

難治性・再発性 HIV 関連血液腫瘍に対する自己末梢血幹細胞移植の開発 および特異的 DNA メチル化パターンによる診断法の開発

研究分担者 萩原将太郎 国立国際医療研究センター血液内科 医長

研究要旨 難治性・再発性 HIV 関連悪性リンパ腫の予後は極めて不良であり、有効な治療法の開発が急がれている。我々は、自己末梢血幹細胞移植による治療法の安全性と有効性を確かめるため多施設共同臨床第 Ⅲ 相試験を継続実施している。昨年度、研究期間を 3 年間延長し症例の蓄積を進めている。現在 7 施設で IRB 承認を得ており、13 例の仮登録と 8 例の本登録を得ている。

HIV 感染者の末梢血 T リンパ球のみならず B リンパ球においても健常人のリンパ球に比して DNA メチル化パターンが変化することを示した。HIV 感染が、末梢血リンパ球の DNA メチル化に変動をきたす可能性が考えられ、HIV 関連リンパ腫の発症機序を考えるうえで重要な知見と思われた。

A. 研究目的

1 . AIDS 関連リンパ腫は、HAART 時代における日和見合併症の中で重要かつ難治性の疾患である。特に初回治療不応あるいは再発性の AIDS 関連リンパ腫は極めて予後不良であり、治療方法の確立が喫緊の課題である。国立国際医療センターにおいて 2005 年より実施した難治性再発性 AIDS 関連リンパ腫に対する自己末梢血幹細胞移植を用いた治療法のパイロット研究では 10 例中 8 例に移植を実施し、7 例で長期寛解を得ている。初回治療抵抗性および再発性 AIDS 関連リンパ腫に対するサルベージ療法の有効性安全性を検討するため、多施設共同臨床第 Ⅲ 相試験を計画した。

2 . 我々は、これまでの研究で、HIV 関連リンパ腫の DNA メチル化パターンが非 HIV リンパ腫と異なること示した。HIV 関連リンパ腫の発症機序の解明とともに早期診断への応用を模索するため、健常人リンパ球と HIV 感染者の末梢血リンパ球における DNA メチル化パターンへの影響を検討する。

B. 研究方法

1 . 難治性および再発性 HIV 関連悪性リンパ腫に対する MEAM 療法を前処置とする HAART 併用自己末梢血幹細胞移植に関する多施設共同第 Ⅲ 相臨床試験

HIV 感染に関連した日和見合併症としての悪性リンパ腫を発症した患者のうち、初回化学療法に対して難反応のもの、あるいは再発例を対象とする。本試験では、初回治療で CR または CRu に到達できなかった症例、あるいは再発の患者について仮登録を行い、移植適応を確認できた症例について本登録を行う。本試験への参加者は、仮登録の際にサルベージ療法から始まる一連の幹細胞採取、本登録後の自己末梢血幹細胞移植について十分な説明を受けて文書で同意を得た者とし、さらに本登録前に確認のために自己末梢血幹細胞移植について再度十分な説明をうけることを前提とする。難治性再発性 HIV 関連悪性リンパ腫に対して、ESHAP ± リツキシマブあるいは ICE ± リツキシマブによるサルベージ療法を 1-4 コース施行する。サルベージ療法の骨髄回復期において自己末梢血幹細胞採取術を施行し、CD34 陽性細胞 $2 \times 10^6 / \text{kg}$ 以上を採取する。サルベージ療法により部分寛解以上の治療効果が得られた症例で、HAART を併用し MEAM 療法を前処置とした自己末梢血幹細胞移植を行う。Primary endpoint は 2 年生存率。Secondary endpoints は移植後 100 日目の生存率、各治療段階での寛解率、毒性の評価、採取率、生着率、CD4 の数、HIV ウイルス量。

昨年度、研究期間を 3 年間延長したため 2018 年 3 月 31 日までとなった。

(倫理面への配慮)本試験に関係する全ての研究者はヘルシンキ宣言(2008年ソウル改訂)および臨床研究に関する倫理指針(平成20年7月31日全部改正)に従って本試験を実施する。患者登録に先立って、担当医は患者本人に施設の倫理委員会の承認が得られた説明文書により同意を得る。

2. DNAメチル化プロファイリングによる診断への応用

健常人から得た末梢血Tリンパ球およびBリンパ球とHIV感染者から得た末梢血Tリンパ球とBリンパ球におけるDNAメチル化プロファイリングを解析、比較検討する。

1) 検体収集

文書で同意を得た健常人ドナーから末梢血約60mlをヘパリン加真空管にて採血する。瀉血療法施行中のHIV感染者を対象に瀉血した廃棄血液を回収。

2) 試料調製

健常人末梢血およびHIV感染者血液よりリンパ球分画を抽出し、さらにT細胞およびB細胞分画を分離

3) DNA抽出

リンパ球DNAを抽出する。

4) メチル化DNAマイクロアレイ解析

抽出されたgenomic DNAに対してイルミナ社のマイクロアレイチップを用いてメチル化DNAマイクロアレイ解析を行う。

5) 詳細分析

マイクロアレイ解析の結果より、HIV感染による特異的メチル化パターンの変動、メチル化遺伝子群の判定解析等を行う。

(倫理面への配慮)

健常人ボランティアドナーにたいして、説明文書をもちいて説明を行い、文書による同意を得る。試料は、採取された後直ちに個人情報削除(連結可能匿名化)した上で管理する。国立感染症研究所および解析委託業者へは個人情報は送付しない。メチル化解析の結果についても完全に匿名化することにより、個人情報の漏洩を防ぐ。連結可能匿名化の対応表は個人情報管理者が厳重に管理する。本研究の成果を学会や論文において公表する場合であっても、試料提供者個人の特定につながる情報が掲載されないようにする。

C. 研究結果

1. 難治性および再発性HIV関連悪性リンパに対するMEAM療法を前処置とするHAART併用自己末梢血幹細胞移植に関する多施設共同第相臨床試験

2014年3月時点でのIRB承認施設は以下の7施設である。

国立病院機構 名古屋医療センター

国立病院機構 大阪医療センター

国立国際医療研究センター戸山病院

北海道大学病院

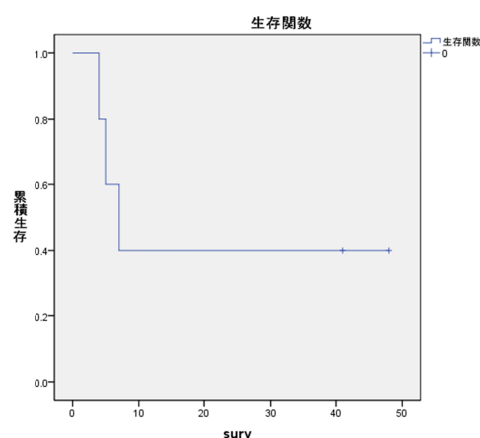
東京大学医科学研究所附属病院

国立病院機構九州医療センター

がん・感染症センター 都立駒込病院

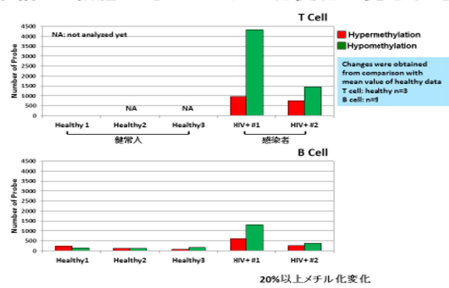
症例登録の状況は、仮登録症例13例、本登録8例である。現時点では問題となる有害事象の報告はない。これまでの症例登録数は予定を下回っており、さらなる症例の蓄積が必須である。これまでの症例を用いた中間解析を施行した。

<図. 本登録8例における全生存曲線>



2. HIV関連リンパ腫におけるDNAメチル化プロファイリングの診断への応用

HIV感染者におけるTリンパ球のDNAメチル化プロファイルは健常人のTリンパ球に比べて大きく異なることが示されたと同時に、HIVが感染しないBリンパ球においてもHIV感染者では健常人Bリンパ球とDNAメチル化パターンが明確に異なることが示された。



1. 難治性・再発性 HIV 関連悪性リンパ腫

現時点での予期せぬ有害事象報告はない。

2. HIV 関連リンパ腫における DNA メチル化プロファイリング

該当なし

D. 考察

1. 難治性・再発性 HIV 関連悪性リンパ腫に対する MEAM 療法を前処置とする HAART 併用自己末梢血幹細胞移植に関する多施設共同第 相臨床試験

HIV 関連リンパ腫は、予後不良であり、再発難治例に対する有効な治療法は確立されていない。しかし、大量化学療法を用いた造血幹細胞移植療法は、大幅な予後改善の可能性はある。本研究は、我が国における HIV 関連リンパ腫の難治例、再発例に対する標準療法の確立を目指したものであり、まずは、安全性・有効性の確認が必要である。今回の中間解析では、重篤な有害事象は報告されておらず、試験の続行は妥当と考えられた。今後、一層の症例蓄積が望まれる。

2. HIV 関連リンパ腫における DNA メチル化プロファイリングの検討

我々は、HIV 関連リンパ腫における DNA メチル化パターンが非 HIV 関連リンパ腫と明確に異なることを既に報告した。今年度、HIV 関連リンパ腫の発症メカニズム理解と診断法の開発を目指して HIV 感染者由来リンパ球と正常リンパ球の比較を行った。その結果、HIV 感染者においては T リンパ球のみならず B リンパ球の DNA メチル化変動が観測された。これは、HIV が直接感染しない B リンパ球においても HIV 感染によって DNA メチル化パターンに何らかの影響を与えることを示唆するものである。

E. 結論

1. 難治性・再発性 HIV 関連悪性リンパ腫

本登録症例数は 8 例であり、予定登録数 18 例への到達のためには更なる症例の組み込みが必要である。現時点での重篤な有害事象の報告はなく試験の継続は妥当と考えられる。

2. HIV 関連リンパ腫における DNA メチル化プロファイリング

HIV 感染がリンパ球に及ぼす DNA メチル化パターンの変動は、HIV 関連リンパ腫の発症機序の解明と新たな診断法の開発に寄与する可能性が示唆された。

F. 健康危機情報

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kojima Y, Hagiwara S, Uehira T, Ajisawa A, Kitanaka A, Tanuma J, Okada S, Nagai H. Clinical Outcomes of AIDS-related Burkitt Lymphoma: A Multi-institution in Japan. Jpn J Clin Oncol. 2014;44(4) :318-23.

H. 知的所有権の出願・取得状況(予定を含む)

