

厚生科学研究費補助金免疫・アレルギー等研究事業（臓器移植部門）

Research Grant for Immunology, Allergy and Organ
Transplant, Ministry of Health and Welfare.

造血細胞移植と免疫応答に関する研究班

「造血細胞移植の円滑な実施と成績向上 に必要な基盤の整備に関する研究」

報 告 書

平成10年度

主任研究者 小寺良尚

名古屋第一赤十字病院第四内科、骨髄移植センター

緒言

本冊子は平成 9 年度から始められた免疫、アレルギー等研究事業、臓器移植部門に属する「造血細胞移植と免疫応答に関する研究班」の平成 10 年度報告書である。本研究班は造血細胞移植の一層の普及とその円滑な実施、成績向上を可能にするシステムの構築を課題とする総合研究班であり、これら多様な課題を実践するに当って班内に 4 つのテーマが設定されている。平成 10 年度、テーマ 1. の「造血細胞移植の供給率の向上」においては、今までにわが国で行われた造血幹細胞移植を移植の種類別に評価し、日本骨髄バンクを介した非血縁者間骨髄移植の成績が少なくとも急性白血病においては同胞間移植と同等である事、HLA 一部不適合血縁者間骨髄移植の成績が比較的良好であることを明らかにし、非血縁者間 HLA 不適合移植実施への道を開いた。国内ドナーが得られない患者のために提携関係にある米国、台湾骨髄バンクからの移植を推進するとともに、韓国骨髄バンクと新たに正式提携し、又提携外の海外骨髄バンクドナーからの移植を実施した。日本骨髄バンク患者相談窓口 (Patient Advocacy) を運営し骨髄移植を受ける患者の問題の所在を解析した。テーマ 2 の「移植抗原群の DNA タイピングと免疫応答」においてはドナー—患者間における HLA-C 座抗原のみの DNA レベルでの不一致が移植後の白血病再発を抑制することにより生存率を向上させることを明らかにし、白血病の免疫学的制御を解明する上でのモデルを提供するとともに、FK-506 の非血縁者間骨髄移植における GVHD 予防効果の優位性を確認した。テーマ 3 の「臍帯血移植」においては我が国における非血縁者間臍帯血移植例の最新の成績に関する全国調査を継続し、臍帯血移植の成功に必用なドナー—患者間の HLA 適合度、移植細胞数、生着率、GVHD の頻度、生存率等につき初期の国内データを作成した。又、昨年度構築された全国に分布する 9 民間臍帯血バンクの相互利用のためのネットワークを運営し、地域臍帯血バンク内で移植可能な臍帯血が得られない患者でもネットワークを介して HLA 適合臍帯血が見つかり、それを用いた臍帯血移植が実施可能である事を示した。臍帯血中の多能性造血幹細胞と造血前駆細胞の *ex vivo* 増幅法につき検討し、幹細胞の長期培養、それからの種々の前駆細胞の産生、幹細胞の骨髄再構築能の評価系を確立した。テーマ 4 の「同種末梢血幹細胞移植」においては、国内における血縁者間同種末梢血幹細胞移植を基に同移植法の患者における有用性とドナーにおける短期、中期の安全性を確認するとともに、ドナーの安全性に関する長期フォローアップシステムの構築を開始した。以上の多様なテーマにつき本冊子では各分担研究者の年度末報告書並びに 2 回の班会議における報告書を中心に編集した。本報告書が班員、研究協力者、関係者各位の平成 11 年度の研究の指針、参考になれば幸いである。

平成 11 年 8 月 18 日

主任研究者 記

- 2) 臍帯血バンクの整備に関する研究 …………… 西平浩一 ……143
- 3) 臍帯血移植におけるHLA適合性に関する研究 …………… 原宏他 157
- 4) 造血幹細胞の ex vivo 増幅に関する研究 …………… 中畑龍俊 ……171

テーマ4 同種末梢血幹細胞移植

- 1) 同種末梢血幹細胞移植に関する基礎的研究 …………… 浅野茂隆 ……183
- 2) 同種末梢血幹細胞移植に関する臨床的研究 …………… 原田実根 ……185

V. 研究班会議発表者報告書

1) 平成10年度

第一回 厚生省厚生科学研究 感覚器障害及び免疫・アレルギー等研究事業
「造血細胞移植と免疫応答に関する研究」班会議

平成10年7月17日(金) 午前10時～午後4時

会場：国際研究交流会館 国際会議場

7月18日(土) 午前10時～12時

会場：国立がんセンター会議棟 特別会議室

【 タイトル(17日) 】

I. 平成9年度総括ならびに平成10年度研究打合せ

- 1) 平成10年度班研究計画 ……193
小寺良尚
- 2) 同種末梢血幹細胞移植
 - 1) 同種末梢血幹細胞移植の現状分析 ……195
原田実根 岡山大学医学部 第二内科
 - 2) 白血病に対する遺伝子治療にむけての基礎的検討 ……197
谷 憲三朗 浅野茂隆 東京大学医科学研究所 病態薬理学研究部
- 3) 臍帯血移植
 - 3) 臍帯血移植全国集計報告 ……200
加藤俊一 東海大学医学部 小児科
 - 4) ①神奈川臍帯血バンクにおける臍帯血移植の実施症例
②臍帯血バンク整備についての検討 ……203
西平浩一 神奈川県立こども医療センター 腫瘍科
 - 5) 近畿臍帯血バンクの現況 ……204
甲斐俊朗 原 宏 兵庫医科大学 輸血部
 - 6) 臍帯血T細胞の機能解析 ……211
長山人三 高橋恒夫 東京大学医科学研究所 細胞プロセッシング研究部門
 - 7) 北海道臍帯血バンクの細胞保存状況と細胞の解凍洗浄の成績 ……213
佐藤典宏 関口定美 北海道血液センター

- 8) 神奈川臍帯血バンクにおける当院の役割と経験 ……215
磯山恵一 昭和大学藤が丘病院 小児科
- 9) 東海臍帯血バンクの現況 ……217
矢崎 信 名古屋市立大学医学部 小児科
- 10) 血縁者間3抗原不一致(haplotype identical)臍帯血移植を施行した2例…218
井上雅美 河 敬世 大阪府立母子保健総合医療センター 小児科
- 11) 北部九州における臍帯血移植の取組み ……220
佐藤博行 福岡県赤十字血液センター
- 12) 班臍帯血データ管理部の現況 ……221
加藤 道 小澤和郎 愛知県血液センター
- 13) 班患者登録事務局からの報告 ……221
小寺良尚 分担研究報告書

4) 幹細胞増幅

- 14) マウス胎児AGMストローマ細胞株を用いたヒト造血幹細胞の ex vivo増幅…222
中畑龍俊 東京大学医科学研究所 小児細胞移植科

5) 国際協力と Patient Advocacy

- 15) NMDP/TCTMDRを介した異人種間骨髄移植の現況 ……224
岡本真一郎 池田康夫 慶應義塾大学医学部 血液内科
- 16) 日本骨髄バンク患者さん相談窓口 ……資料1
橋本明子 三谷史生
- 17) 米国、台湾、韓国、海外骨髄バンクとのコーディネート状況 分担研究報告書及び資料4
小寺良尚 ……225

II. 今年度の研究費配分と年間計画

III. 事務局報告等

【 タイトル(18日) 】

I. 平成9年度総括ならびに平成10年度研究打合せ

1) HLAとGVHD

- 18) 非血縁者間骨髄移植におけるHLA遺伝子マッチングの影響 ……235
上川路信博 笹月健彦 九州大学・生体防御医学研究所 遺伝学部門
- 19) UR-BMTの臨床からみた組織適合性抗原解析の課題 ……236
森島泰雄 愛知県がんセンター病院 血液化学療法部
- 20) リアルタイムPCR産物自動検出機と蛍光標識プローブを用いた
新しいHLAクラス1DNAタイピング法の開発 ……237
安藤麻子 猪子英俊 東海大学医学部 分子生命科学2
- 21) マイナー組織適合性抗原 ……238
佐治博夫 京都府赤十字血液センター
- 22) 神奈川臍帯血バンクにおけるHLA1抗原ミスマッチの検索について ……240
中島文明 西平浩一 神奈川赤十字血液センター 検査課
神奈川県立こども医療センター 腫瘍科
- 23) 日本人MICA遺伝子の多型とHLA-Bとの関連 ……241
石川善英 赤座達也 十字猛夫 日本赤十字社中央血液センター

II. 今年度の研究費配分と年間計画

III. 事務局報告等

2) 平成10年度

第二回 厚生省厚生科学研究 感覚器障害及び免疫・アレルギー等研究事業

「造血細胞移植と免疫応答に関する研究」班会議

平成11年2月6日(土) 午前10時～午後2時

会場：東京都立駒込病院 講堂

【 タイトル 】

I. 主任研究者挨拶

II. 厚生省挨拶

III. 分担研究者報告

1. 造血細胞移植の現状と将来展望 ……分担研究報告書
小寺良尚 名古屋第一赤十字病院 骨髄移植センター
2. 班「日本骨髄バンク患者さん相談窓口」(Patient Advocacy)の
現況と将来の課題 ……資料1
橋本明子 研究班「日本骨髄バンク患者さん相談窓口」
3. H L A - D N A タイピングに関するシアトルとの共同研究 ……分担研究報告書
笹月健彦 九州大学・生体防御医学研究所 遺伝学部門
4. マイナー抗原の移植成績への影響 ……242
十字猛夫 日本赤十字社中央血液センター
5. H L A - D N A タイピングと移植成績 ……244
森島泰雄 愛知県がんセンター 血液化学療法部
6. H L A - D O 遺伝子の多型性解析とその臨床的意義 ……246
猪子英俊 東海大学医学部 分子生命科学系遺伝情報部門
7. A B O minor mismatch の移植後、Transferase を産生した症例の検討 ……248
-c G V H D との関係および予後の与える影響は？
谷 慶彦 大阪府赤十字血液センター
8. 臍帯血バンクの整備ならびに非血縁者間臍帯血移植に関する研究 ……249
西平浩一 神奈川県立こども医療センター 腫瘍科
9. 臍帯血移植；H L A 適合度とG V H D 並びに生存率の関係 ……251
原 宏 兵庫医科大学 輸血部
10. 臍帯血移植における移植細胞数と生着に関する検討 ……253
加藤俊一 東海大学医学部 小児科
11. 研究班「臍帯血バンクネットワーク」の現況 ……257
加藤剛二 研究班「臍帯血部会事務局」
12. ヒト臍帯血T細胞におけるアロ抗原増殖能及び Fas / FasL 系を
介した細胞障害性能の不活性化 ……260
高橋恒夫 東京大学医科学研究所 細胞プロセッシング研究部門
13. 北海道臍帯血バンクにおける細胞保存の現状 ……261
佐藤典宏 関口定美 北海道赤十字血液センター
14. わが国における同種末梢血幹細胞 (allo PBSCT) の現状 ……263
原田実根 岡山大学医学部 第二内科
15. 造血幹細胞の ex vivo 増幅に関する研究 ……265
中畑龍俊 東京大学医科学研究所 小児細胞移植科
16. 造血細胞移植と遺伝子治療 ……分担研究報告書
浅野茂隆 東京大学医科学研究所 内科
17. 海外骨髄バンクとの交流並びに骨髄移植成績の現況 ……266
岡本真一郎 池田康夫 慶應義塾大学医学部 血液内科

IV. 今後の班研究の進め方について

V. 事務局報告

VI.	(財)ヒューマンサイエンス振興財団「平成10年度免疫・アレルギー等 研究推進事業」に基づく研究班事業報告	269
VII.	公開シンポジウム記録	273
VIII.	研究班会議記録	277
IX.	付録資料	
	1) 浜島信之 「造血細胞移植とは」 (冊子) 1999年 1月	283

I. 研究事業の概要と分担研究課題

平成10年度免疫・アレルギー等研究事業（臓器移植部門）体制図

感覚器障害及び免疫・アレルギー等研究事業

アレルギー部門

移植の免疫寛容に関する研究
主任研究者 野本 亀久雄
(九州大学生体防御医学研究所教授)

- テーマ1, 免疫寛容のヒトの応用
 - 1-1) 骨髄幹細胞移植による免疫寛容のヒトへの応用に関する研究
 - 野本 亀久雄 (九州大学生体防御医学研究所免疫学部門教授)
- テーマ2, 動物モデルからヒトへの応用
 - 2-1) 骨髄幹細胞移植による免疫寛容の誘導と維持
 - 小野江和則 (北海道大学免疫学研究所病理学部門教授)
 - 2-2) 単加糖抗体を含む遺伝子工学の活用に関する研究
 - 磯部光章 (信州大学第一内科助教授)
 - 2-3) 大型動物(イヌ)による免疫寛容モデルに関する研究
 - 渡部浩二 (北里大学免疫学助教授)
 - 2-4) 肺、気管、大動脈移植における免疫寛容の特性に関する研究
 - 安元公正 (産業医科大学第二外科教授)
- テーマ3, ヒト臓器移植における免疫寛容の活用
 - 3-1) CTLA-4を用いたTreg特異的免疫抑制療法の開発
 - 藤堂 省 (北海道大学第一外科助教授)
 - 3-2) 生体肝移植における免疫寛容の研究
 - 田中敏一 (京都大学大学院医学研究科移植免疫医学教授)
 - 3-3) 胸腺内ドナー細胞移植による免疫寛容の特性に関する研究
 - 里見 進 (東北大学第二外科助教授)
 - 3-4) ドナー骨髄細胞分割投与及びin3 ligantによるmicrochimerismの成立、維持と免疫寛容の心移植への応用
 - 川合明彦 (東京女子医科大学循環器外科講師)
 - 3-5) 臓器移植におけるCMV感染症の診断・治療と免疫寛容の関わり
 - 南嶋洋一 (宮崎医科大学微生物学教室教授)

臓器移植部門

臓器移植の基礎整備に関する臨床的研究
主任研究者 長澤 俊彦
(杏林大学医学部長、第一内科教授)

- テーマ1, 臓器機能を維持した臓器提供プロセスに関する研究
 - 1-1) 臓器提供施設における諸問題に関する研究
 - 島崎修次 (杏林大学救急医学教授)
 - 1-2) 移植施設・提供施設の院内感染防止対策と施設管理システムに関する研究
 - 鈴木運夫 (社) 北里研究所北里医薬環境センター長)
- テーマ2, 臓器移植の生着率向上に関する研究
 - 2-1) 長期移植腎の生着率向上に関する研究
 - 大島伸一 (名古屋大学泌尿器科教授)
 - 2-2) 臓器搬送の立場から見た保存条件に関する研究
 - 門田守人 (大阪大学第二外科助教授)
- テーマ3, 臓器機能から見たドナー、レシピエントの適切な組み合わせ
 - 3-1) レシピエント心の原疾患からみたドナー選択
 - 松田 暉 (大阪大学第一外科助教授)
 - 3-2) 生体肝、脳死提供肝の移植におけるドナー、レシピエントの組み合わせ
 - 藤内雅敏 (東京大学第二外科助教授)
 - 3-3) 腎移植におけるドナー、レシピエントの年齢差の問題点
 - 高橋公太(新潟大学泌尿器科教授)
- テーマ4, レシピエントの術前、術後の管理
 - 4-1) 肝移植レシピエントの管理に関する研究
 - 小保政男 (東京大学第二内科助教授)
 - 4-2) 心移植レシピエントの管理に関する研究
 - 堀 正二 (大阪大学第一内科助教授)
 - 4-3) 腎移植レシピエントの管理に関する研究
 - 長澤俊彦 (杏林大学医学部長、第一内科教授)

造血細胞移植と免疫応答に関する研究
主任研究者 小寺良尚
(名古屋第一赤十字病院骨髄移植センター長)

- テーマ1, 造血細胞移植の供給率の向上
 - 1-1) 造血細胞移植の供給率と成績の向上に関する研究
 - 小寺良尚 (名古屋第一赤十字病院骨髄移植センター長)
 - 1-2) 異人種間骨髄移植の整備と成績向上に関する研究
 - 池田康夫 (慶応義塾大学血液内科学教授)
- テーマ2, 移植抗原のDNAタイプと免疫応答
 - 2-1) HLAのDNAタイプの普及に関する研究
 - 笹月健彦 (九州大学生体防御医学研究所遺伝学部門教授)
 - 2-2) HLA抗原以外のヒトアロ抗原に関する研究
 - 十字猛夫 (日本赤十字社中央血液センター長)
 - 2-3) 移植抗原とGVHD, GVLに関する研究
 - 森島泰雄 (愛知県がんセンター病院血液化学療法部部長)
- テーマ3, 臍帯血移植
 - 3-1) 臍帯血移植に関する基礎的並びに臨床的研究
 - 加藤俊一 (東海大学小児科助教授)
 - 3-2) 臍帯血バンクの整備に関する研究
 - 西平浩一 (神奈川県立こども医療センター母子保健室長)
 - 3-3) 臍帯血移植におけるHLA適合性に関する研究
 - 原 宏 (兵庫医科大学輸血学助教授)
 - 3-4) 造血幹細胞のex vivo増幅に関する研究
 - 中嶋龍徳 (東京大学医学部研究部 癌病態学研究室教授)
- テーマ4, 同種末梢血幹細胞移植
 - 4-1) 同種末梢血幹細胞移植に関する基礎的研究
 - 浅野茂隆 (東京大学医学研究所付属病院院長)
 - 4-2) 同種末梢血幹細胞移植に関する臨床的研究
 - 原田実根 (岡山大学第二内科助教授)

臓器移植の社会資源整備に向けての研究
主任研究者 北川定謙
((財) 食品薬品安全センター理事長)

- テーマ1, 臓器移植ネットワークに関する研究
 - 1-1) T-ドナーの教育、育成に関する研究
 - 平賀聖悟 (社会保険三島病院院長)
 - 1-2) 多臓器移植ネットワークへの対応に関する研究
 - 寺岡 慧 (東京女子医科大学第三外科助教授)
 - 1-3) HLA検査と臓器移植ネットワークのあり方に関する研究
 - 柏原英彦 (国立佐倉病院副院長)
- テーマ2, 移植の普及に関する研究
 - 2-1) 意思表示カードの普及に関する研究
 - 雨宮 浩 (国立小児病院小児医薬センター長)
- テーマ3, 移植の評価に関する研究
 - 3-1) 腹部臓器移植後の追跡、評価の情報システムに関する研究
 - 太田和夫 (太田医学研究所長)
 - 3-2) 胸部臓器移植の追跡、評価の情報システムに関する研究
 - 小柳 仁 (東京女子医科大学附属日本心臓血管研究所教授)
- テーマ4, 組織移植に関する研究
 - 4-1) 角膜移植ネットワークに関する研究
 - 真鍋禮三 ((財) 日本眼病銀行協会理事長)
 - 4-2) 組織移植ネットワークに関する研究
 - 北村惣一郎 (国立循環器センター 副院長)
- テーマ5, 臓器移植の法的事項に関する研究
 - 町野 朔 (上智大学法学部教授)
- テーマ6, 移植医療の社会的効果に関する研究
 - 北川定謙 ((財) 食品薬品安全センター理事長)

II. 研究組織

平成10年度 厚生科学研究「造血細胞移植と免疫応答に関する研究」班
研究組織

	氏名	所属
主任研究者	小寺良尚	名古屋第一赤十字病院 第四内科、骨髄移植センター
分担研究者	笹月健彦	九州大学・生体防御医学研究所 遺伝学部門
	十字猛夫	日本赤十字社中央血液センター
	森島泰雄	愛知県がんセンター病院 血液化学療法部
	池田康夫	慶應義塾大学医学部 内科
	浅野茂隆	東京大学医科学研究所 内科
	原田実根	岡山大学医学部 第二内科
	加藤俊一	東海大学医学部 小児科
	西平浩一	神奈川県立こども医療センター 腫瘍科
	原 宏	兵庫医科大学 輸血部
	中畑龍俊	東京大学医科学研究所 癌病態学研究部
研究協力者	高橋恒夫	東京大学医科学研究所 細胞プロセッシング研究部門
	猪子英俊	東海大学医学部 分子生命科学2
	関口定美	北海道血液センター
	佐藤典宏	北海道血液センター 研究一課
	河 敬世	大阪府立母子保健総合医療センター 小児科
	秋山祐一	京都大学医学部 小児科
	佐治博夫	京都府血液センター 研究課
	直江知樹	名古屋大学医学部附属病院 難治感染症部
	佐藤博行	福岡県血液センター 研究課
	加藤剛二	名古屋第一赤十字病院 小児医療センター血液腫瘍科
	生田孝一郎	横浜市立大学医学部 小児科
	迫 正廣	大阪市立総合医療センター 小児科
	東 英一	三重大学医学部 小児科
	河野嘉文	徳島大学医学部 小児科
	沖本由理	千葉県こども病院 血液腫瘍科
	木下明俊	慶應義塾大学医学部 小児科
	小澤和郎	愛知県赤十字血液センター
	矢崎 信	名古屋市立大学医学部 小児科
	岡本真一郎	慶應義塾大学医学部 内科
	濱口元洋	名古屋第一赤十字病院 第四内科、骨髄移植センター
	赤座達也	日本赤十字社中央血液センター 研究課
	矢野晋正	東海大学医学部 小児科
	天野功二	静岡県立こども病院 血液腫瘍科
	加藤 道	愛知県赤十字血液センター 検査二科
	大平睦郎	国立がんセンター 小児科
	磯山恵一	昭和大学藤が丘病院 小児科
	甲斐俊朗	兵庫医科大学 輸血部
	三谷史生	株式会社三谷史生事務所
	橋本明子	日本つばさ協会
	日野邦彦	聖マリアンナ医科大学 内科・臨床検査医学
	土岐博信	岡山県赤十字血液センター

Ⅲ. 平成10年度総括研究報告書

厚生科学研究費補助金（感覚器障害及び免疫・アレルギー等研究事業）

総括研究報告書

造血細胞移植と免疫応答に関する研究

主任研究者 小寺良尚（名古屋第一赤十字病院骨髓移植センター長）

研究要旨 国内、海外の骨髓バンクを介した非血縁者間骨髓移植、血縁者間同種末梢血幹細胞移植を実施し、それらの成績が基本的にHLA遺伝的適合同胞間骨髓移植のそれと同等であることを確認した。HLA一部不適合非血縁者間骨髓移植の実施に向けて準備を開始した。民間臍帯血バンクの臍帯血採取、保存等に関する規準を整備しつつそれらを介した非血縁者間臍帯血移植を実施した。造血細胞移植に関わる患者相談窓口業務を確立した。ヒト造血幹細胞の *ex vivo* 長期培養が可能になった。

研究組織

分担研究者

- 小寺良尚 名古屋第一赤十字病院骨髓移植センター長
笹月健彦 九州大学生体防御研究所遺伝学部門教授
十字猛夫 日本赤十字社中央血液センター所長
森島泰雄 愛知県がんセンター血液化学療法部部長
池田康夫 慶應義塾大学内科学教授
浅野茂隆 東京大学医科学研究所病院長
原田実根 岡山大学医学部第二内科教授
加藤俊一 東海大学医学部小児科助教授
西平浩一 神奈川県立こども医療センター腫瘍科母子保健室長
原 宏 兵庫医科大学輸血部教授
中畑龍俊 東京大学医科学研究所癌病態学研究部教授

同種骨髓移植に加えて非血縁者間同種骨髓移植、自家骨髓移植、自家末梢血幹細胞移植、同種末梢血幹細胞移植、同種臍帯血移植、自家ならびに同種精製幹細胞移植と多様化しつつある。本研究はこれら多様化する造血細胞移植の成績向上と普及に関わる要因を主として免疫学的視点より研究する。即ち上記造血細胞移植の中でも主力となる同種移植の成功に一義的に重要と考えられる患者ドナー間のより完全なHLA適合性をHLA-C座抗原群、血小板抗原群等を解析応用することにより高める。多様化しつつある移植法を拡充整備し、それぞれの移植法の適応を定めるとともに、これら同種移植に共通した合併症である拒絶と移植片対宿主病(GVHD)をそれぞれの幹細胞移植例において観察し、その至適制御法を確立する。造血幹細胞の *ex vivo* 増幅とそれを用いた移植の臨床応用の可能性につき検討する。

A. 研究目的：

白血病、重傷再生不良性貧血、先天性重傷複合免疫不全症等難治血液病ならびにリンパ腫、乳癌等の固形癌に高い確率で治癒をもたらし得る造血細胞移植は、近年従来の同胞間

B. 研究方法：

1) 日本骨髓バンクの拡充、整備、海外骨髓バンクとの提携を促進しつつそれらを介した非血縁者間骨髓移植例に対し、FK-506,ATGの拒絶ならびにGVHD抑制効果に

における有用性が確認されたので、これらを用いて非血縁者間骨髄移植の更なる成績向上を図るとともに多様化している他の造血幹細胞移植の成績と比較することにより非血縁者間骨髄移植の適応を定める。2) 現在までに実施された非血縁者間骨髄移植 1,000例における患者とドナーの HLA-A,B,DR 座及び HLA-C 座抗原ならびに血小板抗原群の適合度と拒絶ならびに GVHD の相関を retrospective に解析する。非血縁ドナーの選択に際しこれら抗原群の情報を活用しより適合性の高いドナーからの移植を行い、拒絶、GVHD の発生頻度に与える影響を検討するとともに、HLA 適合ドナーの得られない患者のために HLA 一部不適合移植の可能性につき検討する。3) 全国主要地域に既に存在する臍帯血バンクの連絡を深め相互利用システムを定めるとともに臍帯血移植ガイドラインに基いて非血縁者間臍帯血移植の症例を重ねる。4) 血縁者間末梢血幹細胞移植の症例を重ね患者とドナーの安全性を確認した後非血縁者間移植に応用する。5) 骨髄、末梢血及び臍帯血中の多能性幹細胞を精製し ex vivo で増殖させたものによる移植の可能性とそれに必要な基盤の整備につき検討する。

C. 研究結果：

1) 日本骨髄バンクは現在 120,000 人を超えるドナープールを擁し、6,000 余人の登録患者の 25%に当たる 1,800 名に非血縁者間骨髄移植を実施した。そしてこれら非血縁者間骨髄移植例の初期の 602 例を含むわが国の全造血幹細胞移植累積症例数は 1974 年から 1997 年までの間で 7,700 余例であった。これらの成績を移植の種類別にスタンダードリスクの白血病につき解析したところ、HLA 遺伝的適合同胞間骨髄移植：HLA 遺伝的不適合血縁者間骨髄移植：自家造血幹細胞移植：非血縁者間骨髄移植で 5 年生存率（非血

縁者間骨髄移植の場合は 3 年生存率）が、急性骨髄性白血病の場合成人 64%（n：298）、小児 70%（n：115）：成人のみ 55%（n：24）：成人のみ 37%（n：30）：成人、小児混合 71%（n：40）、急性リンパ性白血病では成人 53%（n：241）、小児 67%（n：76）：成人のみ 20%（16）：成人のみ 36%（n：61）：成人、小児混合 53%（n：53）、慢性骨髄性白血病では成人 62%（n：614）、小児 100%（n：6）：成人のみ 40%（n：21）：成人のみ 15%（n：13）：成人、小児混合 54%（n：146）であった。即ち以上の日本造血細胞移植学会、日本小児血液学会、骨髄移植推進財団のデータを Retrospective に解析したことにより、急性白血病においては HLA 表現型適合非血縁者間骨髄移植と HLA 遺伝的同胞間骨髄移植は同等の成績であること、HLA 不適合血縁者間骨髄移植の成績が比較的良好であること、白血病における自家造血幹細胞移植においても確率は低くなるが長期生存例が期待できることが明らかになった。正式提携後 1998 年 12 月末までに日本骨髄バンクを介して、同バンクでは HLA 適合ドナーが得られなかった患者より米国骨髄バンクに 298 件、台湾骨髄バンクに 38 件のドナー検索以来がなされ、それぞれ 38 件と 2 件の海外ドナーからの非血縁者間骨髄移植が実施された。ドナーの人種は 63%がアジア系、27%が白人等その他の人種であった。骨髄生着は評価可能な 33 例全例に得られ、Ⅲ度以上の GVHD の発症率は 34%、スタンダードリスク 18 例の生存率が 65%、ハイリスク 20 例のそれが 49%と、日本骨髄バンクからの移植成績と同等であることを確認した。提携関係に未だ無い海外骨髄バンクの実態調査が為され、国内、米国及び台湾骨髄バンクでドナーの得られない患者 8 名をそれらのバンクに登録したところ移植可能なドナーが見つかり 2 例に移植が実施された。移植前患者の様々な問題を調査、整理、解決

し非血縁者間骨髄移植の実施をスムーズに行うとともに移植後患者の状態を把握し移植後のQOLを向上させることを目的として1997年12月、日本骨髄バンク患者相談窓口(Patient Advocacy)を開設して以来1998年10月までに相談件数は418件あって、相談の時期としては、適合ドナーが見出されてから移植を決定するまでの期間のものが最も多かった。

2) これら非血縁者間骨髄移植例の内、初期の440例におけるドナー—患者のHLAに関するDNAレベルでの解析を行い、これら遺伝子のマッチングの予後に与える影響を検討し、急性GVHD発生率がHLA-A, Cがそれぞれマッチした患者—ドナーの組み合わせの場合に有意に低く、生存率はHLA-Aがマッチした組み合わせにおいて有意に向上していること、又、HLA-Cがマッチしていない組み合わせにおいては移植後の白血病再発が有意に低いことから同抗原が移植後再発の抑止に関わりがあることを示唆する成績を得てきたが、これらを更に詳細に解析し以下の結論を得た；a)HLA-CのみのDNAレベルでの不一致はGVHDの危険因子とはならない、b)HLA-CのDNAレベルでの不一致に他の遺伝子座(HLA-A,B,DRB1,DQB1)のDNAレベルでの不一致が加わるとGVHDの危険因子となる、c)HLA-AのみのDNAレベルでの不一致はGVHDの危険因子となるが、CのDNAレベルでの不一致により憎悪する、d)HLA-AのみのDNAレベルでの不一致は死亡の危険因子となる、e)HLA-CのみのDNAレベルでの不一致は生存率に良好な影響を与える。他方、こうしたHLA-DNAレベル適合、不適合別GVHD発症頻度をGVHD予防法別に検討したところ、A,B,DRとも適合した組み合わせにおいてはcyclosporin +MTX群のGrade-III以上のGVHD発症率12.7%、FK-506+MTX群のそれが7.8%と差が無かった

のに対し、A,B,DRいずれかが不適合であった場合には前者が31.1%と高率に重症GVHDを発症したのに比べ後者では11.8%に止まり、HLA-DNAレベル不適合移植におけるGVHD予防にFK-506が有用であることを確認した。

3) わが国に現存する9個所の民間臍帯血バンクのネットワーク化に基づきこれら臍帯血バンクの拡充と臍帯血移植が推進された。各バンクに保存されている臍帯血総数は約2,700検体である。これらのバンクを介して行われた非血縁者間臍帯血移植52例につき解析し以下の結果を得た；a)全体の生着率は41/52(79%)であるが、腫瘍性疾患が35/38(92%)の生着を得たのに比し、非腫瘍性疾患では6/15(40%)と低かった、b)患者と臍帯血のHLA適合度は腫瘍性疾患で6/6適合：2/37(5%)、5/6適合：29/37(78%)、4/6適合：6/37(16%)、非腫瘍性疾患で6/6適合：1/14(7%)、5/6適合：10/14(71%)、4/6適合：3/14(21%)と両群間に差は無く、従って少なくとも4/6までの不適合度は生着に関する限り許容範囲内にある、c)III度以上の急性GVHDは評価可能48例中5例(10.4%)に止まったが、HLA適合度別では、6/6及び5/6適合で3/41(7%)に、4/6適合では2/7(29%)に発症し、不適合度とGVHDが相関する可能性が或る、d)慢性GVHDの発症率は評価可能28例中2例(8.3%)であった、f)腫瘍性疾患37例の無病生存率は60.2%であった。他方これら各民間臍帯血バンクに分散して保存されている臍帯血ならびに登録患者のHLA情報を一個所に集め照合するための研究班登録センターには4臍帯血バンクより計906臍帯血のHLA情報が登録され、45名の、地域臍帯血バンクでは移植可能な臍帯血が得られなかった患者とHLA照合した結果、16名(36%)に6/6又は5/6適合臍帯血がみつき、民間臍帯血バンクのネットワーク化の

有用性を示唆した。

4) わが国で血縁者間同種末梢血幹細胞移植は1997年までに181例実施されているが内103例の患者につき解析した。患者の年齢中央値は37(5-61)歳、ドナーはHLA適合同胞90名、HLA不適合血縁者13名であった。患者の背景疾患は急性骨髄性白血病43例、急性リンパ性白血病14例、慢性骨髄性白血病19例、骨髄異形性症候群14例、その他13例であった。白血病に関してはスタンダードリスクが41例、ハイリスクが53例であった。移植細胞数はCD-34+細胞 $5.3(1.0-30.4) \times 10^6/\text{Kg}$ であった。生着は全例に得られ、好中球 $500/\mu\text{L}$ 以上に中央値13日(7-40)、血小板 $20,000/\mu\text{L}$ 以上に中央値13日(7-40)で到達した。Grade-III以上の急性GVHD発生率は評価可能99例中16例(16%)と骨髄移植に比べやや高いものの、症状は非定型的で重症のものは比較的少なかった。慢性GVHDは評価可能86例中限局型が12例(14%)、広範型が44例(51%)に見られた。評価可能96例全体の生存率(3年)は58%、白血病スタンダードリスク38例では74%、ハイリスク38例では35%であった。ドナーの短期、中期の安全性に関しては既に98例において確認されているが長期副作用につき全例をモニターするシステムを構築中である。

5) 造血幹細胞のex vivo増幅法の確立は現在生着に必要な細胞数の関係上小児に限られている臍帯血移植の適応を成人にまで広げるための緊急の課題である。造血幹細胞の自己複製因子を得るためマウスの胎生初期に造血幹細胞が発生、増幅するaortogonadomesonephros(AGM)領域より得たストローマ細胞株上でマウス造血幹細胞を培養したところCFU-Sの著明な増幅が得られた。そこで、このストローマ細胞上でヒト臍帯血由来のCD34+細胞あるいはCD34+CD38-細胞を培養したところ6週間以上

の長期にわたってヒト未分化造血前駆細胞が産生されつづけることが明らかとなった。現在このストローマ細胞を用いて造血幹細胞の自己複製因子のクローニングを実施している。又、造血幹細胞は自己複製能、多分化能の他骨髄再構築能を持った細胞であるが、今まではヒト骨髄再構築能の評価系が存在しなかったために、造血幹細胞がex vivoで増幅できているかどうか判定することが出来なかった。そこでNOD/SCIDマウスを用いて種々の条件を検討した後ヒト臍帯血より分離したCD34+細胞を $1-10 \times 10^4$ 移植し3ヶ月以降同マウスより骨髄、末梢血、脾臓を取り出してヒトCD45抗原を指標としたFACS解析並びにヒトAlu sequenceを指標としたPCR法による解析を行なったところ特に 5×10^4 以上の細胞を移植したマウスでは骨髄中の30%、末梢血中の10%がヒト型に置き換わっていることが明らかになりNOD/SCIDマウスがヒト造血幹細胞の評価系になり得ることが示された。

D. 考察:

1) 日本骨髄バンクにおけるHLA適合ドナーの見つかる確率は80%近いが実際の非血縁ドナー骨髄供給率は未だ30%弱であり、ドナーの質的向上、コーディネートシステムの改善が必要であるとともに海外骨髄バンクとの提携をさらに進めることは、国内ドナープールを拡大することとともに意義ある事と思われる。非血縁者間骨髄移植の成績に関しては、後述のHLA-DNAレベルまで適合したドナーを選ぶこと並びにFK-506の予防的投与を行なうことにより更に向上するものと思われ、殊に後者の応用により血縁者間骨髄移植で一定の成績を得ることが出来ることが確かめられているHLA血清学的不適合骨髄移植を非血縁者間にまで広げる基盤が出来つつあるので、国内、海外の骨髄又は臍帯血バンクでHLA適合造血幹細胞ド

ナーがどうしても得られない患者にとっては朗報になろう。又、こうして非血縁者間骨髄移植における最大の脅威であった GVHD が或る程度制御されるようになると、次なる脅威は血縁者間移植と同様白血病の移植後再発であり、これに対応する方策（例えば非血縁者間 Donor Leukocyte Transfusion を可能にするシステム等）が必要となろう。

2) HLA Class-I 抗原の DNA レベルでの適合性、殊に A 座抗原のそれが予後に影響を与えることが明らかになったので、今後は可及的に DNA レベルまで適合したドナーからの移植が望ましいと考えられ、こうしたドナーをより高い確率で供給するためには、約 30 万人のドナープールが必要とされよう。C 座抗原が不適合であった場合、GVHD の発生頻度は高まるものの再発が少なくなり予後に影響を与えないという結果は、患者の C 座抗原がドナーの NK 細胞の標的抗原になると同時にそれが不適合であるが故にドナーの T 細胞の患者白血病細胞に対する細胞障害作用を抑制しないという二重のメカニズムが働いている可能性が示唆されており、今後この仮説を証明する作業が基礎、臨床両面で行なわれようとしている。

3) 9 地域に在る臍帯血バンクのネットワークが形成され、臍帯血ならびに登録患者の HLA 情報と照合が中央化されたことは HLA 適合臍帯血を得る確率を向上させるとともに、それを得るまでの時間を短縮させ移植成績の向上に寄与するものと考えられる。又、これらを実践するに至るまでに用いられた各種ガイドラインやシステムは公的臍帯血バンクの設立に際しても生かされつつある。

4) 同種末梢血幹細胞移植がドナー並びに患者にとって安全且つ有効な移植法であることは略確立されつつある。G-CSF を投与された健常ドナーの晩期副作用に対するモニターシステムを構築しつつ、本移植法の健康保険適用を要望してゆきたい。

5) 多能性造血幹細胞ならびに各種造血前駆細胞の *ex vivo* 増幅は既に可能になってきているので、これら *ex vivo* 増幅造血細胞の臨床応用に必要な条件を整理しそれを必要とする症例の出現に備える時期にきていると思われる。

6) 多様な造血幹細胞移植の最新の成績が一覧できるようになったので、これら情報を患者相談窓口 (Patient Advocacy) に集積し、患者並びに主治医に情報提供することにより、造血幹細胞移植が必要な患者に最適な造血幹細胞を最適な移植時期に供給するシステムを速やかに構築することが必要である。

E. 結論：

日本骨髄バンク並びに海外骨髄バンクからの HLA-DNA レベルまで適合したドナーからの非血縁者間骨髄移植の成績は少なくとも急性白血病においては HLA 遺伝的適合同胞間骨髄移植と同等になっており造血幹細胞移植を必要とする患者にとって第一選択肢である。HLA 一部不適合血縁者間並びに非血縁者間骨髄移植は FK-506 の予防的使用により比較的安全に行なえるものと思われる。臍帯血移植は特に小児の腫瘍性疾患に対しては骨髄移植に匹敵する治療効果が得られるものと思われ、民間臍帯血バンクのネットワークにより供給率の向上が期待できる。同種末梢血幹細胞移植はドナーを全身麻酔と骨髄穿刺術から開放し、且つ患者における血液回復は骨髄移植よりも速やかであるので早期に健康保険の適用が受けられるようになることが望まれる。

F. 研究発表：

1. 論文発表

- 1) Murata M, Haneda M, Nishida T, Kanie T, Hamaguchi M, Minami S, and Kodera Y: Unrelated Donor Bone Marrow Transplantation in Japanese Patients is

- Facilitated by the National Marrow Donor Program of the United States Transplantation Proceedings vol.30 150-152, 1998
- 2) Maruyama K, Tsuji K, Tanaka R, Yamada K, Kodera Y, and Nakahata T: Characterization of peripheral blood progenitor cells mobilized by nartograstim (N-terminal replaced granulo-cyte colony-stimulating fac-tor) in normal volunteers Bone Marrow Transplantation vol.22 313-320, 1998
 - 3) Ono T, Zambenedetti MR, Yamasaki K, Kawano Y, Kamikawaji N, Ito H, Sakurai M, Nishimura Y, Kira J, Kanazawa I, Sasazuki T: Molecular analysis of HLA class I (HLA-A and -B) and HLA class II (HLA-DRB1) genes in Japanese patients with multiple sclerosis (Western type and Asian type) Tissue Antigens, 52:539-542, 1998
 - 4) Sasazuki T, Juji T, Morishima Y, Kinukawa N, Kashiwabara H, Inoko H, Yoshida T, Kimura A, Akaza T, Kamikawaji N, Kodera Y, Takaku F: Effect of matdthing of class I HLA allelse on clinical outcome after transplantation of hematopoietic stem cells from an unrelated donor. New Engl. J. Med.,339: 1177-1185, 1998
 - 5) Fukui Y, Hashimoto O, Inayoshi A, Gyotoku T, Sano T, Koga T, Gushima T, Sasazuki T: Highly restricted T cell repertoire shaped by a single major histocompatibility complex-peptide ligant in the presence of a single rearranged T cell receptor β chain. J. Exp. Med., 188: 897-907, 1998
 - 6) Wakui MK, Tokunaga K, Ishikawa Y, Kashiwase K, Moriyama S, Tsuchiya N, Ando H, Shiina T, Geraghty DE, Inoko H, Juji T: Polymorphism of MICA in Japanese and a MICA-MICB null haplotype Immunogenetics 1999; in press.
 - 7) Sasazuki T, Juji T, Morishima Y, 9 other authors.Effect of matching of class I HLA alleles on clinical outcome after transplatation of hematopoietic cell transplantation from an unrelated donor. New Engl. J. Med. 339: 1177- 1185, 1998
 - 8) Sao H, Morishima Y, Kitaori K, Shimokawa T, Kato C, Yamanishi H,Ueda R: A new T cell depletion method using anti-CD6 monoclonal antibody- conjugated magnetic beads and its application for prevention of acute graft-vs-host disease in allogeneic bone marrow transplantation: results of a phase I-II trial. Int. ern J. Hematol. 69:27-35, 1999
 - 9) Kagami Y, Nakamura S, Morishima Y, 8 other authors: Establishment of an IL-2 dependent cell line derived from "nasal-type" NK/T-cell lymphoma of CD2⁺, sCD3⁺, CD3e⁺, CD56⁺ phennotype and associated with the Epstein-Barr virus. Br J Haematol 103:669-677, 1998
 - 10) S Okamoto, Y Ikeda, et al, Treatment of advanced myelodysplastic Syndrome with a regimen Includeuding recombinant human granulocyte colony-stimulating factor preceding allogeneic bone marrow tansplantation : Brit. J of Haematol, 104:569-573, 1999
 - 11) S Okamoto, Y Ikeda, et al Prospective evaluation for upper gastrointestinal tract acute graft- versus -host disease after hematopoietic stem cell transplantation : Bone Marrow Transplant. 23:573-378, 1999
 - 12) Koseki S, Tanabe T, Tani K, Asano

- S, Shioda T, Nagai Y, Shimada T, Ohkawa J, Taira K: Factors governing the activity in vivo of ribozymes transcribed by RNA polymerase III. *J Virol.* 1999 Mar; 73(3): 1868-77 1999
- 13) Kuwabara T, Warashina M, Tanabe T, Tani K, Asano S, Taira K: A novel allosterically trans-activated ribozyme, the maxizyme, with exceptional specificity in vitro and in vivo. *Mol Cell.* 1998 Nov ;2(5) : 617-27
- 14) M Harada, et al: Allogeneic peripheral blood stem cell transplantation for atandard-risk leukemia. A multicenter pilot study : Japanese experience. *Bone Marrow Transplant* 21(suppl 3): S54-S56, 1998
- 15) Y Katayama, M Harada, et al: Hematopoietic progenitor cells from allogeneic bone marrow transplant donors circulate in the very early post-transplant period. *Bone Marrow Transplant* 23, 1999 in press
- 16) Kato S, et al : Cord blood transplantation from sibling donors in Japan. *Int. J. Hematol*, 1998
- 17) Nishihira H, et al: Unrelated umbilical cord blood stem cell transplantation, a report from Kanagawa Cord Blood Bank, Japan. *International Journal of Hematology* 68:193-202, 1998
- 18) Ohnuma K, Toyoda Y, Nishihira H, et al: Successful engraftment of sibling cord-blood stem cell transplantation in a child with acute promyelocytic leukemia. *Intl J Hemato* 64:271-278, 1996
- 19) Tanaka Y, Hosoi G, Shimoyama T, Fujimura Y, Sako M, Hara H: Successful engraftment of unrelated cord blood stem cells for erythrophagocytic lymphohistiocytosis. *Kinki Cord Blood Bank. Bone Marrow Transplantation* 22, 511-3, 1998
- 20) Mukouyama Y, Hara T, Xu M, Tamura K, Donovan P.J, Kim H, Kogo H, Tsuji K, Nakahata T, Miyajima A: Induction of hematopoiesis by oncostatin M in the AGM region. *Immunity* 8: 105-114, 1998
- 21) Nakahata T: Characteristics of hemopoietic stem/progenitor cells in bone marrow, peripheral blood and cord blood. *Int. J. Pediatr. Hematol Oncology* 5:60-61, 1998
- 22) Nakahata T, Sui X, Tajima S, Tsuji K, Yasukawa K, Taga T, Kishimoto T: Ex vivo expansion of human primitive hemopoietic progenitors. *Stem Cells.* in press.
- 23) Duraisamy K, Saito H, Kaneko A, Fukagawa K, Nakayama M, Tomikawa M, Tachimoto H, Ebisawa M, Akasawa A, Miyagi T, Kimura H, Nakajima T, Tsuji K, Nakahata T: Characterization of mast-cell-comitted progenitors present in human cord blood. *Blood* in press
- 24) 濱口元洋、小寺良尚: 公的骨髄バンクの成績と血縁者間骨髄移植の比較 *臨床血液* 第39巻 第5号 339~341, 1998
- 25) 小寺良尚: 造血幹細胞移植の現状 *日本内科学会雑誌* 特集:造血幹細胞移植 第87巻 第8号 9~15, 1998
- 26) 甲斐俊朗、原 宏: 臍帯血移植の展開 *日本内科学会雑誌* vol. 87, 1516 - 1521, 1998
2. 学会発表
- 1) Kodera Y : Current status of hematopoietic stem cell transplantation in Japan 5th Sino-Japan joint symposium on

- hematology 宜昌(中国) 1998.10
- 2) Kodera Y : BMT in Japan The 6th Congress of Asian-Pacific Bone Marrow Transplantation Group (APBMTG) Taipei, Taiwan 1998.11
- 3) Asano S. : A novel ribozyme, the Maxizyme, that induce apoptosis to CML cells: The 5th Annual Meeting 1999 The Japan Society of Gene Therapy. 1999
- 4) Shirahara A, Tada H, Ogawa Y, Kawano A, Goto A, Horiuchi T, Ishikawa A, Nakahata T: The timing of the start of erythropoietin treatment for premature infants. Inter-national congress of pediatrics. Amsterdam, 1998
- 5) 涌井美紀、石川善英、柏瀬貢一、森山 哲、土屋尚之、徳永勝士、十字猛夫 : MICA 遺伝子の多型解析と HLA-B との関連 第 7 回日本組織適合性学会大会 箱根 1998. 7
- 6) 品川克至、原田実根 : 同種末梢血幹細胞移植の現状と非血縁者間末梢血幹細胞移植への可能性 第 39 回日本臨床血液学会シンポジウム 臨床血液 38(10), 1997
- 7) 竹中克斗、原田実根 : 同種末梢血幹細胞移植の現状と問題点 第 40 回日本臨床血液学会シンポジウム 臨床血液 39(10), 1998
- 8) 加藤俊一 : シンポジウム「非血縁者間造血幹細胞移植の現況と問題点・臍帯血移植において予想される問題点」 日本臨床血液学会 東京 1997. 11
- 9) 西平浩一 : 臍帯血バンクを利用した 非血縁者間臍帯血移植とバンクの全国ネットワークに向けて 第 40 回日本小児血液学会 広島 1998. 9. 8
- 10) 甲斐俊朗、原 宏 : 臍帯血バンクの現状と未来像 シンポジウム「臍帯血移植の実現と成功を目指して — 基礎から非血縁者間移植まで—」 第 46 回日本輸血学会総会 京都 1998. 5
- 11) 中畑龍俊 : 教育講演 造血幹細胞移植

の将来展望 第 18 回日本アフェレシス学会
 学術大会 東京 1998

G. 知的所有権の取得状況 :

1. 特許取得
特になし
2. 実用新案登録
特になし
3. その他
特になし