

表2 日米欧の成人臍帯血移植成績

報告者	Laughlin M, et al. (4)	Sanz G, et al. (5)	Long GD, et al. (6)	Takahashi S, et al. (7)
症例数	68 非悪性疾患 14 例、 造血器悪性腫瘍 54 例うちハイリスク 50 例	22 ハイリスク 16 例	57 1996 年以降、非悪 性疾患 2 例含む、 ハイリスク造血器腫瘍	68 41 例がハイリスク症例
年齢 (歳)	31.4 (17.6~58.1)	29 (18~46)	31 (18~58)	36 (16~53)
体重 (kg)	69.2 (40.9~115)	69.5 (41~85)	70 (46~110)	55.1 (36.2~76.2)
HLA 適合度	4/6 ≥ ; 48 (71%)	6/6:1 5/6:13 4/6:8 4/6 ≥ ; 8 (36%)	3/6:3 4/6:44 5/6:8 6/6:2 4/6 ≥ ; 47 (82%)	2/6:2 3/6:15 4/6:37 5/6:14 4/6 ≥ ; 54 (79%)
移植前処置	TBI を基本 ; 51 例 BU を基本 ; 14 例 その他 ; 3 例	TEPA/BU/CY/ATG ; 21 例 TEPA/FLU/ATG ; 1 例	TBI + LPAM + ATG ; 29 例 BU + LPAM + ATG ; 17 例 BU + CY + ATG ; 2 例 TAI + CY + ATG ; 1 例 TBI + CY + ATG ; 8 例	TBI + AraC /G-CSF + CY ; 49 例 TBI + CY ; 12 例 TBI + α ; 7 例
GVHD 予防法	CSA/PSL CSA 単独	CSA/PSL	CSA/PSL	CSA/sMTX (65) CSA (3)
移植有核 細胞数 (×10 <sup>7</sup> /kg)	1.6 (0.6~4.0)	1.71 (1.01~4.96)	1.50 (0.54~2.78)	2.47 (1.1~5.29)
移植 CD34 陽性細胞数 (×10 <sup>5</sup> /kg)	1.2 (0.2~16.7)	0.79 (0.27~2.60)	1.37 (0.02~12.45)	記載なし
早期死亡 例数 (%)	8 (12.5%)	2 (9%)	8 (14%)	3 (4%)
好中球生着率 (>0.5×10 <sup>9</sup> /l) 到達日数	55/60 (92%)* 27 日 (13~59)	20/20 (100%)** 22 日 (13~59)	41/49 (84%)# 26 日 (12~55)	60/65 (92%)## 22 日 (16~41)
血小板生着率 (>20×10 <sup>9</sup> /l) 到達日数	30 (44%) 58 日 (35~142 日)	12 (55%) 69 日 (49~153 日)	19 (33%) 84 日 (35~167 日)	55 (81%) 48 日 (30~263 日)
急性 GVHD 発症例 /評価可能例 II-IV 度 (III-IV 度)	33/55:60% (11/55:20%)	16/22:73% (7/22:32%)	17/41:41% (8/41:20%)	30/60:50% (4/60:7%)
慢性 GVHD 発症例 /評価可能例	12/33	9/10	8/25	42/54
移植関連死	32 例が 3 ヶ月以内 に死亡	43% (100 日)	50% (100 日)	9% (1 年)
再発	4 例 ; 1 年以内 の再発	0%	記載なし	16% (2 年)
生存率	26% ; 40 ヶ月 (無イベント生存率)	53% ; 1 年 (無病生存率)	15% ; 3 年 (無イベント生存率) 19% ; 3 年 (粗生存率)	74% ; 2 年 (無病生存率)

\* : 28 日以内の早期死亡 8 例を除く 60 例中 5 例が生着不全  
 \*\* : 30 日以内の早期死亡 2 例を除く全例が生着  
 # : 42 日以上生存した 49 例中 41 例に好中球生着  
 ## : 28 日以内の早期死亡 3 例を除く 65 例中 5 例が生着不全

2004年に発表された日本さい帯血バンクネットワーク・データ管理委員会による骨髄破壊的前処置で移植された成人悪性腫瘍例361例のPreliminaryな解析結果を表3に記す(8)。

表3 日本さい帯血バンクネットワークの成績(8)

症例数	361(初回移植例は329例)
年齢(歳)	36(16~60)
体重(kg)	55(23.5~95)
HLA適合度	4/6 $\geq$ :65%
移植有核細胞数( $\times 10^7$ /kg)	2.51(1.15~6.0)
移植CD34陽性細胞数( $\times 10^5$ /kg)	0.82(0.09~9.07)
早期死亡(%)	9
移植後90日の好中球(500/ $\mu$ l以上)の予測回復率(%)、到達日数	90(Kaplan-Meier法による)、23日(11~48日)
移植後180日の血小板(50,000/ $\mu$ l以上)の予測回復率(%)、到達日数	81(Kaplan-Meier法による)、46日(17~263日)
急性GVHD II度以上発症率(%) (III度以上発症率(%))	43(14)
慢性GVHD 発症例/評価可能例	69/212
移植関連死	38%(1年)
生存率	22%(標準リスク群; 40%、ハイスリスク群; 15%); 3年(無イベント生存率)

また、1997年の1例目から2005年10月末までに日本国内でさい帯血バンクを通じて移植が行われた2,600例以上のうち、調査票が報告された1,860例の移植成績が2006年1月に日本さい帯血バンクネットワーク移植データ管理委員会から発表された(9)。1,860例の内訳は小児例が663例、16歳以上の成人例が1,197例(50歳以上が全体の27%)、疾患別では、血液悪性疾患が大多数を占め、急性リンパ性および骨髄性白血病が全体の54%、続いて骨髄異形成症候群14%、悪性リンパ腫12%に施行されていた。その他、全体の5%以下であるが、成人T細胞性白血病、慢性骨髄性白血病、多発性骨髄腫と続いていた。骨髄破壊的前処置による急性白血病初回移植の移植後3年の無イベント生存率は初回寛解期移植、第2寛解期移植でそれぞれ40%、56%、非寛解期移植で18%であった(図3A)。また、骨髄異形成症候群に対する成績は良好で、長期生存率は約50%、そのうち標準危険群(不応性貧血、および白血病化後の初回寛解期)では79%、高度危険群(標準危険群以外の病期の移植)でも43%の無イベント生存率が得られている。(図3B)

臍帯血移植の成績については、学会を中心に追加集積が行われている。

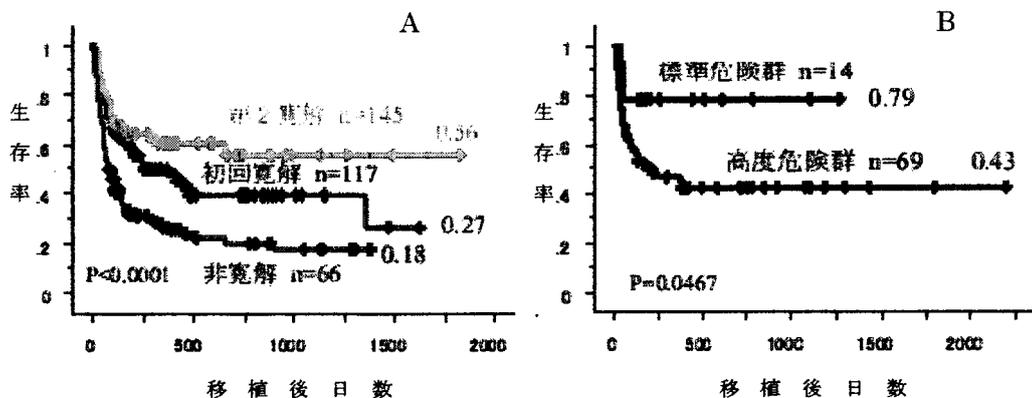


図3 骨髄破壊的前処置による成人臍帯血移植の成績  
急性白血病 (A)、および骨髄異形成症候群 (B) における移植病期と無イベント生存率

【日米欧から報告された成人における非血縁者骨髄移植と非血縁者臍帯血移植の成績の比較】

表4に、2004年末に欧米及び本邦から報告された成人に対する非血縁臍帯血移植と非血縁者骨髄移植の治療成績の比較検討結果を示す(7, 10, 11)。欧州の報告(10)はEBMT(European Blood and Marrow Transplant Group)とEUROCORD、米国の報告(11)はIBMTR(International Bone Marrow Transplant Registry)とNew York Cord Blood Bankの共同による研究であり、本邦の報告(7)は東京大学医科学研究所附属病院単独の研究である。

欧米からの2つの報告の結果は以下のとおりで、類似していた。いずれの報告も、HLA一致ドナーが見つからない場合には、臍帯血は許容できる幹細胞ソースであると結論している。

- ・ 臍帯血移植を受けた患者は骨髄移植を受けた患者と比べて低年齢、低体重、高リスクが多かった。
- ・ 移植された有核細胞数は、骨髄移植を受けた患者よりも臍帯血移植を受けた患者のほうが少なかった。
- ・ II度以上の急性GVHDの発症頻度は、骨髄移植を受けた患者群に比べ臍帯血移植を受けた患者群で有意に低かった。
- ・ 好中球回復は、骨髄移植を受けた患者群に比べ臍帯血移植を受けた患者群で有意に遅かった。
- ・ 慢性GVHD発症頻度、治療関連死亡率、再発率、無再発生存率などは有意な差を認めなかった。

本邦からの報告は以下のとおりで、血縁者ドナーが存在しない場合には、臍帯血を第一の幹細胞ソースであると結論している。単一施設の結果としては極めて優れた成績であると評価されており、欧米からの報告とは異なっている。まとめると以下のとおりであった。

- ドナー検索期間は、骨髄移植よりも臍帯血移植で圧倒的に短かった。
- 移植された細胞数は臍帯血移植のほうが少なかった。
- HLA の適合度は臍帯血移植のほうが低かった。
- 免疫抑制剤を早期に中止、ステロイドの使用を控えたにも関わらず、臍帯血移植では GVHD による死亡はなかった。
- 骨髄移植と比較すると臍帯血移植では有意に治療関連死が少なく、無病生存率が良好であった。

本邦からの東京大学医科学研究所附属病院の報告は、単一施設の成績としては極めて優れた成績であると評価されており、欧米からの報告とは異なっている。この点については、前処置、GVHD 予防・治療、感染症対策等種々の面からの検討が必要と考えられる。

表4 成人に対する非血縁臍帯血移植と骨髄移植の比較検討

報告者	Rocha V, et al. (10)		Laughlin M, et al. (11)			Takahashi S, et al. (7)	
移植種類; 症例数	臍帯血移植 ; 98	骨髄移植 ; 584	(a) 臍帯血 移植 ; 150	(b) HLA 1 抗原 不一致 骨髄 移植 ; 83	(c) HLA 一致 骨髄 移植 ; 367	臍帯血移植 ; 68	骨髄移植 ; 45
年齢(歳)	24.5	32	NA	NA	NA	36	26
好中球生着率 ( $>0.5 \times 10^9/l$ )	75%# 26日 (14~80)	89% 19日 (5~72)	中央値 ; 27日	中央値 ; 20日	中央値 ; 18日	92%* 22日 (16~41)	100%* 18日 (12~33)
到達日数 p 値				<0.001		<0.01	
血小板生着率 ( $>20 \times 10^9/l$ )	NA	NA	中央値 ; 60日	中央値 ; 29日	中央値 ; 29日	90%** 40日 (13~99)	91%** 25日 (10~172)
到達日数 p 値		-		<0.001		<0.01	
II-IV度 急性GVHD 発症例数	25	232	61	43	176	30/60	30/45
p 値	0.02		(a) vs (c):0.17 (a) vs (b):0.04			0.05	
慢性GVHD 発症例数	18	94	35/69	17/43	86/243	42/54	26/35
p 値	0.02		(a) vs (c):0.02 (a) vs (b):0.69			0.21	
移植関連死亡率 (%、症例数)	44% (2年)	38% (2年)	95例	54例	169例	9% (1年)	29% (1年)
p 値	0.13		(b) vs (c):<0.001 (a) vs (c):<0.001 (a) vs (b):0.96			0.02	
再発率 (%、症例数)	23% (2例)	23% (2例)	26例	12例	83例	16% (2年)	25% (2年)
p 値	0.71		(b) vs (c):0.61 (a) vs (c):0.16 (a) vs (b):0.65			0.73	
無病生存率 (%)	AML 32% ALL 34% (2年)	AML 42% ALL 33% (2年)	23% (3年)	19% (3年)	33% (3年)	74% (2年)	44% (2年)
p 値	AML 0.18 ALL 0.21		(a) vs (b):0.69 (b) vs (c):0.001			0.01	

#60日および\*42日における好中球数  $0.5 \times 10^9/l$  以上の到達率

\*\*100日における血小板数  $20 \times 10^9/l$  以上の到達率

NA データなし

### 【成人に対する臍帯血移植の課題】

成人に対する臍帯血移植の適応を考慮する場合には他の造血幹細胞移植と同様の検討が必要である。具体的には、他の治療法では治療が困難であるか、臍帯血移植により他の治療法より良好な結果が期待できるか、原疾患以外の患者背景（患者の年齢、全身状態、感染症をはじめとする合併症の有無等）が移植の適応であるか等である。

本邦においては、成人に対する臍帯血移植の適応を検討する際、日本さい帯血バンクネットワーク、New York 血液センター、EUROCORD の日米欧の臍帯血バンク及び関連するネットワークからの多数例の報告と東京大学医科学研究所附属病院をはじめとする単施設からの報告が参考とされる。それぞれの成績は同様ではなくその解釈には注意を要するが、他の造血細胞移植と比較すると臍帯血移植では造血回復が遅延すること、非血縁者間 HLA 不一致であっても重症 GVHD 発症は低頻度であることは共通の特徴として挙げられている。また、生着すれば長期間の造血能を維持すること、ある程度の GVM 効果を有することも分かっていたが、移植後再発を来した場合のドナーリンパ球輸注<sup>24</sup>は行うことができない。

New York 血液センターや EUROCORD からの報告では、移植成績と移植細胞数には関連があると考えられている。すなわち、細胞数が限られている臍帯血移植では、成人を対象とする場合、体重当りの細胞数が確保しにくく、造血回復が遅延し生着不全や好中球回復の遅延が高い頻度で見られる。移植有核細胞数や移植 CD34 陽性細胞数が多くなるにつれ生着率が高まり、生着までの期間（好中球数が  $500/\mu\text{l}$  以上あるいは血小板数が  $20,000/\mu\text{l}$  に到達するまでの期間）も早まり、移植関連死亡率・生存率が改善される(4-6)。日本さい帯血バンクネットワークからの報告では生着不全や移植関連死亡率は欧米の報告と比較すると低い、移植成績と移植 CD34 陽性細胞数との関連性は同様とされている(12)。

一方で、東京大学医科学研究所附属病院などの単施設からの報告は、生着不全、移植関連死、生存率など、多くの点で日米欧の各臍帯血バンクからの報告と比較すると概ね良好である。単施設からの報告では、各骨髓バンクからの報告よりも移植有核細胞数が多かつ狭い範囲におさまっているなど条件が異なり、単純な比較は困難でありその解釈には注意を要する。

現時点では、成人に対する臍帯血移植は、造血幹細胞移植の中の一つの選択肢として捉えられており、同種造血幹細胞移植を考慮しなければならない腫瘍性疾患患者で、適切なドナーが見つからず、適した臍帯血を見出せる場合に治療法として選択する移植医が多い状況と考えられる。さらに、保険診療が承認され急速な移植数の増加により症例数が蓄積されており、その評価は定まりつつある。しかしながら、体重あたりの移植細胞数が少ない成人に対する臍帯血移植では、生着不全の頻度が高い、生着までに時間を要する、移植後の重症感染症による治療関連死が多いといった点も指摘されている。その解決策として、欧米及びわが国で複数臍帯血移植の試みが開始されている(13, 14)が未だ検討段階にあり、現在、厚生労働省科学研究費（加藤俊一班長）に基づく前向き臨床試験が計画されている。その他にも、臍帯血移植後の免疫系再構築に関する解析が今後の課題として考えられてお

り、検討すべき点は残されている。

### 【ハプロタイプ一致ドナー由来造血幹細胞移植（ミスマッチ移植）の現状と課題】

ミスマッチ移植は、通常 HLA 2～3 座不一致の親、子供又は兄弟をドナーとすることができ、100%に近い確率でドナーを見出すことが可能となる。しかし、非自己を認識する作用が強いため、そのままでは移植片が生着しにくく、拒絶のリスク(15)及び重篤な急性 GVHD 発症のリスクが問題となる(16)。ちなみに、移植前処置として全身放射線照射とシクロスポリン製剤投与を行った初期の臨床試験では、移植片から T 細胞の機能を様々な手法で抑制しても 60～100%が生着不全を起こしている(17)。この拒絶のリスクに関しては、G-CSF 製剤により動員した末梢血幹細胞 (peripheral blood stem cell: PBSC) を大量に投与することで回避することが可能となった(18-20)。また、重篤な GVHD 発症を回避する目的では、強い免疫抑制剤の使用や抗 CD52 抗体 (Campath-1H) の使用、又は T 細胞を選択的に除去する等の試みがなされている。特に、T 細胞の選択的除去は、重篤な GVHD に対する最強の予防手段であり、これによる臨床研究が進んできている。その中で、1993 年以降、ペルージャ大学 (イタリア) の Aversa F らが中心となり、G-CSF により動員した PBSC から T 細胞を除去した大量の幹細胞を急性白血病患者に移植する 2 つのパイロット臨床試験 (21, 22) を進め、造血幹細胞を高率に生着させ、かつ重篤な GVHD を回避する手法を確立した (23)。

すなわち、最初のパイロット臨床試験 (21) の症例及びその後の追加症例を含めた計 36 例の患者に対して、骨髄破壊的前処置後、患者体重 1kg あたり  $10.8 \times 10^6$  個 (以下 /kg と記す) の CD34 陽性細胞と  $2.2 \times 10^5$  個/kg の CD3 陽性細胞を含むハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞が移植され、高率 (92%) に生着することが示された (24)。この時の Grade II～IV の急性 GVHD 発症頻度は、移植後に免疫抑制剤を使用せずともわずか 18%であった。以上のパイロット試験の概要を「ペルージャ大学の第 1 回パイロット臨床試験」として表 5 に示す (24)。





移植3ヵ月後にドナーTリンパ球をAdd-backしているが、Tリンパ球Add-back量が少量( $3 \times 10^4$ 個/kg)であったにもかかわらず1例でGrade IVの急性GVHDが発症し、死亡に至っている(22)。したがって、上記第II相臨床試験(27)においては、ミスマッチ移植における移植片に含まれるCD3陽性細胞の閾値として、 $3 \times 10^4$ 個/kgが採用されており、これが以降のT細胞除去ミスマッチ移植における目指すべき閾値と考えられている。

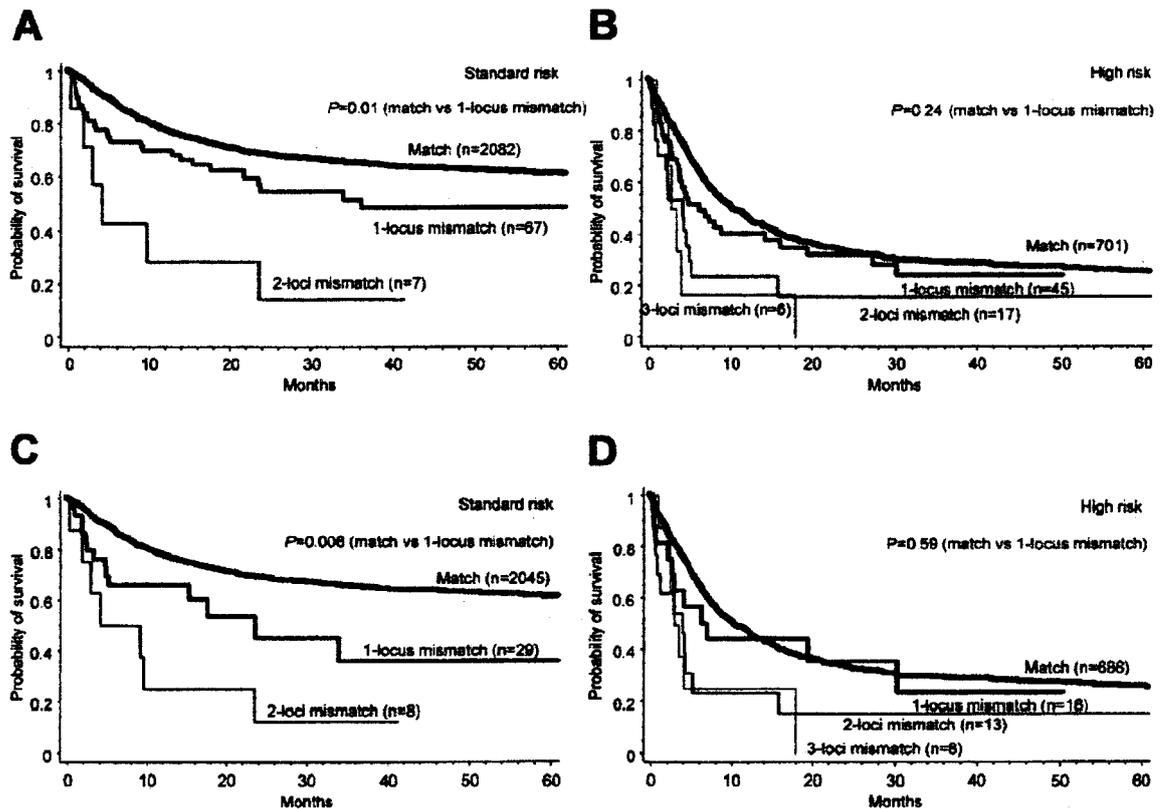
以上、2つのパイロット臨床試験及び上記第II相臨床試験の全ての解析において、ミスマッチ移植における生着率とGVHD発症の課題は克服されたが、非血液疾患死亡率[全183例において、移植時完全寛解(CR)例では47%、再発例では62%にのぼり、それら死亡例の70%が感染症による]、及び白血病再発率[全183例において、移植時にCR1の急性骨髄性白血病(acute myelogenous leukemia: AML)又は急性リンパ性白血病(acute lymphoblastic leukemia: ALL)患者では19%又は22%、CR2以上では36%又は56%、再発例では49%又は90%]は依然として高く、この観点でのより有効な治療戦略の開発が必須となっている(23)。

**表7 再発高リスク急性白血病患者におけるフルハプロタイプ  
ミスマッチ移植による第II相臨床試験 (27)**

患者及び方法	概要
対象患者	AML: 67例 (CR 1: 19、CR 2: 14、CR>2: 9、再発: 25) ALL: 37例 (CR 1: 14、CR 2: 8、CR>2: 2、再発: 13)
前処置	全身照射 + Thiotepa + Fludarabine + ATG
アフエーシス	末梢血造血幹細胞はG-CSF製剤により動員して採取
CD34陽性細胞分離装置	CliniMACS 使用例: 88例 (回収率中央値: 79%、純度: 90%) Isolex 使用例: 16例 (回収率中央値: 71%、純度: 95%)
移植後のGVHD予防	免疫抑制剤は使用せず
結果	概要
移植細胞数	CD34陽性細胞数中央値: $13.8 \times 10^6$ 個/kg [(5.1~29.7) $\times 10^6$ 個/kg] CD3陽性細胞数中央値: $1 \times 10^4$ 個/kg [(0.04~3.0) $\times 10^4$ 個/kg]
生着率	Overall: 100/101 (Primary: 94/101、Secondary: 6/7)
GVHD発症率	急性GVHD: 8/100、慢性GVHD: 5/70
非血液疾患死亡率	38/104例 (CMV感染死: 14例、Aspergillus感染死: 4例)
再発率(2年後)	移植時CR例: 9/66 (AML: 7/42、ALL: 2/24) 移植時再発例: 17/38 (AML: 10/25、ALL: 7/13)
無病生存率(中央値22ヵ月)	AML患者42例: 48%、ALL患者24例: 46%

**【本邦におけるミスマッチ移植の現状と課題】**

近年行われた日本国内の調査によると、HLA 1 座不一致血縁者間移植は特殊な GVHD 予防を実施しなくても移植が可能であったが、2 座以上の不一致を伴う移植においては通常の GVHD 予防のみを行った場合には生存率が大きく低下した (図 4) (28)。



**図 4 血縁者間移植の HLA 不一致度と全生存率 (28)**

移植後の全生存率を血清レベルでの不一致度 (A-B) 及び DNA レベルでの不一致度 (C-D)、並びに病期 (A、C: スタンダードリスク、B、D: ハイリスク) に従い分類した。HLA 一致と HLA 1 座不一致群間での P 値を示した。

HLA 2 座以上の不一致血縁者間移植を成功させるために様々な試みが行われているが、日本国内では、体外での T 細胞除去又は CD34 陽性細胞純化を用いたミスマッチ移植、母子間免疫寛容の仮説に基づいたミスマッチ移植、強力な GVHD 予防法を用いたミスマッチ移植、及びアレムツズマブ (CAMPATH-1H) を用いた in vivo での T 細胞除去によるミスマッチ移植の応用・研究が進んでいる。

①体外でのT細胞除去又はCD34陽性細胞純化を用いたミスマッチ移植

本邦では、Yamasaki Sらが、1996～2002年に20の施設において、HLA 2～3座不一致血縁ドナー由来PBSC移植を受けた50例の高リスク造血器悪性腫瘍患者の臨床成績をレトロスペクティブに解析した結果を報告している(29)。これによると、18例はPBSCをそのまま移植されており、残りの32例はCD34陽性細胞を分離して移植されている(表8)。また、骨髄破壊的前処置例が31例であるのに対して、骨髄非破壊的前処置が19例に施された(表9)。解析の結果、移植後28日以上生存した39例の内、好中球生着に至った症例は37例(95%)であり、生着しなかった例は39例中2例(5%)及び生着後に拒絶された例は37例中3例(8%)であった(表10)。CD34陽性細胞を分離して移植した症例では、Grade II～IVの急性GVHDの発症が、PBSC投与症例に比し、有意に低かった(表10)。一方、移植後1年までに28例(56%)が移植関連合併症による死亡に至り、その中では感染症によるものが30%と主要因であった(表11)。以上から、本邦においても、ハプロタイプ一致ドナー由来造血幹細胞移植の治療法を確立する上で、特に感染症を含む治療関連死の回避が重要課題であることが示されている。

表8 患者及びドナー背景と造血幹細胞移植の実態

(Yamasaki Sらの論文29のTable 1を改変)

(n=50)	細胞分離無し (n=18)	CD34陽性細胞分離 (n=32)	
		CliniMACS (n=17)	Isolex (n=15)
Relationship of donor to patient			
Father/mother	1/7	2/2	3/2
Sibling	5	9	9
Son/daughter	0/5	3/1	0/0
Aunt	0	0	1
Disease at transplant			
AML	2	9	6
ALL	1	2	3
MDS	4	0	2
CML	4	3	1
NHL	6	2	3
MM	1	1	0
Prior autologous PBSCT/allogeneic HSCT	3/4	2/3	5/0
Median graft size (range)			
Nucleated cell dose ( $\times 10^7$ /kg)	78.2 (11.3-324.0)	0.71 (0.36-1.4)	0.38 (0.19-0.56)
CD34+ cell dose ( $\times 10^6$ /kg)	4.2 (1.5-9.5)	6.8 (2.9-13.5)	4.4 (0.67-9.8)
CD3+ cell dose (/kg)	$2.7 \times 10^8$ (1.3-5.4)	$2.8 \times 10^4$ (0.30-5.0)	$4.9 \times 10^4$ (1.7-24.7)
Median follow-up (range) (months)	2.5(0.10-15.4)	3.8(0.20-16.8)	2.7(0.30-35.5)

表9 前処置の詳細 (Yamasaki Sらの論文29のTable 2を転載)

Table 2 Treatment characteristics

	No. (n=18)	Manipulation	
		CD34+ cell selection (n=32)	
		CliniMACS (n=17)	Isolex (n=15)
<b>Conventional conditioning regimen</b>	7 (39%) <sup>a</sup>	9 (53%)	15 (100%)
TBI + CY + others <sup>b</sup> /TBI + melphalan	3/0	8/1	14/0
BU + CY + others <sup>c</sup>	4	0	1
ATG-containing	1 (6%)	0	7 (47%)
<b>GVHD prophylaxis</b>			
CYA + MTX/CYA + prednisolone/CYA	1/0/0	5/0/1	7/2/2
FK506 + MTX/FK506	6/0	3/0	0/4
<b>Reduced-intensity conditioning regimen</b>	11 (61%)	8 (47%)	0
TBI + CY/TBI + Flu + BU/TBI + Flu + ATG + others <sup>d</sup> /TBI + BU + ATG	1/0/0/0	0/2/4/1	0/0/0/0
Flu + others <sup>e</sup>	10	1	0
ATG-containing	6 (33%)	5 (29%)	0
<b>GVHD prophylaxis</b>			
CYA + MTX/CYA + prednisolone/CYA + MMF/CYA	1/1/0/1	0/0/3/2	0/0/0/0
FK506 + MTX/FK506 + prednisolone + MMF/FK506 + prednisolone/FK506	6/1/1/0	0/0/0/1	0/0/0/0
Prednisolone/none	0/0	1/1	0/0
<b>G-CSF after transplant</b>	12 (67%)	16 (94%)	14 (93%)

<sup>a</sup>Number of patients (%) unless indicated otherwise.

<sup>b</sup>Others = ATG, BU, Ara-C, thiotepa or VP-16.

<sup>c</sup>Others = ATG, Ara-C, Flu or melphalan.

<sup>d</sup>Others = BU, CY or thiotepa.

<sup>e</sup>Others = BU, CY, Ara-C, idarubicin or melphalan.

ATG, antithymocyte globulin; Flu, fludarabine; MMF, mycophenolate mofetil.

表10 生着、GVHD及び治療関連毒性 (Yamasaki Sらの論文29のTable 3を転載)

Table 3 Engraftment, GVHD and regimen-related toxicity

	No. (n=18)	Manipulation	
		CD34+ cell selection (n=32)	
		CliniMACS (n=17)	Isolex (n=15)
<b>Median time of engraftment (range) (days)</b>			
Neutrophil	14 (10-27)	14 (9-20)	12 (9-20)
Platelet	18.5 (0-46)	14 (9-23)	16 (12-37)
<b>Graft failure/rejection</b>	0 <sup>a</sup> /0	1/3	1/0
<b>Acute GVHD<sup>b</sup></b>			
0/I	3/2	9/3	5/4
II/III/IV	1/6/2	2/0/1	2/2/1
<b>Median onset (range) (days) of ≥II acute GVHD</b>	14 (6-77)	26.5 (3-50)	12.5 (5-32)
<b>Chronic GVHD<sup>c</sup> (onset, days)</b>			
None/limited/extensive	7/1 (105)/0	9/0/1 (112)	6/1 (101)/0
<b>RRT<sup>d</sup> II/III/IV</b>	2/2/2	1/1/2	2/6/1
<b>VOD/TMA</b>	2/5	1/1	0/2

<sup>a</sup>Number of patients unless indicated otherwise.

<sup>b</sup>A total of 45 patients who developed acute GVHD within 28 days or who survived ≥28 days after transplant were evaluated for acute GVHD.

<sup>c</sup>A total of 25 patients who engrafted and survived ≥100 days after transplant were evaluated for chronic GVHD.

<sup>d</sup>Maximum early RRT was graded according to the criteria documented by Bearman *et al.* RRT, regimen-related toxicity; VOD, veno-occlusive disease; TMA, thrombotic microangiopathy; ≥II acute GVHD, grades II-IV acute GVHD.

表 11 移植 1 年後までの死亡例の原因 (Yamasaki S らの論文 29 の Table 5 を転載)

Table 5 Causes of death before 1 year post transplant

	Manipulation	
	No. (n = 18)	CD34 <sup>+</sup> cell selection (n = 32)
Relapse/progressive disease	2 (11%)	9 (28%)
Treatment-related problem	11 (61%)	17 (53%)
Infectious complication	5 (28%)	10 (31%)
Organ toxicity <sup>a</sup>	5 (28%)	5 (16%)
Acute GVHD + infectious complication	1 (5%)	2 (6%)

<sup>a</sup>Organ toxicity = pulmonary hemorrhage (n = 2), VOD (n = 2), TMA (n = 2), interstitial pneumonia (n = 2), intracerebral hemorrhage (n = 1) and asphyxia due to oral hematoma (n = 1).

## ②母子間免疫寛容の仮説に基づいたミスマッチ移植

両親から子へは 1 組の HLA ハプロタイプが受け継がれる。受け継がれなかった HLA ハプロタイプのうち、母親の HLA ハプロタイプ由来の非遺伝母親由来 HLA 抗原 (NIMA) に対して、免疫学的寛容が成立していることが提唱されている (30)。

本邦では、ドナー末梢血における母子間マイクロキメリズムの存在を免疫寛容の指標として、進行期の造血器腫瘍を対象に HLA 不一致血縁者から T 細胞除去を行わずに移植を行い、このようなドナー選択を行うことにより急性 GVHD の重症化を起こすことなく移植が可能であることが示された (31)。その後、2001 年から 2004 年まで厚生労働省の研究班で実施された調査研究では、NIMA の不一致例 (NIMA 不一致同胞間での移植及び子供から母親に対して実施される移植) では、父親由来 HLA 抗原 (IPA) の不一致例 (母親から子供への移植) と比較して、Grade III 以上の急性 GVHD の発症頻度が低い結果が報告されている (図 5) (32)。

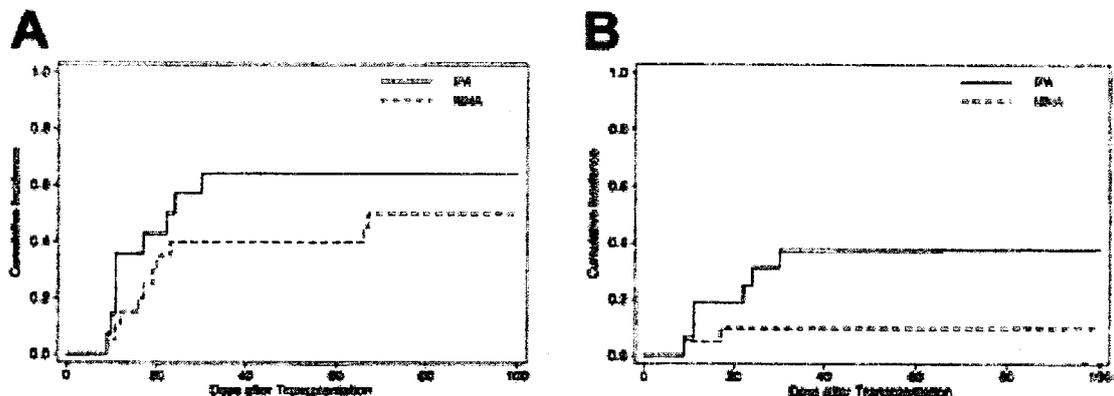


図5 T細胞非除去 NIMA 相補的造血幹細胞移植を受けた患者における急性 GVHD の累積発生率 (32)

NIMA 相補的造血幹細胞移植を受けた評価可能 34 症例中の、GVH 標的に従った Grade II-IV (A) 及び III-IV (B) の急性 GVHD の累積発生率。実線が母から子への移植 (GVH 標的; IPA) を示し、点線が子又は NIMA 不一致同胞からの移植 (GVH 標的; NIMA) を示す。

### ③強力な GVHD 予防法を用いたミスマッチ移植

HLA 一致移植で用いられるメトトレキサート (MTX) とシクロスポリン (CYA) の組み合わせによる GVHD 予防のみでは、HLA 不一致移植の際の GVHD を抑制することは困難である。しかし、タクロリムス (FK506)、ミコフェノール酸モフェチル (MMF) などの免疫抑制剤が使用できるようになり、現在では強力な GVHD 予防が可能になってきている。

FK506、MTX、メチルプレドニゾロン (mPSL) の 3 剤、又は MMF を加えた 4 剤による GVHD 予防により、HLA 2、3 座不一致血縁ドナーからの T 細胞非除去移植が試みられ、無病長期生存が得られる症例がみられている (33, 34)。

GVHD を強力に予防することで HLA のバリアを越えることは可能であることが示されたが、慢性 GVHD、血栓性微小血管障害 (TMA)、ウイルス感染症などの移植関連合併症の頻度が高いのが問題である。

### ④アレムツズマブ (Campath-1H) を用いた in vivo での T 細胞除去によるミスマッチ移植

Campath-1H はリンパ球などの細胞表面に存在する CD52 に対するモノクローナル抗体である。移植前に投与してホストのリンパ球を抑制することによって拒絶を予防し、移植後も 2~3 週間という長い体内半減期を有することからドナーのリンパ球を抑制して GVHD 発症を抑制する効果を有することが知られている。

東京大学で行われた HLA 不一致移植の臨床試験では、HLA 2 座不一致の 5 名、3 座不一致の 7 名の合計 12 名のハイリスク又は進行期の造血器腫瘍患者に移植が行われた (35)。全例にドナー細胞の生着が得られ、好中球回復 ( $> 500/\text{mm}^3$ )、血小板回復 ( $> 20,000/\text{mm}^3$ ) までの期間の中央値はそれぞれ 17.5 日 (12~29 日) と 16 日 (12~27 日) であった。Grade III

以上のGVHDは1名だけに認められ、移植合併症による死亡はGVHDによる1名（移植後66日）と、間質性肺炎による1名（197日）であった。症例数と評価期間は少ないものの、拒絶やGVHDは抑制され、新たなHLA 2座以上不一致の血縁者間移植と成り得ることが示唆された。

一方、Campath-1H投与に関連する心毒性の報告がなされており、移植前処置にCampath-1Hを使用することが同様に心毒性出現のリスクを高めることが報告されている(36)。

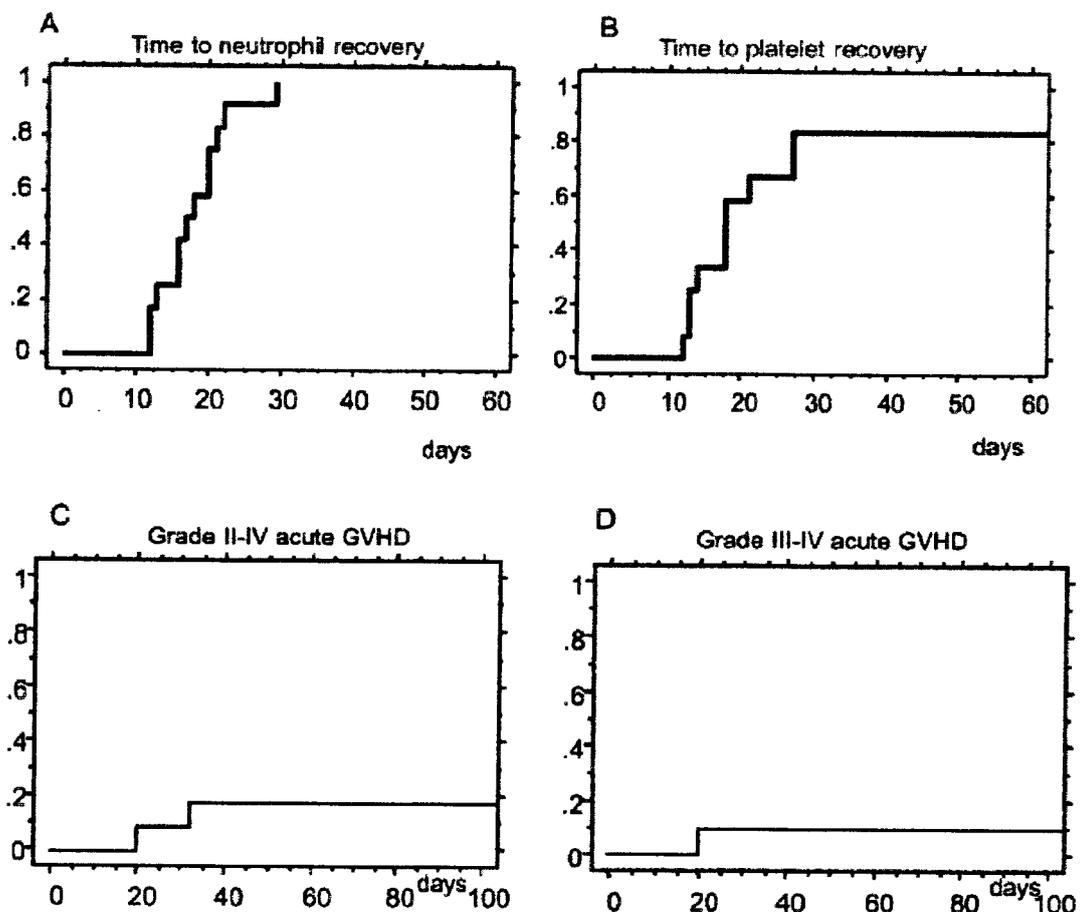


図6 Campath-1Hを使用したHLA不一致移植の結果(35)

移植後の好中球(A)及び血小板(B)回復までの日数、並びにGrade II-IV(C)及びIII-IV(D)の累積発生率を示す。

【T細胞除去ミスマッチ移植における課題に対する対策】

ミスマッチ移植は、HLA適合血縁ドナーが見つからない場合において、骨髄バンクを介した非血縁ドナーとの調整にかかる手間や時間及び臍帯血移植における種々の問題を回避する有望な移植法である。これまでに、種々の検討がなされ、治療成績の向上が報告されて

きているものの、未だ確立された治療法とは言い難い状況である。

ミスマッチ移植における、造血幹細胞の生着、拒絶阻止及び重篤な GVHD 発症回避という課題の解決策の一つとして、G-CSF により動員した末梢血幹細胞の大量移植と T 細胞の選択的除去を用いての実施が検討されてきた。しかしながら、特に再発高リスク患者においては、移植後の感染症を主要因とする移植関連死や造血器悪性腫瘍の再発が、依然、大きな課題として残されており、この解決なくしては確立した移植法になり得ない。すなわち、ドナー由来の T 細胞は造血幹細胞の生着及び宿主免疫再構築を促進しており、これにより移植患者から日和見感染を予防するとともに、GVM 効果による再発防止に寄与している。したがって、T 細胞除去ミスマッチ移植では、移植後早期に免疫系を再構築する手立てが必須である。

モルメド社<sup>65</sup> (イタリア) は、自殺遺伝子である HSV-TK 遺伝子及び表面マーカーとしての  $\Delta$ LNGFR 遺伝子をレトロウイルスベクターにより導入したドナー T リンパ球を調製し、これを T 細胞除去ミスマッチ移植後に追加輸注 (Add-back) することで、早期に免疫系を再構築する臨床試験を実施している。これは、ドナー T リンパ球をそのまま Add-back した場合、重篤な急性 GVHD を発症するケースがあり (上記 Aversa F らの論文 22 に記載されている 1 例)、そのリスクを回避する為に Add-back 量をどうしても下げざるを得ず、その結果免疫系再構築への寄与が低下する。一方、抗 LNGFR 抗体で高度に純化した HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球を用いた場合、重篤な GVHD 発症時に GCV 製剤投与により当該細胞を抹消して沈静化する機能が付与され、これらが安全装置となる。すなわち、HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球を大量に Add-back することにより早期に免疫系を再構築でき、感染症を含む治療関連死の発生率低下や GVM 効果による疾患再発阻止が期待できる。したがって、この手法により、高リスク造血器悪性腫瘍患者に対して、T 細胞除去ミスマッチ移植をより安全かつ有効なものとするのが可能と考えられる。

### 【モルメド社の臨床試験概要】

造血幹細胞移植後の付加的治療（add-back 療法）として用いられる HSV-TK 遺伝子導入ドナー T リンパ球に対して、モルメド社は 2003 年に欧州医薬品審査庁（European Medicines Agency: EMEA）からオーファンドラッグの指定を受けており、現在、高リスク造血器悪性腫瘍患者を対象とした「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」による第 I / II 相臨床試験（TK007）を欧州 4 施設において実施している。2005 年 12 月に開催された第 47 回米国血液学会における発表では、登録患者 29 例の内 17 例に遺伝子導入 T リンパ球（ $1 \times 10^7$  個/kg オーダー）が Add-back され、その 14 例（82%）に免疫系再構築を確認している。また、14 例中 6 例（43%）に Add-back 後の急性 GVHD が発症したが、その内の 5 例に GCV 製剤が投与され、いずれも GVHD 症状が完全に沈静化している。したがって、導入した HSV-TK 遺伝子は、意図したとおり、自殺機能をヒト体内で発揮していることが確認されている。また、登録症例は高リスク造血器悪性腫瘍患者にもかかわらず、Add-back を受けた 17 例中 7 例に再発が認められたに過ぎない。更に、免疫系再構築に至った 14 例では、その後の感染症エピソード及び治療関連死が有意に少なくなっており（免疫系再構築前が 87% に対して 13%）、特にサイトメガロウイルス（cytomegalovirus: CMV）感染による死亡例は、評価対象 16 例中わずか 1 例（6%）に留まり、Perruccio K らが発表したハプロタイプ一致 T 細胞除去造血幹細胞移植のみを実施したコントロール症例 33 例中の 9 例（27%）（37）に比し、有意に低下していると報告している。途中経過としての全体生存率は、移植後 800 日時点で 46% に上り、European group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) が集計した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のみの場合に比し、有意に高い推移を示している（図 7）。

その後、臨床プロトコルの改訂により目標症例数が 30 症例に増加されており、2008 年 3 月時点で進行中である。2008 年 3 月～4 月に行なわれた欧州骨髓移植学会での発表及びモルメド社から入手した情報によると、2007 年 9 月時点で、51 例の症例登録が完了している。そのうち 27 例に遺伝子導入ドナー T リンパ球が Add-back され、22 例で免疫系再構築が達成された。

以上より、HSV-TK 遺伝子導入ドナー T リンパ球の Add-back が、早期免疫系再構築を促進し、移植後の感染死を含む治療関連死を予防し、全体としての生存率を上げることが確認された。すなわち、HSV-TK 遺伝子導入ドナー T リンパ球を大量に Add-back する手法は非常に有用で、T 細胞除去ミスマッチ移植を安全かつ有効に行える可能性が示唆されている。

### 【タカラバイオ株式会社の治験概要（予定）】

モルメド社から輸入した本臨床研究と同一のレトロウイルスベクターを用いた治験が、タカラバイオ（株）により計画されている。この治験では、同種造血幹細胞移植後に再発をきたした造血器悪性腫瘍患者を対象として、遺伝子導入 T リンパ球がドナーリンパ球輸注療法において投与される。タカラバイオ（株）は第 I 相試験を国立がんセンター中央病

院で平成 20 年度に開始する予定である。

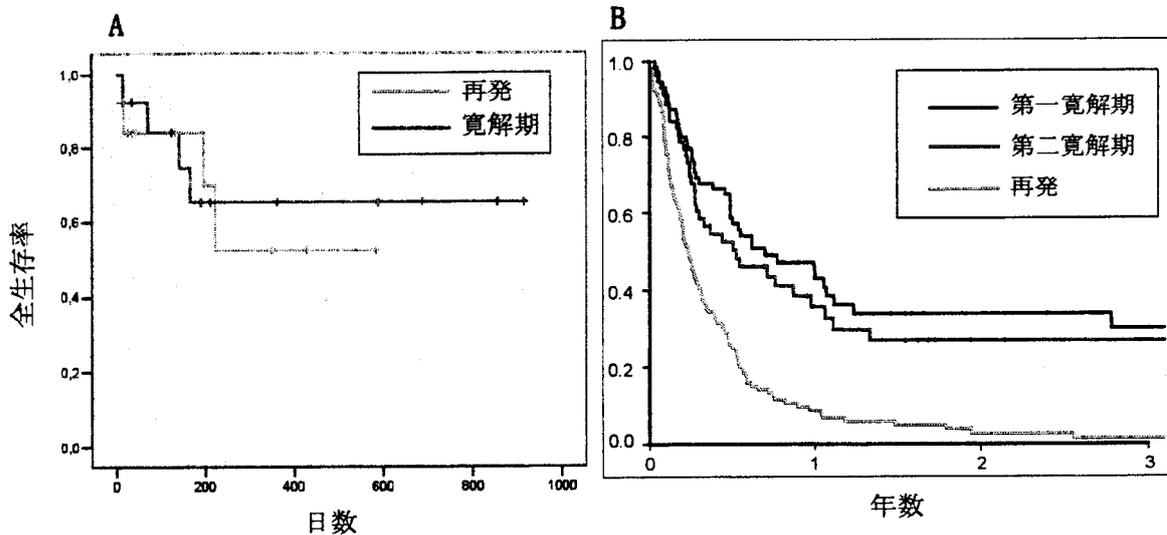


図 7 ハプロタイプ一致 T リンパ球除去造血幹細胞移植の全生存率

(モルメド社より入手)

A が TK007 (HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球を Add-back) の結果、B が EBMT (Add-back 無し) の結果を示す。グラフの凡例は、移植時の患者の状態を示す。

#### 【本遺伝子治療臨床研究の全体フロー】

以上の状況を踏まえ、国立がんセンター中央病院において、モルメド社が実施した臨床試験 (TK007) と同様のプロトコールによる遺伝子治療臨床研究を実施計画することとした (添付資料 表 7 参照)。対象患者は高リスク造血器悪性腫瘍患者であり、移植前の前処置、ハプロタイプ一致ドナー由来造血幹細胞からの CD34 陽性細胞の分離装置、HSV-TK 遺伝子及び  $\Delta$ LNGFR 遺伝子を含む遺伝子導入用レトロウイルスベクター、遺伝子導入細胞の調製法、及び Add-back する際の細胞数は、モルメド社の TK007 の場合と同様とする計画である。主要評価項目及び副次的評価項目に含まれる項目はほぼ同様であるが、安全性については今回の臨床研究では主要評価項目であるのに対し、モルメド社の臨床第 I / II 相試験では副次的評価項目である。これに関連して、本臨床研究では治療効果を期待しつつ安全性の評価を行うことを目的とするために、IL-2 を併用することなく、短期間により多くの遺伝子導入リンパ球を Add-back する用法・用量とした。その他、適格性確認の時点、再発時の対応等に相違があるが、評価に大きな影響を及ぼすものではなく計画全体としてはほぼ同様であると考えられる。

本遺伝子治療臨床研究を実施するにあたっては、国立がんセンター中央病院内に設置された無菌細胞調整施設 (CPR) にて、タカラバイオ(株)からの技術提供と助言を受け、モル