

本臨床研究は、上記3ステップによる「HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球の Add-back 療法を含む新規ミスマッチ移植法の確立」を最終的な目的とする。そのために、治療法全体としての安全性の評価のほか、ステップ③「HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球の Add-back」における T リンパ球の Add-back による T 細胞除去ミスマッチ移植を受けた患者の早期の免疫系再構築、免疫系再構築により感染症等の治療関連有害事象が予防又は軽減できるか否か、また疾患再発・増悪を阻止できるか否かの評価を目的とする。また、もし遺伝子導入 T リンパ球の Add-back により重篤な GVHD が発症した場合には、ガンシクロビル (ganciclovir: GCV) 製剤を投与することにより、HSV-TK 遺伝子の自殺機能を発揮させ、当該細胞の選択的な抹消により GVHD 症状が沈静化できるか否かを評価することも目的とする。

<主要エンドポイント>

- ・ 「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」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 発症頻度及び制御能

<副次的エンドポイント>

- ・ 「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」における感染症頻度、無病生存率、及び全般生存率

## V. 遺伝子治療臨床研究の対象疾患及びその選定理由

### V.1 治療を直接の目的とした遺伝子治療臨床研究を行う場合

#### V.1.1 対象疾患に関する現時点での知見

##### 【造血器悪性腫瘍患者に対する造血幹細胞移植の現状】

造血器悪性腫瘍の治療成績が、造血幹細胞移植の普及により格段に向上したことは周知であり、特に、HLA が適合した血縁者間での造血幹細胞移植は、既に確立した治療手段となっている。しかし、2 人の兄弟姉妹間で HLA が一致する確率は 1/4 であり、患者の他に 2 人の兄弟姉妹が存在するとしても、約 60%の患者は血縁者に HLA 適合ドナーが存在しない。このような場合、まずは、骨髄バンクを介して、HLA が適合又は 1 座不適合の非血縁者ドナーを探すこととなる。日本骨髄バンク (<http://www.jmdp.or.jp/index.html>) は、全米骨髄バンク (NMDP)、台湾骨髄バンク (BTCSCC)、韓国骨髄バンク (KMDP) と相互検索を提携して、HLA 1 座不適合までのドナーを高い確率で見出すシステムを充実させてきたが、非血縁ドナーが存在しない可能性、及びドナーコーディネートそのものに時間を要するという最大の問題がある。実際、日本骨髄バンクの患者登録者のうち、約 8 割にドナー候補が見出せるが移植がなされているのは半数以下であるのが現状である（上記ホームページ、日本骨髄バンクニュース vol 26）。更に今後、本邦での少子高齢化は深刻であり、移植を急ぐ患者にとっては、早急に造血幹細胞を調達できる移植システムのニーズがますます高まっている。

このニーズに対しては、臍帯血由来の造血幹細胞移植（臍帯血移植）とハプロタイプ一致血縁ドナー由来造血幹細胞移植（ミスマッチ移植）の大きく 2 つの方策が検討されてきた。

##### 【本邦における成人に対する臍帯血移植の現状】

1988 年 Gluckman らが Fanconi 貧血患者に対する HLA 一致同胞間臍帯血移植に成功して以来(1)、臍帯血移植は、骨髄移植、末梢血幹細胞移植に次ぐ第 3 の造血幹細胞移植として 1990 年代に臨床応用が開始された。わが国においては、1994 年に最初の同胞間臍帯血移植が東海大学で行われ(2)、以来 2004 年までに 45 例の同胞間臍帯血移植が実施された(3)。非血縁者間の臍帯血移植は 1997 年に神奈川県臍帯血バンクを通じて実施され、緊急的移植にも迅速に対応可能であること、ドナーの負担がないこと、HLA 2 座不一致まで移植可能であること等の利点があり、増加の一途を辿っている。1997 年以降、当初の数年は小児における移植が大半を占めていたが、2002 年以降は成人における移植件数が小児のそれを上回るようになった。50 歳以上の高齢者における移植は 2003 年を境に急増している（図 2）。

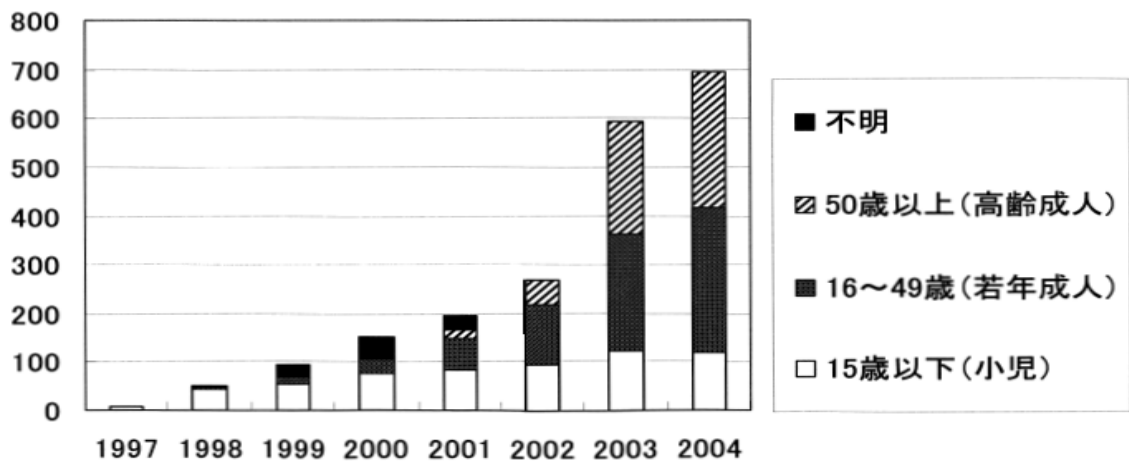


図2 わが国における非血縁者間臍帯血移植の年齢別実施数  
(日本さい帯血バンクネットワークホームページより)

#### 【当施設における臍帯血移植の経験】

国立がんセンター中央病院では、厚生科学研究ヒトゲノム・再生医療研究事業（斎藤班および高上班）の援助を受け、2003年8月1日より「RIST0304 非血縁者間臍帯血移植の安全性の検討 リン酸フルダラビン、ブスルファン、全身放射線照射併用多施設共同臨床研究」を行った。左記研究においては6症例の登録を行ったが、生着前の高熱など予想しなかった合併症が現れたため、多施設で行う前に解決すべき問題点があると判断し、2004年8月31日に多施設共同研究を中止した。その治療経験を元に2005年6月1日から厚生科学研究ヒトゲノム・再生医療研究事業（斎藤班および高上班）並びに厚生労働省科学研究効果的医療技術の確立推進臨床研究事業（谷口班）の支援を受け、「RICBT0501 非血縁者間臍帯血移植の安全性の検討 リン酸フルダラビン、ブスルファン、全身放射線照射併用2施設共同臨床研究」を開始し現在に至っており、臍帯血移植においても着実に経験を蓄積している。

#### 【日米欧から報告された成人に対する臍帯血移植の成績】

15頁の表2に今までに報告された日米欧の多施設あるいは単施設からの成人に対する臍帯血移植の成績を記す(4-7)。

多くがハイリスク造血器悪性腫瘍例に対して行われ、ごく一部のHLA一致例を除いてはほとんどの症例で2抗原以上の不一致移植である。前処置は施設毎、疾患毎にさまざまであるが、GVHD予防はシクロスポリン+プレドニゾロン、シクロスポリン+メソトレキサートの2剤で行われる場合が多かった。移植された有核細胞数は、中央値で $1.5 \sim 2.47 \times 10^7 / \text{kg}$ であった。4つの報告の患者背景はそれぞれに異なっているが、早期死亡率は4~14%、28あるいは42日以上生存した症例の好中球生着率は85~100%であり、好中球が $500 / \mu\text{l}$ 以上に到達するのに中央値で22~27日を要している。血小板が $20,000 / \mu\text{l}$ 以上に到達した症

例は 33～81%であり、中央値で 48～84 日を要した。急性 GVHD に関しては、Ⅱ度以上の発症頻度は 40～70%であるが、Ⅲ度以上の発症頻度は 7～32%とほとんどの症例で 2 抗原以上の不一致移植であるにもかかわらず高くない。慢性 GVHD の発症頻度は 32～90%と報告毎に大きく異なるが、限局型が多くを占めているという特徴がある。再発率に関しては、観察期間が短いため、ハイリスク症例を対象としているにもかかわらず高くない。移植関連死亡率、長期生存率に関しては、東京大学医科学研究所附属病院からの報告（7）が他に比べて極めて良好である。これらの報告の結果から、以下が明らかにされた。

- ・ 成人に対する骨髄破壊的前処置を用いた臍帯血移植においても、造血の再構築が得られること。
- ・ 発症する急性・慢性 GVHD は許容できるものであること。
- ・ ハイリスク患者を対象とした場合でも 10～20 数%の長期生存が得られること。
- ・ 患者の年齢・移植された CD34 陽性細胞数が成績に相関すること。
- ・ 移植後 100 日以内の早期死亡例では感染症や前処置関連毒性が多いこと。

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 例うちハリスカ 50 例	22 ハリスカ 16 例	57 1996 年以降、非悪 性疾患 2 例含む、 ハリスカ造血器腫瘍	68 41 例がハリスカ症例
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( $500/\mu\text{l}$ 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( $50,000/\mu\text{l}$ 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。

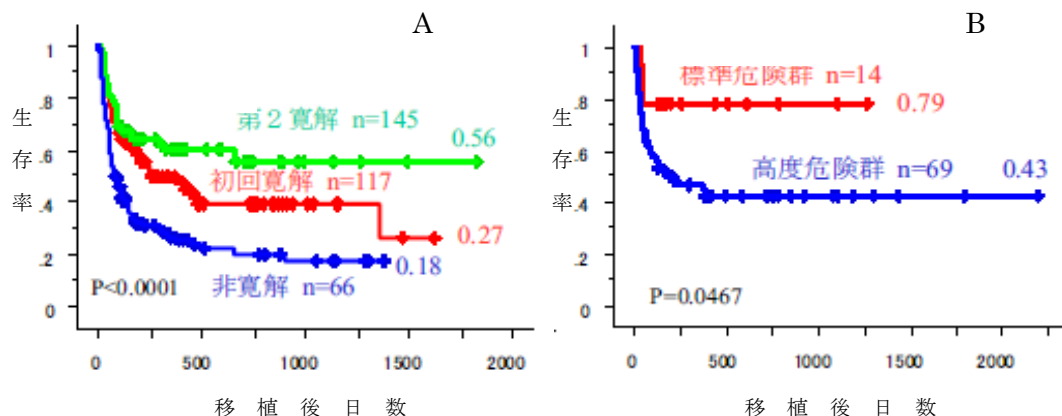


図3 骨髄破壊的前処置による成人臍帯血移植の成績  
急性白血病 (A)、および骨髄異形成症候群 (B) における移植病期と無イベント生存率

【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 (>0.5×10 <sup>9</sup> /l)	75%# 26日	89% 19日	中央値 ; 27日	中央値 ; 20日	中央値 ; 18日	92%* 22日	100%* 18日
到達日数	(14~80)	(5~72)				(16~41)	(12~33)
p値	<0.001		<0.001			<0.01	
血小板生着率 (>20×10 <sup>9</sup> /l)	NA	NA	中央値 ; 60日	中央値 ; 29日	中央値 ; 29日	90%** 40日	91%** 25日
到達日数						(13~99)	(10~172)
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 0.5×10<sup>9</sup>/l以上の到達率

\*\*100日における血小板数 20×10<sup>9</sup>/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、移植後再発を来たした場合のドナーリンパ球輸注<sup>4</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、各骨髄バンクからの報告よりも移植有核細胞数が多く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るため、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、骨髓破壊的前処置後、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)。