

原 著

難治性神経芽腫に対する造血幹細胞移植の工夫： 移植1回法から2回法（自家-自家，自家-同種）へ Megatherapy for high risk neuroblastoma : From single auto-transplant to double transplant (auto-auto, auto-allo and allo-allo)

井上 雅美¹⁾, 大植 孝治²⁾, 澤田 明久¹⁾, 安井 昌博¹⁾坂田 尚己¹⁾, 窪田 昭男²⁾, 西川 正則³⁾, 森本 静夫³⁾桑江 優子⁴⁾, 中山 雅弘⁴⁾, 河 敬世¹⁾Masami INOUE¹⁾, Takaharu OUE²⁾, Akihisa SAWADA¹⁾, Masahiro YASUI¹⁾Naoki SAKATA¹⁾, Akio KUBOTA²⁾, Masanori NISHIKAWA³⁾, Shizuo MORIMOTO³⁾Yuko KUWAE⁴⁾, Masahiro NAKAYAMA⁴⁾, Keisei KAWA¹⁾

要 旨

自家骨髄移植 1回法では治癒を期待できないような難治性神経芽腫に対して移植 2回法を行ってきた。自家移植 2回法の 10 例中 4 例，同種移植を含む 2 回法の 12 例中 6 例が寛解を維持している。HLA 一致ドナーが得られず HLA 不一致移植を施行した 7 例のうち 4 例，計画的に父親から移植した 4 例中 3 例が寛解であることから，HLA ハプロ不一致移植を組み込んだ移植 2 回法が自家移植 2 回法を凌駕する可能性が示唆された。

Key words : 神経芽腫，自家移植，同種移植，移植 2 回法，骨髄移植

neuroblastoma, double megatherapy, autologous bone marrow transplantation, HLA allogeneic transplantation

I はじめに

神経芽腫進展例に対する自家造血幹細胞移植は様々に工夫されてきた（前処置薬剤の組み合わせ，全身放射線照射併用の有無，複数回移植，移植後分化誘導療法）が，その成績は良好なものでも 50% 前後に留まっており¹⁾⁻⁷⁾，従来の自家移植を

minor change することにより治療成績向上を図ることは困難と考えられる。

筆者らは conventional dose による化学療法では治療効果不十分と考えられる進展例を対象に大量化学療法-自家骨髄移植を行ってきた。その過程で，「骨転移」，「MYCN 増幅」，「初期化学療法に対する反応不良」という 3 要因のいずれかを有する難治性神経芽腫に対しては，移植 1 回法では満足すべき結果が得られないことから，自家移植 2 回法を行ってきた。

しかし，移植 2 回法の適応症例でありながら 2 回の移植に必要な自己造血幹細胞を採取できない場合には，同種移植を組み込んだ移植 2 回法を施

1) 大阪府立母子保健総合医療センター小児内科

2) 同 小児外科, 3) 同 放射線科, 4) 同 検査科病理

1) Department of Pediatrics, 2) Department of Pediatric surgery

3) Department of Radiology and 4) Department of Pathology, Osaka Medical Center and Research Institute for Maternal and Child Health

行してきた。HLA 一致ドナーが得られなかった症例に対しては父親をドナーとする選択的 CD34 陽性細胞移植を行ってきた。

同種移植は同種免疫による抗腫瘍効果を期待でき、なおかつ移植細胞に腫瘍細胞の混入がないという利点があるにも関わらず、その治療成績が自家移植より良好であるという報告は見あたらない。しかし、筆者らの経験は同種移植を組み込んだ移植 2 回法の安全性と有効性を窺わせるものであった。父親をドナーとする HLA 不一致選択的 CD34 陽性細胞移植後に移植片対腫瘍 (graft versus tumor : GVT) 効果を示唆する経過を辿った貴重

な症例を経験した⁸⁾ ことを考慮すると、同種移植を組み込んだ移植 2 回法を工夫することは、難治性神経芽腫治療において新しい展開をもたらす可能性があると期待される。

II 対象と方法

①自家骨髄移植 1 回法の対象と方法

International Neuroblastoma Staging System (INSS) stage3, あるいは stage4 のうち「骨転移」、「MYCN 増幅」、「初期化学療法に対する反応不良」という要因のいずれも満たさない症例を対象とした(表 1)。UPN261 はマスキリー

表 1 自家骨髄移植 1 回法施行症例 12 例のまとめ

UPN	診断時年齢	Stage	転帰	移植後寛解維持期間 (Months)
25	7M	4	無病生存	137+
26	6Y10M	4	無病生存	136+
135	4Y4M	4	再発	21
141	11M	3	無病生存	87+
158	9M	4	無病生存	80+
229	5M	4	無病生存	54+
232	5M	3	無病生存	53+
261*	9M	2A	無病生存	42+
272	9M	3	無病生存	38+
306	1Y2M	3	無病生存	27+
308	5M	3	無病生存	27+
322	6M	3	無病生存	22+

261* : composite type で MYCN を高発現している部分あり

表 2 自家-自家移植 2 回法施行症例 10 例のまとめ

UPN	診断時年齢	Stage	骨転移	N-myc 増幅	2 回目移植前	2 回目移植後寛解維持期間 (Months)	再発部位
22	2Y3M	4	—	NE	VGPR	29	原発近傍, 骨, 骨髄 骨
23	3Y9M	4	+	—	VGPR	11	
29	1Y3M	4	—	+	PR	0	遠隔リンパ節
36	5M	4	—	—	VGPR	128+	
41	9M	4	+	+	PR	0	
45	7M	4	+	NE	CR	123+	
63	3Y7M	4	+	+	PR	5	
92	1Y7M	4	+	NE	CR	101+	
191	9Y8M	4	—	—	PR	0	
304*	8Y8M	2A	—	+	VGPR	25+	

304* : stage 2A であるが腫瘍摘出時に被膜が破れて腫瘍細胞が腹腔内に流出した

NE : not evaluated

CR : complete response

VGPR : very good partial response

PR : partial response

ニングから診断に至った stage2A の症例であるが composite type であり、腫瘍の一部が MYCN を高発現していたため、例外的に自家骨髄移植 1 回法を行った。すなわち 12 例に対して自家移植 1 回法を行った。

治療スケジュールは、厚生労働省研究班プロトコール (A1, new A1, 98A1 など) を初期化学療法として 2 - 3 コース行いながら自己骨髄採取、原発腫瘍摘出術を施行し、最終的に自家骨髄移植を行って治療を終了するというものである。移植前処置は Ifosfamide(IFO)12.5g/m²+melphalan (LPAM)210mg/m²で行った。

②移植 2 回法の対象と方法

INSS stage4 で「骨転移」、「MYCN 増幅」、「初期化学療法に対する反応不良」という要因のいずれかを満たす症例を対象とした。10 例を対象に自家-自家移植 2 回法を行った (表 2)。UPN304 は stage2A であるが、腫瘍摘出時に被膜が破れ、腫瘍細胞が腹腔内に流出した症例であり、MYCN 増幅を認めたため移植 2 回法を行った。

骨髄の状態が不良などの理由で 2 回の移植に必要な造血幹細胞を採取できなかった場合には同種移植を施行した (表 3)。2 回目の移植を同種移植

で行った症例 (自家-同種移植 2 回法) が 10 例、自家移植ができないために 2 回の移植をいずれも同種移植で行った症例 (同種-同種移植 2 回法) が 2 例ある。HLA 一致ドナーを見出せなかった 7 例に対して HLA 不一致移植を行った。その内訳は臍帯血移植が 2 例、父親からの HLA 不一致選択的 CD34 陽性細胞移植が 5 例である。

厚生労働省研究班プロトコール (A1, new A1, 98A1 など) を 2 - 3 コース行いながら自己骨髄採取を行うという初期治療の内容は移植 1 回法と同様である。移植については 2 回移植の間隔を 3 カ月に設定し、原発腫瘍摘出術は初回移植前、あるいは 2 回目移植前に施行した。骨転移が残存する場合には原発腫瘍摘出術同様、2 回目移植までに局所放射線照射を 10Gy-15Gy 行った。自家-自家移植 2 回法の場合、初回移植の前処置は移植 1 回法と同じく IFO 12.5g/m²+ LPAM210mg/m²で行い、2 回目移植の前処置は Busulfan (Bu) 20mg/kg + Thiotepa (TEPA)800mg/m²で行った。同種移植による 2 回目移植を行った場合の前処置は Bu を全身放射線照射 (Total Body Irradiation : TBI)12Gy に置き換えて施行した。UPN163 に対する 2 回目移植の前処置は、例外的

表 3 同種移植を組み込んだ移植 2 回法を施行した 12 例 (自家-同種 : 10 例, 同種-同種 : 2 例) のまとめ

2 回法の 種 類	UPN	診断時 年 齢	Stage	骨転移	N-myc 増 幅	2 回目 移植前	同種移植ドナー	急 性 GVHD	慢 性 GVHD	転 帰	再発部位	2 回目移植後 寛解維持期間 (Months)
自家-同種	103	4Y	4	+	NE	PR	HLA 一致母親	IV	NE	再発	骨	3
	89	4Y	4	+	-	PR	HLA 一致同胞	I	none	再発	原発近傍, 骨	8
	120	1Y4M	4	+	NE	CR	HLA 一致同胞	II	none	再発	原発近傍, 骨髄	26
	160	1Y3M	4	+	NE	PR	HLA 不一致同胞臍帯血	0	NE	再発	リンパ節, 骨髄	2
	163	4Y	4	+	-	PR	HLA 不一致父親(CD34)	I	none	寛解生存		74+
	206*	3Y	4	+	NE	PR	HLA 不一致父親(CD34)	0	NE	感染症死		1
	287	0Y8M	4	+	+	CR	HLA 一致同胞	0	none	寛解生存		31+
	322	5Y	4	-	-	CR	HLA 不一致非血縁臍帯血	I	none	寛解生存		21+
	316	1Y6M		-	+	CR	HLA 一致非血縁臍帯血	I	限局型	寛解生存		20+
	340	1Y5M		+	-	VGPR	HLA 不一致父親(CD34)	I	none	寛解生存		12+
同種-同種	281	0Y6M	4	+	+	PR	HLA 不一致父親(CD34)	II	NE	再発	骨	3
	306	2Y3M	4	+	-	VGPR	HLA 不一致父親(CD34)	II	限局型	寛解生存		26+

206*は初回移植としての自家骨髄移植が生着遅延し重篤な感染症を発症し緊急的に父親からの移植を行ったが、結局感染症で死亡した。

NE : not evaluated CR : complete response VGPR : very good partial response PR : partial response

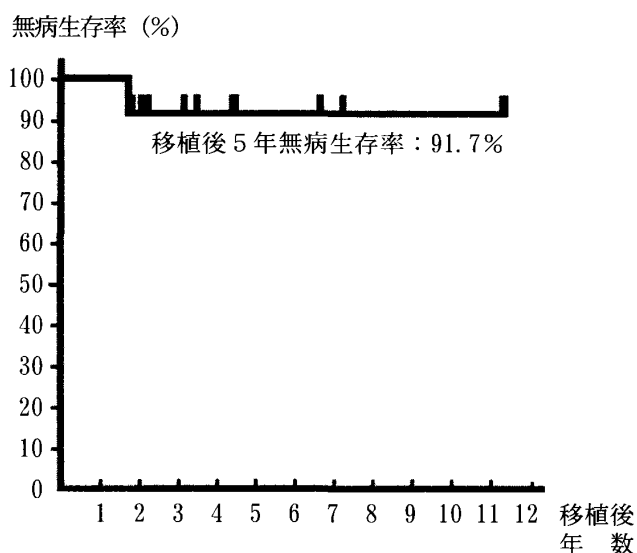


図1 自家骨髄移植1回法の成績 (n=12): 移植後無病生存曲線 (Kaplan-Meier 法)
stage3, stage4のうち, 骨転移がなく, MYCN増幅を認めず, 初期化学療法に反応良好な12例を対象に自家骨髄移植1回法を施行した. 12例中11例が移植後22カ月-137カ月 (中央値53カ月) 無病生存中である.

に TBI 12Gy + TEPA 800mg/ m²+ Etoposide 30mg/kg である. また, UPN206 は初回の自家移植後に造血機能回復が遅延し, 重症感染症を発症したため, 原発腫瘍が残存したまま, 予定より早く初回移植後37日目に父親からのHLA不一致選択的CD34陽性細胞移植を緊急的に行った症例である. 重篤な状態で2回目移植を行わざるを得ず, TBIを省き, Bu 20mg/kg + TEPA 600mg/ m²+ ATG 40mg/kgによる前処置を行った. 同種-同種移植2回法を行った2例の初回移植は, 安全に移植細胞が生着することを狙って reduced-intensity stem cell transplantation (RIST) を行った. すなわち, その前処置は Fludarabine (Flu)120mg/ m²+ LPAM 140mg/ m²+ ATG 40mg/kg である. 2回目移植の前処置は抗腫瘍効果を十分期待できる. TBI 12Gy + TEPA 800mg/ m²+Etoposide 30mg/kgで行った.

同種移植後の移植片対宿主病 (graft versus host disease: GVHD) 予防法や選択的CD34陽性細胞採取法^{9) 10)} は, 筆者らの方針に従った.

③「骨転移」, 「MYCN増幅」, 「初期化学療法に

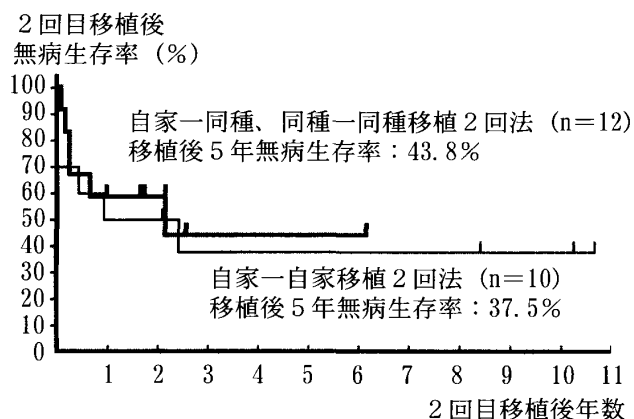


図2 移植2回法の成績 (自家-自家: n=10, 自家-同種+同種-同種: n=10+2): 2回目移植後無病生存曲線 (Kaplan-Meier 法)
stage4症例で, 「骨転移」, 「MYCN増幅」, 「初期化学療法に対する反応不良」のいずれかの要因を持つ症例を対象に移植2回法を行った. 自家-自家移植を行った10例のうち4例が2回目移植後25カ月-128カ月 (中央値112カ月) 生存中である. 同種移植を組み込んだ移植2回法を施行した12例中6例が2回目移植後12カ月-74カ月 (中央値23カ月) 無病生存中である.

に対する反応不良」の基準

骨転移: 単純レントゲン写真あるいはテクネシウムシンチグラムで骨に異常所見を認めた場合に骨転移陽性とした. MYCN増幅: サザン法あるいはFISH方で10倍以上の増幅を認めた場合, MYCN増幅とした. 初期化学療法に対する反応不良: 初期化学療法2コース終了後に尿中VMA値, 尿中HVA値, 血中NSE値が正常範囲に下降しなかった場合に, 初期化学療法に対する反応不良と判断した.

III 結 果

①自家骨髄移植1回法の成績

12例中1例 (UPN135) が移植後21カ月して再発したが, 他の11例が無病生存中 (移植後22カ月-137カ月: 中央値53カ月) である (図1). UPN135の再発部位は原発近傍, 多発リンパ節, 骨髄であった.

②移植2回法 (自家-自家) の成績

図2に示すように10例中4例が寛解(complete response: CR)を維持している(2回目移植後25カ月, 101カ月, 123カ月, 128カ月)。2回目移植前にCRあるいはvery good partial response (VGPR)を得られなかった4例のうち3例は2回目移植後もCRを得ることができず, 2回目移植後CRとなった1例(UPN63)も2回目移植後5カ月で遠隔リンパ節に再発した。2回目移植前にCRあるいはVGPRの6例のうち4例がCRを維持していることになる。再発部位に原発あるいは転移部位など一定の傾向を認めなかった。

③移植2回法(自家-同種, 同種-同種)の成績

自家-同種2回法を施行した10例のうち5例がCRを維持し(2回目移植後12カ月, 20カ月, 21カ月, 31カ月, 74カ月), 同種-同種2回法を施行した2例のうち1例が2回目移植後26カ月CRを維持している(図2)。同種移植に着眼してみると, HLA一致移植を行った5例中2例が寛解である一方, HLA不一致移植を行った7例のうち4例がCRを維持している(表3)。再発例における再発部位に一定の傾向を認めなかった。注目すべきは父親からのHLA不一致選択的CD34陽性細胞移植を施行した5例である。初回の自家移植後生着遅延があり重篤な感染症を発症したため緊急的に父親からの移植を行ったUPN206は計画的同種移植ではないことから除外すると, 4例のうち3例がCRを維持している。また, GVHDをはじめとする同種移植後の合併症についても重篤なものではなく, コントロール可能な範囲であった。UPN206は父親からの緊急移植後も生着がみられず, 3回目の移植として緊急非血縁者間臍帯血移植を施行したが, 生着を待たずして感染症で死亡した(移植1回法, 移植2回法の全症例34例中, 合併症死はこの1例のみである)。

寛解を維持している6例のうち5例が2回目移植前にVGPRあるいはCRの状態であることは, 自家-自家2回法と同じ傾向であった。ただし, UPN163(既報)は2回目移植として父親からのHLA不一致選択的CD34陽性細胞移植施行後もPRであったにも関わらず, その後徐々に病変が

消失しCRを維持しているという特異な経過を辿った症例⁸⁾で, 特筆に値する。

IV 考 察

神経芽腫進展例に対する大量化学療法-自家造血幹細胞移植成績は, 多くの研究グループ・施設から報告されてきた。移植に至るまでの治療の組み立てをはじめ, 移植前処置法や対象症例がまちまちであることから成績の比較検討には注意を要するが, 良好なものでも無病生存率が50%程度に留まっている¹⁾⁻⁷⁾。すなわち, 自家移植という枠組みの中で, これまでの延長線上における工夫を重ねても, 飛躍的な成績向上を望めないと云わざるを得ない。

筆者らの成績は, 「骨転移」, 「MYCN増幅」, 「初期化学療法に対する反応不良」の3つの要因が予後不良因子であることを示唆している。すなわち, これらの要因のいずれも有さない神経芽腫進展例に対しては自家移植1回法で良好な成績が得られている(再発は1例のみ)。1歳未満の進展例は予後良好であるという報告¹⁰⁾があり, 移植1回法の12例中9例が1歳未満の乳児例であることが良好な結果につながった可能性がある。移植1回法は単に良好な成績につながったというだけでなく, 治療期間短縮という観点からも有意義と考えられる。一方, 上記の要因を一つでも有するものは自家移植2回法を施行しても成績向上が困難と考えられる結果であった。

ところで, 神経芽腫に対するGVT効果を直接に証明した報告はなく, 神経芽腫において同種移植が自家移植よりも良好な成績であるという報告も見あたらない。筆者らは, 積極的に同種移植を計画したというより, 難治性神経芽腫症例を対象に自家-自家移植2回法を計画しながら2回の移植に必要な自己造血幹細胞が採取困難であった症例に対して, 説明・同意のもと, 自家移植に替わる方法として同種移植を行ったというのが実情である。

このような事情で同種移植を組み込んだ2回移植の12例を検討してみると, 興味深い結果を得ることが出来た。HLA一致移植を施行した5例

中 CR は 2 例であるが、計画的に父親からの同種移植を行った 4 例のうち、経過観察期間が短いとはいえ、3 例が CR を維持している。すなわち、父親をドナーとする HLA 不一致選択的 CD34 陽性細胞移植が HLA 一致移植を凌駕する可能性を期待できる成績といえる。

さて、Matthay らが報告した CCG における同種移植の成績¹²⁾は自家移植を超えるものでなかったが、HLA 一致同胞間の成績である。今回、筆者らが着目したのは、選択的 CD34 陽性細胞を用いる父親からの HLA 不一致移植である。親をドナーとする選択的 CD34 陽性細胞移植は、HLA ハプロ一致を条件として、3 抗原不一致移植を可能とする移植法であり、すでに多数例の実績がある移植法である。その生着率や GVHD 発症率など安全性に問題がないことから、HLA 一致ドナーが得られない場合には考慮すべき移植である。非血縁者間臍帯血移植も HLA 不一致移植を可能にする方法の一つであるが、移植後ドナーリンパ球輸注が可能であるという点で、親をドナーとする選択的 CD34 陽性細胞移植の方に利点があると考えている。ドナーが親であることは、移植を計画する際に不確実性がなく、日程調整も容易であることから、計画的自家-同種移植 2 回法に適していると思われる。

急性骨髄性白血病に対する HLA 不一致ハプロ一致移植の良好な成績が報告され、GVT 効果を発揮するシステムとして Killer inhibitory receptor(KIR) 不一致による NK 細胞の関与が注目されている¹³⁾。神経芽腫細胞は HLA 抗原発現が弱いこと¹⁴⁾を考慮すると、HLA 拘束を受ける T 細胞による GVT 効果というよりも、HLA 不一致が有利に働きうる NK 細胞による GVT 効果が期待できる。筆者らの症例においては既知の KIR 不一致は証明できていないが、今後症例を重ねることで、この点を明らかにしたい。

難治性神経芽腫に対する戦略として、とくに「骨転移」、「MYCN 増幅」、「初期化学療法に対する反応不良」という要因を持つ場合は、従来の自家移植を工夫するだけでは治癒率の向上を得ることが困難と考えられることから、今後の方向性と

して、親からの HLA 不一致選択的 CD34 陽性細胞移植を組み込んだ移植 2 回法を計画的に行い、その有効性と安全性を確認したい。

文 献

- 1) Ladenstein R, et al: Multivariate analysis of risk factors in stage 4 neuroblastoma patients over the age of one year treated with megatherapy and stem-cell transplantation : A report from the European bone marrow transplantation solid tumor registry. *J Clin Oncol*, 16 : 953-965, 1998
- 2) Matthay KK, et al: Treatment of high-risk neuroblastoma with intensive chemotherapy, radiotherapy, autologous bone marrow transplantation, and 13-cis-retinoic acid. *N Engl J Med*, 341 : 1165-1173, 1999
- 3) Grupp SA, et al: Tandem high-dose therapy in rapid sequence for children with high-risk neuroblastoma. *J Clin Oncol*, 18: 2567-2575, 2000
- 4) Kanold J, et al: Long-term results of CD34+cell transplantaion in children with neuroblastoma. *Med Pediatr Oncol*, 35: 1-7, 2000
- 5) Frappaz D, et al: LMCE 3 treatment strategy : Results in 99 consecutively diagnosed stage 4 neuroblastomas in children older than 1 year at diagnosis. *J Clin Oncol*, 18: 468-476, 2000
- 6) Kletzel M, et al: Treatment of high-risk neuroblastoma with triple-tandem high-dose therapy and stem-cell rescue: Results of the Chicago pilot II study. *J Clin Oncol*, 20: 2284-2292, 2002
- 7) Frappaz D, et al: The LMCES unselected cohort of 25 children consecutively diagnosed with untreated stage 4 neuroblastoma over 1 year at diagnosis. *Br J Cancer*, 87: 1197-1203, 2002
- 8) Inoue M, et al: Graft-versus-tumor effect in a patient with advanced neuroblastoma who received HLA haplo-identical bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant*, 32: 103-106, 2003
- 9) 安井昌博, 他: CD34 陽性細胞移植の現状と今後の課題. *日本輸血学会雑誌*, 47: 514-517, 2001
- 10) 河 敬世, 他: HLA 不適合移植. *医学のあゆみ*, 202: 90-93, 2002
- 11) Cohn SL, et al: MYCN expression is not

- prognostic of adverse outcome in advanced-stage neuroblastoma with nonamplified MYCN. *J Clin Oncol*, 18: 3604-3613, 2000
- 12) Matthay KK, et al: Allogeneic versus autologous purged bone marrow transplantation for neuroblastoma: A report from the Children's Cancer Group. *J Clin Oncol*, 12: 1382-2389, 1994
- 13) Ruggeri L, et al: Effectiveness of donor natural killer cell alloreactivity in mismatched hematopoietic transplants. *Science*, 295: 2097-2100, 2002
- 14) Corrias MV, et al: Lack of HLA-class 1 antigens in human neuroblastoma cells: analysis of its relationship to TAP and tapasin expression. *Tissue Antigens*, 57: 110-117, 2001