

1) 平成10年度
第二回 厚生省厚生科学研究 感覚障害及び免疫・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」研究会

【 タイトル(1.7日) 】

1. 平成9年度報告ならびに平成10年度研究打合せ

1) 平成10年度研究計画 ……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 東京大学医学部 病態薬理学研究所

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状 ……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凍解凍解の成績 ……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
磯山原一 昭和大学鶴が丘病院 小児科

9) 東海臍帯血バンクの現状 ……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) 臍帯血データ管理部の現状 ……221
加藤 進 小澤和郎 愛知県血液センター

13) 近畿者登録事務局からの報告 ……222
小寺良尚

4) 幹細胞増殖

14) マウス胎児AGMストローマ細胞株を用いた造血幹細胞のex vivo増殖 ……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を介した異人間骨髄移植の現状 ……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 ……221
橋本明子 三谷史生

17) 米岡、台湾、韓国、海外骨髄バンクとのコーディネーター状況 ……225
小寺良尚

【 タイトル(1.8日) 】

1. 平成9年度報告ならびに平成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) URBMT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I DNA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HLA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 赤坂達也 十字猛夫 日本赤十字社中央血液センター

2) 平成10年度
第二回 厚生省厚生科学研究 感覚障害及び免疫・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」研究会
平成11年2月6日(土) 午前10時～午後2時

【 タイトル 】

■ 分科研究者報告

1 造血細胞移植の現状と将来展望 ……219
小寺良尚 名古屋第一赤十字病院 骨髄移植センター

2 病「日本骨髄バンク患者さん相談窓口」(Patient Advocacy)の
現状と将来の課題 ……221
橋本明子 研究班「日本骨髄バンク患者さん相談窓口」

3 HLA-DNAタイピングに関するシリアルとの共同研究 ……222
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 HLA-DNA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 HLA-DQ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 ABO minor mismatch の移植後、Transferase を産生した症例の検討 ……248
-c GVHD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、HLA適合度とGVHD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」の現状 ……257
加藤 進 研究班「臍帯血バンク事務局」

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 PBCT)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 増殖に関する研究 ……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 ……266
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状 ……266
岡本真一郎 池田康夫 慶應義塾大学医学部 血液内科

平成 10 年 7 月 17 日

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
研究計画

主任研究者 小寺良尚

テーマー 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向上に関する研究。

- 1) 現在健康保険が適用されている各種造血細胞移植（同種血縁骨髄、非血縁骨髄、自家骨髄、自家末梢血、臍帯血）の需要と供給の現状把握と非血縁骨髄ドナープール、非血縁臍帯血バンクの適正なサイズの予測。
- 2) 供給率向上に必用な要因の整理と実践（非血縁者間骨髄移植におけるコーディネート期間の短縮、臍帯血移植における保存数の迅速な拡大等）。
- 3) 成績向上に必用な要因の整理と実践（FK-506 の GVHD に対する予防的使用等）。
- 4) Patient Advocacy の充実化。

1-2 異人種間骨髄移植の整備と成績向上に関する研究。

- 1) NMDP、台湾骨髄バンクを介した非血縁者間骨髄移植の推進と成績の評価。
- 2) 韓国骨髄バンクとの提携。
- 3) その他の海外骨髄バンクを介した移植の実践と成績並びに費用対効果の評価。

テーマー 2. 移植抗原群の DNA タイピングと免疫応答。

2-1 HLA の DNA タイピングの普及に関する研究。

- 1) HLA-B 座抗原の DNA レベルにおける異同と移植成績との相関の解析。
- 2) HLA 血清学の一部不適合非血縁者間骨髄移植の開始に伴う HLA-DNA タイピングの位置づけの確立。

2-2 HLA 抗原以外のヒトアロ抗原に関する研究。

血小板抗原、顆粒球抗原などの移植成績への、関与の有無の確定。

2-3 移植抗原と GVHD、GVL に関する研究。

HLA-C 座抗原と移植後白血病再発との相関の証明。

テーマー 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。

- 1) 臍帯血移植症例の全国登録システムの確立。
- 2) 非血縁者間臍帯血移植の成績向上に関わる要因の検討（移植細胞数、GVHD 予防法等）。

3-2 臍帯血バンクの整備に関する研究。

地域臍帯血バンクネットワークの運営。

3-3 臍帯血移植における HLA 適合性に関する研究。

- 1) 日本人間の非血縁者間臍帯血移植における HLA 不適合許容範囲の確定。
- 2) 不適合部分の抗原と移植成績との相関の検討。

3-4 造血幹細胞の *ex vivo* 増幅に関する研究。

Ex vivo で造血前駆細胞を増幅した臍帯血を用いた移植の実施。

テーマー 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。

末梢血幹細胞動員におけるドナーの負担の更なる軽減に関わる要因の検討と健常人における G-CSF の薬効の確立。

4-2 同種末梢血幹細胞移植に関する臨床的研究。

移植例の長期観察、骨髄移植例との比較。

同種末梢血幹細胞移植 (allo-PBSCT or allo-PBPCT) の現状分析

岡山大学医学部第2内科
 原田実根

1. わが国の成績 (表1)

単一施設 (岡山大学第2内科)、多施設共同研究 (JBCTSG)、全国集計 (小寺班) による allo-PBSCT の成績から、1) 移植 CD34 陽性細胞数はかなりバラツキがみられるが、 $2.5 \times 10^6/\text{kg}$ 未満でも生着は得られている、2) 好中球および血小板の回復は速やかである、3) 急性 GVHD (grade II-IV) は allo-BMT に比べて増加傾向を示す、4) 慢性 GVHD は allo-BMT に比べて明らかに増加する、などの点が明らかになった。

2. 欧米の成績との比較 (表2)

欧米の主要な成績においても、1) 速やかな造血回復、2) 慢性 GVHD の増加が観察されているが、allo-BMT に比較して急性 GVHD (grade II-IV) の明らかな増加は認められていない。

3. A randomized multicenter trial of allo-PBPCT vs allo-BMT by the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) (表3)

Allo-PBSCT と allo-BMT は、1) 造血回復、2) TRM、3) 急性 GVHD、4) LFS とともに明らかな差はみられなかった。また、慢性 GVHD は、評価可能症例が少ないが、差はないようである。

(Bone Marrow Transplant 21:995-1003, 1998)

4. Allo-PBPCT vs allo-BMT ; A retrospective joint analysis of IBMTR and EBMT (表4)

Allo-PBPCT は、allo-BMT に比べて、1) 好中球および血小板の回復が有意に早く、2) 生存率も有意に高かった。一方、急性および慢性 GVHD は両群で差を認めなかった。

(Bone Marrow Transplant 21(Suppl.1):S43, 1998)

表1 わが国における allo-PBSCT の成績

	Okayama University (n=11)	Japan Blood Cell Transplant Study Group (n=26)	Nationwide Survey 97 (n=103)
No. of CD34+ cells Transplanted ($10^6/\text{kg}$)	6.4 (2.2-19.7)	7.3 (2.4-26.5)	5.3 (1.0-30.4)
Engraftment (days)			
ANC > 500/ μl	10.5 (9-18)	12.5 (9-20)	13 (8-49)
Platelets > 20,000/ μl	14 (13-25)	13 (9-27)	13 (7-40)
Acute GVHD			
Grade II-IV	3/8 (38%)	9/25 (36%)	33/84 (39%)
Grade III-IV	1/8 (13%)	2/25 (8%)	13/84 (16%)
Chronic GVHD			
Limited	0/7 (0%)	3/25 (12%)	10/64 (16%)
Extensive	3/7 (43%)	12/25 (64%)	32/64 (51%)
Total	3/7 (43%)	15/25 (76%)	42/64 (67%)

表2 欧米におけるallo-PBPCTの成績との比較

Authors	n	ANC >500/ μ l (days)	Platelets >20,000/ μ l (days)	Acute GVHD		Chronic GVHD
				II-IV	III-IV	
Bensinger et al 1996	37	14	11	37%	14%	87%
Bacigalupo et al 1996	31	14	14	55%	13%	79%
Schmitz et al 1997	59	15	16	51%	24%	55%
Milfin et al 1997	43	14	14	30%	16%	47%
JBCTSG 1997	22	12	13	29%	5%	75%
Japanese survey 1997	103	13	13	37%	15%	68%

表3 Allo-BMT vs Allo-PBSCT : A Randomized Multicenter Trial (EBMT)

	Allo-BMT (n=33)	Allo-PBSCT (n=33)
CD34-positive cells transplanted($\times 10^6$ /kg)	4.0 (0.4-24.8)	6.7 (1.5-13.2)
Days to ANC >500/ μ l	15 (15-16)	14 (12-15)
Days to platelets >20,000/ μ l	19 (16-25)	15 (13-16)
Days to platelets >50,000/ μ l	25 (23-29)	21 (18-25)
Acute GVHD (grade II-IV)	16/33 (48%)	18/33 (55%)
Acute GVHD (grade III-IV)	6/33 (18%)	7/33 (21%)
Chronic GVHD	2/ 6 (33%)	3/ 6 (50%)
TRM until day 100	2/33 (6%)	4/33 (12%)

(Schmitz et al, 1998)

表4 Allo-BMT vs Allo-PBPCT : A Retrospective Joint Analysis of IBMTR and EBMT

- Acute leukemia (CR1, CR2) and CML (CP, AP) transplanted from an HLA-identical sibling donor. Patients > 20 yrs of age. 260 allo-PBPCT vs 196 allo-BMT patients.
- ANC recovery (> 500/ μ l) significantly faster after allo-PBPCT ($p=0.0001$)
- Platelet recovery (> 20,000/ μ l) significantly faster after allo-PBPCT ($p=0.0001$)
- Acute GVHD (grade II-IV) and chronic GVHD did not show significant differences between both groups of patients ($p=0.69$ and $p=0.5$, respectively)
- The probability of survival after allo-PBPCT was significantly better than after allo-BMT ($p=0.03$)

(Schmitz et al, 1998)

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
主任研究者 小寺 良尚

平成10年度 第一回班会議資料

白血病・リンパ腫への遺伝子治療を目的とした
基礎的研究

東京大学医科学研究所病態薬理・内科

班員：浅野 茂隆

協力者：谷 憲三朗、渡 潔、高橋 聡、東條 有伸、

A. 研究目的

化学療法ならびに骨髄移植療法の進歩に伴い、白血病患者の予後に著しい改善が認められてきてはいるものの、再発性白血病により依然多くの患者が死亡していることも事実である。現在これらの難治性血液疾患に対しては有効な治療法は確立していない。われわれはこれまで、GM-CSF、B7-1 ならびに IL-12 遺伝子導入マウス白血病ならびにリンパ腫細胞の *in vivo* での抗腫瘍免疫誘導効果をマウスを用いて検討してきた。さらにこれらの難治性疾患に対する免疫遺伝子治療臨床プロトコルの作製を目的に患者各種白血病細胞への遺伝子導入を各種ウイルスベクターを用いて行ってきた。

B. 研究方法並びに研究結果

1) 免疫遺伝子治療の基礎研究としての GM-CSF、B7-1 ならびに IL-12 遺伝子導入マウス胸腺リンパ腫細胞のもつ *in vivo* 抗腫瘍免疫誘導の検討：EL-4 胸腺リンパ腫細胞(ならびに一部の検討では WEHI3B 骨髄性白血病細胞)を主たる対象腫瘍細胞とし、レトロウイルスベクターを用いて mB7-1, mGM-CSF もしくは mL-12 遺伝子を導入後、各遺伝子の高産生クローン (EL-4/B7-1, EL-4/GM-CSF もしくは EL-4/IL-12) を得た。同系マウスである C57BL/6 にこれらの細胞を移植したところ、その造腫瘍能は遺伝子未導入細胞に比べて低下した。特にこれは EL-4/IL-12 細胞接種マウス群において著明であり、同腫瘍を拒絶したマウスにおいての免疫学的記憶も誘導されていた。また生体内リンパ球除去結果より、EL-4/IL-12 の造腫瘍能低下には NK、CD4+T 及び CD8+T 細胞の関与が示唆された。つぎに放射線照射 EL-4/mB7-1 もしくは EL-4/mGM-CSF 細胞のもつワクチン作用を検討した。まず、これらの細胞を同系マウス皮内に接種後、遺伝子未導入(野性型)EL-4 細胞を接種し、その造腫瘍抑制効果を検討した。さらにこれら2種の細胞の組み合わせ効果についても同様の検討を行った。この結果、放射線照射 mGM-CSF/EL-4 細胞のワクチン効果を認めるとともに、EL-4/mB7-1 との相加効果も認めた(図1)。一方、野性型 EL-4 細胞を先ず接種後に遺伝子導入細胞を接種し、抗腫瘍効果を検討するいわゆる治療モデル系では、放射線照射 EL-4/mB7-1 もしくは EL-4/mGM-CSF 細胞の抗腫瘍効果は検出できなかった。これは放射線照射により、EL-4 細胞からの mB7-1 もしくは mGM-CSF の産生量が低いことによる原因が考えられ、放射線照射をしない遺伝子導入 EL-4 細胞接種の効果を検討した。この結果 EL-4/IL-12 細胞、EL-4/B7-1 細胞、EL-4/GM-CSF の順に抗腫瘍活性を認め、前2者には相加効果が認められた(図2)。

2) 血液悪性腫瘍に対する免疫遺伝子治療にむけてのヒト初代白血病細胞へのマーカー遺伝子導入効率化の検討：白血病症例 (AML、ALL) の骨髓あるいは末梢血より白血病細胞を分離し、FACS 解析にて、B7-1 遺伝子等の発現の有無を検討した。引き続き、各種サイトカインによる白血病細胞の増幅を ³H thymidine uptake 法により検討し、増幅に最適なサイトカイン組み合わせ法を決定した。その後白血病細胞へのアデノウイルスベクター (AxnLacZ) およびレトロウイルスベクター (MFG-LacZ) による遺伝子導入を行った。アデノウイルスベクターによる遺伝子導入は MOI=200 で2時間行った。レトロウイルスベクターによる遺伝子導入は、48時間、サイトカインで刺激した後、サイトカイン存在下、48-72時間、ウイルス産生細胞との共培養を行うことで行った。その後 FACS 解析にて、導入効率を検討した。B7-1 遺伝子の発現は AML、ALL それぞれ1例ずつに認められたが、多くの症例ではその発現を認めなかった。AML では IL-3、GM-CSF、G-CSF に反応して増殖する症例が多く認められた。一方 ALL ではサイトカインの存在は一部の白血病細胞の生存維持に必要ではあったが、それによる増殖促進は殆ど認められなかった(図3)。遺伝子導入はアデノウイルスベクター、レトロウイルスベクターのいずれによっても可能であったが、レトロウイルスベクターによる導入効率の方が平均的に高率であった(図4)。

C. 考察

以上の結果から、まずマウス EL-4 胸腺リンパ腫細胞 *in vivo* 増殖に対する GM-CSF、B7-1 ならびに IL-12 遺伝子導入 EL-4 細胞のワクチン効果が示された。さらに、IL-12 もしくは B7-1 遺伝子導入 EL-4 細胞接種の EL-4 細胞増殖に対する治療効果も示され、これらを同時接種することで相加的効果も認められた。この様な治療系は難治性血液悪性腫瘍に対する新たな免疫治療法として、今後さらに検討を加えていく価値があるものと考えられた。次に患者初代白血病細胞を用いた検討結果から、これらの初代白血病細胞にもウイルスベクターで遺伝子導入が可能であり、ヒト白血病の治療法として B7-1 や IL-12 などの遺伝子を導入した白血病細胞ワクチン療法が、十分応用

可能であることが示唆された。

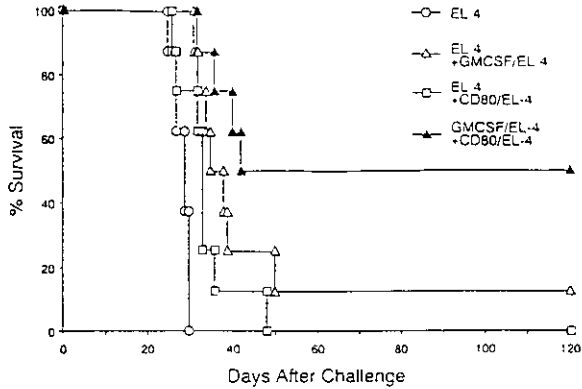


図1 EL-4 腫瘍形成に対する放射線照射 EL-4/B7-1 と EL-4/GM-CSF 細胞の相加的抗腫瘍効果

Patient Characterization

Patients	CAB subtype	B7 Expression	
		B7.1	B7.2
1 TY	AML-M5	-	+
2 NM	AML-M2	-	-
3 YT	AML-M2	+	-
4 HA	AML-M1	-	-
5 NS	ALL-L2	-	-
6 TS	ALL-L2	-	-
7 EI	ALL-L1	-	-

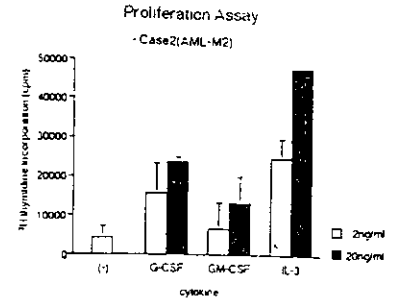


図3 患者白血病細胞における B7-1, B7-2 遺伝子の発現とサイトカイン反応性

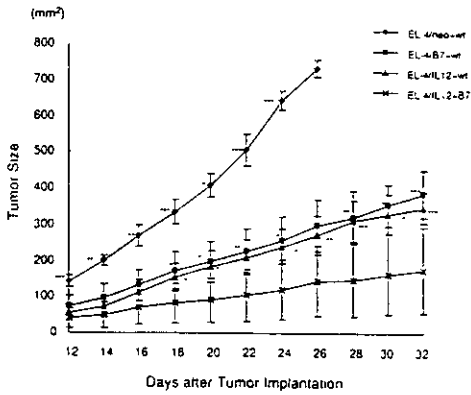


図2 EL-4 腫瘍形成に対する EL-4/B7-1 と EL-4/IL-12 細胞の相加的抗腫瘍効果

Transduction Efficiency into Primary Leukemia Cells

Patient	Stimulation	Transduction Efficiency (%)	
		Retrovirus*	Adenovirus**
1 TY	GM-CSF	24.0	42.5
2 NM	IL-3	99.0	5.2
3 TY	GM-CSF	99.5	9.2
4 HA	IL-3	99.0	66.0
5 NS	G-CSF	79.1	8.6
6 TS	IL-7	99.0	57.9
7 EI	IL-7	85.6	42.5

* Cocultivation with virus producer cells for 48hrs
** MOI=200

FACS Analysis of β -Galactosidase Expression

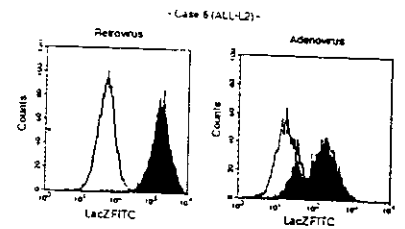


図4 患者白血病細胞へのレトロウイルスもしくはアデノウイルスベクターを用いた LacZ 遺伝子導入効率の検討

参考 1) Nakazaki, Y., Tani, K., Lin, Z-T, Sumimoto, H., Hibino, H., Tanabe, T., Wu, M-S., Izawa, K., Takahashi, S.,

Hase, H., Tojo, A., Azuma, M., Hamada, H., Mori, S and Asano, S. Vaccine effect of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor or CD80 gene-transduced murine leukemia/lymphoma cells and their cooperative enhancement of antitumor immunity Gene Therapy 1998 (in press).

2) Sumimoto, H., Tani, K., Asano, S et al., The efficacy and safety of IL-12 gene-transduced lymphoma cells as therapeutic vaccines compared with B7-1 or GM-CSF transfectants or recombinant IL-12 administration. (Submitted)

表 1. わが国における臍帯血移植実施例
1998年 7月 1日現在

	移 植 患 者				臍帯血ドナー		移 植 日	移 植 施 設
	症 例	年 齢	体 重 (kg)	疾 患・病 期	関 係	H L A		
1	S・H	5	15.6	AML、再発時	弟	一致	94.10.19.	東海大学
2	N・K	1	7.7	I-cell病	妹	一致	94.11.15.	名古屋一日赤
3	M・K	4	12.0	先天性赤芽球癆	妹	一致	95.06.22.	三重大学
4	I・K	3	15.0	APL、再発時	妹	一致	95.07.06.	神奈川こども
5	Y・H	2	13.0	ALL、2寛解	妹	一致	95.07.24.	徳島大学
6	K・N	1	8.6	AMoL初寛解	妹	1不一致	95.09.12.	大阪市立総合
7	H・Y	5	14.0	先天性赤芽球癆	弟	一致	95.11.14.	東海大学
8	M・K	4	16.0	再生不良性貧血	弟	一致	95.12.12.	国立岡山
9	A・M	2	11.3	ALL、再発時	妹	3不一致	96.02.16.	大阪母子総合
10	Y・H	1	10.0	神経芽腫、再発	弟	一致	96.06.10.	神奈川こども
11	H・Y	5	13.5	先天性赤芽球癆	弟	一致	96.06.27.	慶応大学
12	T・S	5	19.0	Fanconi貧血	妹	一致	96.07.29.	東海大学
13	A・M	1	10.0	ALL、1寛解	弟	2不一致	96.07.29.	神奈川こども
14	M・Y	1	10.0	ALL、1寛解	弟	一致	96.08.12.	山梨医科大学
15	T・H	5	15.5	Hurler-Scheie	妹	一致	96.09.02.	大阪大学
16	M・K	5	16.5	副腎肉腫	弟	一致	96.10.04.	東海大学
17	J・N	5	20.0	ALL、再発時	妹	3不一致	96.10.30.	千葉こども
18	H・M	2	10.0	ALL、1寛解	妹	一致	97.01.23.	大阪市立総合
19	M・S	1	8.0	AML、再発時	非血縁	1不一致	97.02.28.	横浜市立大学
20	S・I	10	26.0	AML、2寛解	従妹	2不一致	97.04.10.	国立がんセンター
21	N・S	3	13.0	AML、1寛解	弟	一致	97.05.23.	九州大学
22	K・R	2	13.0	ハーラー病	非血縁	1不一致	97.07.28.	東海大学
23	Y・R	0	6.8	ALL、再発	非血縁	1不一致	97.08.02.	昭和大藤が丘
24	A・N	2	12.2	AML、1寛解	非血縁	1不一致	97.08.12.	横浜市立大学
25	M・U	12	37.0	ALL、1寛解	非血縁	1不一致	97.08.15.	横浜市立大学
26	K・F	4	15.0	PNP欠損症	非血縁	一致	97.08.18.	慶応大学
27	Y・S	3	17.2	FEL、2寛解	非血縁	一致	97.09.04.	大阪市立総合
28	I・K	10	30.0	副腎肉腫	非血縁	1不一致	97.09.24.	三重大学
29	M・T	3	14.0	ALL、再発時	非血縁	1不一致	97.10.08.	名古屋一日赤
30	S・T	5	18.0	MDS, RA	非血縁	1不一致	97.10.29.	九州がんセンター
31	Y・F	11	48.0	MDS, RAEB-t	非血縁	1不一致	97.11.19.	三重大学
32	I・H	2	8.3	ALL、2寛解	非血縁	1不一致	97.11.26.	名古屋一日赤
33	M・Y	6	17.0	ALL、3寛解	非血縁	1不一致	97.11.27.	国立がんセンター
34	R・I	2	11.0	神経芽細胞腫	同胞	3不一致	98.01.29.	大阪母子総合
35	M・U	1	11.4	AML、部分寛	弟	2不一致	98.01.31.	東海大学
36	K・M	8/12	6.5	ALL、再発	非血縁	1不一致	98.02.02.	大阪市立総合
37	Y・K	1	10.0	FEL	非血縁	1不一致	98.03.12.	大阪市立総合
38	R・K	7	19.4	JCMF 非寛解	非血縁	1不一致	98.03.17.	東海大学
39	A・S	3	12.6	AML、1寛解	非血縁	1不一致	98.03.18.	名古屋2日赤
40	S・T	19	65.0	T-LLS、非寛解	非血縁	2不一致	98.03.26.	大阪大学
41	A・Y	6/12	7.0	ハーラー病	非血縁	1不一致	98.04.01.	(神奈川)
42	H・S	8	25.0	ALL、3寛解	非血縁	1不一致	98.04.02.	(神奈川)
43	K・K	10	40.0	ALL、2寛解	非血縁	1不一致	98.04.13.	(東海)
44	O・Y	1	9.0	ALL、1寛解	非血縁	1不一致	98.05.18.	(神奈川)
45	A・H	14	31.0	AML、再発	非血縁	1不一致	98.05.21.	(東海)
46	Y・M	9	27.0	ALL、4寛解	非血縁	1不一致	98.05.28.	(神奈川)
47	O・S	5	20.0	ハンター病	非血縁	1不一致	98.05.30.	(神奈川)
48	M・M	2	12.0	ALL、3寛解	非血縁	1不一致	98.06.01.	(神奈川)
49	H・T	8	29.0	AMT (再不貧)	非血縁	1不一致	98.06.01.	(近畿)

表 2 . 臍帯血採取 (採取量、細胞数)
1998年 7月 1日現在

	出生 体重 g	容量 ml	細胞分離 の有無と 分離方法	有核細胞数			CD34+細胞数			CFU-GM数		
				採取時 x10 ⁷	分離後 x10 ⁷	移 植 x10 ⁷	採取時 x10 ⁵	分離後 x10 ⁵	移 植 x10 ⁵	採取時 x10 ³	分離後 x10 ³	移 植 x10 ³
1	2440	141	Ficoll	NT	101.0	36.7	NT	40.4	19.2	NT	1210	563
2	2984	50	Gelatin	146.0	69.0	42.2	NT	NT	NT	NT		43
3	2480	70	Gelatin	53.0	51.0	46.0	NT	117.0	106.0	NT	790	712
4	2800	100	HES	NT	38.0	33.0	NT	NT	NT	NT	215	90
5	2600	80	Percoll	NT	9.8	9.9	NT	NT	9.5	NT	330	99
6	2925	75	あり	91.0	21.0	18.1	NT	6.3	NT	NT	NT	NT
7	3665	90	Ficoll	NT	64.0	60.0	NT	41.0	NT	NT	280	240
8	2800	44	Percoll	NT	20.0	14.0	NT	6.0	4.2	NT	4000	2800
		30	なし	120.0		120.0	552.0		552.0	6600		6600
9	3200	60	Ficoll	82.0	27.0	(27.0)	NT	5.4	(5.4)	NT	NT	NT
10			なし	27.0		19.0	NT	NT	NT	7.3		3.8
11	3006	110	Ficoll	74.0	18.0	12.8	96.5	66.7	56.2	NT	536	378
12	2870	105	Ficoll	197.0	37.5	36.0	NT	30.0	NT	NT	289	210
13			HES	60.0	50.0	43.0	NT	NT	NT	NT	90	21
14	3000	120	HES	NT	42.0	(42.0)	NT	NT	NT	NT	315	(315)
15	3038	137	Dextran	NT	60.0	(60.0)	NT	56.0	(56.0)	NT	186	(186)
16	3450	50	分離なし	75.0	—	47.6	22.0	NT	NT	200	NT	295
17	3307	80	HES	130.0	99.0	(99.0)	NT	NT		NT	NT	NT
18	3130	98	Dextran	120.0	NT	20.0	240.0	NT	60.0	NT	NT	NT
19	2870	50	HES	NT	18.0	(18.0)	NT	NT	NT	NT	80	(80)
20		94	HES	NT	93.7	90.2	NT	60.6	58.2	NT	116	112
21	3360	121	HES	89.0	61.0	62.4	NT	42.0	41.6	NT	91	92
22	2895	61	HES	47.0	41.5	30.0	NT	2.5	NT	NT	79	42
23	3146	40	HES	15.1	13.0	(13.0)	NT	1.46	(1.46)	NT	182	(182)
24	2766	50	HES	NT	24.7	(24.7)	NT	NT	NT	NT	660	(660)
25	3656	80	HES	NT	98.0	(98.0)	NT	NT	NT	NT	2200	(2200)
26	2576	50	Ficoll	NT	8.7	(8.7)	NT	NT	NT	NT	38	(38)
27	2922	87	HES	130.0	117.0	(117)	NT	23.4	(23.4)	NT	598	(598)
28	ND	ND	HES	NT	71.4	(71.4)	NT			NT		
29	2530	60	HES	92.3	57.5	41.9	NT	NT	8.38	NT	247	168
30	ND	70	ND	NT	50.9	(50.9)	NT	16.4	(16.4)	NT	1010	(1010)
31	ND	ND	HES	NT	97.1	(97.1)	NT	130.0	(130.0)	NT	1230	(1230)
32	3230	100	HES	138.6	83.5	88.8	NT	NT	97.7	NT	994	
33	3300	80	HES	NT	38.0	(34.9)	NT	NT	NT	NT	920	850
34			HES	80.0	73.7	(73.7)	NT	73.7	(73.7)	NT	58.3	(58.3)
35	3005	76	HES	NT	90.6	84.4	NT	NT	22.8	NT	NT	431.0
36	2494	52	HES	NT	NT	48.9	NT	NT	18.9	NT	NT	299.9
37	3068	59	HES	105	NT	100.0	30.5	NT	30.5	1218	NT	1210.0
38	3730	52	HES	62.7	52.7	60.0	NT	NT	15.6	NT	NT	324
39			HES	82	NT	75.0	NT	NT	5.6	NT	NT	915
40	2988	75	HES	NT	137.0	100.0	NT	398.0	200.0	NT	878	354
41												
42												
43												
44												
45												
46												
47												
48												

表3. 移植細胞数と生着、GVH病
1998年 7月 1日現在

	移植細胞数 (/kg)			生 着 日				GVH病		原病再発	転 帰	死 因	
	単核 x10 ⁷	CD34 x10 ⁵	CFU x10 ³	好中球 >500	網赤血 >20%	血 小 板 >2万>5万		急性	慢性				
1	2.45	1.23	36.1	20	28	63	91	0	-	+3ヵ月	死亡8ヵ月	白血病再発	
2	5.48	NT	5.6	20	41	NA	NA	0	NE	NE	死亡57日	肺炎 MRSA	
3	3.8	8.70	59.4	29	46	72	96	0	-	-	生存36ヵ月		
4	2.2	NT	90.0	22	30	32	45	I	-	-	生存35ヵ月		
5	0.83	0.73	8.3	17	22	39	46	0	-	-	生存35ヵ月		
6	2.1			13			43	II	-	-	生存33ヵ月		
7	4.14		17.1	17	28	57	70	I	-	-	生存31ヵ月		
8	0.9	0.26	175	17	24	22	22	0	-	-	生存30ヵ月		
(BM	7.5	34.5	412)										
9	2.4	0.48	NT	17	34	47	54	III	+	-	生存28ヵ月		
10	1.9	NT	0.38	22	67		67	I	-	+3ヵ月	死亡5ヵ月	再発	
11	0.91	4.0	28.0	13	18	9	21	0	-	-	生存24ヵ月		
12	2.07	1.66	11.1	14	30	33	38	I	-	-	生存23ヵ月		
13	2.88	NT	17.9	22	41		79	III	+	-	死亡5ヵ月	CMV感染症	
14	4.2	NT	31.5	19	29	36	42	0	-	-	生存22ヵ月		
15	3.87	3.6	12.0	-	-	-	-	NE	NE	拒絶/BMT	生存15ヵ月		
16	2.88	NT	17.9	16	25	28	32	0	-	-	生存20ヵ月		
17	5.0			26	36	47	59	II	+	-	生存20ヵ月		
18	2.0	6.0	NT	16	29		43	I	-	-	生存17ヵ月		
19	2.25	NT	10.0	25				0	NE	+1ヵ月	死亡3ヵ月	再発	
20	3.47	2.24	4.3	36	55	40	60	I	-	+8ヵ月	生存14ヵ月		
21	4.8	3.2	7.1	27	38		60	II	-	-	生存13ヵ月		
22	2.3	0.19	3.2	(27)	(42)			0	NE	拒絶	死亡10ヵ月	拒絶, 感染	
23	1.9	0.21	26.7	-	-	-	-	0	NE	+1ヵ月	死亡7ヵ月	再発	
24	2.0	NT	54.1	28	36	64	84	0	-	-	生存10ヵ月		
25	2.65	NT	59.5	24	32	68	94	I	-	-	生存10ヵ月		
26	0.58	NT	2.5	34		NA	NA	III	NE	-	死亡3ヵ月	呼吸不全	
27	6.8	1.36	34.7	19	32		40	I	-	-	生存9ヵ月		
28	2.3	NT	16.7	21	35	39	44	III	NE	-	死亡76日	VOD	
29	3.0	0.60	12.0	27	NA	NA	NA	0	NE	+14日	死亡3ヵ月	再発	
30	2.8	0.9	56.0	49	47	NA	100	0	-	-	生存8ヵ月		
31	2.02	2.71	25.6					0	NE	-	死亡19日	真菌敗血症	
32	10.4	11.8		18	29	57	57	0	NE	-	死亡2ヵ月	?	
33	2.05	NT	50.0	25		40	NA	I	-	-	生存7ヵ月		
34	6.7	6.7	5.3	36	84	110	NA	0		+100日	生存5ヵ月		
35	7.4	2.0	37.8	17	NA	NA	NA	NE	NE	-	死亡17日	ARDS, IP?	
36	7.5	2.9	46.0	27	32	52	52	II	NE	-	生存4ヵ月		
37	10.0	3.05	121	15	23		33	I	-	-	生存3ヵ月		
38	3.09	0.8	16.7	45	43	102	NA	IV	+	-	生存3ヵ月		
39	5.9	0.45	72	31	NA	NA	NA	0	NE	-	死亡45日	間質性肺炎	
40	1.54	2.9	5.4	21	35	NA	NA	III	-	-	生存3ヵ月		
41													
42													
43													
44													
45													
46													
47													
48													

1. 神奈川臍帯血バンクにおける臍帯血移植実施症例

[神奈川臍帯血バンクの組織と非血縁者間臍帯血移植の方法] 神奈川臍帯血バンク参加施設:神奈川県立こども医療センター、横浜市立大学、横浜市立愛児センター、昭和大藤が丘病院、神奈川赤十字血液センターなどを中心とした任意団体で、非血縁者間でも臍帯血移植が可能になっている。現在、神奈川臍帯血バンク参加施設その他から決められた手順で移植に係わる書類を提出していただき、HLA検索で適合臍帯血があれば移植審議委員会で検討し、各施設の倫理委員会の承認を得て移植を実施している。

[結果] 神奈川臍帯血バンクにおける非血縁者間 臍帯血移植症例(平成10年6月)

神奈川臍帯血バンクで臍帯血幹細胞移植を目的に保存している臍帯血の件数は平成10年5月現在、約500件である。HLAの移植適合は1座不一致までとした。平成10年5月現在、HLA検索依頼のあった患者150例中40例が適合しており、26%の割合で移植適合臍帯血があり、きわめて高率に適合している。平成9年2月から神奈川臍帯血バンクを利用した移植を開始し、1998年5月までに15例に実施された。移植実施症例は神奈川臍帯血バンク参加施設のみでなく、その他の関東や広島、福岡などの遠隔地へも臍帯血を搬送し、移植が実施された。臍帯血の搬送は液体窒素(-196℃)の容器を使用した。

移植症例の疾患名、年齢、体重、移植前の状態は下記の通りである。疾患、例数は急性白血病 11例、骨髄異形成症候群(MDS) 1例、先天性免疫不全症(PNP) 1例、先天代謝異常症 2例。年齢は7カ月から12歳(中央値4歳5カ月)、体重は7kgから36kg(中央値16kg)、寛解導入不能例、非血縁者間骨髄移植後の再発、第2-4寛解期間など条件の悪い症例が大部分であった。患者と移植臍帯血のHLAの適合度は遺伝子型で完全一致は1例のみで、その他の症例は1座不一致13例、2座不一致1例であった。

急性GVHDの出現は3度以上は1例で、その他は0度または1度であった。すなわち、HLAは1例以外は不一致例であったにも拘わらず重度のGVHDは1例のみであった。

移植有核細胞数は全例 2×10^7 /kg以上であった(1例はmononuclear cellsのため 6×10^6 /kg)生着日(好中球 $500/\mu$ 以上)は18-49日であった。1例は生着しなかった。

[考察] 神奈川臍帯血バンクでは1997年2月、横浜市立大学病院小児科で実施されたのを最初に、その後1998年5月に15例に実施された。疾患の種類は急性白血病が大部分でその他、MDS、先天性免疫不全および先天代謝異常症であった。HLAは1例を除いて不一致であったが、GVHDは極めて少なく発症例でも軽度であった。重症GVHDが少ない理由は明らかでないが、リンパ球の機能の未熟性にあることが考えられる。移植された有核細胞数は 2×10^7 /kgで15例中14例に生着が得られた。すなわち、骨髄移植の10分の1以下で造血能が再生することが確認された。

2. 臍帯血バンクの整備についての検討

国内での臍帯血バンクは神奈川臍帯血バンク、東海臍帯血バンク、近畿臍帯血バンク、東海大学院内臍帯血バンク、東京臍帯血バンク、北海道臍帯血バンクなど9カ所に設立されている。さらに、北部九州、中国・四国にも設立準備会が発足した。国内の臍帯血バンクはいずれも研究段階の小規模な組織であり、さらに各バンクの採取、処理保存方法もさまざまである。臍帯血移植の実施に関する統一した基準書の作成が早急に必要である。現在、厚生省臍帯血移植検討会で臍帯血採取から移植に至るすべての過程に関する基準書の作成がほぼ完了している。これを利用して既存の臍帯血バンクを整備し、ネットワークを作る作業を進める予定である。

近畿臍帯血バンクの現況

班員 兵庫医科大学輸血部 原 宏

近畿臍帯血バンクは、関西医科大学臍帯血バンク・京都府立赤十字血液センター臍帯血バンク・京都府立医科大学臍帯血バンク・奈良県立医科大学臍帯血バンク・大阪大学医学部臍帯血バンクおよび兵庫医科大学臍帯血バンクのサブセンターおよび各サブセンターに属する臍帯血採取施設から構成されている。そして臍帯血バンクには、運営委員会、臍帯血バンク協議会、バンク事務局、臨床評価委員会および臍帯血採取委員会の組織がありそれぞれの機能を担っている。また、東京臍帯血バンクと提携関係にあり HLA の照合等相互に情報提供を行っている。

以下、現在近畿臍帯血バンクで行われている臍帯血の採取・処理・凍結保存と検査、臍帯血標本のバンクへの登録および患者登録・移植の現況について述べる。

1) 臍帯血の採取・処理・凍結保存と臍帯血標本のバンクへの登録

臍帯血の採取は、分娩前に説明と同意が得られている妊婦の満期産正常分娩時に行われる。臍帯切断後の、胎盤娩出前あるいは娩出後に臍帯静脈に注射針やカテーテルを挿入して ACD あるいは CPD の入ったシリンジやバッグに臍帯血を採取する。採取臍帯血量が 50ml 以上かつ臍帯血中の有核細胞数が 3×10^8 個以上含まれる標本を、『臍帯血プロセッシングと移植の適応に関する自主ガイドライン』（平成 8 年厚生科学研究浅野班）に準拠し、処理・凍結・保存する。その間、臍帯血の血液型 (ABO、RhD)・HLA 型以外に感染症と臍帯血標本の評価に関する試験を行う。また妊婦検診時に施行された感染症の検査（母体資料）と同様に、分娩時に採取された母体血でも感染症の検査が行われる（母体血で HLA 型の検査も施行する）。感染症検査で異常なく、かつ再検査用 (HLA および造血前駆細胞・CD34 陽性細胞) に 1×10^6 個/チューブの細胞が 3 本揃っている標本を臍帯血バンクに仮登録する。そして、生後 6 か月での臍帯血提供児の健康評価を行い、その健康状況調査の文書が届けられた時点で正式登録か廃棄かを決定する。仮登録される臍帯血標本はバッグ破損などに伴うウイルス感染防止のため一旦別の液体窒素のタンクへ隔離保存しておき、全ての検査が終了して『品質の保証』が確認された標本のみを臍帯血バンク標本として正式に保存する。

2) 患者登録・HLA 検索・臍帯血の搬送および解凍と移植

移植病院から臍帯血バンクに患者登録があると、組織内に設置されている臨床評価委員会（移植施設の認定や移植適応の決定・移植後の経過報告を受け適応の再評価を行う機能を持つ委員会の名称）により移植の適応が決定される。バンク事務局では臨床評価委員会から「移植適応あり」との報告を受けると、HLA 抗原 5/6 以上一致の標本で、患者体重あたり 2×10^7 個/kg 以上の有核細胞を含む標本があるかどうかを検索する。該当標本があれば HLA の再検査を行うと共に、感染症の検査が行われていなければ保存サンプルで検査を施行する。その結果は移植病院へ報告され、移植が決定すると臍帯血標本をドライシッパーに入れ、移植前処置が開始される前に移植病院に搬送する。移植病院では移植の日まで臍帯血標本を液体窒素タンクあるいは -150°C の冷凍庫で保存し、移植当日この標

本を解凍して移植に用いる。

3) 近畿臍帯血バンクにおける HLA 照合と移植

1998年6月現在、近畿臍帯血バンクに登録された78例の患者のHLA検索を行った結果(保存標本数;321標本)、HLA 6/6一致および5/6一致標本が見つかったのは3例(4%)および19例(24%)であり、その内18例(23%)に $2 \times 10^7/\text{kg}$ 以上の細胞数を含む標本が存在した(患者体重;6-36kg)。 $2 \times 10^7/\text{kg}$ 以上の細胞数のある標本が無かった患者4名の体重は22-75kg(中央値;48kg)であった。4/6一致以上までに拡大すると $2 \times 10^7/\text{kg}$ 以上の細胞を含む標本が見つかる率は68%(78例中53例)に増加し、50kg以上の体重の患者にも臍帯血標本が見つかる(図1)。

そして、本年6月現在、近畿臍帯血バンクを介した臍帯血移植は造血器悪性疾患4例(HLA一致1例、1抗原不一致2例、2抗原不一致1例)、再生不良性貧血1例に施行され全例生存(0~10カ月)している(表1)。

また、近畿臍帯血バンクではHLA 2抗原不一致臍帯血移植の臨床成績(造血回復能・生着・移植片対宿主病・生存)をHLA一致および1抗原不一致非血縁臍帯血移植例と比較検討することを目的として4/6一致非血縁臍帯血移植のプロトコルを作成し、その臨床研究をスタートさせようとしている。

表1、近畿臍帯血バンクを介した移植例(1)

No.	施設名	患者氏名	年齢	体重(kg)	診断	移植時期	移植実施日	登録~移植(月)
1	大阪市立総合	Y.S	3y4m	17	FEL	CR2	1997/9/4	3
2	大阪市立総合	KM	8m	6	ALL	CR2	1998/2/2	3
3	大阪市立総合	YK	1y7m	9	FEL	CR2	1998/3/12	10
4	阪大	ST	19y	65	T-ALL		1998/3/27	2
5	大阪市立総合	HT	8y	30	SAA		1998/6/1	10

No.	採取臍帯血(ml)	移植有核細胞数($\times 10^7/\text{kg}$)	移植CFU-GM($\times 10^5/\text{kg}$)	移植CD34+($\times 10^4/\text{kg}$)	HLA一致	AGVHD	CGVHD	survival
1	87	6.8	3.5	1.36	6/6	1S		alive
2	52	8.2	5	2.45	5/6	2SG		alive
3	59	11.7	13.5	3.39	5/6	1S		alive
4	75	2.1	1.4	0.6	4/6	3SGL		alive
5	78	3.1	1.8	0.85	5/6	rejection		alive

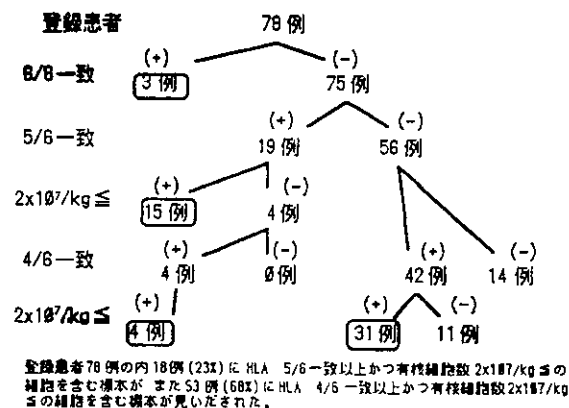


図1、登録患者のHLA検索状況(近畿臍帯血バンクHLB.6.30現在)

非血縁臍帯血移植 (UR-CBT) ; 2 抗原不一致移植のプロトコール (近畿臍帯血バンク、東京臍帯血バンク)

I. 目的

HLA 2 抗原不一致臍帯血移植の臨床成績 (造血回復能・生着・移植片対宿主病・生存) を HLA 一致および 1 抗原不一致非血縁臍帯血移植例と比較検討する。

II. 移植実施施設

近畿臍帯血バンク、東京臍帯血バンクで認定された移植実施施設であること。
移植施設内の倫理委員会の承認が得られていること。

III. ドナー選択の基準

- (1) 近畿臍帯血バンク、東京臍帯血バンクに保存されている臍帯血標本を用いる。
- (2) HLA の class I (多型性の認められる抗原) および class II 抗原の DNA typing が行われた、あるいはその為のサンプルの保存されている標本のみを用いる。
- (3) HLA class I (HLA-A,B)は血清学的検査、class II (HLA-DRB1)は DNA 検査(high resolution)で 2 抗原不一致の標本からの移植を行う。HLA-C 抗原および DQA1,DQB1,DP 抗原に関しては可能な限り検査を行って後の解析を行う。
- (4) 細胞数は、有核細胞として患者体重当たり $2 \times 10^7 / kg$ 以上を含む臍帯血標本を用いる。現在の所、CFU-GM 数、CD34 陽性細胞数は規定しない。但し、生着・造血能の回復と輸注前駆細胞数の比較検討を行うため、凍結保存前および融解後の CFU-GM 数、CD34 陽性細胞数を測定しておく。また、出来れば輸注臍帯血リンパ球サブセット (CD3, CD4, CD8, CD56, CD20)を検索しておく。

IV. 移植の適応

- (1) 2 抗原不一致移植検討会の承認を得た疾患ないし症例である*。
- (2) 利用可能な血縁者ドナー、および初回検索で JMDP のドナー候補者がいない。但し、早急に造血幹細胞移植を必要とする症例の場合はこの限りではない。
- (3) 近畿臍帯血バンクおよび本邦における他の臍帯血バンクに HLA6/6,5/6 一致の利用可能な臍帯血標本がない。

≡：

年齢： 50歳以下

疾患：

a) AML

初回再発、第2または第3寛解期

b) ALL

初回再発、第2または第3寛解期

予後不良因子かつ/または t(9;22),t(4;11)を有する小児 ALL 初回寛解期

予後不良因子を有する成人 ALL 初回寛解期

c) CML

6ヶ月間のインターフェロン療法により血液学的または細胞遺伝学的に有効

性が認められない第1慢性期または、インターフェロン療法後の再発

移行期または急性転化後の第2慢性期

若年性慢性骨髄性白血病

d) 骨髄異型性症候群

RAEB-T、RAEB、CMML

e) 重症再生不良性貧血

免疫療法(ATG, CSA, methyl-PSL bolus)やサイトカイン療法により反応の
見られない重症再生不良性貧血

f) 悪性リンパ腫

High grade NHL in good or partial response

Low grade NHL in 2nd or 3rd line therapy

g) 遺伝性疾患

免疫不全症、代謝異常症

その他；Karnofsky score 80-100%

腎・心・肺など主要臓器の障害を認めない

前処置前に重篤なコントロールできない感染症を有していない

レシピエントまたは小児の場合親権者に対し十分な説明がなされ同意

が得られていること

* ALL,AMLの寛解導入不能例、非寛解期(例；第2、3再発例)およびCML
急性転化期症例も当面は考慮する。

V. 移植前処置

移植前処置は移植施設に委ねる。

VI. 移植片対宿主病予防

以下の2法の内いづれかを選択する。但し、1)を選択した場合は前処置に抗ヒト胸腺細胞免疫グロブリン(ATG)(リンフォグロブリン;ローヌ・プーランローラー)を追加する。

ATG 10mg/kg/日 IV; day -4,-3,-2,-1 の4日間

1) CSA + sMTX + (methyl-PSL)

投与量・投与法は以下を参考にし適宜増減する。

CSA; 3mg/kg/day conti.iv day -1～ 血中濃度を調整、経口投与が可能になり次第経口投与に変更、約1年間継続投与し、CGVHDが無ければ中止

MTX; day 1,3,6 に 7.5mg/sqm を静注

(methyl-PSL; 0.5mg/kg/day day 7~13、 1.0mg/kg/day day 14~27、以後漸次減量)

2) FK-506 + MTX + (methyl-PSL)

投与量・投与法は以下を参考にし適宜増減する。

FK-506; 0.03mg/kg/day conti.iv day-1～ 血中濃度を調整、経口投与が可能になり次第経口投与に変更(点滴投与量の3倍量)、約1年間継続投与し、CGVHDが無ければ中止

MTX; day 1,3,6 に 7.5mg/sqm を静注

(methyl-PSL; 0.5mg/kg/day day 7~13、 1.0mg/kg/day day 14~27、以後漸次減量)

VII. その他の治療・支持療法

全ての症例は、移植前後の骨髄無形成の期間無菌室(LAF room)で管理する。移植後は全例 G-CSF を投与する。

単純性ヘルペスウイルス感染に対する acyclovir の予防投与、サイトメガロウイルス感染に対する ganciclovir の preemptive therapy(CMV 抗原血症、ウイルス血症を参考)は行う。

pneumocystis carinii の予防として好中球が 1000/ μ l 以上に回復すれば速やかにバクターを投与する。

腸内殺菌は、同種骨髄移植に準じて行う。その方法は移植施設に委ねる。

GVHD の治療法の選択は移植施設に委ねる。

細菌および真菌感染症に対する予防・治療は移植施設に委ねる。

VIII. 移植

移植前にドナーおよびレシピエントの細胞・DNA および血清が保存されているかどうかを確認すること。

臍帯血標本の融解は移植施設に於いて、37℃の恒温そうで行う。洗浄を行う

かどうかは移植施設が決定する。

IX. 観察項目ならびに評価の基準

1) データの収集

2 抗原不一致非血縁臍帯血移植における、生着・移植片対宿主病・生存率を評価する。

患者登録・調査用紙は移植時に近畿臍帯血バンクから移植施設の主治医に郵送する。移植施設の主治医は移植終了後1ヶ月の時点で初回の報告を行わねばならない。その後は、3、6、9、12ヶ月目、以後1年毎の報告を行うものとする。

2) 生着

— 好中球数 $500/\mu\text{L}$ が3日間連続して続いた最初の日をもって生着 (engraftment) とする。

— 移植後45日を経過しても好中球数が $500/\mu\text{L}$ くに達しないものを生着不全 (no engraftment) とする。

— 網状赤血球数 1% 、血小板数 $20000/\mu\text{L}$ 、 $50000/\mu\text{L}$ くに達した日、最終血小板輸血・赤血球輸血日を記載する。

生着は以下の検査でモニターする。

血算 (白血球分類を含む) ; 連日

輸血回数

キメリズムの検査 (性染色体、個体識別など)

骨髄穿刺

3) 免疫学的回復

免疫再構築の検査を行う。最低限、リンパ球絶対数およびリンパ球サブセット (CD3, CD4, CD8, CD56, CD20) の回復過程を記載する。

感染症の合併を記載する。

4) 毒性

移植前処置による臓器毒性 (regimen related toxicity; RRT) は、Bearmanらの基準に準じて記載する*。

肝静脈閉塞症の診断は、McDonald あるいは Jones の診断基準[@]による。

間質性肺炎、ARDS (acute respiratory distress syndrome)、HUS (hemolytic and uremic syndrome) については、胸部レントゲン撮影、酸素飽和度、動脈血酸素分圧、腎機能検査などにより注意深く観察されねばならない。

= 別紙

@ McDonald の診断基準 ; 移植後30日以内に、黄疸、肝腫大と右上腹部痛、腹水貯留の内、2つ以上の所見を認める。

Jones の診断基準 ; 移植後3週以内に 2mg/dl 以上の高ビリルビン血症の

他に肝腫大、腹水貯留、5%以上の体重増加の内、2つ以上の所見を認める。

5) 移植片対宿主病

急性移植片対宿主病の診断は、Glucksberg H[#]らの基準によって判定する。
; Transplantation 18; 295-304,1974.

X. データの解析ならびに発表

2 抗原不一致臍帯血移植検討会においてデータの収集・解析を行いその臨床データを発表する。発表前には移植施設に発表内容を報告し承諾を得るものとする。

2 抗原不一致臍帯血移植検討会委員の構成は別途定める。

厚生省科学研究「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

研究者 高橋 恒夫

共同研究者 長山 人三

佐藤 克明

演題名：臍帯血 T 細胞の機能解析

臍帯血幹細胞を用いた造血幹細胞移植は、血縁者間・非血縁者間で HLA の一致・不一致を問わず施行されているが、共通した特徴として移植片対宿主病 (GVHD) の頻度が低率であるという事である。たとえば非血縁者間の臍帯血幹細胞移植と骨髄移植を比較した場合、臍帯血移植の場合Ⅱ度以上の急性 GVHD の頻度は 33~50%、Ⅲ度以上の急性 GVHD の頻度 10~16%^{1) 2) 5)} という報告があるのに対して、NMDP での成績は急性 GVHD Ⅱ度以上 64%、Ⅲ度以上 47%、慢性 GVHD 55%³⁾ というデータがある。

これらの現象を説明する理由として、臍帯血の T 細胞が未成熟であるという推論は従来なされてきた。たとえば、T 細胞サブセットとして抗原に対する一次刺激が既に T 細胞レセプターから入っているメモリーあるいは活性化 T 細胞は CD45 分子のアイソフォームとして CD45RO を発現しているが、T 細胞レセプターの抗原特異性が刺激として細胞内に導入されていない、即ち免疫学的記憶のないナイーブ T 細胞は CD45RA を発現している。臍帯血の T 細胞は、CD45RA を発現するナイーブ T 細胞の割合が高いために GVHD の発症頻度が低いのではないかということは複数のグループから提唱されてきた^{4) 5)}。

ところで臍帯血の T 細胞には、HLA の non-inherited maternal allele に対する免疫学的寛容が成立していることが知られている⁵⁾。即ち母子間の免疫反応を防ぐために、母親と似た HLA を持つレシピエントに対しては GVHD が殆ど起こらない事実が知られている。またレクチンなどを用いて T 細胞を活性化させた場合のシグナル伝達系も成人の T 細胞とは全く異なる事実を我々は掴んでいる。

こうした事実から“未成熟”という以前に、T 細胞が抗原刺激に対して anergic になっている機序が他に存在するものと考え、我々は T 細胞レセプターと共刺激分子を介したシグナルを同時にいれることで、シグナル伝達系を成人 T 細胞と比較した。

結論として、T 細胞レセプター以下複数のリン酸化が起こっていないためであることが示唆された。詳細は現在論文投稿中のため近日中に明らかに出来るものと考えている。