

『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、当該治療法の安全性、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