

少量 ATG とステロイドを GVHD 予防に用いた HLA 半合致 RIST の多施設前方向試験 に関する研究

担当責任者 小川 啓恭 兵庫医科大学血液内科 主任教授

研究要旨

少量 ATG と steroid を GVHD 予防に用いる unmanipulated HLA 半合致ミニ移植を、多施設前方向試験の形で、第 I/II 相試験を行った。第 I 相試験の主要評価項目は、ドナー由来の生着であり、10 名を予定した。全員、ドナー由来の生着が得られたので、第 II 相試験に移った。第 II 相試験の主要評価項目は、100 日生存として、25 名の登録の予定であったが、1 名登録基準に合わず、24 名の登録となった。34 名を合わせて解析し、ドナー生着率は 97.1%、100 日生存は 88.2%であった。顆粒球および血小板の生着の中央値は、それぞれ、11 日と 17.5 日であった。重症の急性 GVHD および慢性 GVHD(extensive type)の発症率は、それぞれ、30.7%と 20%であった。移植 1 年時点での Transplant-related mortality は 26.5%であった。CR/CP 例、および non-CR 例の 1 年生存率は、それぞれ 62.5%と 42.3%であった。多変量解析では、移植前の病期が、唯一有意に再発を上昇させる因子として同定された ($p=0.0424$)。移植可能なドナーが timely に見いだされない場合には、少量 ATG と steroid を GVHD 予防に用いる HLA 半合致ミニ移植を考慮すべきである。

A. 研究目的

HLA の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。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。1980 年代後半、海外の移植施設において HLA 適合同胞間移植の場合と同様の移植方法、すなわち骨髄破壊的前処置と GVHD 予防 (シクロスポリン + 短期メソトレキセート) を用いて、HLA 半合致移植が多数実施された。その結果は、HLA 血清 1 抗原不適合移植では HLA 適合移植とほぼ同等の長期生存が得られるのに対し、血清 2-3 抗原不適合移植では予後は不良であった。不成功に終わった主な原因は、高頻度(80-90%)に発症する重症 GVHD にあった。

これを克服するため、イタリアの Perugia 大学の Martelli らは、イスラエルの Reisner とともに、移植片から T 細胞を除去して移植する、T 細胞除去移植について、精力的に研究し、最終的に、大量の CD34 陽性細胞の輸注とともに、輸注 CD3(+) T 細胞数を、 $1.0 \times 10^4/\text{kg}$ 患者体重まで下げることで、ドナー生着率 93.1%、急性 GVHD 発症率 8%、慢性 GVHD 発症率 7.1%

と優れた成績を得るに至った。一方、中国の北京大学の Dao-Pei Lu らは、抗ヒト T リンパ球抗体(ATG)を用いて、in vivo T cell purging を行うことで、T 細胞非除去 HLA 半合致移植を実施した。その結果、生着率 100%、急性 GVHD 40%、2 年での TRM 22%、再発率 18%であり、HLA 適合同胞ドナーからの移植に比べて、いずれのパラメーターでも有意差がなかったと報告した。さらに、最近になって、米国を中心に、移植直後に高容量 cyclophosphamide(Cy)を投与することで、免疫学的寛容に導入する、T 細胞非除去 HLA 半合致移植、すなわち post-transplant Cy 療法が盛んに行われるようになった。post-transplant Cy による HLA 半合致移植を複数臍帯血移植と比較する試験が行われた結果、post-transplant Cy と臍帯血の生着率は 96%と 94%、1 年生存率は 62%と 54%、急性 GVHD は 32%と 40%、1 年での TRM は 7%と 24%、1 年での再発率は 45%と 31%であり、両者はほぼ同等と考えられた。いずれの方法も、HLA 半合致移植において、ドナー生着と GVHD の克服という点において、成功を得ている。しかし、非寛解期例に対しては、再発が多く、依然 GVL 効果が高いという証拠は得られていない。

HLA 半合致移植に高い GVL 効果を期待する

には、GVL 反応を GVHD から分離する方法を考える必要がある。しかし、上述したドナー T 細胞の量を、量的にコントロールするだけでは、GVL と GVH を分離することはできない。我々は、意図的に少量の ATG を用いることで、ドナー T 細胞を残しつつ、steroid を用いることで、炎症性 cytokine の産生を抑制し、この低濃度 cytokine milieu 下、同種免疫反応を起こすことで、GVHD を伴わない GVL 効果の実現を目指せると考えている。

厚労省班研究として実施した、HLA 半合致ドナーからの RIST の多施設前方向試験の結果を報告する。

B . 研究方法

1) 主要評価項目

第 1 相試験(10 人) : 移植後 35 日以内のドナー生着率

第 2 相試験(25 人) : 移植後 100 日時点での生存率

2) 副次的評価項目

- 急性 GVHD の頻度と重症度
- 慢性 GVHD の頻度と重症度
- 移植後 1 年時点での生存率など

3) 対象疾患 :

- 慢性骨髄性白血病 : 第 2 慢性期以降の慢性期、移行期、急性転化期、非慢性期再発で、芽球 30%未満
- 急性骨髄性白血病 : 第 2 寛解期以降の寛解期、初回寛解導入不能、非寛解期で、芽球 30%未満
- 急性リンパ性白血病 : 第 2 寛解期以降の寛解期、初回寛解導入不能、非寛解期で、芽球 30%未満
- 骨髄異形成症候群・骨髄異形成/増殖性疾患 : IPSS にて intermediate-II または high
- 悪性リンパ腫 :
 - 初回治療で PR に至らない症例
 - 第 1 再発後の第 1 種類目の救援療法で PR に至らない症例
 - 第 2 再発後の症例
 - 造血幹細胞移植後も寛解に至らない症例または再発例

4) 適格条件

- 年齢 : 登録時、35 歳以上 60 歳以下
- HLA-A, -B, -DR の血清型一致または GVH 方向 1 抗原以内不一致血縁ドナーを有しない
- 骨髄バンク(JMDP)において HLA-A, -B, -DR の血清型一致かつ遺伝子型で HLA-A, -B, -DRB1 の不一致が 1 座以内の非血縁ドナーを有さないか、病勢が強く早期の移

植が必要であると考えられる症例

iv. 血縁(兄弟、親または子)に HLA haplotype の一致した GVH 方向 HLA 血清 2. 3 抗原不適合ドナーを有する症例

v. Performance status が ECOG に基準で 0 または 1 の症例。

5) 移植前処置

- リン酸フルダラピン : 30 mg/m²/day, day -10 から day -5
- ブスルファン : 4 mg/kg/day, day -6 と day -5 の 2 日間に経口投与する
- 抗ヒト T リンパ球ウサギ免疫グロブリン : 2 mg/kg, day -4 から day -1
- シタラピン : 非寛解期症例で、芽球が 10% 以上 30%未満の場合に用いる。2 g/m²/day, day -10 から day -6

6) 造血幹細胞 : 末梢血幹細胞を用いる。

7) GVHD 予防 :

- タクロリムス : day -2 から、0.02 mg/kg で開始し、目標血中濃度は、day 0-20, 10-15 ng/ml; day 20-30, 8-12 ng/ml; day 30 以降、7-10 ng/ml
- メチルプレドニゾロン : 1 mg/kg/day で day 1 から開始。Day 15 以降、sIL-2R 値などを参考にして、週 20%のスピードで減量する。

(倫理面への配慮)

「血縁者間 HLA 半合致ミニ移植(臨床第 I/II 相試験)」のプロトコールは、平成 17 年 10 月 18 日、兵庫医科大学の倫理委員会で承認を受けている。同様のプロトコールを、参加施設の倫理委員会で承認を受けた。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

この臨床試験は、本邦の 5 施設が参加して、前方向試験の形で行われた。第 I 相試験の結果、10 例全例でドナー由来の生着を得たので、第 II 相試験に入った。第 II 相試験では、予定通り 25 例の登録がなされたが、内 1 例で、criteria に合わなかったため、除外され、第 II 相試験として 24 例が行われ、第 II 相の 10 例と合わせて、計 34 例の解析が行われた。最終的なドナー生着率は、97.1%(33/34)であった。顆粒球および血小板の生着の中央値は、それぞれ 11 日と 17.5 日であった。Day 100 での生存率は、88.2%であった。重症の急性 GVHD の発症率、

慢性 GVHD(extensive type)の発症率は、それぞれ、30.7%と20%であった。移植1年時点での Transplant-related mortality は26.5%であった。CR/CP 例、および non-CR 例の1年生存率は、それぞれ62.5%と42.3%であった。多変量解析では、移植前の病期が、唯一有意に再発を上昇させる因子として同定された(p=0.0424)。

D . 考察

少量 ATG と steroid を GVHD 予防に用いる HLA 半合致ミニ移植 regimen は、安定した高いドナー生着率が得られた。非寛解期症例が多かったにもかかわらず、100日生存率が、88.2%と高く、移植 regimen としての安全性が示された。ただ、不成功に終わった原因の多くは、再発であったことから、今後、前処置 regimen の強化が求められる。

E . 結論

移植可能なドナーが timely に見いださない場合には、少量 ATG と steroid を GVHD 予防に用いる HLA 半合致ミニ移植は、考慮すべき移植手段である。

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たが、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なかった。

G . 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. *International Journal of Hematology*. 99: 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, cytoprotective, and immunosuppressive properties of human amnion- and

chorion-derived mesenchymal stem cells. *PLoS One*. 9: e88319, 2014.

4. 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, Naoe T. Allogeneic transplantation for primary myelofibrosis with bone marrow, peripheral blood, or umbilical cord blood: An analysis of the JSHCT. *Bone Marrow Transplantation*. 49: 355-360, 2014.
5. 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 effects of recombinant thrombomodulin on transplantation-associated coagulopathy after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Journal of Stem Cell Research & Therapy*. 4: 247, 2014.
6. 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.
7. 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.
8. 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.

2. 学会発表

1. The 19 th European Hematology Association 2014.6.12-15, Milan, Italy. 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.
2. 2015 BMT Tandem Tandem Meetings,

- 2015.2.11-15, 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.
3. 2015 BMT Tandem Meetings, 2015.2.11-15, 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.
4. 2015 BMT Tandem Meetings, 2015.2.11-15. 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.
5. 2015 BMT Tandem Meetings, 2015.2.11-15. 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.
6. 第 37 回日本造血細胞移植学会 2015.3.5-7, 神戸, Presidential symposium, 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
7. 第 37 回日本造血細胞移植学会 2015.3.5-7, 神戸, Workshop, 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
8. 第 37 回日本造血細胞移植学会 2015.3.5-7, 神戸, 口演, 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

H .知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)
なし。

