

の登録例がなかった。近隣の医療機関の協力を得て症例集積に一層努める必要がある。

E. 結論

引き続き治験を継続して症例集積に努める。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Koh K, Tomizawa D, Moriya Saito A, Watanabe T, Miyamura T, Hirayama M, Takahashi Y, Ogawa A, Kato K, Sugita K, Sato T, Deguchi T, Hayashi Y, Takita J, Takeshita Y, Tsurusawa M, Horibe K, Mizutani S, Ishii E. Early use of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for infants with MLL gene-rearrangement-positive acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia*. 29(2): 290-6, 2015.
- 2) Hayakawa F, Sakura T, Yujiri T, Kondo E, Fujimaki K, Sasaki O, Miyatake J, Handa H, Ueda Y, Aoyama Y, Takada S, Tanaka Y, Usui N, Miyawaki S, Suenobu S, Horibe K, Kiyoi H, Ohnishi K, Miyazaki Y, Ohtake S, Kobayashi Y, Matsuo K, Naoe T; Japan Adult Leukemia Study Group (JALSG). Markedly improved outcomes and acceptable toxicity in adolescents and young adults with acute lymphoblastic leukemia following treatment with a pediatric protocol: a phase II study by the Japan Adult Leukemia Study Group. *Blood Cancer J*. 4:e252. 2014.

2. 学会発表
なし

G. 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

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）

分担研究報告書

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）

分担研究課題 「成人領域の移植」

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

肝中心静脈閉塞症（VOD）は、致死率の高い同種造血幹細胞移植後合併症である。本邦には、VOD に対して保険で認可された薬剤はない。defibrotide は、VOD の予防および治療薬として、欧米で認可されている薬剤である。本試験は、defibrotide の保険適応を目指し、医師主導治験として、VOD high risk 患者に対する予防、および VOD 患者に対する治療において、本薬剤の安全性、有用性を前方向試験として行う。

A. 研究目的

肝中心静脈閉塞症（hepatic veno-occlusive disease = VOD）は、同種造血幹細胞移植後に生じる肝臓の類洞静脈（sinusoid）の閉塞性疾患で、移植の致命的な合併症の 1 つである。再移植例、ブスルファン、ゲムツズマブオゾガマイシン使用例で、発生頻度が高くなるとされている。VOD を発症すると、重症なものでは、80%以上の死亡率がある一方、本邦では、現在までのところ、保険で認可された薬剤は存在しない。一方、海外では、defibrotide は、VOD の予防や治療に有効であったとする報告がなされている。さらに、米国 FDA では治療について、2003 年オーファン指定がなされ、欧州医薬品庁（EMA）では、2004 年に治療と予防の両方で、オーファ

ン指定がなされ、使用可能になっている。そこで、本研究では、医師主導治験として、VOD を起こしやすい条件の移植患者で defibrotide の VOD の予防効果を、また VOD を生じた患者でその治療効果を解析するとともに、DF の薬物動態を解析し、本薬剤の本邦での保険適応を目指す。

B. 研究方法

以下の前向き臨床試験は、厚生労働科学研究費補助金「肝中心静脈閉塞症（VOD）の予防および治療におけるデフィブロタイド（DF）の有効性および安全性試験」（FMU-DF-002, 003）（菊田班）の臨床研究の一貫として行われる。

a) 予防投与試験

13名の移植患者に対して、予防投与群：対

照(非投与)群を、2:1のランダム割り付けにより、薬剤を投与する。

選択基準

- 1) 年齢50歳未満(同意取得時)
- 2) 原疾患が以下のいずれかである。
 1. 非寛解の悪性腫瘍
 2. 寛解の悪性腫瘍
 3. 大理石骨病
 4. 大理石骨病以外の非悪性腫瘍
- 3) 以下のVODリスクを1つ以上有する。
 1. 2回目の骨髄破壊的移植
 2. 非寛解期移植
 3. 全身状態がPS(ECOG)2以上
 4. Bu/Me1またはBu/Cyを含む前処置での移植
 5. 移植前に肝障害(T-Bil, ALT, AST, gGTPがGrade 2(CTCAE v4.0-JCOG)以上を有する
 6. HCV抗体陽性
 7. 移植前100日以内にゲムツズマブオゾガマイシン投与既往
 8. 大理石骨病
- 4) 本治験参加について、前観察期の検査前に被験者本人または代諾者から文書による同意が得られている。

除外基準

原プロトコールに定められた8項目にしたがって、実施される。

治療計画/中止基準

詳細は、原プロトコールに定められており、それを遵守する。

b) 治療投与試験

4名のVOD患者に対する治療を計画している。成人での造血幹細胞移植後VODに対するDF

の治療効果を評価する。副次的には、DFの造血幹細胞移植患者における安全性、ならびにVOD発症時のDFの薬物動態について評価する。

- 1) 主要評価項目: 造血幹細胞移植後のVOD患者における移植後100日の生存
- 2) 副次的評価項目:
 1. 有効性関連: 重症VODのday 100/day 180の生存、全VODのday 100/day 180の生存など
 2. 安全性関連: 出血発現割合、有害事象プロファイルなど
 3. DFの薬物動態

選択基準

移植後35日までに黄疸(T-Bil \geq 2 mg/dL)かつ、以下のうち少なくとも2項目を満たす例をVODと定義する。

1. 肝腫大(腹部CT検査にて確認を行う)
2. 腹水(腹部CT検査にて確認を行う)
3. 原因の説明できないベースラインから5%を越える体重増加

除外基準

1. 出血リスクを増強する薬剤の使用
2. コントロールできない出血の存在
3. 複数の昇圧剤を必要とするような血行動態不安定
4. ウイルス性劇症肝炎合併 など

治療計画/中止基準

詳細は、原プロトコールに定められており、それを遵守する。

(倫理面への配慮)

本治験は本治験実施計画書、薬事法第14条

第3項および第80条の2の規定ならびに平成9年3月27日付厚生省令第28号「医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令」(改正GCP。最終改正：平成20年2月29日厚生労働省令第24号)を遵守し、医師主導治験として実施し、実施に際しては、ヘルシンキ宣言の倫理的原則を遵守して、被験者の人権、福祉および安全を最大限に確保する。患者に治験関連の費用負担はなく、GCPに従い治験保険の加入下で実施する。

C. 研究結果・D. 考察・E. 結論

DFの予防試験として3例を登録し、実薬群2名に対して、偽薬群1名である。現在のところ、VODは出現していない。DFの治療試験は、criteriaに合う症例が出現せず、治療薬の投与には至っていない。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 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. *Int J Hematol*, 99(4): 463-470, 2014.
- 2) Eguchi R, Fujimori Y, Okada M, Tamaki H, Wakabayashi I, Ogawa H. Recombinant human soluble thrombomodulin attenuates FK506-induced endothelial

dysfunction through prevention of Akt inactivation. *Experimental Cell Research*, 323: 112-117, 2014.

- 3) Yamahara K, Harada K, Ohshima M, Ishikane S, Ohnishi S, Tsuda H, Otani K, Taguchi A, Soma T, Ogawa H, Katsuragi S, Yoshimatsu J, Harada-Shiba M, Kangawa K, Ikeda T. Comparison of angiogenic, cyto-protective, and immunosuppressive properties of human amnion-and chorion-derived mesenchymal stem cells. *Plos One*, 9: e88319, 2014.
- 4) Nomura S, Ishii K, Maeda Y, Katayama Y, Yagi H, Fujishima N, Ota S, Seki M, Okada M, Ikezoe T, Hayashi K, Fujita S, Satake A, Ito T, Kyo T, Ishida Y, Chiba S, Ogawa H, Tanimoto M, Sawada K. The preventative effect of recombinant thrombomodulin on transplantation-associated coagulopathy after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Journal of Stem Cell Research & Therapy*, 4: 247, 2014.
- 5) Matsuda I, Okada M, Inoue T, Tokugawa T, Ogawa H, Hirota S. Primary follicular lymphoma of the spleen incidentally found in a patient with alcohol- and hepatitis C-related liver cirrhosis. *Int J Clin Exp Pathol*. 7: 4484-4488, 2014.
- 6) Aoki J, Ishiyama K, Taniguchi S, Fukuda T, Ohashi K, Ogawa H, Kanamori H, Eto T, Iwato K, Sakamaki H, Morishima Y,

- Nagamura T, Atsuta Y, Takami A. Outcome of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for acute myeloid leukemia patients with central nervous system involvement. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 20: 2029-2033, 2014.
- 7) Ueki D, Ikegame K, Kozawa M, Miyamoto J, Mori R, Ogawa H. Risk analysis of falls in patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Clinical Journal of Oncology Nursing*, 18: 396-399, 2014.
- 8) Matsuoka Y, Nakatsuka R, Sumide K, Kawamura H, Takahashi M, Fujioka T, Uemura Y, Asano H, Sasaki Y, Inoue M, Ogawa H, Takahashi T, Hino M, Sonoda Y. Prospectively isolated human bone marrow cell-derived MSCs support primitive human CD34-negative hematopoietic stem cells. *Stem Cells*, in press.
- 9) Fuji S, Takano K, Uchida N, Ogawa H, Ohashi K, Eto T, Sakamaki H, Morishima Y, Kato K, Suzuki R, Fukuda T. Pretransplant diabetes mellitus is a risk factor for infection-related mortality, after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplantation*, in press.
- 10) Konuma T, Ooi J, Uchida N, Ogawa H, Ohashi K, Kanamori H, Aotsuka N, Onishi Y, Yamaguchi H, Kozai Y, Nagamura-Inoue T, Kato K, Suzuki R, Atsuta Y, Kato S, Asano S, Takahashi S. Granulocyte colony-stimulating factor combined regimen in cord blood transplantation for acute myeloid leukemia: a nationwide retrospective analysis in Japan. *Haematologica*, 99(12): e264-268, 2014.
2. 学会発表
- 1) Ishiyama K, Miyawaki S, Kitamura K, Suzuki K, Ishikawa J, Ogawa H, Imai K, Naoe T, Chiba S, Miyazaki Y, Hatta Y, Kurokawa M, Ueda Y, Koga D, Sugiyama H, Takaku F. Clinical usefulness of WT1 mRNA expression in bone marrow detected using a new WT1 mRNA assay kit for monitoring acute myeloid leukemia: A comparison with peripheral blood WT1 mRNA expressions. The 19th European Hematology Association 2014. 6.12-15, Milan, Italy.
- 2) Ikegame K, Kaida K, Ishii S, Yoshihara S, Taniguchi K, Inoue T, Tamaki H, Okada M, Soma T, Ogawa H. Spousal hematopoietic stem cell transplantation for post-transplant relapse/rejection. 2015 BMT Tandem Meetings, 2015.2.11-15, San Diego.
- 3) Ueki S, Tsujitani M, Teranishi Y, Miyamoto J, Mori R, Ogawa H, Ikegame K. Prediction of skin trouble in patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation using

generalized additive model. 2015 BMT Tandem Meetings, 2015. 2. 11-15, San Diego.

- 4) Tamaki H, Ikegame K, Yoshihara S, Kaida K, Inoue T, Okada M, Soma T, Ogawa H. Low incidence of human herpesvirus 6 reactivation in unmanipulated HLA-haploidentical related stem cell transplantation with corticosteroid as graft-versus-host disease prophylaxis. 2015 BMT Tandem Meetings, 2015. 2. 11-15, San Diego.
- 5) 小川 啓恭, 進行期血液腫瘍に対する、低容量 ATG とステロイドを用いた unmanipulated haploidentical RIST. 第 37 回日本造血細胞移植学会, 2015. 3. 5-7, 神戸, Presidential symposium.
- 6) 海田 勝仁, 池亀 和博, 井上 貴之, 岡田 昌也, 玉置 広哉, 相馬 俊裕, 藤盛 好啓, 小川 啓恭, high tumor burden を有する HLA 半合致移植患者に対する、減量 GVHD 予防の有用性. 第 37 回日本造血細胞移植学会, 2015. 3. 5-7, 神戸, Workshop.
- 7) 海田 勝仁, 池亀 和博, 井上 貴之, 岡田 昌也, 玉置 広哉, 相馬 俊裕, 藤盛 好啓, 小川 啓恭, ハプロタイプを共有しない血縁ドナーからの造血幹細胞移植. 第 37 回日本造血細胞移植学会, 2015. 3. 5-7, 神戸, 口演.

G. 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

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）

分担研究報告書

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）

分担研究課題 「成人領域の移植」

研究分担者 中前 博久

公立大学法人大阪市立大学大学院医学研究科 血液腫瘍制御学 准教授

研究要旨

本邦未承認薬 defibrotide (DF) の開発対象である VOD は、発症例が少ない上、発生が予測できず、発症後の転院による治験参加も難しく、小規模の造血細胞移植施設が多数存在する日本においては発症例のみの試験は極めて困難である。本邦での VOD に対する適応取得をめざした DF の開発戦略は、治験実施にて可能な限り高い精度の評価を目指すものの、治療適応については欧州での適応取得の際の EMA への申請資料を含む海外試験の成績を最大限利用しつつ開発、また、予防適応においても海外試験の成績を参考としつつ開発とせざるを得ない。このような背景から、国内試験としては既に実施済みの第 I 相試験で安全性及び薬物動態を確認した後、一定精度での有効性評価を目的とした試験を実施することとした。具体的には標準量単用量での同時対照をおいた非盲検ランダム化試験および臨床薬理試験を実施する。

A. 研究目的

肝中心静脈閉塞症 Venous Occlusive Disease (VOD) は重症なものではその8割以上が死亡転帰をとる致死性の高い病態である。造血幹細胞移植後の比較的早期に生じることから、中等症の場合であっても他の合併症と併発することで結果として集中治療を要する事が少なくない。Defibrotide (DF) は1986年ごろから深部静脈血栓症 (DVT) 予防および血栓性静脈炎の治療薬として用いられていたが、2000年頃に造血幹細胞移植後に生じるVODに

対する治療としての有効性が症例報告されて以来、世界的に急速に用いられるようになった。2003年に米国医薬品食品局 (FDA) で治療についてオーファン指定が、欧州医薬品庁 (EMA) では2004年に治療と予防の両方でオーファン指定がなされ、compassionate use使用されている。急速な普及の背景には、致死性の高い合併症であるため、臨床的な強い要請があった。VODに対して実地診療で行われてきたヘパリンもしくは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などの有効性は

限定的で、副作用としての出血リスクが高まる。一方、本薬は出血傾向が増強しないという特徴をもっていることが有効性の期待以上に大きな普及理由となったと考えられる。重症化例での使用では救命困難であること、予防投与の有効性が相次いで報告され、FDAは2007年に予防についてもオーファン指定しており、本薬は欧米では治療・予防ともに標準使用薬剤と考えられている。日本でも緊急薬として認識され、個人輸入によって小児・成人ともに使用実績があり、現在もVODに対する代替薬の出現をみないことから導入が強く望まれている。

B. 研究方法

(DF 予防試験概要)

[主要目的]

小児・成人同種造血細胞移植患者におけるVODに対するDFの予防効果を評価する。

[副次的目的]

DFの安全性を評価する。

DFの小児・成人での薬物動態を評価する。

[治験デザイン]

- (1) 中央登録制による多施設共同試験
- (2) 標準量単用量での同時対照をおいた非盲検ランダム化試験
- (3) 臨床薬理試験 (DFの薬物動態試験)

[対象]

VOD発症率20%程度と推定されるVODリスクを1つ以上もつ骨髄破壊の前処置を受ける小児・成人の同種造血細胞移植患者。なお、本

治験における小児は同意取得時の年齢を18歳以下とし、成人は19歳以上と定義する。

[選択基準]

- (1) 年齢50歳未満(同意取得時)
- (2) 原病が以下のいずれかであること
 - 1) 非寛解の悪性腫瘍
 - 2) 寛解の悪性腫瘍
 - 3) 大理石骨病
 - 4) 大理石骨病以外の非悪性腫瘍
- (3) 以下のVODリスクを一つ以上持つ骨髄破壊の前処置を受ける同種造血細胞移植患者
 - 2回目以降の骨髄破壊的移植
 - 非寛解期移植
 - 全身状態がPS (ECOG) 2以上
 - Bu/MelまたはBu/Cyを含む前処置での移植
 - 移植前に肝障害(T-Bil、ALT、AST、 γ GTPがGrade2 (CTCAE v4.0- JCOG) 以上)を有する
 - HCV抗体陽性
 - 移植前100日以内のゲムツズマブオゾガマイシン投与既往
 - 大理石骨病
- (4) 本治験参加について、前観察期の検査前に被験者本人または代諾者から文書による同意が得られている。

[目標症例数]

75例(DF予防投与群50例、対照(非投与)群25例)
以下の因子にて DF 予防投与群と対照群に2:1のランダム化割付を行う。

- (1) 小児/成人
- (2) 非寛解の悪性腫瘍とそれ以外
- (3) 大理石骨病/それ以外の疾患

[治療計画]

- (1) アスピリンは治験薬投与開始7日前、ヘパリン、トロンボモジュリンなどの抗凝固、血栓溶解、血小板凝集抑制作用を有する薬剤は治験薬投与開始12時間前までに中止し、治験薬の投与を開始する。
- (2) 用法・用量：6.25mg/kg/回 を1日4回（1日量25mg/kg）、1回あたり2時間かけて静脈内投与する。なお、治験薬の投与量は被験者登録時にデータセンターから通知された投与量とし、治験薬投与期間中は投与量の変更はしない。
- (3) 投与間隔：原則として6時間毎に投与する。（次の治験薬との投与間隔は最低2時間あけ、最長でも8時間以内に投与する。）
- (4) 投与期間：前処置開始1日前から移植後30日（Day30）まで連日投与する。ただし、VOD 発症例はVOD寛解まで治験薬投与を継続可能とする。なお、治験薬の投与は、最長でも移植後100日（Day100）までとする。

[治験実施期間]

2014年3月～2016年3月

(DF 治療試験概要)

[主要目的]

小児・成人での造血細胞移植後VODに対するDFの治療効果を評価する。

[副次的目的]

DFの造血細胞移植患者における安全性を評価する。VOD発症時の小児・成人でのDFの薬物動態について評価する。

[治験デザイン]

- (1) 中央登録制による多施設共同試験
- (2) 単群の非比較オープン第II相試験
- (3) 臨床薬理試験

[対象]

造血細胞移植後の小児・成人のVOD発症症例（年齢を問わず）なお、本治験における小児は同意取得時の年齢を18歳以下とし、成人は19歳以上と定義する。

[選択基準]

- (1) 移植後35日（Day35）までに黄疸（T-Bil $\geq 2\text{mg/dL}$ ）かつ、以下のうち少なくとも2項目以上を満たす例をVODと定義する。
 - 1) 肝腫大
 - 2) 腹水
 - 3) 原因の説明できないベースライン**から5%を超える体重増加治験責任（分担）医師は臨床症状や超音波検査にて評価し、ベースライン検査として腹部CTを実施する。
- (2) 本治験参加について、被験者本人または代諾者から文書による同意が得られている。

[目標症例数]

最大20例（ただし重症VOD症例が10例未満の場合、登録期間内は登録を継続する。）

[治療計画]

- (1) VODの診断確定、同意取得後、可及的速やかに、ヘパリン、トロンボモジュリン、アスピリンなどの抗凝固、血栓溶解、血小板凝集抑制作用を有する薬剤の投与を中止する。
- (2) アスピリンは治験薬投与開始7日前、ヘパリン、トロンボモジュリンなどの抗凝固、血栓溶解、血小板凝集抑制作用を有する薬剤は治験薬投与開始12時間前までに中止し、治験薬の投与を開始する。
- (3) 用法・用量：6.25mg/kg/回を1日4回(1日量25mg/kg)、1回あたり2時間かけて静脈内投与する。なお、治験薬の投与量は被験者登録時にデータセンターから通知された投与量とし、治験薬投与期間中は投与量の変更はしない。
- (4) 投与間隔：原則として6時間毎に投与する。(次の治験薬との投与間隔は最低2時間あけ、最長でも8時間以内に投与する。)
- (5) 投与期間：治験薬は少なくとも21日間、または、VOD寛解まで静脈内投与する。なお、治験薬の投与は、最長でも移植後100日 (Day100) までとする。

[治験実施期間]

2014年3月～2016年3月

(倫理面への配慮)

1. GCPの遵守

本治験は本治験実施計画書、薬事法および「医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令(GCP)」を遵守し、医師主導治験として実施

する。実施に際しては、ヘルシンキ宣言の倫理的原則を遵守して、被験者の人権、福祉および安全を最大限に確保する。

2. 治験審査委員会(IRB)

実施医療機関の長は、本治験について、実施医療機関に設置された治験審査委員会(IRB)において審査された後に、審査結果に基づいて、治験実施を承認する。

3. 治験計画の届出

本治験においては、実施医療機関の長が治験審査委員会の意見に基づいて治験の実施を了承した後に、薬事法第80条の2に基づき実施医療機関の治験責任医師が“自ら治験を実施する者”として厚生労働大臣に治験の計画を届出した上で実施する。

4. 被験者の同意

同意・説明文書、アセント文書の作成

治験責任医師は、治験への参加の同意を得るために用いる同意・説明文書およびその他の説明文書を作成する。また、20歳未満の被験者に対しては、被験者の代諾者(親権者、配偶者、後見人又はそれらに相当する人等、被験者の最善の利益を計り得る人)への同意・説明文書、並びに被験者本人へのアセント文書を作成する。これらの文書の使用にあたっては、あらかじめ治験審査委員会の承認を得る。

5. 被験者のプライバシー保護

被験者のプライバシー保護の観点から、本治験中は全てのデータを症例番号のみで特定する。データは解析の全過程においても同様にマスクして処理する。

実施医療機関は、被験者の秘密が保全されることを条件に、原資料等の治験に関連する全ての記録について、治験責任医師から指名

されたモニタリング担当者または監査担当者、あるいは必要に応じ治験審査委員会による直接閲覧に供するものとする。また、本治験は治験薬提供者による医薬品承認申請を想定して実施されるが、承認審査の過程で厚生労働省等規制当局が症例記録と原資料との照合を要求した場合には、治験責任医師等はその要求を受け入れなければならない。ただし、この場合も被験者の秘密は保全される。また、本治験の結果公表をする場合も被験者の秘密は保全されるものとする。

治験責任(分担)医師は、原資料等の上記の直接閲覧および治験責任(分担)医師による治験結果の公表を行うこと、その際、被験者のプライバシーが侵されることはないことを、あらかじめ被験者または代諾者に説明し、同意を得ておかなければならない。

その他、業務上、被験者のプライバシーに関する情報を知り得る者は、その秘密を保全しなければならない。

C. 研究結果

平成 27 年 3 月 17 日時点での登録数は、計 6 例(成人)(予防試験 3 例、治療試験 3 例)である。

D. 考察

当院では、年間約 40 例の同種移植を行っており、2 回目以降の移植例や非寛解期移植も積極的に行っている。現時点での登録数は予防試験 3 例で、治療試験は 3 例である。治療試験においては当初、当院の目標症例数は 3 例で、一旦、目標症例数に到達したが、試験期間を考慮して、症例数を 4 例に拡大している。

予防試験においては、当院の目標症例数は 13 例で、現在 3 例の登録で、23%の到達率であるが、当院では、年間同種移植数が増加してきており、試験期間内の登録は十分可能であると考えている。

E. 結論

重症の VOD は極めて予後不良で、一旦、発症すると救命が困難であり、同種移植成績の向上のためにも、有効な予防薬、治療薬の早期の開発が期待される。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

G. 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

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）

分担研究報告書

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）

分担研究課題 「小児領域の移植」

研究分担者 高橋 義行

名古屋大学大学院医学系研究科 成長発達医学 准教授

研究要旨

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。肝中心静脈閉塞症（VOD）と GVHD の発症時期はオーバーラップしており、診断と治療にはときに慎重な判断が必要である。今回、我々は造血幹細胞移植における VOD に対する本邦未承認薬 defibrotide の治療試験登録症例において、一旦 VOD が改善した後に、ステロイド抵抗性 GVHD を合併し、VOD 再燃と GVHD の鑑別が困難であった症例を経験した。ステロイド抵抗性 GVHD に対する骨髄由来間葉系幹細胞（MSC）療法の第 I 相試験に登録し、MSC 投与後に著効が得られた。

A. 研究目的

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 に対して骨髄由来 MSC による臨床第 I 相試験を行っている。

今回、我々は骨髄移植後 VOD を発症し、その治療中に、ステロイド抵抗性 GVHD を合併し、鑑別が困難であった症例を経験し、MSC 投与が有効であった症例を経験した。

B. 研究方法

ステロイド抵抗性 GVHD に対する MSC 療法の第 I 相試験は、対象：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

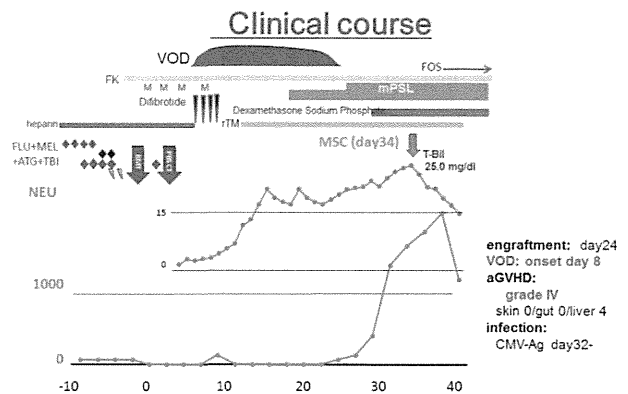
1回めに患者体重 1kg 当たり 1×10^6 個の MSC を静脈内に投与する。重篤な有害事象が見られなければ、1週間おきに1回の割合で3倍ずつ増量し、合計3回まで投与する(2回目; 3×10^6 /kg, 3回目; 9×10^6 /kg)。GVHD 抑制効果がみられた場合は投与細胞数を増量せず、その細胞数を継続投与可能とする。

(倫理面への配慮)

本臨床研究については、当院の倫理審査委員会にて審査承認を受けている。

C. 研究結果

症例: 2歳男児の慢性骨髄単球性白血病、骨髄バンクドナーからの同種移植5か月めに再発した。1回目の移植から9か月後にHLAハプロ一致の母より同種造血幹細胞移植を行った。Day7よりTB 2.7mg/dlと上昇し、体重増加、腹水認め、肝中心静脈閉塞症(VOD)と診断し、defibrotideの国内導入のための治療試験に登録し、defibrotideを開始した。以後も徐々にTBの上昇、体重増加、腹水増大が進行したため、7日で投与を中止し、トロンボモジュリン、PGE2、ダナパロイドナトリウム、ATIII製剤、メチルプレドニゾロン1mg/kg/日の投与を行ったところ、Day19のTB 19.3 mg/dlをピークに減少に転じ、体重、腹水も減少し、移植前体重まで戻った。しかしながらDay23よりTBが再度上昇に転じた。体重増加もなく腹水もないものの、メチルプレドニゾロン1mg/kg/日を2週間投与してもTBが25.0mg/dlまで上昇したため、ステロイド抵抗性GVHDとしてMSCを患者体重1kg当たり 1.4×10^6 個のMSCをDay36に輸注した(下図)。



以後TBが徐々に減少し、2回の輸注後に5未満まで低下した。輸注に伴う急性副作用はなく以後経過を観察中である。

D. 考察

骨髄移植後のVODに対し、defibrotideの投与に引き続き、PGE2の投与およびリコモジュリン、オルガランの投与後にVODは改善し、体重増加も消失したが、その後の経過で、体重増加、腹痛を伴わない、TBの上昇が見られ、VODの再燃かGVHDか判別が困難であった。生検が困難であったが、ステロイド抵抗性GVHDとしてMSC投与を行い著効が得られた。

E. 結論

VODとGVHDの発症時期はオーバーラップしており、診断と治療には慎重な判断が必要であった。ヒト由来の血小板融解産物を用いた骨髄由来MSC投与は、ステロイド抵抗性のGVHDに対し、安全に投与でき有効であった。引き続き第I相試験を継続中である。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Fukano R, Mori T, Kobayashi R, Mitsui T, Fujita N, Iwasaki F, Suzumiya J, Chin M, Goto H, Takahashi Y, Hara J, Park YD, Inoue M, Koga Y, Inagaki J, Sakamaki H, Adachi S, Kawa K, Kato K, Suzuki R. Haematopoietic stem cell transplantation for relapsed or refractory anaplastic large cell lymphoma: a study of children and adolescents in Japan. *Br J Haematol*. 2015 Feb;168(4):557-63.
 - 2) Kawashima N, Ito Y, Sekiya Y, Narita A, Okuno Y, Muramatsu H, Irie M, Hama A, Takahashi Y, Kojima S. Choreito formula for BK virus-associated hemorrhagic cystitis after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2015 Feb;21(2):319-25.
 - 3) Kobayashi R, Yabe H, Kikuchi A, Kudo K, Yoshida N, Watanabe K, Muramatsu H, Takahashi Y, Inoue M, Koh K, Inagaki J, Okamoto Y, Sakamaki H, Kawa K, Kato K, Suzuki R, Kojima S. Bloodstream infection after stem cell transplantation in children with idiopathic aplastic anemia. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2014 Aug;20(8):1145-1149.
 - 4) Umeda K, Adachi S, Tanaka S, Ogawa A, Hatakeyama N, Kudo K, Sakata N, Igarashi S, Ohshima K, Hyakuna N, Chin M, Goto H, Takahashi Y, Azuma E, Koh K, Sawada A, Kato K, Inoue M, Atsuta Y, Takami A, Murata M. Comparison of continuous and twice-daily infusions of cyclosporine A for graft-versus-host-disease prophylaxis in pediatric hematopoietic stem cell transplantation. *Pediatr Blood Cancer*. 2015;62:291-298.
 - 5) Yoshida N, Kobayashi R, Yabe H, Kosaka Y, Yagasaki H, Watanabe K, Kudo K, Morimoto A, Ohga S, Muramatsu H, Takahashi Y, Kato K, Suzuki R, Ohara A, Kojima S. First-line treatment for severe aplastic anemia in children: bone marrow transplantation from a matched family donor versus immunosuppressive therapy. *Haematologica*. 2014 Dec;99(12):1784-1791.
2. 学会発表
 - 1) Takahashi Y. Hematopoietic stem cell transplantation from an alternative donor for childhood aplastic anemia: HLA haploidentical family donor vs HLA mismatched unrelated donor. 40th Annual Meeting of the EBMT. Apr. 9, 2014. Milano, Italia.
 - 2) 高橋 義行. 造血細胞移植後にみられる感染症に対する治療の進歩. 第117回日本小児科学会学術集会. 2014年4月11日. 名古屋.
 - 3) 高橋 義行, 関屋 由子, 川島 希, 成田 敦, 土居崎 小夜子, 奥野 友介, 入江 正寛, 村松 秀城, 濱 麻人, 小島 勢二. Unmanipulated HLA

haploidentical bone marrow transplantation combined with PBSC using high dose ATG. 第76回日本血液学会学術集会. 2014年10月31日. 大阪.

- 4) 高橋 義行. KIR ligand incompatible allogeneic cord blood transplantation for high risk neuroblastoma as an KIR mismatched NK cell immunotherapy. 難治性神経芽腫に対する KIR リガンド不一致性同種臍帯血移植を用いたアロNK細胞免疫療法の試み. 第56回日本小児血液・がん学会学術集会. 2014年11月30日. 岡山.

G. 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

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）

分担研究報告書

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）

分担研究課題 「小児領域の移植」

研究分担者 後藤 裕明

地方独立行政法人神奈川県立病院機構神奈川県立こども医療センター

血液・再生医療科 部長

研究要旨

小児白血病に対する造血細胞移植の成績を向上するために、造血細胞移植合併症に対するより有効な予防と治療法を開発することを目的に研究を行った。

本年度は医師主導治験に参加し、defibrotide を造血細胞移植後に使用した症例における臨床経過を検討し、VOD 発症の予測因子として血液中の protein C 活性および PAI-1 値測定の意義を検討した。

A. 研究目的

昨年度に引き続き、小児急性白血病患者に対する造血細胞移植の成績向上を目的に研究を行った。造血細胞移植は小児の難治性白血病に対する根治的な治療法として用いられている。小児白血病に対する造血細胞移植の成績を向上させるためには、移植後の重症合併症を有効に予防する方法、なかでも肝中心静脈閉塞症（hepatic veno-occlusive disease: HVOD）をはじめとする血管内皮症候群の予防法を開発することが重要である。

移植前処置における大量化学療法、放射線、免疫抑制剤、および移植後免疫応答により産生される炎症性サイトカインなどの刺激は、いずれも血管内皮の活性化を引き起こすこと

が知られている。これらの刺激が過剰に作用すると、血管内皮障害を引き起こし、やがてはHVODや血栓性微小血管障害といった血管内皮症候群を来すと考えられている¹。血中 protein C 活性やPAI-1値などの血管内皮活性化マーカーの測定は移植後の血管内皮障害におけるバイオマーカーになりうると考えられているが^{2,3}、小児の造血細胞移植における有用性は明らかではない。

今年度の研究目的は、defibrotide を予防投与された小児造血細胞移植患者において、移植期間中の血中 protein C 活性値、PAI-1 値推移を観察し、HVOD の臨床症状との関連を検討することで、これらのマーカーが defibrotide 投与中の患者でも HVOD の病勢を反映するかを

検討することである。

B. 研究方法

1. defibrotide を用いた医師主導治験に参加し、治験管理室などの研究体制を整備する。
2. 難治性急性骨髄性白血病に対し非血縁臍帯血移植を施行された症例において、defibrotide 予防投与を行い、投与期間中の血中 protein C 活性および PAI-1 値、の推移を観察した。

(倫理面への配慮)

医師主導治験の研究計画書、患者説明書、同意書について施設内研究審査委員会での審議と承認を得た。治験参加にあたっては、患者家族に対し文書を用いて説明を行い、同意を得たうえで治験薬の投与を行った。

C. 研究結果

1. 神奈川県立こども医療センター治験管理室内に defibrotide 治験事務局を設定し、治験参加に向けた体制を整備した。本年度は当センターから 1 例の治験参加を得た。
2. defibrotide 予防投与を行った症例は 13 歳、Noonan 症候群を基礎疾患としてもつ急性骨髄性白血病 (FAB 分類 M5a) の男性患者である。白血病細胞は遺伝子異常 Flt3-ITD を有した。第 2 骨髄再発期、非寛解状態で非血縁臍帯血移植を施行された。第 1 再発後に血縁末梢血幹細胞移植を施行されており、今回は 2 回目の造血細胞移植であった。移植前処置には全身放射線照射 12 Gy、cytarabine 2 g/m² x 4、cyclophosphamide 60 mg/kg x 2 を用いた。cytarabine 投与 12

時間前から G-CSF 5 μg/kg/d を 48 時間持続投与した。移植臍帯血は HLA 7/8 アリル一致であり、細胞数 3.15 x 10⁷/kg、CD34 陽性細胞数 7.35 x 10⁴/kg であった。GVHD 予防には短期 methotrexate + cyclosporine を使用した。defibrotide 予防投与は治験プロトコールに従い、移植 10 日前から 6.25 mg/kg を 1 日 4 回点滴静注した。

移植直後から、前処置前と比較して 5%以上の体重増加を認め、移植後 13 日目から無痛性の肝腫大を認めた。この時点では超音波検査で門脈血流の異常を認めていなかったが、移植後 19 日目に施行した超音波検査では門脈血流の低下を認め、またビリルビン上昇 (総ビリルビン値 2.3 mg/dl) を認めたため HVOD と診断した。これに対して defibrotide の投与を継続し、他の治療は追加しなかったが、HVOD の症状は悪化せず、移植後 20 日以降は体重が減少傾向となった。ビリルビン上昇と肝腫大は移植後 2 か月以上持続したが、移植後 54 日目に施行した超音波検査では門脈血流の正常化を確認した。

移植経過中の protein C 活性、PAI-1 値の推移を表 1 に示した。移植後 14~21 日目に protein C 活性は 50%未満に低下し、PAI-1 値は最高値 73.9 ng/ml を示した。これらは移植後 19 日目に HVOD と診断した臨床経過と一致する結果であった。移植後 26 日目以降、protein C 活性は上昇、PAI-1 値は低下した。移植後 57 日目に defibrotide は投与終了としたが、以降も血管内皮活性化マーカーの変化は認めず、HVOD 症状の再燃は認めなかった。

この症例では白血球、好中球の生着を移植後 21 日に確認した。移植後 2 か月までの HVOD 以外の合併症として、grade III の急性 GVHD (消化管 stage 2、肝 stage 1)、皮膚・粘膜障害 (grade 3)、呼吸障害 (grade 3) を認めたが、移植後 2 か月の時点で、いずれも軽快した。

D. 考察

今回の症例は、非寛解期の悪性疾患に対する 2 回目の骨髄破壊的前処置を用いた同種造血細胞移植患者であり、移植前に肝障害、mylotag の投与歴を有しており、HVOD 発症の高リスク患者であると考えられ、defibrotide 予防試験に参加した。

移植直後から水分貯留によると思われる体重増加と肝腫大を認め、HVOD の発症が疑われたが、肝腫大は有痛性とはならず、症状の進展は緩徐であった。最終的には移植後 19 日目に超音波所見で門脈血流の低下を認めたことから HVOD と診断したが、診断確定直後からむしろ体重は減少傾向となった。

われわれは自施設の造血細胞移植患者を後方視的に検討し、移植後 14～28 日目の血中 protein C 活性低下 (56.5%未満) と PAI-1 高値 (20.8 ng/ml 以上) は感度 86.1%、特異度 91.7%で HVOD 発症を予測しうることを報告した (第 56 回日本小児血液・がん学会学術集会)。今回の症例でも移植後 11 日目以降にこの基準値を満たしており、移植後早期から HVOD を発症していた可能性が疑われる。

defibrotide 投与により血中 protein C 活性が上昇することが報告されており⁴、自験例でも移植後、defibrotide 予防投与中は血中

protein C 活性が高値のまま経過することを経験したが (平成 25 年度本研究報告書)、HVOD 発症時には defibrotide 投与中でも血中 protein C 活性が低下することが今回の症例で示され、PAI-1 値とともに、血管内皮活性化に関わるバイオマーカーとして HVOD 発症予測と診断に有用である可能性が示唆された。

E. 結論

defibrotide 医師主導治験参加に向けて体制を整備し、本年度、当センターから 1 例の治験参加があった。この症例では複数の HVOD 発症危険因子を有しており、defibrotide 投与中であつたにも関わらず HVOD を発症したが、症状の推移は緩やかであり重症化はみられなかった。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) [Goto H](#), Kaneko T, Shioda Y, Kajiwara M, Sakashita K, Kitoh T, Hayakawa A, Miki M, Kato K, Ogawa A, Hashii Y, Inukai T, Kato C, Sakamaki H, Yabe H, Suzuki R, Kato K. Hematopoietic stem cell transplantation for patients with acute lymphoblastic leukemia and Down syndrome. *Pediatr Blood Cancer*. 62(1):148-52, 2015.

2. 学会発表

1) [Goto H](#), Kaneko T, Shioda Y, Kajiwara M, Sakashita K, Kitoh T, Hayakawa A, Miki M, Kato K, Ogawa A, Hashii Y, Inukai T, Kato C, Sakamaki H, Yabe H, Suzuki R, Kato K. Hematopoietic stem cell

- transplantation for patients with acute lymphoblastic leukemia and Down syndrome. 8th SIOP-Asia Congress. 2014年4月. ソウル.
- 2) 神奈川県立こども医療センター血液・再生医療科 飯島 弘之, 岩崎 史記, 溝部 吉高, 関水 匡大, 宮川 直将, 更科 岳大, 福田 邦夫, 横須賀 とも子, 浜之上 聡, 塩味 正栄, 後藤 晶子, 後藤 裕明. 造血幹細胞移植における肝中心静脈閉塞症の発症予測因子の解析. 第56回日本小児血液・がん学会学術集会. 2014年11月. 岡山.
- 3) Salat C, Holler E, Kolb HJ, Pihusch R, Reinhardt B, Penovici M, Ledderose G, Hiller E. The relevance of plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1) as a marker for the diagnosis of hepatic veno-occlusive disease in patients after bone marrow transplantation. *Leuk Lymphoma*. 33:25-32, 1999.
- 4) Cinotti S, Salvadori M, Amato M, Longo G, Nazzari M, Morfini M. Hemodialysis with defibrotide: effects on coagulation parameters. *Filimberti E, Int J Artif Organs*. 15:590-4, 1992.

G. 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

引用文献

- 1) Carreras E, Diaz-Ricart M. The role of the endothelium in the short-term complications of hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant*. 46:1495-502, 2011.
- 2) Iguchi A, Kobayashi R, Kaneda M, Kobayashi K. Plasma protein C is a useful clinical marker for hepatic veno-occlusive disease (VOD) in stem cell transplantation. *Pediatr Blood Cancer*. 54:437-43, 2010.

表1. defibrotide予防投与を受けた症例における移植後の血中protein C活性、PAI-1値の推移

day	-9	0	5	11	14	18	21	26	35	39	47	53	60
Protein C (%)	60.6	57.5	57.2	50.5	46.7	43.4	39.9	91.5	94.2	56.3	55.6	89.2	100.2
PAI-1 (ng/ml)	10.1	<10.0	24.7	25.5	41.2	73.9	25.7	28.8	10.1	13.8	13.3	25.0	13.0