

# 同種造血幹細胞移植における急性 GVHD 発症に対する シクロスポリン濃度測定の意味

和 泉 典 子

新潟大学大学院医歯学総合研究科

血液学分野

(主任：相澤義房教授)

## Cyclosporine Concentration for Preventing Acute GVHD after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation

Noriko IZUMI

Division of Hematology,

Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

(Director: Prof. Yoshifusa AIZAWA)

### 要 旨

造血幹細胞移植における grade II-IV 急性 GVHD 発症の危険因子を同定するために、1989 年 3 月から 2001 年 7 月までに当院で施行された造血幹細胞移植症例のデータを後方視的に解析した。Cyclosporin A (CsA) と短期 Methotrexate (MTX) の併用で GVHD 予防を行った症例は、73 例 (男性 47 例, 女性 26 例) であった。CsA は 1.5 mg/kg の用量とし 3 時間点滴静注 1 日 2 回行い、移植 day - 1 から開始して、前処置による腸管障害が改善して経口可能になるまで継続した。MTX は 15mg/m<sup>2</sup> を day1, 10mg/m<sup>2</sup> を day3, 6 そして 11 に投与した。Grade II-IV 急性 GVHD は 18 症例 (25%) に発症した。多変量 COX 回帰解析によると、C5 (静注開始 5 時間後の全血血中濃度) が高値であることが grade II-IV 急性 GVHD 発症を抑制して、1ng/mL の上昇につき、ハザード比 0.994 (95% 信頼区間 0.989 - 0.999) で抑制したことを明らかにした。今回の解析結果は、CsA 血中濃度のきめ細かなモニターリングが、重症急性 GVHD 発症の予防に有効である可能性を示唆している。今後これを確認するためには、さらに前方視的臨床研究が必要である。

キーワード：同種造血幹細胞移植, GVHD, シクロスポリン血中濃度, 予防

### はじめに

造血幹細胞移植 (HSCT) は、造血器悪性腫瘍

を中心とした血液疾患の根治を目的とした治療法として、治療戦略上重要なものとなっている。しかしながら同種造血幹細胞移植 (Allo-HSCT)

Reprint requests to: Noriko IZUMI  
Division of Hematology Niigata University  
Graduate School of Medical and Dental Sciences  
1 - 757 Asahimachi - dori Chuou - ku,  
Niigata 951 - 8510 Japan

別刷請求先：〒951 - 8510 新潟市中央区旭町通 1 - 757  
新潟大学大学院医歯学総合研究科血液学分野 (第一  
内科) 和泉典子

においては, graft-versus-host disease (GVHD) は現在も重大な合併症であり, 移植治療の成否を決定する重要な要因の一つである<sup>1)</sup>. そのため Allo-HSCT においては移植後免疫抑制剤を用いた GVHD 予防が不可欠である. 日本人の移植では欧米人の移植よりも GVHD の発症頻度は低いことが報告されているが<sup>2)</sup>, 日本人の血縁者間骨髄移植における治療を要する grade II 以上, および生命の危険性を伴う grade III 以上の急性 GVHD の発症頻度は, それぞれ 24.3%, 8.2% と報告されている<sup>3)</sup>. 一方 Allo-HSCT における移植後の過度の免疫抑制は移植後再発の危険性を増大することが指摘され, ドナー免疫による graft-versus-leukemia (GVL) 効果の重要性も認識されてきている<sup>4)5)</sup>.

現在 GVHD の標準的予防法としては, cyclosporine (CsA) と methotrexate (MTX) の併用が広く施行されている. しかしながら CsA の投与量や投与方法については, 施設間プロトコールによる較差が大きい<sup>6)</sup>. CsA による免疫抑制効果は, カルシニューリン阻害剤として T リンパ球のサイトカイン産生を阻害することで発揮される. また腎移植をはじめとする臓器移植の拒絶予防薬としての効果に関する多くの研究から, CsA 経口薬使用時の免疫抑制効果と CsA 血中濃度の重要性が認識され, 現在では内服 2 時間後の血中濃度 C2 モニターリングが拒絶率減少に貢献するとされている<sup>7)</sup>.

Allo-HSCT の移植直後は, 移植前処置による消化管粘膜障害のために内服困難な症例が多いことから, ほとんどの例において CsA は静注投与が行われている. これまでに allo-HSCT 症例を対象とした CsA 血中濃度と GVHD 発症率の関連性を検討した報告では, 点滴投与直前の CsA トラップレベル (C0) と GVHD 発症率に逆相関を認めるとする報告が散見される<sup>8-11)</sup>. また最近我が国から CsA の投与法の違いにより, 急性 GVHD grade II-IV 発症率が異なり, 持続点滴よりも短時間点滴による一日 2 回投与法の症例で低率であったと報告された<sup>12)</sup>. したがって点滴開始後の血中濃度が急性 GVHD 発症予防に重要である可能

性が示唆された. しかしこれまでのところ静注後の CsA 血中濃度を検討した報告は認められない.

当施設における CsA 点滴静注はその多くが 3 時間かけた一日 2 回投与方法で, 血中濃度測定を投与前 (C0) と投与開始後 5 時間後 (C5) の 2 回施行されていた. そこで今回は, これまでに当施設で施行された同種造血幹細胞移植例の grade II-IV 急性 GVHD 発症のリスクファクターについて, CsA の投与後血中濃度を含めて後方視的に解析した.

### 対象と方法

対象症例は, 1989 年 3 月から 2001 年 7 月までに当院にて, GVHD 予防として CsA と短期間 MTX 併用投与を用いた同種造血幹細胞移植症例 73 例である. 移植時年齢は中央値 29 歳 (16 歳~55 歳) であった. 症例の基礎疾患は, 再生不良性貧血 (AA) 6 例で, 悪性疾患が 67 例, その内訳は急性リンパ性白血病 (ALL) 18 例, 急性骨髄性白血病 (AML) 24 例, 慢性骨髄性白血病 (CML) 19 例, 骨髄異形成症候群 (MDS) 5 例そして非ホジキンリンパ腫 1 例であった. 今回の解析において, 非寛解の急性白血病または悪性リンパ腫症例, および移行期・急性転化期の CML を high risk として, それ以外を standard risk として解析した<sup>9)</sup>.

移植前処置は, 23 症例は, 12Gy (n = 16) または 13.2Gy (n = 7) の 6 回分割照射による全身放射線照射 (TBI) に, Etoposide (1g/m<sup>2</sup> 2 回) と Cytosine arabinoside 大量 (3g/m<sup>2</sup>, 6 回) を併用した. 12 症例では 12Gy TBI と cyclophosphamide (CY, 2 × 60mg/kg), 4 症例では 12Gy TBI に etoposide と CY の各組み合わせが使用されていた. AA の 6 症例では 7.5Gy の Total lymphoid irradiation (TLI) と CY (4 × 50mg/kg) が併用された. これら 45 症例は TBI regimen としてまとめて解析対象とした. 一方 3 症例では busulfan (BU, 16mg/kg) と CY (2 × 60mg) を利用, 残りの 25 症例では BU, CY に少量 (3Gy) の TBI の併用が利用された. これら 28 症例は Busulfan regimen としてまとめて解析した. 移植骨髄は, T

細胞除去処理は施行せず輸注された。

急性 GVHD の診断と重症度分類は 1994 年開催された Consensus Conference の criteria に従った<sup>13)</sup>。今回の解析では、急性 GVHD は従来どおり、移植後 100 日以内に発症した GVHD として定義した。

### GVHD 予防法

当施設における GVHD 予防法として、移植後 day - 1 より、CsA 1.5mg/kg が 3 時間点滴静注で、一日 2 回、12 時間おきに投与した。この静注投与は、患者が前処置による消化管毒性から回復して経口可能になるまで継続した。CsA 投与量は、腎障害などの CsA 毒性が認められた場合には減量を行った。MTX は 15mg を移植後 day 1 に、10mg を移植後の days 3, day 6 そして day 11 に、投与することを原則としたが、高度な口内炎を認めた症例では day 11 投与は中止した。解析症例においては grade II - IV の急性 GVHD を認めない限りは、ステロイド、タクロリムス、ATG (anti T lymphocyte globulin) など、他の免疫抑制剤は使用しない事とした。

### CsA 血中濃度測定法

CsA 血中濃度測定は、CsA 点滴開始直前 (C0) と 5 時間後 (C5) に測定した。CsA 血中濃度測定法は年代によって変更があった。1997 年 3 月までは Radio Immuno Assay (RIA) を用いて測定 (n = 47)、以後 1999 年 3 月までは、TDX システムによる monoclonal 抗体を用いた蛍光偏光免疫測定法 (Fluorescence Polarization Immunoassay, M - FPIA) で測定 (n = 12)、1999 年 4 月からは AxSYM 解析装置により M - FPIA で測定 (n = 14) された<sup>14)15)</sup>。今回の解析では、前 2 者による測定値を、測定法変更時に施行された相関関数を用いて AxSYM 使用の M - FPIA で測定された数値に変換して比較検討した。利用した変換関数は、それぞれ M - FPIA (TDX) = 1.0515 × RIA + 21.664 (r = 0.966, n = 137) および M - FPIA

(AxCYM) = 0.89 × M - FPIA (TDX) - 12.70 (r = 0.993, n = 100) であった。

症例の血中濃度測定値は、day 0 ~ 100 までの期間を 10 日間ごとに分割、各期間における C0 と C5 の平均値を各症例について計算して解析に用いた。急性 GVHD の治療のためステロイドを投与された症例については、ステロイド投与前までの値を解析に含めた。C5 値は静注投与例についてのみ測定され、経口投与開始症例については C0 のみの測定で、C5 の測定は施行しなかった。その結果 day 40 以降は C5 値測定症例が極端に減少しているため、C5 については day 40 までのデータを解析対象とした。

### 統計解析

急性 GVHD 発症率曲線は Kaplan - Meier 法にて作製した。

急性 GVHD 発症危険因子同定の単変量解析には、症例を急性 GVHD grade II - IV を発症した症例群 (GVHD group) と GVHD grade 0 / I 症例群 (control group) とに分けて、臨床的データについて  $\chi^2$  テストを用いて有意差検定を施行した。CsA 血中濃度の GVHD 発症に対する効果は、各 group における C0 値および C5 値の反復測定データの分散分析を用いて解析した。

さらに grade II - IV 急性 GVHD 発症の危険因子を同定するために、単変量解析で関連する可能性のある因子を含めて Cox 回帰分析を用いた多変量解析を施行した。その解析において、C0 と C5 平均値も時間依存性共変量としてモデルに組み込んだ。また C0 値と C5 値の効果に関しては、次のような 2 種類の仮定をおいた：すなわち 1) 急性 GVHD の発症は主に event 発症前の C0 または C5 に影響される。2) 急性 GVHD の発症は C0 または C5 の治療期間中全体の平均的に影響される。そしてモデルのあてはまりの良さは、赤池情報量基準で計算した指標を用いて計算、最も良く fit するモデルを採用した。統計解析は SAS version 8.2 (Cary, NC, USA) を用いて施行した。

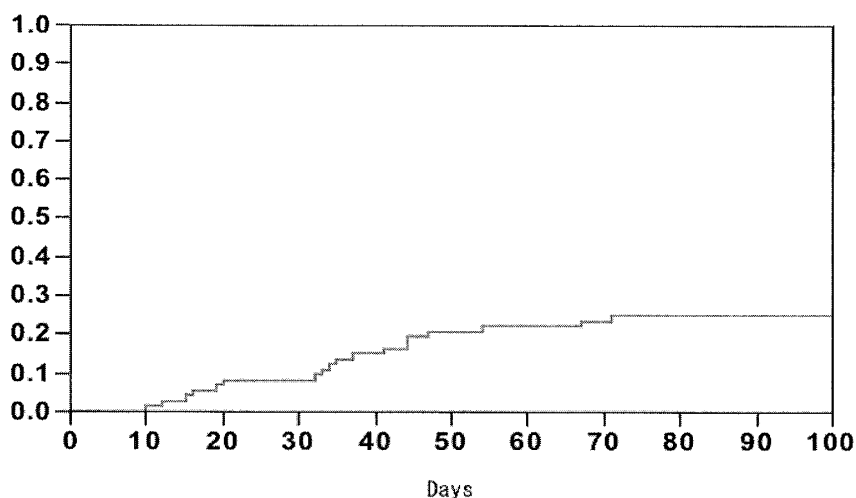


図1 Grade II-IV急性GVHD発症率のKaplan-Meier曲線。  
Grade II-IV急性GVHDは18症例(25%)に認められた。

## 結 果

解析対象とした73症例において、grades II-IVの急性GVHDは18例(25%)に認められた。Grade II以上の急性GVHD発症時期は、発症日中央値が34.5日(10日～71日)で、day20-50間で発症する例が半数以上であった(図1)。

今回解析した症例では、CsAの投与は全例1.5mg/kgの1日2回3時間点滴静注投与で開始、その後も特に血中濃度を目標としたCsA投与量の調節はせず、基本的に腎障害による副作用がなければほぼ当初の投与量が維持されていた。腎障害のために投与量を減量した症例は、73例中15例であった。そのような移植症例全体におけるCsA血中濃度の移植後の推移をみると、C0値、C5値ともに移植後30-40日まで血中濃度上昇を認め、C0値については以後プラトーを維持していた(図2, 3)。

まずgrade II以上の急性GVHD発症に関わる可能性のある交絡因子を同定するために単変量解析を施行した。今回解析に加えた変量のなかで、high riskであることが、control groupに比してGVHD groupにおいて有意に高値であった( $p =$

0.027, 表1)。今回 high risk とした症例は、急性白血病(acute leukemia)非寛解例、CML移行期の症例として解析した。それ以外の基礎的臨床データにおいては2 group間で有意差は認められなかった(表1)。投与されたMTX量についてもGVHD groupで41.0 [SD 7.3] mg/m<sup>2</sup>, control groupで41.6 [SD 6.6] mg/m<sup>2</sup>で同等であった。

次にトランプ値および投与後CsA濃度が急性GVHDに与える影響を、反復測定データの分散分析を用いて検定した。その結果C0値の推移はGVHD groupとControl groupの間に有意差は認められなかった( $P = 0.708$ , 図4)。一方C5値はGVHD groupにおいてControl groupに比して有意に低値であった( $P = 0.023$ , 図5)。Grade II-IVの急性GVHDを発症した症例におけるC5直前値は303 (SD120) ng/mlで、Control groupにおける最終C5値は394 (SD113) ng/mlであった。

次に急性GVHD発症に関与する因子についての多変量解析として、COX回帰解析による分析を施行した(表2)。この解析結果は、急性GVHDの発症には発症前の血中濃度が強く影響するとの仮定で解析した結果である。移植後のC5値が高

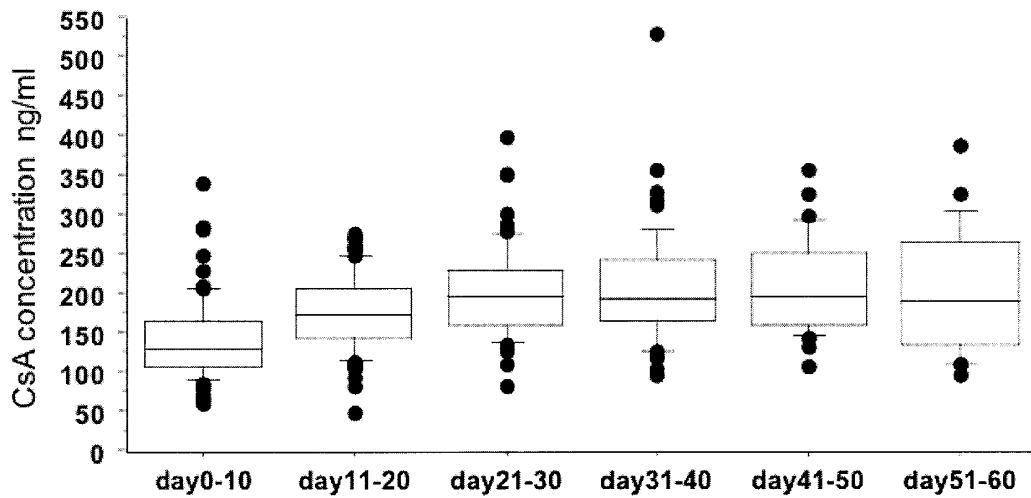


図2 Cyclosporin A トラーフ血中濃度 (C0 値) の推移  
箱ひげ図で示されている横線は下から 10, 25, 50, 75 そして 90 パーセント点を示す。はずれ値は dots で示されている。

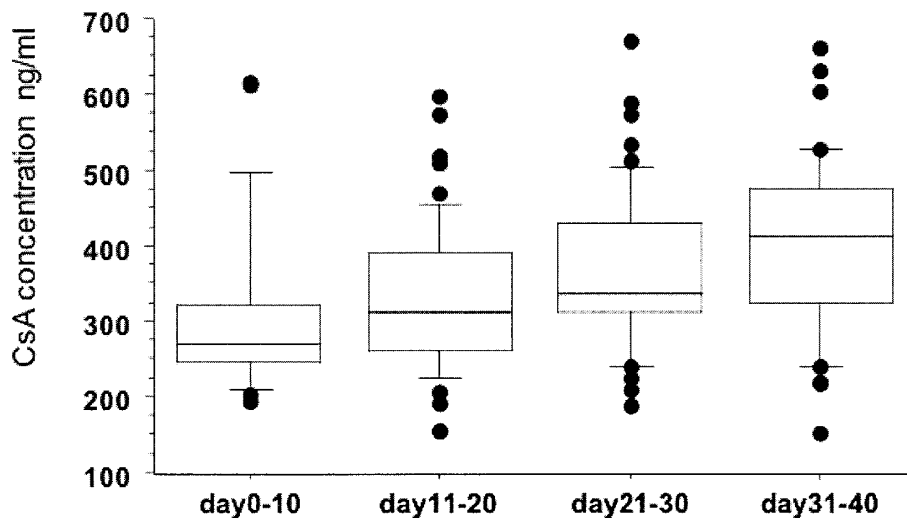


図3 Cyclosporin A 静注開始 5 時間後の血中濃度 (C5 値) の推移  
箱ひげ図で示されている横線は下から 10, 25, 50, 75 そして 90 パーセント点を示す。はずれ値は dots で示されている。

値であることが grade II 以上の急性 GVHD 発症率を有意に減少させ、C5 値の 1ng/ml 増加がハザード比 0.994 (95% 信頼区間, 0.989 - 0.999) で GVHD 発症率を減少させたことが明らかになった。今回のモデルにはこれまでに報告されている

患者年齢やドナー性別なども加えて解析したが、これらの因子は GVHD 発症への関与は認められなかった。また GVHD 発症には、発症前の CsA 血中濃度よりも治療期間全体の血中濃度が影響する可能性についても解析を加えたが、この仮定に

表 1 Baseline Characteristics of 73 Patients Who Underwent Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation.

Characteristic	Patients with no or grade I acute GVHD (n = 55)	Patients with grades II-IV acute GVHD (n = 18)	P value*
Median (range) Age, years	25 (16–55)	31 (18–49)	0.347
Patient Age, n (%)			
< 40	43 (78)	13 (72)	0.604
≥ 40	12 (22)	5 (28)	
Patient Sex, n (%)			
Male	33 (60)	14 (78)	0.172
Female	22 (40)	4 (22)	
Diagnosis, n (%)			
AA	4 (7)	2 (11)	0.270
ALL	16 (29)	2 (11)	
AML	19 (35)	5 (28)	
CML	13 (24)	6 (33)	
MDS	3 (5)	2 (11)	
NHL	0 (0)	1 (6)	
High risk diseases†, n (%)			
Without	47 (85)	11 (61)	0.027
With	8 (15)	7 (39)	
Donor, n (%)			
Sibling	42 (76)	9 (50)	0.107
Related other than sibling	3 (5)	2 (11)	
Unrelated	10 (18)	7 (39)	
Donor Sex, n (%)			
Male	27 (49)	10 (56)	0.634
Female	28 (51)	8 (44)	
Donor-patient sex match, n (%)			
Male patients with female donor	17 (31)	6 (33)	0.848
Other combinations	38 (69)	12 (67)	
HLA identical, n (%)			
Identical	52 (95)	16 (89)	0.410
GVH antigen mismatch	3 (5)	2 (11)	
Preparative conditioning			
Busulfan	22 (40)	6 (33)	0.614
TBI	33 (60)	12 (67)	

\*Chi-square test

†Acute leukemia or lymphoma without complete remission, and chronic myelogenous leukemia in accelerated phase.

Abbreviations: GVHD, graft-versus-host disease; AA, aplastic anemia; ALL, acute lymphoblastic leukemia; AML, acute myeloid leukemia; CML, chronic myelogenous leukemia; MDS, myelodysplastic syndrome, NHL, non-Hodgkin lymphoma; HLA, human leukocyte antigen; GVH, graft-versus-host; TBI, total body irradiation

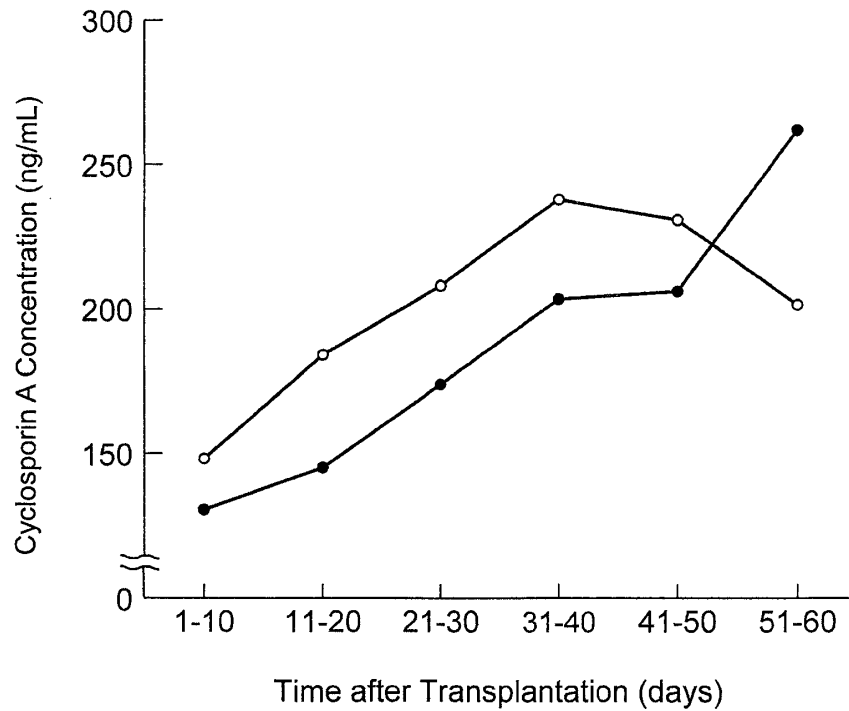


図4 Grade II-IV急性GVHDを発症した症例(●)と急性GVHD grade 0/Iであった症例(○)における治療期間のCyclosporin Aトラーフ血中濃度(C0値)の推移.

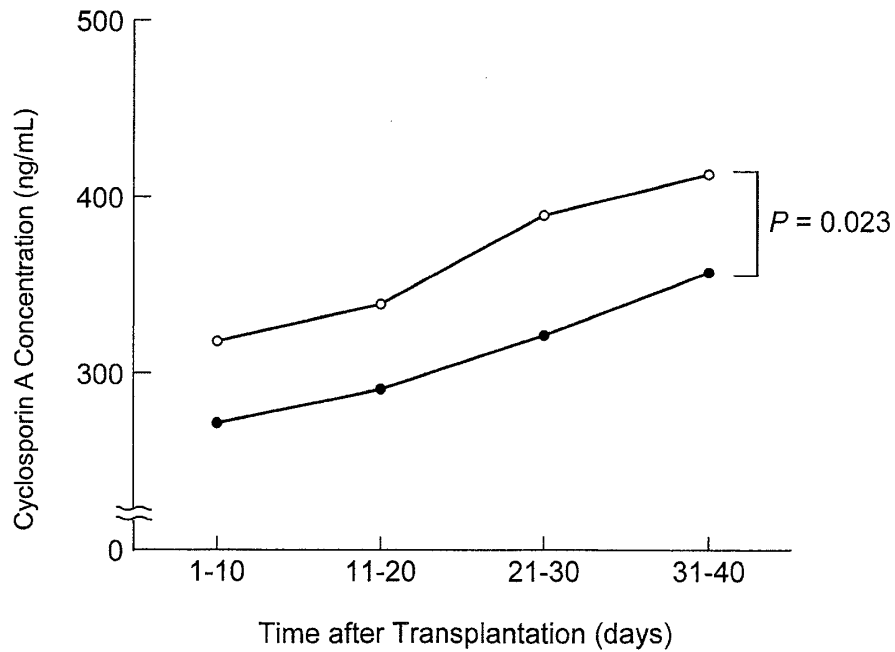


図5 Grade II-IV急性GVHDを発症した症例(●)と急性GVHD grade 0/Iであった症例(○)における治療期間のCyclosporin A静注開始5時間後の血中濃度(C5値)の推移.

表 2 Multivariate Analysis of Risk Factors for Grades II-IV Acute Graft-Versus-Host Disease.

Factor	Hazard Ratio	95% Confidence Interval	P value
C5*	0.994	0.989 to 0.999	0.019
High risk diseases†	1.824	0.665 to 5.007	0.243

\*Whole blood concentration of cyclosporin A at 5 hours after the start of infusion

†Acute leukemia or lymphoma without complete remission, and chronic myelogenous leukemia in accelerated phase

よるモデルよりも今回の結果の方がより fit した結果であった。

## 考 察

今回の後方視的コホート研究では、C5 値が低いことが急性 GVHD grade II-IV を発症する危険因子となり、C5 値を 1ng/mL 増加させることで、GVHD 発症を相対危険度 0.994 で抑制できるとの結果が得られた。すなわち CsA を、C5 値が X ng/mL 増加するように投与することで、GVHD の発症を 0.994<sup>X</sup> 倍に抑制することができることを示唆している。そして grade II 以上の GVHD を発症した症例における直前 C5 平均値は 303ng/mL であった。これに対して、grade I GVHD 以下の症例では、どの測定時期においても CsA 濃度が約 50-60ng/mL 程度高値を維持していた。

これまでも造血幹細胞移植において、grade II-IV 急性 GVHD 発症と CsA 濃度や投与量との関連性はいくつか報告されている。Yee 等はトラーフ値で 100ng/mL の増加が、相対危険度 0.7 で GVHD 発症を抑制することを報告している<sup>8)</sup>。また Nash 等は CsA 投与量が 80% 以下に減少することが GVHD 発症リスクであることを多変量解析で明らかにしている<sup>9)</sup>。さらに Martin 等は小

児のデータであるが、やはりトラーフ値が 85ng/ml 未満であることが移植後 GVHD 発症の危険因子であることを報告している<sup>10)11)</sup>。しかしこれらの報告では、CsA 投与後の血中濃度の重要性については解析に含まれてはいない。

CsA はカルシニューリンインヒビターの一つで、Tリンパ球活性化・増殖に関与するサイトカイン産生抑制が主作用であることから、薬理効果には血中濃度が重要であることが指摘されている。特に近年腎移植を中心とする臓器移植の世界においては、多数例に及ぶ臨床研究の結果、CsA 経口剤 Neoral 使用時の急性拒絶予防においてトラーフ値測定よりも、投与後の AUC (Area Under the Curve) そして内服 2 時間後の C2 モニタリングが有効であることが指摘されている<sup>7)</sup>。

今回の解析結果は、我々の施設で使用してきた CsA 3 時間点滴静注の 1 日 2 回投与方法を利用した造血幹細胞移植という限られた投与方法に関するものではあるが、造血幹細胞移植での静注投与においても、CsA 投与後の血中濃度測定の重要性を示唆している。近年臓器移植で行われている様に、CsA 投与後の血中濃度の値により投与量を調節することで、急性 GVHD 発症をより有効に抑制できる可能性を示唆している。

今回の研究成果の限界は解析症例数が 73 例と少ないことである。今回の多変量解析では、C0 値



をはじめ、これまでに報告された危険因子をすべて多変量解析に加えて解析したが、どの因子も grade II-IV 急性 GVHD 発症に関与していることを検出できなかった。これは我々の施設で CsA と MTX 短期投与で GVHD 予防をしている症例すべてを含んで解析したが、他の因子を検出するのに十分な統計学的 power が不足しているためと考えられる。また前述したように今回得られた結果は、我々が使用している CsA 投与方法における結果であって、他の方法で投与している症例でもあてはまるかどうかは、さらなる解析が必要である。

このような限界を認める解析ではあるが、本研究は CsA 静注開始 5 時間後の血中濃度が低値であることが、急性 GVHD 発症の危険因子となっていることを示している。現在我々の施設を含めた多施設において、CsA 静注開始後の血中濃度モニターリングが急性 GVHD 発症予防に有効であるかどうかを確認するために、前方視的観察研究が進行中である。

#### 謝 辞

最後に、本研究の御指導及び論文の御高閲を頂きました新潟大学大学院総合研究科循環器学・血液学・内分泌学分野 相澤義房教授、新潟大学医歯学総合病院・高密度無菌治療部古川達雄准教授に深謝いたします。

#### 参 考 文 献

- 1) Kanda Y, Izutsu K, Hirai H, Sakamaki H, Iseki T, Koderu Y, Okamoto S, Mitsui H, Iwato K, Hirabayashi N, Furukawa T, Maruta A, Kasai M, Atsuta Y, Hamajima N, Hiraoka A and Kawa K: Effect of graft-versus-host disease on the outcome of bone marrow transplantation from an HLA-identical sibling donor using GVHD prophylaxis with cyclosporin A and methotrexate. *Leukemia* 18: 1013 - 1019, 2004.
- 2) Oh H, Loberiza FR Jr, Zhang MJ, Ringden O, Akiyama H, Asai T, Miyawaki S, Okamoto S, Horowitz MM, Antin JH, Bashey A, Bird JM, Carabasi MH, Fay JW, Gale RP, Giller RH, Goldman JM, Hale GA, Harris RE, Henslee-Downey J, Kolb HJ, Litzow MR, McCarthy PL, Neudorf SM, Serna DS, Socie G, Tiberghien P and Barrett AJ: Comparison of graft-versus-host-disease and survival after HLA-identical sibling bone marrow transplantation in ethnic populations. *Blood* 105: 1408 - 1416, 2005.
- 3) 日本造血細胞移植学会 平成 16 年度全国調査報告書. 成人における造血幹細胞移植の解析, 2005.
- 4) Horowitz MM, Gale RP, Sondel PM, Goldman JM, Kersey J, Kolb HJ, Rimm AA, Ringden O, Rozman C, Speck B, Truitt RL, Zwaan FE and Bortin MM: Graft-versus-leukemia reactions after bone marrow transplantation. *Blood* 75: 555 - 562, 1990.
- 5) Bacigalupo A, Van Lint MT, Occhini D, Gualandi F, Lamparelli T, Sogno G, Tedone E, Frassoni F, Tong J and Marmont AM: Increased risk of leukemia relapse with high-dose cyclosporine A after allogeneic marrow transplantation for acute leukemia. *Blood* 77: 1423 - 1428, 1991.
- 6) Ruutu T, Niederwieser D, Gratwohl A and Apperley JF: A survey of the prophylaxis and treatment of acute GVHD in Europe: a report of the European Group for Blood and Marrow, Transplantation (EBMT). Chronic Leukaemia Working Party of the EBMT. *Bone Marrow Transplant* 19: 759 - 764, 1997.
- 7) Kahan BD: Therapeutic drug monitoring of cyclosporine: 20 years of progress. *Transplant Proc* 36 (2 Suppl): 378S - 391S, 2004.
- 8) Yee GC, Self SG, McGuire TR, Carlin J, Sanders JE and Deeg HJ: Serum cyclosporine concentration and risk of acute graft-versus-host disease after allogeneic marrow transplantation. *New Engl J Med* 319: 65 - 70, 1988.
- 9) Nash RA, Pepe MS, Storb R, Longton G, Pettinger M, Anasetti C, Appelbaum FR, Bowden RA, Deeg HJ, Doney K, Martin PJ, Sullivan KM, Sanders J and Wihterspoon RP: Acute graft-versus-host disease: analysis of risk factors after allogeneic marrow transplantation and prophylaxis with cyclosporine and methotrexate. *Blood* 80: 1838 - 1845, 1992.

- 10) Martin P, Bleyzac N, Souillet G, Galambrun C, Bertrand Y, Maire PH, Jelliffe RW and Aulagner G: Relationship between CsA trough blood concentration and severity of acute graft - versus - host disease after paediatric stem cell transplantation from matched - sibling or unrelated donors. *Bone Marrow Transplant* 32: 777 - 784, 2003.
- 11) Martin P, Bleyzac N, Souillet G, Galambrun C, Bertrand Y, Maire PH, Jelliffe RW and Aulagner G: Clinical and pharmacological risk factors for acute graft - versus - host disease after paediatric bone marrow transplantation from matched - sibling or unrelated donors. *Bone Marrow Transplant* 32: 881 - 887, 2003.
- 12) Ogawa N, Kanda Y, Matsubara M, Asano Y, Nakagawa M, Sakata-Yanagimoto M, Kandabashi K, Izutsu K, Imai Y, Hangaishi A, Kurokawa M, Tsujino S, Ogawa S, Aoki K, Chiba S, Motokura T and Hirai H: Increased incidence of acute graft - versus - host disease with the continuous infusion of cyclosporine A compared to twice - daily infusion. *Bone Marrow Transplant* 33: 549 - 552, 2004.
- 13) Przepiorka D, Weisdorf D, Martin P, Klingemann HG, Beatty P, Hows J and Thomas ED: 1994 Consensus Conference on acute GVHD grading. *Bone Marrow Transplant* 15: 825 - 828, 1995.
- 14) Schran HF, Rosano TG, Hassell AE and Pell MA: Determination of cyclosporine concentrations with monoclonal antibodies. *Clin Chem* 33: 2225 - 2229, 1987.
- 15) Lindholm A, Napoli K, Rutzky L and Kahan BD: Specific monoclonal radioimmunoassay and fluorescence polarization immunoassay for trough concentration and area - under - the - curve monitoring of cyclosporine in renal transplantation. *Ther Drug Monit* 14: 292 - 300, 1992.

(平成 18 年 12 月 27 日受付)