平成 28 年度認定 HLA 検査技術者講習会テキスト

造血幹細胞移植の現状と展望

豊嶋 崇徳¹⁾¹⁾ 北海道大学大学院医学研究科医学専攻内科学講座血液内科学分野

造血幹細胞移植は白血病などに治癒をもたらす治療法として開発された。わが国におけるその発展の歴史は、骨髄移植が導入された 1970 年代の“黎明期”，移植細胞源の拡大，骨髄バンク，臍帯血バンクの創設，ミニ移植法の開発などが相次ぎ，移植の多様化と適応拡大へと進んでいった 1990 年代の“発展期”，そして HLA の壁にチャレンジし，必要な患者にタイムリーに移植を実施し，移植後の QOL も重視していこうという現在の“成熟期”に分類される（表 1）。このような大きな変遷の中で，従来，造血幹細胞移植の成功のために必須の 4 条件と考えられてきた，ドナーと患者間の HLA 適合，移植前の骨髄破壊的前処置の実施，移植後免疫抑制剤投与，無菌管理，は大きく様変わりし，移植医療の風景は一変した。本稿ではこのような歴史を振り返りながら，造血幹細胞移植の現状と展望を俯瞰する。

キーワード：HLA 半合致移植，移植前処置，抗胸腺細胞グロブリン，シクロホスファミド

1. はじめに

1945 年，米国のルーズベルト大統領は原子爆弾を開発するマンハッタン計画と並行して，アインシュタイン博士ら科学者のアドバイスを受け，被ばく対策の検討を命じた。1950 年頃，Jacobson や Lorenz らによって致死的な放射線被ばくをしたマウスを，脾臓の遮蔽，あるいは同系マウスからの脾臓や骨髄細胞の移植で救命できることが報告され，さらに 1957 年，Barnes らにより，救命されたマウスの血液細胞がドナー由来であることが証明され，造血幹細胞移植の概念が確立した。早くも 1958 年にはユーゴスラビアで起きた放射線被ばく事故に対しフランスで骨髄移植が行われ，被爆者は救命されたが，それは自己造血の回復によるものであり，移植としては失敗であったと考えられている。1959 年，のちにノーベル賞を受賞することとなるシアトルのトーマス博士らは，白血病の小児に対し一卵性双生児をドナーとして骨髄破壊的な全身放射線照射後に骨髄移植を行った

症例を報告した¹⁾。ドナー血球の生着はすみやかにえられたが，白血病は寛解に至らなかった。この論文に，移植前処置のみでは白血病の根治は困難であり，同種ドナーからの移植が必要ではないか，しかしその場合には今日でいうところの移植片対宿主病（graft-versus-host disease: GVHD）のリスクがあると記述されており，その先見の明に感銘を受ける。その後，実際，白血病に対し同種移植が行われたが，予想されたように致死的な GVHD が発症し，骨髄移植の熱気は急速に冷え込んでいった。

そのような中でもシアトルのグループは犬を用いた研

表 1 わが国の造血幹細胞移植の歴史

年代	特徴	イベント
1970	黎明期	骨髄移植の開始，シクロスポリンの導入
1990	発展期	末梢血幹細胞移植，臍帯血移植，ミニ移植 骨髄バンク，臍帯血バンク創設
2010	成熟期	移植推進法案，HLA 半合致移植

受付日：2016 年 6 月 28 日，受理日：2016 年 6 月 28 日

代表者連絡先：豊嶋 崇徳 〒060-8638 札幌市北区北 15 条西 7 丁目 北海道大学大学院医学研究科医学専攻内科学講座血液内科学分野

TEL: 011-706-7214 FAX: 011-706-7823 E-mail: teshima@med.hokudai.ac.jp

究をすすめ、組織適合性抗原適合の重要性を明らかにし、さらに移植後の免疫抑制剤の投与により安定した生着とGVHD予防が可能となることを発見した。再度臨床応用にチャレンジし、1970年代後半に白血病患者の治療例を報告し²⁾、骨髄移植は白血病に治療をもたらす治療法として一気にリバイバルすることとなった。このような研究の中で、移植の成功のための4条件、すなわち、①ドナーと患者間のHLA適合、②移植前の骨髄破壊の前処置の実施、③移植後免疫抑制剤投与、④無菌管理が明らかにされ、その功績に対し、1990年、トーマス博士はノーベル医学生理学賞を授与された。しかし、その後の医学の進歩の中で、この4条件は大きく変遷していった。

2. HLA 適合

ドナーとレシピエントのHLA適合度は移植成績に大きな影響を及ぼし、HLA適合が移植の原則である。一方、骨髄移植が開始されたころに比較し、わが国では少子化が進んでおり、HLA適合家族ドナーが得られる確率は次第に低下している。1990年代には骨髄バンク、臍帯血バンクが設立され、血縁者内にドナーがえられない患者を救うための社会基盤が整備されていった³⁾。臍帯血移植では免疫細胞、とくにT細胞の絶対数が少ないことと機能的に未熟であることから、骨髄移植にくらべ、HLA不適合でもGVHDのリスクが低いことが明らかとなり、この臍帯血移植が普及した時点で、HLAの壁は実質的に打破されたといえよう^{4,5)}。

HLA検査法の進歩に伴い、HLA-A, B, DRの6座の血清学的タイピングの時代からDNAタイピングへと移行し、さらにHLA2桁から4桁表示の精密DNAタイピングによるHLA-A, B, C, DR, DQの10座合致へとHLA適合の要求度は高まっていった。その結果、HLA適合非血縁者間移植の成績は、HLA適合血縁者間移植の成績に匹敵するようになった⁶⁾。しかし同時にGVHD予防法も進歩したために、HLA適合ドナーが得られない場合には、HLA一座不適合ドナーからの移植も行われている⁷⁾。また骨髄バンクを介した移植成績の解析によって、ドナー、患者間のHLA不適合の組み合わせによって、“許容できる不適合”と“許容されない不適合”があることが報告され、ドナー選択のための参考にされている⁸⁾。しかし、GVHD予防法をはじめとする移植医療の

進歩により、その差は縮小し意義が薄れてきている⁹⁾。

マウスを用いた研究では、ドナーT細胞がGVHDの原因となり、移植片からT細胞を除去した場合、GVHDは発症しないことが明らかになっていった。イタリアの研究者らはこれをヒトに応用し、効率よいT細胞除去が達成されれば、たとえHLA半合致（ハプロ）移植であってもGVHDのリスクは低く、移植後の免疫抑制剤の投与も必要ないことを報告した¹⁰⁾。このような研究によって、従来のHLA適合にとらわれないHLA半合致移植の研究の端緒が開かれていった。しかしこのようなT細胞除去法には高価な機器が必要であるため一般化しにくく、その代替法として抗リンパ球グロブリンや抗胸腺細胞グロブリン（antithymocyte globulin: ATG）を投与する方法が用いられてきた。しかし、T細胞除去効果が不十分なため、免疫抑制剤の投与が必要であり、それも相まって日和見感染症の増加が問題となっていった。しかし本法は兵庫医大や中国のグループによって改良が重ねられ、優れた成績が報告されている^{11,12)}。

最近、移植後大量シクロホスファミド（posttransplant cyclophosphamide: PTCy）を用いたGVHD予防法が注目され、これを用いた血縁者間HLA半合致移植が国際的に急速に普及してきている（図1）¹³⁾。PTCyの作用機序として、移植後早期に同種抗原に反応して活性化したアロ応答性T細胞の選択的殺細胞効果が示唆されており、アロ非応答性T細胞が温存されるため免疫回復が良好である可能性が示されている。われわれは本法の安全性と有効性を検討するため、米国における原法をアレンジし、骨髄移植の代替として末梢血幹細胞移植を用いた全国多施設共同研究であるJSCT-Haplo13試験を実施した。

図1 HLA 適合移植と PTCy 法による HLA 半合致移植

その結果、高い GVHD 抑制効果が認められ、本法が安全に実施可能であることが示唆された¹⁴⁾。GVHD 治療としての全身ステロイド投与の必要性も低く、そのため感染症の頻度も低い可能性も示唆される。さらに、慢性 GVHD の発症も低頻度である可能性もあり、移植後長期の QOL の観点からも期待される移植法である。続いて、骨髄破壊の前処置法を用いた Haplo14 試験も実施完了し、現在はさらに条件を変更した Haplo16 試験を開始した。これらの前向き試験の結果によって、ドナーの選択肢が広がり、骨髄バンク、臍帯血バンクとあわせ、移植が必要な患者により迅速でタイムリーな移植を実施できる体制が整備できるものと期待される。欧米からは HLA 適合移植、CD34 陽性細胞移植、臍帯血移植などさまざまな移植法との比較検討が行われ、PTCy 法による血縁者間 HLA 半合致移植はこれらと遜色ない成績であると考えられるようになってきた¹⁵⁻¹⁸⁾。

現時点での同種造血幹細胞移植におけるドナー選択アルゴリズムは、HLA 適合血縁者が第一選択で、次いで、HLA 適合（～一座不適合）非血縁者、HLA 一座不適合血縁者、臍帯血の中から患者の状況にとって最適なドナーを選択することが推奨される。さらに患者の状況によっては HLA 半合致血縁ドナーからのハプロ移植も選択肢に入り、この場合、臨床研究に参加する施設では PTCy 法によるハプロ移植も考慮される。

3. 移植前処置

移植前処置の目的は、①悪性細胞の根絶、②レシピエントの免疫担当細胞と骨髄細胞の抑制による移植片拒絶の予防である。従来は、骨髄破壊的な前処置がドナー造血細胞の生着に必要と考えられてきたが、シアトルのストーブ博士らの犬を用いた研究によって、このセントラルドグマが否定され、免疫抑制を主体とした骨髄非破壊的な移植前処置によっても生着が得られることが明らかにされた。これにより、従来造血幹細胞移植の適応とならなかった高齢者や合併症によって臓器予備能の低下した患者へも移植適応が拡大された¹⁹⁾。

一般的には、若年者で再発リスクが高い場合には骨髄破壊の前処置が好まれ、高齢者や再移植、合併症を有する例など、強化前処置に適さないと考えられる場合には骨髄非破壊の前処置が用いられる。骨髄破壊の前処置は全身放射線照射（total body irradiation: TBI）を用いる前

図2 少量 ATG を用いた PBSCT (JSCT-ATG15 試験)

処置と非照射レジメに大別されるが、急性リンパ性白血病では歴史的に TBI レジメが用いられるのに対し、骨髄系腫瘍では非照射レジメも用いられ、とくに欧米では非照射レジメが主流となっている。米国では非照射レジメの代表であった busulfan+cyclophosphamide (BU/CY) レジメが減少傾向にあり、fludarabine+BU (Flu/BU) が増加している。後者では臓器毒性がより低いと考えられより高齢者に用いられる傾向がみられる一方、拒絶リスクの増加が危惧され、状況に応じて選択される。骨髄非破壊の前処置では Flu/BU2 や fludarabine+melfalan (Flu/Mel) が多く使用される。

さらに最近では移植後の QOL が重視されるようになってきた。すなわち、慢性 GVHD と小児、若年者においては成長障害、不妊を回避しようとする考え方である。白血病のコントロールが困難な場合にはこれらを犠牲にしても最大の抗腫瘍効果を求めるのは仕方ないが、寛解期移植などある程度長期生存が期待される場合には、当然、白血病のコントロールと同時にこのような考慮も求められる。成長障害を避けるため小児では非 TBI レジメが考慮され、不妊防止の観点からは TBI の際の卵巣遮蔽、非 BU レジメの使用などが考慮される。また慢性 GVHD は小児、成人に関わらず長期の QOL に影響する問題であり、とくに骨髄移植に較べ末梢血幹細胞移植 (PBSCT) で問題となっている²⁰⁾。寛解期移植では避けたい問題であり、欧州では寛解期移植には移植前処置に ATG を併用することが一般化しつつある^{21,22)}。現在、わが国でも PBSCT において少量 ATG を併用することで GVHD の減少が達成できるか臨床研究が行われている (図2)。また先述した PTCy 法においても慢性 GVHD の軽減が期待されている^{14,18)}。

4. GVHD 予防

カルシニューリン阻害剤を用いた GVHD 予防法は依然として主流であり、米国、日本では tacrolimus が、欧

州では cyclosporine が用いられることが多い。併用される代謝拮抗薬の methotrexate は4回投与から3回投与へと、1回投与量も減じられる傾向がみられる。また臍帯血移植では生着の観点からわが国では保険適応外であるが mycophenolate mofetil (MMF) が頻用されている²³⁾。

カルシニューリン阻害剤やステロイドなどの免疫抑制剤は移植後の制御性T細胞の再構築を阻害する可能性が示唆されており、免疫寛容導入の観点からカルシニューリン・フリーのGVHD予防法の確立が模索されてきた²⁴⁾。現時点で最も期待されるのはPTCy法であり、HLA適合移植ではPTCy単独のGVHD予防の臨床研究が進んでいる²⁵⁾。HLA半合致移植ではPTCy単独では不十分であるため、その後にカルシニューリン阻害剤が投与されているが、今後はmechanistic target of rapamycin (mTOR) 阻害剤など制御性T細胞に影響を与える可能性が低いと考えられている薬剤を用いた臨床研究が進んでいくものと考えられる。

アロ応答性ドナーT細胞がGVHDの原因であることから、CD34陽性細胞移植では、ATG以外の薬剤によるGVHD予防は必要ない¹⁰⁾。GVHD予防の観点からは理想的な移植法であるが、医療コストの問題と日和見感染の問題があるため、一般臨床応用は困難である。

5. 無菌管理

造血幹細胞移植の成功には、無菌室の使用、腸内殺菌、無菌食による徹底した無菌管理があった。しかし、その後これらは見直され、無菌管理の簡素化が達成されている。無菌室の使用はアスペルギルス感染の予防が主目的であり、土壌から空中に拡散し病室へと侵入する真菌を防止するには、ヘパフィルターを使用して病室に送気することと、空気の流れを病室内から廊下へと一方通行にすることである。病院建築の進歩により、開放窓のない構造が増え、無菌室も高層階に設置されることが多くそもそも真菌が病院内へと侵入するリスクは以前よりも減少している。その他、耐性菌を持ち込まない点については、造血幹細胞移植に特異的な問題ではなく、標準的防御策で対応する。経口抗菌剤の投与もかつてのような腸内殺菌を目的とするというよりも、実際に感染症発症が減少するのか、一方耐性菌の増加はないかといった視点から行われている。食事についても現在のマニュアルに準拠して調理される病院食であれば、特別な無菌処理は

必要ないとされている。このような無菌管理の簡素化は、限られた経済的、人的資源を有効に使用し、移植医療を多くの患者に提供する基盤整備には極めて重要である。

6. 臨床経験から基礎医学へのフィードバック

このように造血幹細胞移植は基礎免疫学の進歩と並行して発展を遂げてきた。ある意味では、免疫学でえられた知見が検証される場でもあった。しかし、最近のHLAバリアへのチャレンジの成果は、逆に免疫学のセントラルドグマに疑問符を投げかけることとなった。HLA半合致移植後には患者は血液系細胞と非血液細胞のHLAハプロタイプの1本が異なるキメラ状態が終生持続する。つまりT細胞からみて非自己が存在し続けるにも関わらず、われわれのPTCY法によるHLA半合致移植後には長期生存例の半数程度患者では免疫抑制剤を中止することができていることから、免疫寛容が成立しているものと考えられる。それはいったいなぜなのか？われわれはマウスでの研究からこの現象には免疫チェックポイント機構が関与したT細胞疲弊が関与しているのではないかという知見をえた²⁶⁾。そうだとすると、HLA不適合移植後の血液悪性腫瘍の再発に対する免疫チェックポイント阻害剤の投与は免疫寛容をリバーシしてしまう可能性がある。

HLA半合致移植後にはT細胞はMHC半合致である胸腺において分化成熟する。「MHC拘束性」とはT細胞性応答は自己と同一のMHC分子によって抗原が提示された場合のみに起こるというものである。HLA半合致移植後には、T細胞と抗原提示細胞はドナー由来でMHCは完全一致であるが、体細胞はHLA半合致である。しかし、PTCY法によるHLA半合致移植後には、HLA適合移植と比べ、感染症に難渋するという事はない。これらのことから「MHC拘束性」は一つのハプロタイプのみで成立し、また非自己MHCが共存するなかでも成立することを示唆している。

PTCY法によるHLA半合致移植では、HLA半合致であるにも拘わらず移植直後に一切免疫抑制剤を投与しない。すると、移植翌日あたりから発熱がみられ、3日目あたりには38-39°C程度の高熱となることがしばしばである。移植3-4日目に大量Cyを投与すると、解熱がみられることから、アロ応答性T細胞による「Haploimmunostorm syndrome」として知られる¹⁴⁾。アロ応答性T

細胞はナイーブ T 細胞分画に存在するとされる。しかしナイーブ T 細胞の抗原特異的応答には数日かかるとされる。実際、輸血後 GVHD もこのような早期には発熱はみられない。移植前処置による炎症環境や、リンパ球減少環境では抗原特異的 T 細胞応答が早期化するのではないかと考えられる。このように多様化した造血幹細胞移植後の状況を詳細に観察し、疑問点を基礎医学にフィードバックし、研究を進めることが重要であると考えられる。

参考文献

- 1) Thomas ED, Lochte HL, Jr., Cannon JH, *et al.*: Supralethal whole body irradiation and isologous marrow transplantation in man. *J Clin Invest* 38: 1709–1716, 1959.
- 2) Thomas ED, Buckner CD, Banaji M, *et al.*: One hundred patients with acute leukemia treated by chemotherapy, total body irradiation and allogeneic marrow transplantation. *Blood* 49: 511–533, 1977.
- 3) Gragert L, Eapen M, Williams E, *et al.*: HLA match likelihoods for hematopoietic stem-cell grafts in the U.S. registry. *N Engl J Med* 371(4): 339–348, 2014.
- 4) Kurtzberg J, Laughlin M, Graham ML: Placental blood as a source of hematopoietic stem cells for transplantation into unrelated recipients. *N Engl J Med* 335: 157–166, 1996.
- 5) Takahashi S, Iseki T, Ooi J, *et al.*: Single-institute comparative analysis of unrelated bone marrow transplantation and cord blood transplantation for adult patients with hematologic malignancies. *Blood* 104(12): 3813–3820, 2004.
- 6) Kanda J, Saji H, Fukuda T, *et al.*: Related transplantation with HLA-I Ag mismatch in the GVH direction and HLA-8/8 allele-matched unrelated transplantation: a nationwide retrospective study. *Blood* 119(10): 2409–2416, 2012.
- 7) Kanda Y, Chiba S, Hirai H, *et al.*: Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation from family members other than HLA-identical siblings over the last decade (1991–2000). *Blood* 102(4): 1541–1547, 2003.
- 8) Kawase T, Morishima Y, Matsuo K, *et al.*: High-risk HLA allele mismatch combinations responsible for severe acute graft-versus-host disease and implication for its molecular mechanism. *Blood* 110(7): 2235–2241, 2007.
- 9) Kanda Y, Kanda J, Atsuta Y, *et al.*: Changes in the clinical impact of high-risk human leukocyte antigen allele mismatch combinations on the outcome of unrelated bone marrow transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 20(4): 526–535, 2014.
- 10) Aversa F, Tabilio A, Velardi A, *et al.*: Treatment of high-risk acute leukemia with T-cell-depleted stem cells from related donors with one fully mismatched HLA haplotype. *N Engl J Med* 339(17): 1186–1193, 1998.
- 11) Wang Y, Liu QF, Xu LP, *et al.*: Haploidentical vs identical-sibling transplant for AML in remission: a multicenter, prospective study. *Blood* 125(25): 3956–3962, 2015.
- 12) Ikegame K, Yoshida T, Yoshihara S, *et al.*: Unmanipulated haploidentical reduced-intensity stem cell transplantation using fludarabine, busulfan, low-dose antithymocyte globulin, and steroids for patients in non-complete remission or at high risk of relapse: a prospective multicenter phase I/II study in Japan. *Biol Blood Marrow Transplant* 21(8): 1495–1505, 2015.
- 13) Luznik L, O'Donnell PV, Symons HJ, *et al.*: HLA-haploidentical bone marrow transplantation for hematologic malignancies using nonmyeloablative conditioning and high-dose, posttransplantation cyclophosphamide. *Biol Blood Marrow Transplant* 14(6): 641–650, 2008.
- 14) Sugita J, Kawashima N, Fujisaki T, *et al.*: HLA-haploidentical peripheral blood stem cell transplantation with post-transplant cyclophosphamide after busulfan-containing reduced-intensity conditioning. *Biol Blood Marrow Transplant* 21(9): 1646–1652, 2015.
- 15) Brunstein CG, Fuchs EJ, Carter SL, *et al.*: Alternative donor transplantation after reduced intensity conditioning: results of parallel phase 2 trials using partially HLA-mismatched related bone marrow or unrelated double umbilical cord blood grafts. *Blood* 118(2): 282–288, 2011.
- 16) Ciurea SO, Mulanovich V, Saliba RM, *et al.*: Improved early outcomes using a T cell replete graft compared with T cell depleted haploidentical hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 18(12): 1835–1844, 2012.
- 17) Bashey A, Zhang X, Sizemore CA, *et al.*: T-cell-replete HLA-haploidentical hematopoietic transplantation for hematologic malignancies using post-transplantation cyclophosphamide results in outcomes equivalent to those of contemporaneous HLA-matched related and unrelated donor transplantation. *J Clin Oncol* 31(10): 1310–1316, 2013.
- 18) Ghosh N, Karmali R, Rocha V, *et al.*: Reduced-intensity transplantation for lymphomas using haploidentical related donors versus HLA-matched sibling donors: a center for international blood and marrow transplant research analysis. *J Clin Oncol* 2016.
- 19) Gooley TA, Chien JW, Pergam SA, *et al.*: Reduced mortality after allogeneic hematopoietic-cell transplantation. *The New England journal of medicine* 363(22): 2091–2101, 2010.
- 20) Anasetti C, Logan BR, Lee SJ, *et al.*: Peripheral-blood stem cells versus bone marrow from unrelated donors. *The New England journal of medicine* 367(16): 1487–1496, 2012.
- 21) Finke J, Bethge WA, Schmoor C, *et al.*: Standard graft-versus-host disease prophylaxis with or without anti-T-cell globulin in haematopoietic cell transplantation from matched unrelated donors: a randomised, open-label, multicentre phase 3 trial. *Lancet Oncol* 10(9): 855–864, 2009.

- 22) Kroger N, Solano C, Wolschke C, *et al.*: Antilymphocyte globulin for prevention of chronic graft-versus-host disease. *N Engl J Med* 374(1): 43–53, 2016.
- 23) Iida M, Fukuda T, Ikegame K, *et al.*: Use of mycophenolate mofetil in patients received allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in Japan. *International journal of hematology* 93(4): 523–531, 2011.
- 24) Zeiser R, Nguyen VH, Beilhack A, *et al.*: Inhibition of CD4+CD25+ regulatory T-cell function by calcineurin-dependent interleukin-2 production. *Blood* 108(1): 390–399, 2006.
- 25) Kanakry CG, Tsai HL, Bolanos-Meade J, *et al.*: Single-agent GVHD prophylaxis with posttransplantation cyclophosphamide after myeloablative, HLA-matched BMT for AML, ALL, and MDS. *Blood* 124(25): 3817–3827, 2014.
- 26) Asakura S, Hashimoto D, Takashima S, *et al.*: Alloantigen expression on non-hematopoietic cells reduces graft-versus-leukemia effects in mice. *J Clin Invest* 120(7): 2370–2378, 2010.

Current status and future perspective of hematopoietic stem cell transplantation

Takanori Teshima¹⁾

¹⁾Hematology, Hokkaido University

Hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) cures various hematologic diseases such as leukemia. History of development of HSCT could be categorized as “age of dawning” in 1970’s, “age of expansion” in 1990’s, when various transplant procedures were developed and indication of HSCT was expanded by the use of alternative sources of hematopoietic stem cells, establishment of bone marrow and cord blood banking, and the current “age of maturation”, when HLA barrier is breaking and quality of life posttransplant is improved. During such a long history of refinement of HSCT, long-term assumption of the requirements for successful HSCT, including HLA matching between the donor and host, myeloablative conditioning regimen, posttransplant immunosuppression, and germ-free environment has been revisited. In this issue, current status and future perspective of HSCT is discussed.

Key Words: graft-versus-host disease, haploidentical transplantation, cyclophosphamide, antithymocyte globulin, calcineurin inhibitor