

# 成人急性骨髄性白血病に対する同種造血幹細胞移植に用いる臍帯血ユニット選択に関する検討

愛知県がんセンター

血液・細胞療法部 医長 柳田 正光

## 1. 研究の背景・目的

臍帯血は同種造血細胞移植の主要な幹細胞源のひとつであり、今日では臍帯血移植は国内で実施される同種移植の 3 分の 1 を占める。移植に用いる臍帯血ユニットを選択する際にはヒト白血球抗原 (HLA) の適合度及び有核細胞数が重要と考えられており、国内では、HLA-A, B, DR 血清型 4/6 以上適合、かつ有核細胞数  $2.0 \times 10^7/\text{kg}$  以上であることが選択基準として広く受け入れられている。実際には、この基準に合致する臍帯血ユニットは複数見つかることが多く、その場合は、有核細胞数、CD34 陽性細胞数、HLA 適合度、ドナー特異的 HLA 抗体等の条件を考慮して、最も好ましいと思われるユニットを経験的に選択しているのが現状であり、最適な臍帯血ユニットを特定するための基準は確立していない。

本研究は、急性骨髄性白血病 (AML) に対する臍帯血移植療法において、事前に判明している臍帯血ユニットの条件が移植成績に及ぼす影響を評価することを目的とする。有核細胞数、CD34 陽性細胞数、HLA 適合度、ドナー特異的 HLA 抗体の有無等が臍帯血移植の成績と関連することが報告されている一方で [1-5]、これらの因子は予後とは関連しないという報告もあり結論は一定しない。研究によって相反する結果が得られている要因として解析対象となっている患者の多様性が挙げられる。とりわけ、小児患者と成人患者の体格差は有核細胞数や CD34 陽性細胞数の影響を評価する際にバイアスとなると考えられるが、既報の多くは小児患者を多く含んでいる。また、臍帯血ユニットの選択は生着、移植片対宿主病 (GVHD)、再発といった複数のアウトカムに影響を及ぼしうることから、疾患や病期に関してできる限り均一な患者集団を対象として検討を行うことが望ましい。このような観点から、本研究は臍帯血移植の対象疾患として最も頻度が高い AML の患者に限定し、さらに寛解期移植に焦点を当てて、臍帯血ユニット選択の適正

化について検討を行うこととした。

## 2. 研究の対象ならびに方法

### (1) 研究の概要

本研究は日本造血細胞移植学会一元管理データに基づき実施する後方視的観察研究である。日本造血細胞移植学会一元管理データベースの情報を匿名化した上で供与を受け解析に用いた。

### (2) 対象

日本造血細胞移植学会一元管理データベースに登録されている症例のうち、2003年1月から2016年12月の間に、初回移植として臍帯血移植を施行した年齢16歳以上の急性骨髄性白血病患者で、HLA-A, B, DR血清型4/6以上適合、かつ有核細胞数  $2.0 \times 10^7/\text{kg}$  以上の臍帯血単一ユニットが用いられた症例を同定し解析対象とした。

### (3) 方法

臍帯血ユニットの条件(有核細胞数, CD34陽性細胞数, HLA適合度, 性別, 血液型, サイトメガロウイルス抗体, ドナー特異的HLA抗体, 保存期間等)が移植後の経過に及ぼす影響について、寛解期移植と非寛解期移植に分けて検討を行った。主要評価項目を全生存率, 副次評価項目を再発率, 非再発死亡率, 生着率, Grade 2以上の急性GVHD発症率, 慢性GVHD発症率とした。解析にはKaplan-Meier法, cumulative incidence法, Cox比例ハザード解析, competing risk regression解析等の手法を用いた。

### (4) 倫理的配慮

本研究はヘルシンキ宣言, 「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」, 「個人情報の保護に関する法律」に従って実施する。研究の実施に先立って日本造血細胞移植学会および当施設の倫理審査委員会の承認を得た。「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に基づき, 当施設ホームページにおいて, 研究に用いられる情報の利用目的を含む本研究についての情報を公開し, 研究が実施又は継続されることについて研究対象者等が拒否できる機会を保障した。データの管理は, インターネットに接続しない1台のコンピューターでのみ行い, コンピューターはパスワードにてロックし漏洩に対する安全対策を講じるほか, 鍵のかかるキャビネット内に保存することによってデータ保管を厳重に行った。

### 3. 研究結果

計 1,355 例が解析対象となった。観察期間中央値は 3.2 年で、全症例の 3 年生存率、再発率、非再発死亡率はそれぞれ 55.1%, 18.2%, 29.5%であった。

有核細胞数の中央値は  $2.68 \times 10^7/\text{kg}$  [四分位 (IQR):  $2.34\text{--}3.16 \times 10^7/\text{kg}$ ], CD34 陽性細胞数の中央値は  $0.84 \times 10^5/\text{kg}$  (IQR:  $0.61\text{--}1.18 \times 10^5/\text{kg}$ ) であった。有核細胞数, CD34 陽性細胞数とも、全死亡, 再発, 非再発死亡のリスクに有意な影響を及ぼさなかった(表 1)。

表 1. 有核細胞数, CD34 陽性細胞数が移植成績に及ぼす影響: 多変量解析結果

	全死亡リスク			再発リスク			非再発死亡リスク		
	HR	(95% CI)	P 値	HR	(95% CI)	P 値	HR	(95% CI)	P 値
有核細胞数									
2.00-2.33 x 10 <sup>7</sup> /kg	1.00			1.00			1.00		
2.34-2.67 x 10 <sup>7</sup> /kg	0.82	(0.65-1.03)	0.089	1.12	(0.76-1.65)	0.562	0.86	(0.66-1.12)	0.252
2.68-3.15 x 10 <sup>7</sup> /kg	1.05	(0.84-1.32)	0.643	1.39	(0.96-2.00)	0.079	0.83	(0.63-1.09)	0.174
≥3.16 x 10 <sup>7</sup> /kg	1.05	(0.84-1.32)	0.677	1.40	(0.96-2.03)	0.078	0.90	(0.69-1.19)	0.473
CD34 陽性細胞数									
<0.61 x 10 <sup>5</sup> /kg	1.00			1.00			1.00		
0.61-0.83 x 10 <sup>5</sup> /kg	1.03	(0.82-1.29)	0.811	1.12	(0.77-1.64)	0.554	0.94	(0.71-1.23)	0.647
0.84-1.17 x 10 <sup>5</sup> /kg	0.96	(0.76-1.21)	0.700	1.12	(0.76-1.64)	0.573	0.84	(0.64-1.12)	0.240
≥1.18 x 10 <sup>5</sup> /kg	1.04	(0.83-1.31)	0.711	1.36	(0.94-1.97)	0.100	0.87	(0.66-1.16)	0.350

各種の HLA 適合度が移植成績に及ぼす影響を表 2 に示す。HLA-A, B, DR 血清型において、65 例 (5%) が 6/6 適合, 294 例 (22%) が 5/6 適合, 996 例 (74%) が 4/6 適合であった。HLA-A, B, DR 血清型適合度は全死亡, 再発, 非再発死亡のリスクに有意な影響を及ぼさなかった。HLA-DRB1 遺伝子型のデータが判明している患者は 1,237 例であった。HLA-A, B 血清型, DRB1 遺伝子型において、35 例 (3%) が 6/6 適合, 158 例 (13%) が 5/6 適合, 635 例 (51%) が 4/6 適合, 362 例 (29%) が 3/6 適合, 47 例 (2%) が 2/6 適合であった。HLA-A, B 血清型, DRB1 遺伝子型適合度が高い患者は非再発死亡リスクが低い一方で、再発リスクは高く、その 2 つが相殺される形で全死亡のリスクへの影響は有意ではなかった。HLA-A, B, DRB1 遺伝子型

適合度を用いた場合、非再発死亡リスクとの相関は HLA-A, B 血清型, DRB1 遺伝子型を用いた場合より低かった。

表 2. HLA 適合度が移植成績に及ぼす影響: 多変量解析結果

	全死亡リスク			再発リスク			非再発死亡リスク		
	HR	(95% CI)	P 値	HR	(95% CI)	P 値	HR	(95% CI)	P 値
HLA-A, B, DR 血清型									
6/6 適合	1.00			1.00			1.00		
5/6 適合	1.06	(0.70-1.61)	0.789	0.74	(0.42-1.33)	0.314	1.26	(0.72-2.19)	0.418
4/6 適合	1.13	(0.76-1.67)	0.547	0.69	(0.41-1.18)	0.181	1.43	(0.85-2.42)	0.179
HLA-A, B 血清型, DRB1 遺伝子型									
伝子型									
5-6/6 適合	1.00			1.00			1.00		
4/6 適合	1.04	(0.81-1.33)	0.770	0.67	(0.47-0.96)	0.028	1.38	(0.98-1.94)	0.061
2-3/6 適合	1.19	(0.92-1.55)	0.183	0.64	(0.44-0.94)	0.023	1.68	(1.19-2.38)	0.003
HLA-A, B, DRB1 遺伝子型									
5-6/6 適合	1.00			1.00			1.00		
4/6 適合	0.92	(0.69-1.24)	0.595	0.68	(0.45-1.02)	0.060	1.08	(0.73-1.58)	0.711
0-3/6 適合	1.07	(0.81-1.42)	0.648	0.65	(0.44-0.96)	0.030	1.30	(0.90-1.87)	0.161

細胞数, HLA 適合度以外の因子として, 臍帯血ユニットのサイトメガロウイルス抗体有無や保存期間, また, ドナー・レシピエント間の性別や血液型の組み合わせについて検討を行なったが, いずれも全死亡, 再発, 非再発死亡のリスクと相関を認めなかった。

#### 4. 考察

現在, 臍帯血移植は国内において年間 1,000 件以上実施されており, 同種移植の 3 分の 1 を占める。移植に用いる臍帯血ユニットを選択する際に用いられる基準としては, 有核細胞数が  $2.0 \times 10^7/\text{kg}$  以上であること, 及び HLA-A, B, DR 血清型が 4/6 以上適合していることが広く用いられているが, 欧米諸国ではいずれの項目に関してもより厳しい基準が使用されている。

今回の解析では、有核細胞数と移植成績との間に有意な関連性を認めなかった。有核細胞数が移植成績に影響を及ぼすことを示した研究では[1-5]、小児患者が解析症例の 42～82%を占めていることを考慮する必要があるかもしれない。有核細胞数は体重あたりの細胞数で評価されるが、体重の少ない小児患者は成人患者に比べると体重あたりの有核細胞数は高くなり、このことが移植成績への影響を評価する際にバイアスとなる可能性がある。本研究は、対象を成人患者に限定することによってこのようなバイアスを軽減している。本研究結果は、有核細胞数において最小要件である  $2.0 \times 10^7/\text{kg}$  の細胞数が確保されていれば、それ以上の増加は移植成績の改善に寄与しないという考えを支持するものであった。また、輸注細胞数の別の指標である CD34 陽性細胞数についても移植成績に影響を及ぼさないという結果が得られた。

HLA 適合度は、臍帯血ユニット選択におけるもうひとつの重要な要素とされ、国内診療では、HLA-A, B, DR 血清型 4/6 以上の適合が選択基準として用いられている。本研究の結果からは、HLA-A, B, DR 血清型 6/6, 5/6, 4/6 適合では全死亡、再発、非再発死亡リスクは有意な違いを認めなかった。一方、欧米で広く用いられている HLA-A, B 血清型, DRB1 遺伝子型の適合度については、適合度が高い臍帯血ユニットを用いた移植では非再発死亡リスクは低かったが、再発リスクが高まることによって、生存の改善には寄与しなかった。HLA 適合度の低下によって再発が減少するという結果は、臍帯血移植における移植片対白血病効果の可能性を示唆するものであり注目に値する。一方、HLA-A, B, DRB1 遺伝子型の適合度を用いた場合、HLA-A, B 血清型, DRB1 遺伝子型を用いた場合に比べ臨床的有用性はむしろ損なわれる結果となった。HLA 適合度が臍帯血移植の成績と有意に相関するという研究結果は海外から報告されている [1-3]。本研究結果との違いが、患者集団の違い、人種差、または他の原因によるものであるかは明らかではないが、我々の結果は、より緩やかな臍帯血ユニット選択基準を用いても生存を悪化させることはないことを示している。選択基準の緩和化は臍帯血ユニットを見つける機会を拡大するという点において有益であると考えられる。

本研究において、細胞数や HLA 適合度以外に、臍帯血ユニット選択に役立つ要因を特定しようとしたが、サイトメガロウイルス抗体、臍帯血保存期間、性別や血液型の組み合わせと移植成績との相関を示すことができなかった。したがって、より適切な臍帯血ユニットを選択するための方法は今後の研究課題ということができる。

本研究は、最適な臍帯血ユニット選択法を見出すことを目的として、第 1 もしくは第 2 寛解で単一ユニット臍帯血を用いて同種移植を施行した成人 AML 患者を対象に後方視的解析を行なっ

た。結果として、有核細胞数が  $2.0 \times 10^7/\text{kg}$  以上かつ HLA-A, B, DR 血清型 4/6 以上適合という欧米に比べると緩やかな基準が日本人患者集団において許容されることが示された。

## 5. 参考文献

1. Rubinstein P, Carrier C, Scaradavou A, Kurtzberg J, Adamson J, Migliaccio AR, Berkowitz RL, Cabbad M, Dobrila NL, Taylor PE, Rosenfield RE, Stevens CE: Outcomes among 562 recipients of placental-blood transplants from unrelated donors. *N Engl J Med* 339: 1565-1577, 1998.
2. Wagner JE, Barker JN, DeFor TE, Baker KS, Blazar BR, Eide C, Goldman A, Kersey J, Krivit W, MacMillan ML, Orchard PJ, Peters C, Weisdorf DJ, Ramsay NK, Davies SM: Transplantation of unrelated donor umbilical cord blood in 102 patients with malignant and nonmalignant diseases: influence of CD34 cell dose and HLA disparity on treatment-related mortality and survival. *Blood* 100: 1611-1618, 2002.
3. Barker JN, Scaradavou A, Stevens CE: Combined effect of total nucleated cell dose and HLA match on transplantation outcome in 1061 cord blood recipients with hematologic malignancies. *Blood* 115: 1843-1849, 2010.
4. Cohen YC, Scaradavou A, Stevens CE, Rubinstein P, Gluckman E, Rocha V, Horowitz MM, Eapen M, Nagler A, Shpall EJ, Laughlin MJ, Daniely Y, Pacheco D, Barishev R, Olmer L, Freedman LS: Factors affecting mortality following myeloablative cord blood transplantation in adults: a pooled analysis of three international registries. *Bone Marrow Transplant* 46: 70-76, 2011.
5. Eapen M, Klein JP, Ruggeri A, Spellman S, Lee SJ, Anasetti C, Arcese W, Barker JN, Baxter-Lowe LA, Brown M, Fernandez-Vina MA, Freeman J, He W, Iori AP, Horowitz MM, Locatelli F, Marino S, Maiers M, Michel G, Sanz GF, Gluckman E, Rocha V, Center for International B, Marrow Transplant Research NE, the European Group for B, Marrow T: Impact of allele-level HLA matching on outcomes after myeloablative single unit umbilical cord blood transplantation for hematologic malignancy. *Blood* 123: 133-140, 2014.

6. 論文発表

1. Yanada M, Konuma T, Kuwatsuka Y, Kondo T, Kawata T, Takahashi S, Uchida N, Miyakoshi S, Tanaka M, Ozawa Y, Sawa M, Nakamae H, Aotsuka N, Kanda J, Takanashi M, Kanda Y, Atsuta Y, Yano S. Unit selection for umbilical cord blood transplantation for adults with acute myeloid leukemia in complete remission: a Japanese experience. *Bone Marrow Transplant.* 54: 1789–1798, 2019.
2. Yanada M, Takami A, Mizuno S, Mori J, Chou T, Usuki K, Uchiyama H, Amano I, Fujii S, Miyamoto T, Saito T, Kamimura T, Ichinohe T, Fukuda T, Okamoto S, Atsuta Y, Yano S. Autologous hematopoietic cell transplantation for acute myeloid leukemia in adults: 25 years of experience in Japan. *Int J Hematol.* 111: 93–102, 2020.
3. Yanada M, Konuma T, Yamasaki S, Kuwatsuka Y, Masuko M, Tanaka M, Ozawa Y, Toya T, Fukuda T, Ota S, Sawa M, Uchida N, Nakamae H, Eto T, Kanda J, Takanashi M, Kanda Y, Atsuta Y, Yano S. Time-varying effects of graft type on outcomes for patients with acute myeloid leukemia undergoing allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 26: 307–315, 2020.