effects of KIR-ligand incompatibility on clinical outcomes of umbilical cord blood transplantation without ATG for acute leukemia in complete remission. **Blood Cancer Journal** 3, e164;2013. doi:10.1038/bcj. 2013. 62
9. Tanaka J, Kanamori H, Nishiwaki S, Ohashi K, Taniguchi S, Eto T, Nakamae H, Minagawa K, Miyamura K, Sakamaki H, Morishima Y, Kato K, Suzuki R, Nishimoto N, Oba K, Masauzi N. Reduced-intensity versus myeloablative conditioning allogeneic

- hematopoietic stem cell transplantation for patients aged over 45 years with acute lymphoblastic leukemia (ALL) in remission: A study from the Adult ALL Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation (JSHCT). **Bone Marrow Transplant.** 48:1389-1394, 2013.
10. Kanamori H, Mizuta S, Kako S, Kato H, Nishiwaki S, Imai K, Shigematsu A, Nakamae H, Tanaka M, Ikegame K, Yujiri T, Fukuda T, Minagawa K, Eto T, Nagamura-Inoue T, Morishima Y, Suzuki R, Sakamaki H, Tanaka J. Reduced-intensity allogeneic stem cell transplantation for patients aged 50 years or older with B-cell ALL in remission: a retrospective study by the Adult ALL Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. **Bone Marrow Transplant.** 48:1513-1518, 2013.
11. Mori N, Ohwashi M, Yoshinaga K, Mitsuhashi K, Tanaka N, Teramura M, Okada M, Shiseki M, Tanaka J, Motoji T. L265P Mutation of the *MYD88* Gene Is Frequent in Waldenström's Macroglobulinemia and Its Absence in Myeloma. **PLOS ONE** 8:e80088, 2013.
12. Kobayashi R, Tanaka J, Hashino S, Ota S, Torimoto Y, Kakinoki Y, Yamamoto S, Kurosawa M, Hatakeyama N, Haseyama Y, Sakai H, Sato K, Fukuhara T. Etoposide-containing conditioning regimen reduces the occurrence of hemophagocytic lymphohistiocytosis after SCT. **Bone Marrow Transplant.** 2013 Sep 16. doi: 10.1038/bmt.2013.145. [Epub ahead of print]
2. 学会発表
1. Tanaka J, Takahashi Y, Yabe T, Morishima Y, Oba K, Takahashi S, Taniguchi S, Ogawa H, Ohnishi Y, Miyamura K, Kato K, Kato S, Atsuta Y, Kanda Y. KIR-ligand incompatibility in the graft-versus-host direction did not affect outcomes of single umbilical cord blood transplantation without ATG for acute leukemia in complete remission. 18th Congress of European Hematology Association (EHA) 2013.6.13-16, StockholmsMassan, Sweden.

『CD34 陽性細胞選択 HLA 不適合移植の開発
・ HSV-TK 遺伝子導入リンパ球輸注療法の開発に関する研究』

研究分担者 山下 卓也 国立がん研究センター中央病院／造血幹細胞移植科 医長

研究要旨

本研究においては、CD34 陽性細胞を純化して T 細胞を除去した移植片を用いた HLA 不適合者間同種末梢血幹細胞を開発する。特に、本研究は、HSV-TK 遺伝子を導入したドナー T 細胞を移植後に add-back することによって、免疫再構築の再構成を促進し、適切な GVHD を制御するシステムの開発を目的としている。

臨床試験「ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植後の HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球 “Add-back” 療法」を実施している。現時点までに 2 例の症例が登録され、現在も試験継続中である。重篤な有害事象は認めておらず、その安全性は確保されている。また、ガンシクロビル投与にて HSV-TK 遺伝子導入 T 細胞の自殺機能の作動も確認されている。

本臨床試験の推進のために、プロトコールの変更作業を実施中である。

A. 研究目的

同種造血幹細胞移植において、HLA 適合（血縁／非血縁）ドナーが得られない場合、HLA 不適合血縁者は有力な代替ドナー候補の一つである。しかし、HLA 不適合者からの同種造血幹細胞移植においては、移植片対宿主病（graft-versus-host disease: GVHD）の重症化のリスクが高くなる。従って、HLA 不適合者間同種造血幹細胞移植の治療成績の向上のためには、同種免疫反応を適切に制御することが重要である。本研究では、HLA ハプロタイプ適合血縁ドナーに G-CSF を投与した後に採取した末梢血単核球分画から、体外にて CD34 陽性細胞を純化して T 細胞を除去した移植片を用いて、HLA 不適合者間同種末梢血幹細胞移植を実施する。従来の T 細胞除去移植は、GVHD の制御には有用であるが、移植片の拒絶や免疫回復の遅延といった問題点を有している。そこで、本研究は、ドナー由来の T 細胞に HSV-TK 遺伝子を導入し、これを移植後に輸注（add-back）することによって、移植片の拒絶を回避し、免疫再構築を促進させるとともに、必要に応じて適切に GVHD を制御できるシステムの開発を目的としている。

B. 研究方法

臨床試験「ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植後の HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球 “Add-back” 療法」を当院において実施している。本研究は、国立がん研究センター並びに遺伝子治療研究中央評価会議にて承認されている。本試験の主要評価項目は、①当該治療法の安全性、② HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球 Add-back 後の免疫系再構築並びに GVHD 発症頻度および制御能、である。

<倫理面への配慮>

これらの臨床研究の実施に当たっては、ヘルシンキ宣言、臨床研究に関する倫理指針、GCP などの臨床研究に関する各指針に従って臨床研究を実施するとともに、必要に応じて、「ヒト（自己）由来細胞・組織加工医薬品等の品質および安全性の確保に関する指針」、「ヒト（同種）由来細胞・組織加工医薬品等の品質および安全性の確保に関する指針」、「遺伝子治療臨床研究に関する指針」、「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」、「カルタヘナ法」を遵守している。被験者となる患者の人権に十分配慮するとともに、個人情報の厳格な管理を行った。

C. 研究結果

本臨床試験については、現時点までに2例の症例が登録され、当該治療が実施されている。その詳細は前年度までの研究報告書に記載の通りである。現在、HLA不適合移植の開発を目指した複数の臨床試験が進行中であり、その状況下で本試験を推進するために、試験計画の変更作業を実施した。すなわち、適応症例の拡大を目指して患者適格基準の変更（全身放射線照射の既往の制限の撤廃）を行うとともに、移植後の免疫回復の促進を目指して移植後のT細胞輸注量の変更（規定輸注量の増加）を実施した。変更後の臨床試験プロトコールは、現在、当院倫理委員会にて審査中である。

D. 考察

HSV-TK遺伝子導入Tリンパ球輸注療法の安全性については、本臨床試験および治験として実施した「同種移植後再発に対するHSV-TK遺伝子導入Tリンパ球輸注療法」の経験にて重篤な有害事象は認めておらず、現時点ではその安全性は確保されていると認識している。また、同治療法の免疫系再構築については、本臨床試験において長期生存を得ている1例において、免疫系の順調な回復を認めている。更に、この症例においては、リンパ球輸注後に発症したGVHDに対して、ガンシクロビルを用いてHSV-TK遺伝子の自殺機能を発揮させている。HSV-TK遺伝子導入システムによるGVHD制御能が確認されており、本治療法の有効性が示唆されると考えている。

E. 結論

わが国におけるHLA不適合者間同種造血幹細胞移植において、多様なオプションを確保するために、体外CD34陽性細胞選択法を用いたT細胞除去移植の開発は意義があるものと考えられる。また、本研究のこれまでの経験は、HSV-TK遺伝子導入リンパ球輸注療法の安全性とGVHD制御能を示唆するものであり、今後は、HLA不適合移植後再発に対するドナーリンパ球輸注療法におけるHSV-TK遺伝子導入システムの活用が期待される。

F. 健康危機情報

該当事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Atsuta Y, Suzuki R, Yamashita T, Fukuda T, Miyamura K, Taniguchi S, Iida H, Uchida T, Ikegame K, Takahashi S, Kato K, Kawa K, Nagamura-Inoue T, Morishima Y, Sakamaki H and Kodera Y for the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. Continuing increased risk of oral/esophageal cancer after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in adult in association with chronic graft-versus-host disease. *Annals of Oncology*, published online: Jan 7, 2014, doi: 10.1093/annonc/mdt558.
- 2) Hiramoto N, Kurosawa S, Tajima K, Okinaka K, Tada K, Kobayashi Y, Shinohara A, Inoue Y, Ueda R, Tanaka T, Kim SW, Yamashita T, Heike Y and Fukuda T. Positive impact of chronic graft-versus-host disease on the outcome of patients with de novo myelodysplastic syndrome after allogeneic hematopoietic cell transplantation: a single-center analysis of 115 patients. *Eur J Hematol*92:137-146,2014.
- 3) Fuji S, Ueno N, Hiramoto N, Asakura Y, Yakushijin K, Kamiyama Y, Kurosawa S, Kim SW, Heike Y, Yamashita T and Fukuda T. Reduced-intensity conditioning regimen with low-dose ATG-F for unrelated bone marrow transplant is associated with lower non-relapse mortality than a regimen with low-dose TBI: a single-center retrospective analysis of 103 cases. *Int J Hematol*98:608-614,2013.
- 4) Hanajiri R, Ohashi K, Hirashima Y, Kakihana K, Kobayashi T, Yamashita T, Sakamaki H and Akiyama H. Second allogeneic transplantation for relapsed acute leukemia after initial allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Pathol Oncol Res* 18:1003-1008,2012.
- 5) Yanada M, Kurosawa S, Yamaguchi T, Yamashita T, Moriuchi Y, Ago H, Takeuchi J, Nakamae H, Taguchi J, Sakura T, Takamatsu Y, Waki F, Yokoyama H, Watanabe M, Emi N and Fukuda T.

Prognosis of acute myeloid leukemia harboring monosomal karyotype in patients treated with or without allogeneic hematopoietic cell transplantation after achieving complete remission. *Haematologica* 97:915-918,2012.

- 6) Kakihana K, Ohashi K, Hirashima Y, Murata Y, Kobayashi T, Yamashita T, Sakamaki H and Akiyama H. Clinical impact of pre-transplant pulmonary impairment on survival after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Pathol Oncol Res* 18:11-16,2012.

2. 学会発表

- 1) Yamashita T, Kuwabara H, Ohashi K, Uchida N, Fukuda T, Miyamura K, Mori S, Kato K, Tanaka J, Adachi S and Atsuta Y. Late relapse after allogeneic hematopoietic cell transplantation for hematological malignancies: a nationwide retrospective study from the late complications and quality-of-life working group of the Japan Society for Hematopoietic Cell transplantation. *The 55th annual meeting of the American Society of Hematology* (New Orleans). Dec. 2013.
- 2) Yamashita T, Ohashi K, Taniguchi S, Fukuda T, Kanamori H, Morishima Y, Nagamura T, Sakamaki H, Atsuta Y and Takami A. Clinical outcomes of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with intravenous busulfan-based myeloablative conditioning for acute myeloid leukemia: a nationwide retrospective study from the adult acute myeloid leukemia working group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. *The 39th annual meeting of the European Group for Blood and Marrow Transplantation* (London). Apr. 2013.
- 3) Yamashita T, Taniguchi S, Fukuda T, Ogawa H, Morishima Y, Nagamura T, Sakamaki H, Atsuta Y, and Takami A. Clinical outcomes of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with intravenous busulfan-based reduced-intensity conditioning

for acute myeloid leukemia: a nationwide retrospective study from the adult acute myeloid leukemia working group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. *The 39th annual meeting of the European Group for Blood and Marrow Transplantation* (London). Apr. 2013.

- 4) Yamashita T, Fukuda T, Taniguchi S, Ohashi K, Kurosawa S, Morishima Y, Nagamura T, Sakamaki H, Atsuta Y and Takami A. Intravenous busulfan-based myeloablative conditioning is comparable to TBI-based regimen in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for recipients with acute myeloid leukemia: a nationwide retrospective study from the adult acute myeloid leukemia working group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. *The 54th Annual Meeting of the American Society of Hematology* (Atlanta). Dec. 2012.

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当事項なし