

造血幹細胞移植における骨髄由来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第 I 相試験

高橋義行、小島勢二 名古屋大学大学院医学系研究科小児科学

【背景】ステロイド抵抗性GVHDは同種造血幹細胞移植後の致命的合併症の1つであり、有効な治療法の確立が望まれている。近年、骨髄由来間葉系幹細胞（MSC）が強力な免疫抑制作用を有することが明らかとなり、欧米では、ステロイド抵抗性GVHD患者に投与され、特に小児では良好な成績が報告されている。しかし、従来の報告ではMSCの培養系に牛胎児血清が用いられていることからプリオン病などBiohazardの問題がある。当科では、牛胎児血清の代わりにヒト由来の血小板融解産物を用いることで、より安全なMSCの培養系を確立し、「造血幹細胞移植後のステロイド抵抗性GVHDに対する骨髄由来MSC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」を行っている。

【対象と方法】対象はGVHD Grade II以上と診断され、methylprednisolone (mPSL) 2mg/kg/day治療開始3日間で病態の悪化を認めるかまたは1週間の時点でGrade II以上のGVHDが不変であること。治療プロトコールは1回めに患者体重1kg当たり 1×10^6 個のMSCを静脈内に投与する。重篤な有害事象が見られなければ、1週間おきに1回の割合で3倍ずつ増量し、合計3回まで投与する（2回目； 3×10^6 /kg, 3回目； 9×10^6 /kg）。GVHD抑制効果がみられた場合は投与細胞数を増量せず、その細胞数を継続投与可能とする。

【症例1】15歳男児の慢性骨髄単球性白血病急性転化、寛解導入療法後、HLAハプロ一致の父より同種造血幹細胞移植を行った。day18より生着症候群が出現しmPSL投与にて軽快した。Day28より水様下痢出現。mPSL増量しても症状増悪し、day31には3400mLの水様下痢となった。Day30にinfliximab、day33にbasiliximabを投与したが症状は軽快せず、day36にMSC(1.0×10^6 /kg)を輸注した。Day40には下痢量は減少。Day42にMSC2回目(1.6×10^6 /kg)投与、下痢量はさらに減少し、day56に消失した。

【症例2】5歳男児(RAEB)にHLAハプロ一致の母より同種造血幹細胞移植を行った。Day9より発熱、Day13より皮疹出現し、mPSL投与するも皮疹は全身に広がり、水様下痢出現したため、Day17にinfliximab投与するも改善なく血便を伴うようになり、day33にbasiliximabを投与し下痢量が減少した。しかし、TBが日に日に上昇し、Day23にTB15.6(DB11.7)となったため治療抵抗性肝GVHD grade4と診断し、MSC(7.1×10^5 /kg)を輸注した。投与2日後よりTBが減少に転じ、水様下痢も減少、Day30にMSC2回目(1.0×10^6 /kg)投与、TBはさらに減少し、day40に1.8まで低下し、下痢も消失した。

【考察】ヒト由来の血小板融解産物を用いた骨髄由来MSC投与は、mPSL、infliximab、basiliximabに抵抗性のGradeIV腸管GVHD、肝GVHDをきたした症例に対し、安全に投与でき有効であった。引き続き臨床第 I 相試験を継続する。

マウスモデルを使った慢性移植片対宿主病の病態解明と新規治療薬開発に関する研究

岡山大学 血液・腫瘍内科 前田嘉信

移植後支持療法を含めた治療法の改善によって長期生存者とともに慢性 GVHD は増加傾向にある。そのため、allo-HSCT 後の晩期合併症として慢性 GVHD コントロールの重要性は増している。しかし、慢性 GVHD は第一選択の治療である副腎皮質ステロイド療法を施行しても治療抵抗性を示す例が多い。難治性慢性 GVHD は著しく患者の QOL を損なうだけでなく致死的となり得る。従来から Th2 細胞の病態への関与が推定されているが、慢性 GVHD の発症メカニズムの解明は不十分であり、副腎皮質ステロイド以外に有効な治療法もいまだ確立されていない。我々は、マウスモデルを用い、慢性 GVHD の発症に Th2 細胞だけでなく Th1 細胞と Th17 細胞も関与していることを明らかにしてきた。

Am80 は、わが国で合成されたレチノ安息香酸に属するレチノイドであり、APL 治療における ATRA 耐性の克服と、ATRA を上回る治療効果が期待されている。また、Am80 には皮膚に分布するレチノイン酸 γ receptor に親和性がないため、皮膚粘膜障害等の副作用が ATRA に比べ軽いことが推測される。Am80 の様々の薬理作用に Th17 への分化抑制作用に加え IFN- γ 抑制効果が報告されている。慢性 GVHD マウスモデルにおいて Am80 を投与した群では、有意に慢性 GVHD が軽減され、特に皮膚病変の改善が顕著であった。また、Am80 投与のタイミングは発症前に投与した予防群、発症後に投与した治療群のどちらにおいても効果を認めた。これらの基礎研究を踏まえ、臨床試験において慢性 GVHD に対する Am80 の安全性と有効性を検討する予定である。

また、補助シグナル programmed death-1 (PD-1) が、移植後の長期免疫寛容と慢性 GVHD 発症に関与しているかを検討した結果、PD1 のリガンド PD-L1 ノックアウトマウスは Th17 への分化が促進され慢性 GVHD が悪化した。さらに血液細胞ではなく組織に発現している PD-L1 が重要であることが明らかとなった。

平成 25 年度

第 2 回 造血細胞移植合同班会議

平成25年度 第2回 造血細胞移植合同班会議 プログラム

開催日 : 2014年1月11日(土)・1月12日(日) (2日間)

場 所 : 独立行政法人 国立がん研究センター中央病院 国際会議室・研究所セミナールーム

東京都中央区築地5-1-1 Tel : 03-3542-2511(代表)

初日 平成26年1月11日(土)

◆10時00分～12時45分

10:00～11:30 本邦における造血細胞移植一元化登録研究システムの確立 (研究代表者 熱田 由子)

11:30～12:45 成人難治性造血器腫瘍に対する同種造血幹細胞移植療法の治療成績向上につながる
基盤整備のための多施設共同研究 (研究代表者 福田 隆浩: 開発費)

◆13時45分～19時00分

13:45～15:15 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
(研究代表者 神田 善伸)

15:15～16:15 適応拡大に向けた臍帯血移植の先進化による成績向上と普及に関する研究
(研究代表者 高橋 聡)

16:15～17:00 新たな造血幹細胞移植法の開発: 生着効率の向上を目指して (研究代表者 村田 誠)

17:00～17:30 臓器移植・造血幹細胞移植後の日和見感染に対する有効でかつ安全な多ウイルス特異的な
T細胞療法の開発と導入に関する研究 (研究代表者 森尾 友宏)

17:30～19:00 移植細胞源を異にする非血縁造血細胞移植の組織適合性に基づく成績向上と移植選択
アルゴリズムの確立に関する研究 (研究代表者 森島 泰雄)

2日目 平成26年1月12日(日)

◆8時30分～12時30分

8:30～10:30 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)

10:30～11:00 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) (研究代表者 菊田 敦)

11:00～12:30 難治性造血器腫瘍に対する造血幹細胞移植の治療成績向上を目指した未承認・適応外薬
のエビデンス確立に関する研究 (研究代表者 福田 隆浩: がん臨床)

◆14時00分～16時00分 (予定)

公開シンポジウム

◆ 合同班会議 班構成及び研究代表者名は以下の通りです ◆

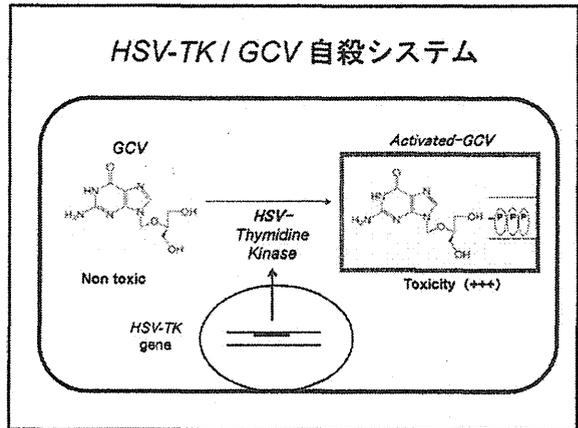
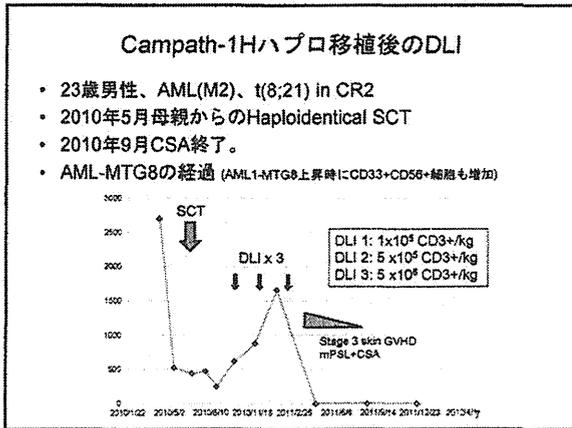
- ① 本邦における造血細胞移植一元化登録研究システムの確立 (H23-免疫一般-013)
研究代表者 熱田由子
- ② 成人難治性造血器腫瘍に対する同種造血幹細胞移植療法の治療成績向上につながる基盤整備のための多施設共同研究 (がん研究開発費 23-A-28) 研究代表者 福田 隆浩
- ③ HLA 不適合血縁者間移植の安全性および有効性向上のための包括的研究 (H23-免疫一般-009)
研究代表者 神田善伸
- ④ 適応拡大に向けた臍帯血移植の先進化による成績向上と普及に関する研究 (H24-難治等(免)一般 008)
研究代表者 高橋 聡
- ⑤ 新たな造血幹細胞移植法の開発：生着効率の向上を目指して (H25-難治等(免)一般-104)
研究代表者 村田 誠
- ⑥ 臓器移植・造血幹細胞移植後の日和見感染に対する有効かつ安全な多ウイルス特異的な T 細胞療法の開発と導入に関する研究 (H25-難治等(免)一般-105) 研究代表者 森尾 友宏
- ⑦ 移植細胞源を異にする非血縁造血細胞移植の組織適合性に基づく成績向上と移植選択アルゴリズムの確立に関する研究 (H23-免疫一般-010) 研究代表者 森島 泰雄
- ⑧ 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
- ⑨ 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) 研究代表者 菊田 敦
- ⑩ 難治性造血器腫瘍に対する造血幹細胞移植の治療成績向上を目指した未承認・適応外薬のエビデンス確立に関する研究 (H25-がん臨床一般-012) 研究代表者 福田 隆浩

平成 25 年度第 2 回造血細胞移植合同班会議 【神田班】

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 (H23-免疫一般-009)
研究代表者 神田善伸

平成 26 年 1 月 11 日 (土) 13 時 45 分～15 時 15 分

1. HLA 不適合移植不適合移植後の HSV-TK 遺伝子導入リンパ球輸注療法の日韓共同治験
自治医大さいたま医療センター 神田善伸 (8 分)
2. 低用量アレムツズマブを用いた進行期造血器腫瘍に対する HLA 不適合同種造血幹細胞移植
の有効性の検討
自治医大さいたま医療センター 賀古真一 (8 分)
3. 当施設における移植後シクロフォスファミドを用いた HLA 半合致移植
筑波大学 千葉 滋 (8 分)
4. HLA 不適合造血幹細胞移植後の免疫再構築
広島大学 一戸辰夫 (8 分)
5. 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
国立がん研究センター中央病院 山下卓也 (8 分)
6. MHC 半合致 RIST のマウスモデルにおいて、ホスト制御性 T 細胞は GVL 効果を
妨げることなく GVHD を抑制する
兵庫医科大学 井上貴之、池亀和博、小川啓恭 (8 分)
7. 減量サイモグロブリンを用いた HLA 一抗原不適合移植の前方視的試験
自治医大さいたま医療センター 諫田淳也 (8 分)
8. 造血幹細胞移植における骨髄由来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
臨床第 I 相試験
名古屋大学 高橋義行、小島勢二 (8 分)
9. マウスモデルを使った慢性移植片対宿主病の病態解明と新規治療薬開発に関する研究
岡山大学 前田嘉信、藤井伸治 (8 分)



TBI-1101 治験 計画概要

治験の種類

- HLA不適合移植を受けた非寛解もしくは再発患者、又はHLA不適合移植後に重篤な感染症を患している患者に対するHSV-TKドナーリンパ球 (TBI-1101) の安全性及び有効性の検討 (第I/II相臨床試験)

試験デザイン

- 第I/II相非盲検試験
- 国際共同試験 (日本、韓国)

試験の目的

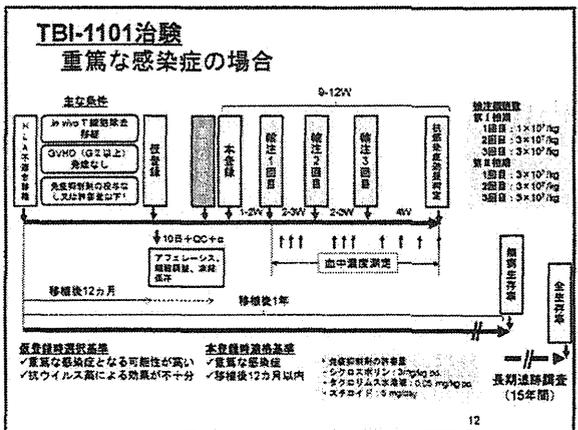
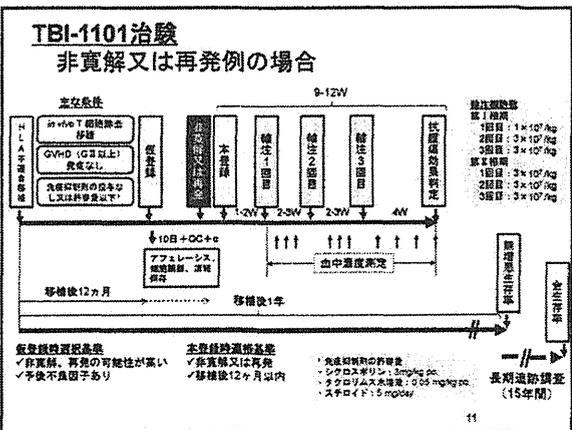
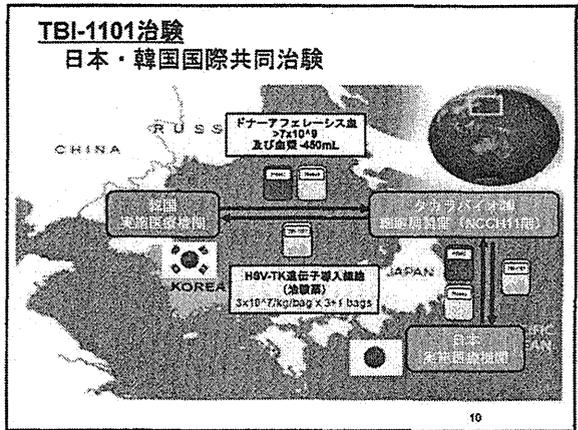
- 主観目的
 - 第I相期: 安全性、血中濃度
 - 第II相期: 抗白血病効果、抗感染効果、GCV投与によるGVHD沈静化

対象

- HLA不適合移植によるHLA不適合移植を受けた非寛解もしくは再発、又はHLA不適合移植後に重篤な感染症を患している造血器悪性腫瘍の患者 (移植後12か月以内)

目標症例数 (詳細可能例として)

- 第I相期: 3例
- 第II相期: 27例
- 合計: 30例



**低用量アテムツズマブを用いた
進行期造血器腫瘍に対する
HLA不適合同種造血幹細胞移植の有効性の検討**

2014年1月11日
自治医科大学附属さいたま医療センター血液科
箕古 真一

アテムツズマブ(Campath-1H)の臨床試験

平成16年度厚生労働省科学研究費補助金ヒトゲノム・再生医療等研究事業「アテムツズマブを用いたHLA不適合による血液腫瘍からの同種造血幹細胞移植法の開発に関する研究」(真(造血幹細胞移植))

alemtuzumab 0.96mg/kg

Disease status	TRM	Relapse
CR1 (n=2)	0	1
CR2 (n=3)	1	0
nonCR (n=4)	0	3
MDS (n=2)	0	0
Total (n=11)	1	4

Safe, but excessively immunosuppressive.
(no grade II-IV acute GVHD)

欧米のHLA一致血縁者、非血縁者間移植においては
10~20mg/bodyのalemtuzumabが至適投与量では。

↓

日本人のGVHD発症率は欧米人よりも低い

日本人でのHLA不一致血縁者間移植なら
0.5mg/kgまで減量しても可能では。

投与のタイミングはこれまでに合わせてday-4,-3で。
*1日投与量は最大15mg(2日で1バイアル(30mg)
を超えない。

対象

16歳以上、85歳未満

ドナーはHLA 2座以上不一致血縁者
HLA-抗原不一致までの血縁ドナーがいない
(ただし、移植後再発で強力なGVHD効果を期待する場合には、
適切な血縁ドナーがいてもHLA不適合ドナーを優先しても良い)
JMDPIにHLA1遺伝子座不一致までのドナーがいない、もしくは待てない

acute leukemia: 第一再発期以降あるいは初回治療抵抗性症例
* Ph+ALLや寛解導入が困難であった急性白血病では、CR1でも良い

CML: 第一急性転化期以降の症例

ML: 治療抵抗性症例あるいは自家移植後の再発例

MDS: 他の治療に反応せず重症あるいは最重症のAAIに相当する血球減少が持
続する症例あるいは芽球が20%以上に増加した症例

ATLL: 急性型あるいはリンパ腫型の症例

AA: 免疫抑制療法に反応せず重症あるいは最重症の規準を満たす症例

Age<55	8	7	6	5	4	3	2	1	0
TBI 2x2 Gy/day									
Cy 60 mg/kg/day									
alemtuzumab 0.25 mg/kg/day									
PBSCT									

GVHD予防は

CsA 3mg/kg day-1 ~ target血中濃度は500ng/ml
MTX 10mg/m² day1, 7mg/m² day3, 6, 11

Age<55	8	7	6	5	4	3	2	1	0
Fludarabine 25 mg/m ²									
Melphalan 40 mg/m ² /day									
TBI 2x2 Gy/day									
alemtuzumab 0.25 mg/kg/day									
PBSCT									

主要評価項目：
 移植後60日の時点でドナー細胞が生着し、3度以上の急性GVHDの発症が無く、かつ生存している場合に成功例と判断する。

副次的評価項目：
 (i) 1年再発率、非再発死亡率
 (ii) 1年生存率
 (iii) 免疫回復(CD4、CD8、CD4/8比、CD19、CD56、サイトメガロウイルス抗原血症陽性化頻度、EBV活性化頻度等)

2012年4月から2015年3月までの3年間で14症例を目標とする。

患者背景 +全例alemtuzumab併用

例	年齢	性別	原疾患	移植前治療	移植細胞	移植後経過
1	60	男性	MDS (RAEB2)	初回無治療	Flu/β2/TB4	1
2	22	女性	AML (M4)	CR2	Flu/β2/TB4	2 (初回HLA一致同胞)
3	43	男性	AML (M2)	PIF	CY/TBI	1
4	19	男性	AML (M2)	Rel1	Flu/β2/TB4	2 (初回バンク)
5	29	男性	ALL	Rel1	CY/TBI	1
6	61	男性	MDS(RAEB1)	Rel1	Flu/β2/TB4	2(初回調帯血)
7	27	女性	SAA	refractory	Flu/Mel80/TB4	1
8	28	女性	ALL	Rel2	Flu/Mel80/TB4	2 (初回バンク)
9	44	男性	AML(M1)	Rel1	CY/TBI	1

年齢: 19-81歳(中央値: 29歳), MF: 6/3
 CR/nonCR: 2/5 (1名:SAA)
 輸注CD34陽性細胞数: 3.1-5.5 × 10⁶/kg (中央値: 3.9 × 10⁶/kg)
 輸注CD3陽性細胞数: 0.9-3.2 × 10⁶/kg (中央値: 1.1 × 10⁶/kg)

ドナー情報

例	性別	年齢	移植血	2症	3症	一致
1	弟	57	末梢血	2症	2症	一致
2	兄	38	末梢血	2症	2症	major
3	妹	40	末梢血	3症	3症	一致
4	父	49	末梢血	2症	2症	minor
5	妹	25	末梢血	3症	3症	一致
6	娘	37	末梢血	3症	3症	一致
7	父	63	末梢血	3症	3症	一致
8	母	54	末梢血	3症	2症	major
9	弟	41	末梢血	2症	3症	一致

年齢: 25-83歳(中央値: 41歳)
 同胞/親子: 5/4

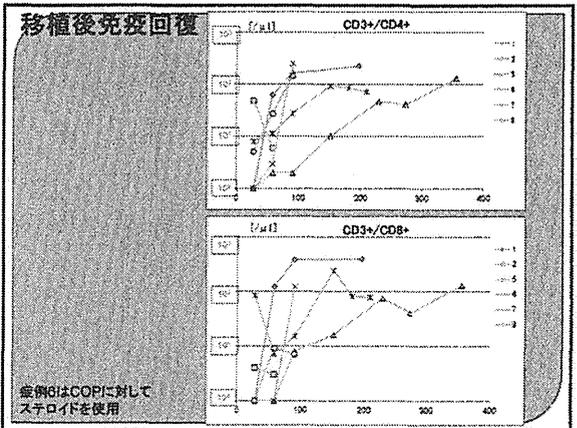
移植後情報 生着日中央値: day 20

例	年齢	性別	移植日	移植後経過	移植後経過	移植後経過	移植後経過	移植後経過
1	31 (-)	21	day28	—	limited	—	生存	539
2	20 (-)	到達せず	移植前CR	grade 1 (skin 1)	—	—	死亡	85
3	24 (-)	到達せず	—	grade 1 (skin 2)	CRに達せず	—	死亡	109
4	18 (-)	18	day34	grade 1 (skin 2)	day60に再発確認	—	死亡	198
5	20 (+)	162	day33	—	—	—	生存	376
6	21 (-)	20	day41	grade 1 (skin 2)	limited	—	生存	271
7	14 (+)	19	—	—	—	—	生存	216
8	到達せず (+)	到達せず	—	—	—	CRに達せず	死亡	30
9	19 (+)	64	day38	—	—	day127に再発確認	生存	182

ウイルス感染症

例	CMV	EBV	HSV	巨細胞	麻疹	水痘
1	+/+	+/+	あり	なし	なし	なし
2	+/+	+/+	あり	なし	なし	単純ヘルペス
3	+/+	+/+	あり	なし	なし	なし
4	+/+	+/+	あり	なし	なし	髄膜炎
5	+/+	+/+	あり	髄膜炎	なし	単純ヘルペス
6	+/+	+/+	あり	なし	なし	単純ヘルペス
7	+/+	+/+	あり	なし	あり	髄膜炎 単純ヘルペス
8	+/+	+/+	なし	なし	なし	出血性膀胱炎
9	+/+	+/+	なし	なし	なし	なし

症例7: 2回のATG投与歴あり
 症例5,6,7: HSV感染症はACV抵抗性であった
 致死的なウイルス感染症はなし



- ・感染症による早期死亡1例を除き、全例好中球生着を認めている。
- ・Grade 3以上の重篤な急性GVHDは認められていない。また、評価可能症例において、全身型慢性GVHDは認められていない。
- ・CD4陽性細胞、CD8陽性細胞の回復に関しては、day 100-150で100/ μ L程度まで回復できる症例が多そうである。
- ・CMV感染症のコントロールは比較的容易であったが、EBV-LPDの発症あり。またACVでコントロールできないHSV感染症を多く認めた。致死的ではないがウイルス感染症は多く、今後の検討が必要である。
- ・2回目移植、非寛解期移植が対象であるが、移植関連合併症は少なく治療が行えている。
- ・MDSを除く非寛解期症例の多くで、疾患の長期コントロールは困難であった。ウイルス感染症が多いことも考慮し、非寛解期症例に対してtelemtuzumabのさらなる減量を考慮していく必要があるであろう。

移植後シクロフォスファミドを用いた HLA 半合致移植

筑波大学医学医療系 千葉 滋

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。

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。対象は、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である。ドナーは、HLA 8 座中、アリル 4 座以上 6 座以下合致した血縁者とした。幹細胞ソースは末梢血幹細胞または骨髄のいずれも可とした。前処置は、症例および疾患背景により、(1)全身放射線照射(12 Gy/6 Fr)およびリン酸フルダラビン(150 mg/m²)、あるいは(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)および全身放射線照射(2 Gy)のいずれかを選択することとした。免疫抑制は、シクロフォスファミドを day 3 および day 5 に 50 mg/kg ずつ投与し、またサイクロスポリンを day -1 から持続静注、MMF を day -1 から day 30 まで 2000 mg/日の経口投与を行った。

これまで、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 (grade 2) を認めたが、他症例には GVHD は出現しなかった。Day 100 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。

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。

平成 25 年度厚生労働科学研究補助金(免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業)
「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」(神田班)
平成 25 年度第 2 回研究会議 (2014 年 1 月 11 日 於:国立がん研究センター中央病院)

HLA 不適合造血幹細胞移植後の免疫再構築

研究分担者 一戸辰夫 広島大学原爆放射線医科学研究所 血液・腫瘍内科研究分野 教授
研究協力者 鈴木隆二 国立病院機構相模原病院 臨床研究センター 室長
大島久美 広島大学原爆放射線医科学研究所 血液・腫瘍内科研究分野 講師

近年、抗体医薬品による *in vivo* T 細胞除去術や移植後大量シクロホスファミドなどの新規技術の開発により、HLA 不適合血縁者間造血幹細胞移植の安全性は飛躍的に向上している。しかし、HLA 不適合血縁者間移植後の GVL 効果や感染症の制御、不適合 HLA に対するトランスなどにかかわる免疫系の再構築が、従来の HLA 適合ドナーからの移植と比較してどのような特徴を有しているのかについては、まだ十分な知見が得られていない。HLA 不適合造血幹細胞移植後に発生するさまざまな免疫学的合併症を高い精度で予測する技術が開発され、それらの合併症に対する医学的介入を適切なタイミングで実施することが可能となれば、移植成績のさらなる向上に寄与することが予測される。

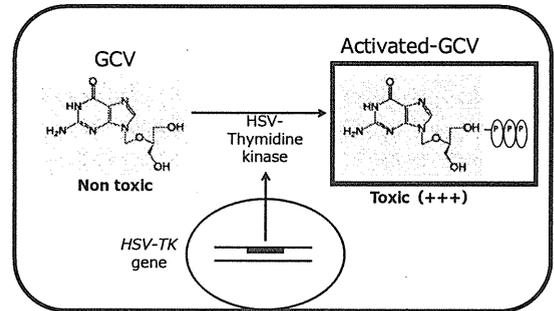
現在、造血幹細胞移植後の免疫再構築のモニタリング方法としては、細胞生物学的あるいは分子生物学的な手法による特定のリンパ球集団の経時的追跡や T 細胞受容体のレパトワ解析などが用いられている。しかし、これらの方法は煩雑で時間を要するため、臨床現場におけるリアルタイムの意思決定には有用ではない上に、すべての細胞集団を捕捉するための網羅性や微量の細胞群の動態を解析するための再現性などの点に課題が残されていた。

われわれは、このような従来の免疫モニタリング方法の限界を根本的に克服することを目指し、454 プラットフォームの高速 DNA シーケンサーを用いて、個々の T 細胞受容体の CDR3 領域決定遺伝子配列を網羅的かつ定量的に決定する技術の開発を試みている。この「超高解像度レパトワ解析」の精度はきわめて高く、理論的には検体中に含まれる 1 クローンの同定も可能である。また、非バイアス遺伝子増幅技術を用いているため定量性にもすぐれており、次世代免疫バイオインフォマティクスの導入によって、シーケンスデータのインポートから V-D-J 領域配列のアサインメントまでを数分以内に実施することが可能である。現在、本技術を移植後 T 細胞レパトワ解析に導入するための予備的検討を進めており、HLA 不適合血縁者間移植と他の移植法との間における免疫再構築の特徴を比較するための臨床研究を計画中である。

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

国立がん研究センター中央病院
 造血幹細胞移植科
 山下 卓也

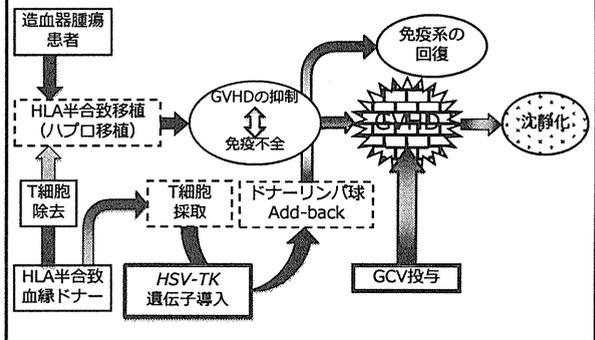
HSV-TK/GCV自殺システム



国立がん研究センターにおける
 HSV-TK遺伝子導入リンパ球を用いた
 同種造血幹細胞移植関連遺伝子治療

- 1) 同種移植後再発に対するHSV-TK導入リンパ球輸注療法
 → 治験
- 2) CD34陽性細胞選択HLA不適合移植 +
 HSV-TK導入リンパ球 "Add-back" 療法
 → 臨床研究

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



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

これまでの経験から

- (1) GVHD制御効果の発現について
- (2) リンパ球回復について
- (3) 適格症例のリクルートについて

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

プロトコール改訂作業中

- 1) 初回 "Add back" 細胞数
- 2) 被験者選択基準及び除外基準

「MHC 半合致 RIST のマウスモデルにおいて、ホスト制御性 T 細胞は GVL 効果を妨げることなく GVHD を抑制する」

兵庫医科大学 血液内科

井上貴之、池亀 和博、小川啓恭

(背景) 我々は、移植前処置の強度を軽減することによって、HLA 半合致ドナーからの移植が、安全に施行可能であることを示してきた(BBMT 2006; 12:1073)。この HLA 半合致 RIST では、ほぼ全症例で速やかな生着が得られ、また重症 GVHD 発症の頻度も約 10 %と低く保たれ、抗腫瘍効果も維持された。しかし、GVHD を伴わずに GVL 効果が発現する詳細なメカニズムは分かっていない。その機序を明らかにするため、マウスの MHC 半合致 RIST モデルを作成し、以下の研究を行った。

(方法) MHC 半合致マウス移植モデルとして、BDF1 (H-2b/d)→B6C3F1 (H-2b/k) を使用し、移植細胞として T 細胞除去した骨髄細胞 (5×10^6) と脾臓細胞 (2×10^7) を尾静脈より輸注した。移植前処置の全身放射線照射 (TBI) の照射量を変えることで、day 70 までに致死的な重症 GVHD を発症するフル移植モデル (MAST) と全例生存するミニ移植モデル (RIST) を樹立した。

(結果) 移植後第 2 週目までに、GVHD 標的臓器である腸管において、MAST 群で有意な組織学的破壊とドナー T 細胞の有意な浸潤を認めた。CFSE を用いた解析から、特に腸間膜リンパ節において MAST 群と比べて、RIST 群において有意なドナー T リンパ球数の減少が認められた。同時に RIST 群のリンパ節においては、移植後 2 週目までに mixed chimerism の状態を呈し、ホスト由来の制御性 T 細胞 (Foxp3+CD4 T 細胞) の有意な増殖を認めた。残存ホスト制御性 T 細胞は、BrdU を用いた解析から移植後 4 日目をピークに増殖しており、ドナー由来制御性細胞と比べ、初期の免疫抑制細胞の大部分を担っていることが判明した。これらの残存ホスト制御性 T 細胞は、*in vitro* および *in vivo* 解析から、GVHD を抑制する機能を保持していることが判明した。さらに、その抑制機序は、ホスト樹状細胞の活性抑制を介していることが判明した。また、ホスト由来の白血病細胞を challenge した実験では、ホスト制御性 T 細胞は GVHD を抑制するものの、GVL 効果の発現に影響を与えないことが判明した。

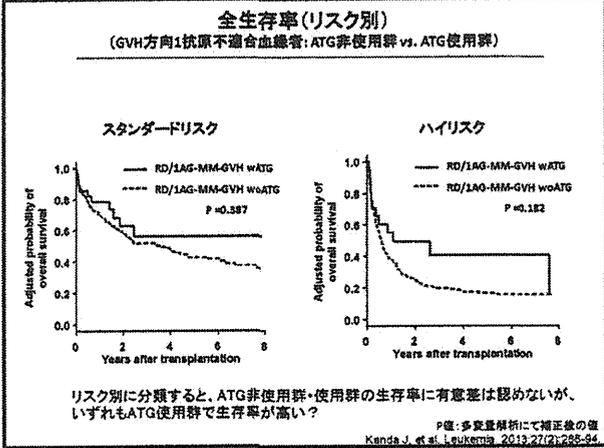
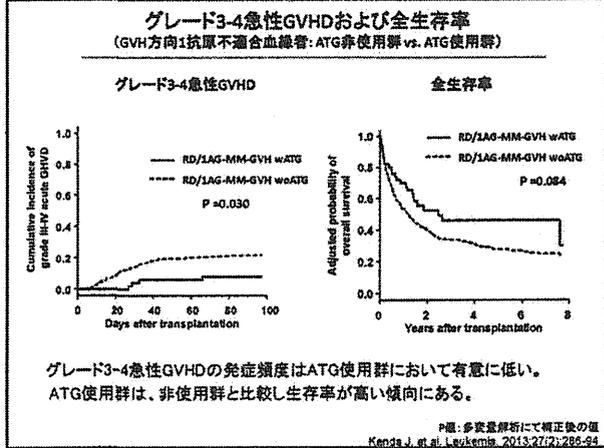
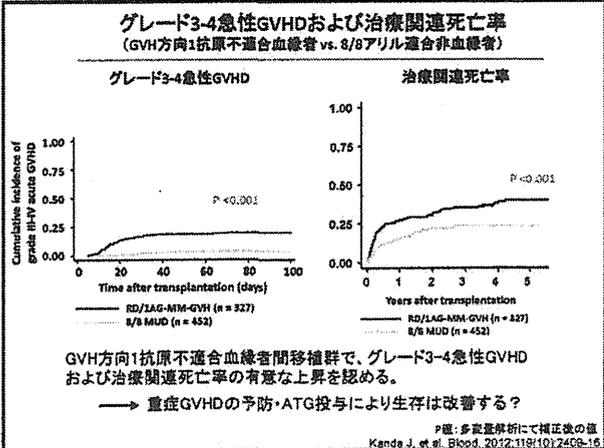
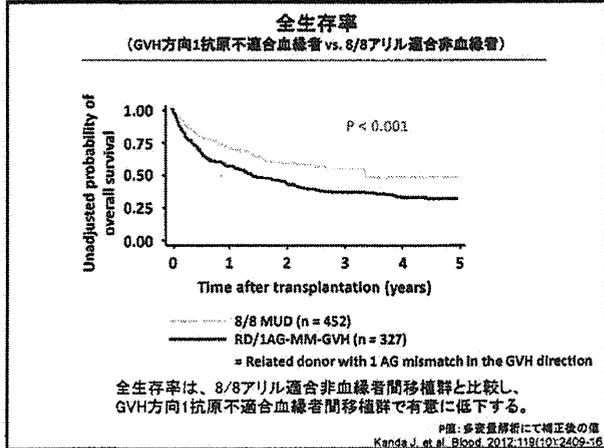
(考察) MHC 半合致 RIST のマウスモデルにおいては、移植後残存するホスト由来制御性 T 細胞がホスト樹状細胞の成熟抑制を介して GVH 反応を抑制することで、GVHD 発症を軽減させていた。移植後短期間、残存するホスト由来制御性 T 細胞が、MHC 半合致 RIST 後の GVHD を伴わない GVL 効果の発現に寄与していることが示された。

平成25年度第2回造血幹細胞移植学会誌発表
 ◎国立がん研究センター中央病院(2014年1月11日~12日)
 免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業 神田健
 「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」

**減量サイモグロブリンを用いた
HLA-I抗原不適合移植の前方視的試験**

~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
藤田 淳也



本研究の目的

GVHD予防法にATGを用いた、GVH方向HLA-I抗原不適合血縁者からの造血幹細胞移植療法の有効性および安全性を多施設共同第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

- ◆ 1回以上の同種移植歴あるいは2回以上の自家移植歴
(2013年8月26日改訂)
- ◆ 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

- ◆ 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 day1, 3, 6 10-7 mg/m²
非感染性発熱を認める場合はday11 MTX 7 mg/m²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プロトコル以外
の移植前処置を行う場合は研究事務局に相談する。

A 骨髄破壊的前処置

- (a) TBI (12Gy) + CPA (120 mg/kg) ± Ara-C (2-12g/m²)
- (b) ivBU (12.8 mg/kg) + CPA (120 mg/kg)

B 緩和的前処置

- (a) FLU (120-180mg/m²) + ivBU (6.4-12.8mg/kg) ± TBI (2-4 Gy)
- (b) FLU (120-180mg/m²) + MEL (80-140 mg/m²) ± 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

IRB申請中・参加表明施設(37施設)

北海道大学病院
北海道がんセンター
錢鉄記念堂病院
福島県立医科大学附属病院
筑波大学附属病院
群馬県済生会前橋病院
埼玉医科大学国際医療センター
埼玉医科大学総合医療センター
千葉大学医学部附属病院
国立がん研究センター中央病院
慶應義塾大学病院
NTT東日本関東病院
神奈川県立がんセンター
虎の門病院分院
長岡赤十字病院
金沢医科大学病院
名古屋第二赤十字病院
名古屋市立大学病院
愛知県がんセンター中央病院

京都大学医学部附属病院
京都府立医科大学附属病院
近畿大学医学部附属病院
大阪大学医学部附属病院
大阪市立大学医学部附属病院
社会医療法人生長会 府中病院
一般財団法人 住友病院
北野病院
兵庫県立がんセンター
和歌山県立医科大学附属病院
倉敷中央病院
山口大学医学部附属病院
徳島大学病院
高知大学医学部附属病院
九州がんセンター
九州医療センター
佐賀県医療センター好生館
熊本大学医学部附属病院

2013年12月27日現在

IRB通過施設(18施設)

自治医科大学附属さいたま医療センター
横浜市立大学附属市民総合医療センター
愛知医科大学附属病院
日本赤十字社医療センター
市立函館病院
仙台医療センター
九州大学病院
佐賀大学医学部附属病院
滋賀医科大学医学部附属病院
大手前病院
鹿児島大学病院
熊本医療センター
江南厚生病院
東北大学病院
佐世保市立総合病院
大阪赤十字病院
兵庫医科大学病院
名古屋医療センター

2013年12月27日現在

GANDPの活動にたいして感謝状を贈ることは、GANDPの活動を支援する方にとって重要なことです。

【研究の目的】
GANDPの活動は、がん患者の生活の質を向上させることを目的として行われています。本研究は、GANDPの活動が患者の生活の質にどのような影響を及ぼしているかを明らかにすることを目的としています。

【研究の方法】
本研究は、GANDPの活動に参加している患者を対象として行われます。研究期間は、2013年8月26日から2014年3月までです。

第1.1版 (2013年8月26日)

質問等ありましたら、諫田までお問い合わせください。
address: jkandajp@gmail.com

↑
クリック

造血幹細胞移植における骨髄由来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第Ⅰ相試験

高橋義行、小島勢二

名古屋大学大学院医学系研究科小児科学

【背景】ステロイド抵抗性GVHDは同種造血幹細胞移植後の致命的合併症の1つであり、有効な治療法の確立が望まれている。近年、骨髄由来間葉系幹細胞（MSC）が強力な免疫抑制作用を有することが明らかとなり、欧米では、ステロイド抵抗性GVHD患者に投与され、特に小児では良好な成績が報告されている。しかし、従来報告ではMSCの培養系に牛胎児血清が用いられていることからプリオン病などBiohazardの問題がある。当科では、牛胎児血清の代わりにヒト由来の血小板融解産物を用いることで、より安全なMSCの培養系を確立し、造血幹細胞移植後のステロイド抵抗性GVHDに対して骨髄由来MSCによる臨床第1相試験を行っている。【対象と方法】対象はGVHD GradeⅡ以上と診断され、methylprednisolone（mPSL）2mg/kg/day治療開始3日間で病態の悪化を認めるかまたは1週間の時点でGradeⅡ以上のGVHDが不変であること。治療プロトコールは1回めに患者体重1kg当たり 1×10^6 個のMSCを静脈内に投与する。重篤な有害事象が見られなければ、1週間おきに1回の割合で3倍ずつ増量し、合計3回まで投与する（2回目； 3×10^6 /kg, 3回目； 9×10^6 /kg）。GVHD抑制効果がみられた場合は投与細胞数を増量せず、その細胞数を継続投与可能とする。【症例1】15歳男児の慢性骨髄単球性白血病急性転化、寛解導入療法後、HLAハプロ一致の父より同種造血幹細胞移植を行った。Day28より水様下痢出現。mPSL投与も症状増悪し、day31には3400mLの水様下痢となった。Day30にinfliximab、day33にbasiliximabを投与したが症状は軽快せず、day36、Day42にMSC投与し、下痢はday56に消失した。【症例2】5歳男児（RAEB）にHLAハプロ一致の母より同種造血幹細胞移植を行った。Day9より発熱、Day13より皮疹出現し、mPSL投与するも皮疹は全身に広がり、水様下痢出現したため、Day17にinfliximab投与するも改善なく血便を伴うようになり、day33にbasiliximabを投与し下痢量が減少した。しかし、TBが上昇し、Day23にTB15.6（DB11.7）となったため治療抵抗性肝GVHD grade4と診断し、MSC1回目を投与した。投与2日後よりTBが減少に転じ、水様下痢も減少、Day30にMSC2回目投与、TBはさらに減少し、day40に1.8まで低下し、下痢も消失した。【症例3】23歳男児の慢性肉芽腫症、HLA一致兄弟より同種造血幹細胞移植を行った。移植後混合キメラに対しドナーリンパ球輸注を漸増しながら計7回施行し、完全ドナーキメリズムが得られた。しかしながら皮疹、下痢が出現し、mPSL2mg/kg/日にて皮疹が軽快したものの水様下痢が増悪、下血によりHb5台まで低下した。ステロイド抵抗性GVHDと診断し、infliximab、basiliximabを投与したが下血は軽快せずMSCを2回輸注した。下痢量の減少、下血が止まっている。【考察】ヒト由来の血小板融解産物を用いた骨髄由来MSC投与は、mPSL、infliximab、basiliximabに抵抗性のGradeⅣ腸管GVHD、肝GVHDをきたした症例に対し、いずれも安全に投与でき有効であった。引き続き臨床第Ⅰ相試験を継続する。

マウスモデルを使った慢性移植片対宿主病の病態解明と新規治療薬開発に関する研究

岡山大学 血液・腫瘍内科 前田嘉信

我々は、マウスモデルを用い、慢性 GVHD の発症に Th2 細胞だけでなく Th1 細胞と Th17 細胞も関与していることを明らかにしてきた。特に IL-17 と IFN- γ を同時に産生する Th17/Th1 細胞が特異的に出現しており、Th17 細胞の亜型である alternative Th17 が慢性 GVHD に関与する可能性が示唆された。

Am80 は、わが国で合成されたレチノ安息香酸に属するレチノイドであり、APL 治療における ATRA 耐性の克服と、ATRA を上回る治療効果が期待されている。また、Am80 には皮膚に分布するレチノイン酸 γ receptor に親和性がないため、皮膚粘膜障害等の副作用が ATRA に比べ軽いことが推測される。Am80 の様々の薬理作用に Th17 への分化抑制作用に加え IFN- γ 抑制効果が報告されている。慢性 GVHD マウスモデルにおいて Am80 を投与した群では、有意に慢性 GVHD が軽減され、特に皮膚病変の改善が顕著であった。また、Am80 投与のタイミングは発症前に投与した予防群、発症後に投与した治療群のどちらにおいても効果を認めた。これらの基礎研究を踏まえ、慢性 GVHD に対する Am80 の安全性と有効性を検討する臨床試験を計画したので現状を報告する。

また、マウスモデルで示唆された alternative Th17 および Th1 細胞の両方を抑制する目的で、IL-12/IL-23 p40 抗体の有効性を検討した。p40 抗体を投与した群では、臨床的かつ病理組織学的に慢性 GVHD が有意に軽減された。IL-17 産生細胞の Tbet 発現を検討した結果、Th17 が alternative からより免疫抑制的な classical Th17 にシフトしており、p40 抗体の慢性 GVHD 抑制のメカニズムであると考えられた。ヒトに対する p40 抗体は、Ustekinumab としてクローン病や乾癬に対する臨床試験の結果が報告されており、慢性 GVHD にも臨床応用できる可能性が示唆された。