

成人T細胞白血病(ATL)への同種造血幹細胞療法の検討

研究分担者 朝長万左男
長崎大学医学部原爆後障害医療研究施設
分子医療部門分子治療研究分野

A 研究目的

ATL に対する同種造血幹細胞移植療法の安全性、有効性を検討する。

B 研究方法

当科ならびに関連病院において同種造血幹細胞移植を受けた 10 例について臨床的解析を行った。

C 研究結果

1) 対象症例

対象となったのは男性 4 名、女性 6 名の合計 10 名で、年齢は 30 から 54 才。年齢中央値は 46 才であった。ATL の病型では急性型が 9 例、リンパ腫型が 1 例で、移植前の病期は完全寛解または部分寛解が 7 例（第二寛解期 2 例を含む）、化学療法に対して十分な反応を示さない状態での移植が 2 例であった。ATL から移植までの期間は 4 から 14 ヶ月であり、中央値は 6 ヶ月であった。

2) ドナー

同種造血幹細胞移植のドナーとなったのは HLA 一致同胞が 6 例、HLA 一致非血縁ドナーが 3 例、HLA 一座不一致の娘からの移植が 1 例であった。同胞ドナーのうち 2 名が HTLV-I のキャリアーであった。この 2 名に関しては、HTLV-I の単クローン性組み込みのないことが確認されている。

3) 移植前処置

5 例に対して全身放射線照射(TBI)を含む前処置が施され、残る 5 例に対してブスルファン(BU)を含む前処置が施された。TBI に追加された化学療法剤としては、シトシンアラビノシド+エトポシドが 4 例であり、シクロホスファミドが 1 例であった。BU が投与された 5 例ともシクロホスファミドが投与されていた。このうちの 1 例は局所（脾臓）への放射線照射が追加されていた。

4) 移植片対宿主病(GVHD)予防

HLA 一致同胞ドナーからの移植の場合はシクロスポリン(CyS)+短期メソトレキセート(MTX)が、その他の例にはタクロリムス(FK506)+MTX が用いられた。

5) 移植成績

移植後早期に感染症で死亡した例（全身性トリコスポロン感染症。移植後 8 日死亡）を除くと全例で生着がみられ、移植後に完全寛解となった。その後 2 例が重症 GVHD のため、また 2 例が再発で死亡した。

残る 5 例は、移植後 137 日から 39 ヶ月にわたり完全寛解を維持している。

D 考察

ATL に対する治療は化学療法がその中心であり、これまでに多くの治療研究がなされてきた。しかし残念ながら確実に治癒をもたらす化学療法は確立されていない。こうした中で少数ではあるが ATL に対する同種造血幹細胞移植が報告されるようになっており、その安全性と効果が注目されている。今回我々が解析した 10 症例ではその中に 1 年を超えて寛解を維持している症例が 2 例みられた。そのうちの 1 例はすでに 3 年を超えた寛解を維持しており、同種造血幹細胞移植は化学療法と比較して長期の寛解を与えうる可能性が示唆された。3 例が移植関連合併症で死亡しており[急性 GVHD (2 例)、真菌感染症 (1 例)]、ATL に対する同種造血幹細胞移植の安全性は今後も慎重に検討を続ける必要性がある。同種造血幹細胞移植の抗 ATL 効果が大量化学療法/全身放射線照射に由来するのか、それともまだ確認はされていないが同種免疫反応(GvATL)に由来するのかは不明である。今後更なる症例の蓄積と基礎医学的な検討がなされる必要がある。

E 結論

10 例の ATL に対して同種造血幹細胞移植を実施した。移植関連合併症で 3 例が、再発で 2 例が死亡したが、残る 5 例は移植後 137 日から 39 ヶ月完全寛解を維持している。今後の症例の蓄積と、基礎医学的検討が必要と思われる。

F 研究発表

1. 論文発表

1) J. Taguchi, Y. Miyazaki, S. Yoshida, T. Fukushima, Y. Moriuchi, I. Jinnai, T.

- Matsuo, K. Kuriyama, M. Tomonaga: Allogeneic bone marrow transplantation improves the outcome of de novo AML with trilineage dysplasia (AML-TLD). *Leukemia* 14, 1861-1866(2000)
- 2) K. Tsukasaki, P. Koeffler, M. Tomonaga: Human T-lymphotropic virus type I infection. *Bailliere's Clinical Haematology* 13, 231-243(2000)
- 3) Y. Matsuo, M. Iwanaga, H. Mori, S. Yoshida, Y. Kawaguchi, Y. Yakata, K. Murata, K. Nagai, I. Jinnai, T. Matsuo, K. Kuriyama, M. Tomonaga: Recovery of hematopoietic progenitor cells in patients with severe aplastic anemia who obtained good clinical response with a combination therapy of immunosuppressive agents and recombinant human granulocyte-colony stimulating factor. *Int. J. Hematol.* 72, 37-43(2000)
- 4) W. Weihong, T. Matsuo, S. Yoshida, H. Mori, Y. Miyazaki, K. Kuriyama, M. Tomonaga: Colony forming unit-megakaryocyte (CFU-meg) numbers and serum thrombopoietin concentrations in thrombocytopenic disorders: an inverse correlation in myelodysplastic syndromes. *Leukemia* 14, 1751-1756(2000)
- 5) D. Imanishi, K. Yamamoto, H. Tsushima, Y. Miyazaki, K. Kuriyama, M. Tomonaga, T. Matsuyama: Identification of a novel cytokine-response element in the human IFN regulatory factor-1 gene promoter. *J.Immunol* 165, 3907-3916(2000)
- 6) A. Utsunomiya, Y. Miyazaki, Y. Takatsuka, S. Hanada, K. Uozumi, S. Yashiki, M. Tara, F. Kawano, Y. Saburi, H. Kikuchi, M. Hara, H. Sao, Y. Morishima, Y. Kadera, S. Sonoda, M. Tomonaga; Improved outcome of adult T cell leukemia/lymphoma with allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplantation* 27, 15-20 (2001)
- 7) S. Yoshida, K. Kuriyama, Y. Miyazaki, J. Taguchi, T. Fukushima, M. Honda, T. Hayashara, K. Nagai, S. Atogami, S. Toriya, H. Soda, H. Nonaka, S. Momita, I. Jinnai, T. Amenomori, M. Kusano, Y. Yoshida, S. Ikeda, T. Matsuo, M. Tomonaga; De novo acute myeloid leukemia in the elderly; a consistent fraction of long-term survivors by standard-dose chemotherapy. *Leuk. Res.* 25, 33-38 (2001)
- 8) T. Kohno, R. Moriuchi, S. Katamine, Y. Yamada, M. Tomonaga, T. Matsuyama; Identification of genes associated with the progression of adult T cell leukemia (ATL). *Jpn J.Cancer Res* 91, 1103-1110 (2000)
- 9) N. Mori, A. Ueda, S. Ikeda, Y. Yamasaki, Y. Yamada, M. Tomonaga, S. Morikawa, R. Geleziunas, T. Yoshimura, N. Yamamoto; Human T-cell leukemia virus type I tax activates transcription of the human monocyte chemoattractant protein-1 gene through two nuclear factor-kappa B sites. *Cancer Res* 60, 4939-4935 (2000)
- 10) S. Kojima, S. Nakano, M. Tomonaga, J. Hows, J. Marsh, S. Gerard, A. Bacigalupo, H. Mizoguchi; Consensus conference on the treatment of aplastic anemia. *Int J Hematol* 72, 118-123 (2000)
- 11) S. Kamihira, N. Dateki, K. Sugahara, Y. Yamada, M. Tomonaga, T. Maeda, M. Tahara; Real-time polymerase chain reaction for quantification of HTLV-1 proviral load: application of analyzing aberrant integration of the proviral DNA in adult T-cell leukemia. *Int J Hematol* 72, 79-84 (2000)
- 12) Y. Yamada, K. Sugahara, K. Tsuruda, K. Nohda, N. Mori, T. Hara, T. Maeda, T. Hayashibara, T. Joh, M. Honda, M. Tawara, M. Tomonaga, Y. Miyazaki, S. Kamihira; Lactacystin activates FLICE (caspase 8) protease and induces apoptosis in Fas-resistant adult T-cell leukemia cell lines. *Eur J Haematol* 64, 315-322 (2000)
- 13) N. Mori, M. Fujii, K. Iwaki, S. Ikeda, Y. Yamasaki, T. Hata, Y. Yamada, Y. Tanaka, M. Tomonaga, N. Yamamoto; Constitutive activation of transcription factor AP-1 in primary adult T-cell leukemia cells. *Blood* 95, 3915-3921 (2000)
- 14) K. Tsuruda, K. Sugahara, N. Dateki, E. Ohishi, Y. Yamada, M. Tomonaga, H. Moriuchi, Y. Tsuji, S. Kamihira; Qualitative and quantitative characterization of Fas (CD95) expression and its role in primary human acute leukemia cells. *Leuk Res* 24, 437-444 (2000)
- 15) M. Honda, Y. Yamada, M. Tomonaga, H. Ichinose, S. Kamihira; Correlation of urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG), a biomarker of oxidative DNA damage, and clinical features of hematological disorders: a pilot study. *Leuk Res* 24, 461-468 (2000)

厚生科学研究費補助金（がん克服戦略研究事業）研究報告書

分担研究課題名：宿主免疫と HTLV-I 腫瘍に関する研究

分担研究者：東京医科歯科大学医歯学総合研究科 教授 神奈木真理

研究要旨

我々は最近、生体レベルで HTLV-I 感染腫瘍発症機序の解明や抗腫瘍ワクチンの有効性を検証するため、免疫学的アプローチが可能な HTLV-I 腫瘍発症系をラットを用いて開発した。このモデルを使って、HTLV-I 感染細胞の生体内での腫瘍化には感染細胞そのものの進化が必要であること、その腫瘍細胞の増殖は宿主の CTL 応答によって抑制されることを明らかにした。この結果は、HTLV-I 腫瘍が生体内で CTL による攻撃に感受性を持つことを示唆している。

本研究プロジェクトでは、このような動物実験の結果を受けて、先ず、ヒト ATL における HTLV-I 特異的免疫応答を把握したい。さらに、骨髄移植の前後の宿主免疫に対する ATL 細胞の感受性を解析し、この中で抗腫瘍効果を持つ免疫細胞の抗腫瘍機序を明らかにしたい。

A. 研究目的

ATL における HTLV-I 特異的免疫応答を把握し、骨髄移植の前後の宿主免疫に対する ATL 細胞の感受性を解析し、この中で抗腫瘍効果を持つ免疫細胞の抗腫瘍機序を明らかにしたい。

B. 研究方法

ATL に対する骨髄非破壊的同種末梢血幹細胞移植では、マイルドな化学療法と移植片による腫瘍細胞の攻撃を期待する。抗腫瘍効果を得るためには、宿主による移植片の拒絶あるいは GVHD (移植片対宿主病) を避け、GVL (移植片対白血病) をおこななければならない。このような治療法の評価には、生体内の宿主あるいは移植片の免疫応答の体外モニターが有用である。本研究では、移植前後の細胞性免疫応答の試験管内解析とアッセイ方法の確立を試みる。これには、個々の例について宿主の HTLV-I あるいはドナー特異的 T 細胞応答、ドナー HTLV-I あるいはレシピエント特異的 T 細胞応答を調べるため、事前に宿主・ドナーの双方から個体特異的な HTLV-I 感染あるいは非感染標的細胞株を樹立する必要がある。

(倫理面への配慮)

検体供与にあたっては、臨床サイドでインフォームドコンセントが得られていることを前提とし、守秘義務を守る。

C. 研究結果

慢性 ATL 患者、寛解 ATL 患者等の末梢血から、宿主免疫応答を調べる目的で種々の細胞株の作成に着手している。骨髄移植を予定している宿主及びドナーについての細胞性免疫応答は、GVH 反応に代表されるアロ免疫応答が加わるため、より複雑となる。しかも、ドナーの血球のみで構成される血液検体が得られるのは移植前の時点だけである。このため、臨床サイドと末梢血単核球の採取や保存方法を協議し始動した。現在、細胞株の樹立を行っている。

D 考察

HTLV-I および EBV 感染による細胞株樹立には時間がかかるため、骨髄移植の前後に免疫解析が行えない。従って、どれほど良い状態で移植前の細胞が凍結保存できるかにより、今後の解析が左右される可能性がある。

E 結論

ATL 患者および骨髄移植ドナーから、免疫応答解析を目的とする細胞株樹立を開始した。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. S. Hanabuchi, T. Ohashi, Y. Koya, H. Kato, F. Takemura, K. Hirokawa, T. Yoshiki, H. Yagita, K. Okumura, and M.

Kannagi. Development of human T cell leukemia virus type I (HTLV-I)-transformed tumor in rats following suppression of T cell immunity by CD80 and CD86 blockade. *J. Virol.*, 74: 428-435, 2000.

2. T. Ohashi, S. Hanabuchi, H. Kato, H. Tateno, F. Takemura, T. Tsukahara, Y. Koya, A. Hasegawa, T. Masuda, and M. Kannagi. Prevention of adult T cell leukemia-like lymphoproliferative disease in rats by adoptively transferred T cells from a donor immunized with human T cell leukemia virus type 1 Tax-coding DNA vaccine. *J. Virol.* 74: 9610-9616, 2000.

3. N. Tsurutani, M. Kubo, Y. Maeda, T. Ohashi, N. Yamamoto, M. Kannagi, T. Masuda. Identification of critical amino acid residues in human immunodeficiency virus type 1 IN required for efficient proviral DNA formation at steps prior to integration in dividing and nondividing cells. *J. Virol.* 74: 4795-4806, 2000.

4. M. Kannagi, T. Ohashi, S. Hanabuchi, H. Kato, Y. Koya, A. Hasegawa, T. Masuda, and T. Yoshiki. Immunological aspects of rat models of HTLV-type 1-infected T lymphoproliferative disease. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 16: 1737-1740, 2000.

2. 学会発表 (国際学会)

1. Mari Kannagi, Takashi Ohashi, Shino Hanabuchi, Hiroto Kato, Yoshihiro Koya, and Takashi Yoshiki. INDUCTION OF HTLV-I-INFECTED T-LYMPHOPROLIFERATIVE DISEASE IN ANIMAL MODELS AND ITS IMMUNOLOGICAL ASPECTS. Workshop on HTLV Molecular Biology and Pathogenesis, March 17-19, 2000, Virginia, U.S.A.

2. Takashi Ohashi, Shino Hanabuchi, Takao Masuda, and Mari Kannagi. SUPPRESSIVE EFFECTS OF HTLV-I TAX-CODING DNA VACCINE ON THE DEVELOPMENT OF ATL-LIKE LYMPHOPROLIFERATIVE DISEASE IN A

RAT MODEL. 12th International Workshop on Retroviral Pathogenesis, October 29 - November 1, 2000, Maryland, USA.

(国内学会)

1. 大橋貴、花淵志野、神奈木真理. ラットの ATL 様疾患モデルを用いた Tax 発現 DNA ワクチンの効果解析. 第 59 回日本癌学会、横浜 2000 年、10 月
2. 大橋 貴、花淵志野、神奈木真理. Tax 発現 DNA ワクチン接種ラットより誘導した CTL 細胞株の HTLV-I 感染細胞に対する細胞傷害性の解析. 第 30 回日本免疫学会、仙台、2000、11 月
3. 花淵志野、大橋貴、小屋美博、竹村富美代、広川勝イク、吉木敬、八木田英雄、奥村康、神奈木真理. 抗 CD80/86 抗体を用いたラット ATL 様疾患誘導. 第 48 回日本ウイルス学会、津、2000 年、10 月
4. 花淵志野、大橋貴、竹村富美代、神奈木真理. ラット HTLV-I 腫瘍モデルにおける抗腫瘍免疫の認識抗原解析. 第 30 回日本免疫学会、仙台、2000、11 月
5. 館野広美、大橋貴、花淵志野、増田貴夫、神奈木真理. ヒト成人 T 細胞白血病ウイルスによる T 細胞の腫瘍化に関わる因子についてのラットを用いた解析. 第 48 回ウイルス学会、津、2000 年 10 月
6. 長谷川温彦、大橋貴、花淵志野、竹村富美代、増田貴夫、神奈木真理. ラットへの低量 HTLV-I 感染による抗体陰性 HTLV-I キャリアの作出. 第 48 回ウイルス学会、津、2000 年、10 月
7. 鶴谷直美、久保誠、大橋貴、山本直樹、神奈木真理、増田貴夫、HIV-1 インテグラーゼ蛋白の核移行シグナル領域の検討. 第 48 回ウイルス学会、津、2000、10 月
8. 久保誠、増田貴夫、鶴谷直美、大橋貴、岩本愛吉、神奈木真理. HIV キャリア CD8 陽性細胞の HIV-1 抑制効果に対する MHC-I 発現低下の影響. 第 48 回ウイルス学会、津、2000、10 月
9. 劉 慧寧、久保誠、増田貴夫、大橋貴、神奈木真理、非感染者由来アロ特異的 CTL による HIV-1 の増殖抑制. 第 14 回日本エイズ学会、京都、2000、11 月
10. 神奈木真理. HTLV-I リンパ腫瘍と免疫. 日本癌学会ミニシンポジウム、京都、1999、12 月.

移植前後のT細胞抗原受容体（TCR）Vレパートリーおよび微小残存白血病の解析に関する研究

（分担）研究者 木村 暢宏 所属・職名 福岡大学医学部第一内科・講師

研究要旨

診断時ATL細胞クローンのT細胞抗原受容体（TCR）β鎖を確定し、sequencingによりATL特異的TCRプライマーを作成。微小残存白血病を半定量化するシステムを作成する。それを用いてミニ移植後経時的に微小残存白血病を半定量化し、ミニ移植の臨床効果判定の基準を作成する。

A. 研究目的 ALL等において免疫グロブリン遺伝子やTCRδ鎖遺伝子を用いた微小残存病変の半定量的測定は、一般化されているが、αβ-T細胞腫瘍についての微小残存病変測定はまとまった報告はない。今年度は、αβ-T細胞腫瘍の微小残存白血病を半定量化できるシステムを確立することを目的とする。この方法を用いれば、ATLの骨髄非破壊的移植（mini移植）において、微小残存病変（ATLクローン）を追跡できる。そして更に細胞免疫療法としてのmini移植において半定量的残存細胞量と再発の関係を把握できるようになる。

B. 研究方法

- 1) 細胞：試験管内のαβ-T細胞株であるJurkat細胞、MOLT4細胞。ATL患者2例の末梢血で検討した。1例はアロ移植後完全寛解、他の1例は慢性増悪期の症例。
- 2) TCR遺伝子を解析する対策として患者からのインフォームド・コンセントを得る。骨髄・末梢血よりリンパ球細胞分画を採取し、Tリンパ球が細胞性免疫として働くT細胞抗原受容体（T-cell receptor, TCR）遺伝子の発現状態を分析することで、特定のTリンパ球（ATL細胞）の増減を研究する由を説明する。この研究への参加は自由で、参加しなくても不利益は受けないこと。プライバシーや医療記録は守秘されること。かつして、本人や家族・血縁者に損害が及ぶことがないことを制約、成績の公表前であればいつでも参加を取り下げる事ができること。
- 3) 診断時、αβ-T細胞であるATLクローンのVβ/Vαを我々の開発した簡略Inverse RT-PCR法を用いてATLクローンの特定Vβ/Vαレパートリーを判定し、13種類のJβ遺伝子を用いたPCR（Jβ-PCR法）やSSCP法によりCDR3領域の単一性を検討する。TCRのdirect sequencingにより、CDR3領域におけるATL cloneに特異的clonotypic primerを作成。
- 4) 各臨床病期での末梢血を採取。希釈法による半定量的検討でクローン微小残存細胞量を算定する。

C. 研究結果

- 1) αβ-T細胞cell lineのJurkat, Molt 4を用いた希釈法による半定量的検討で、 10^{-4} ~ 10^{-6} でクローンが認識できた。
- 2) この方法で実際のATL患者2例で検討した。1例はアロ移植後完全寛解となっている。アロBMT前末梢血中に30%いたクローンは、その時期 10^{-4} 以下となっていた。今後、経時的にそのクローンの量的変化と臨床像との相関を追跡する。2例目のATLは、慢性増悪期の症例で末梢WBC3万、70%がATL細胞であったが、化学療法とサイトメガロウイルス感染症によりATL細胞は2.5%~十に減少し約1年その状態を維持している。半定量的結果もそれと同様であった。

D. 考察

簡略Inverse RT-PCR法を用いてATLクローンの特定Vβ/Vαレパートリー判定、それに続く一連の検討によるTCR遺伝子クローンの同定、及び半定量化は微小残存細胞の判定に有効である。ATLの骨髄非破壊的移植（mini移植）において、ATLクローンの追跡、またATL特異的CTL研究との連携において、CTLクローンの増減をも追跡できるものと思われる。これにより、mini移植法における免疫療法の重要な情報を提供するものと思われる。

E. 結論

αβ-T細胞腫瘍の微小残存白血病を 10^{-4} ~ 10^{-6} でクローンが認識できる半定量化システムを確立した。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

H. 知的財産権の出頭・登録状況

F・G・Hに関しては特記なし。

ATL への同種末梢血幹細胞による骨髄非破壊的移植療法の実施および
樹状細胞による免疫療法の試みに関する研究

分担研究者 河野文夫 国立熊本病院臨床研究部長

研究要旨

ATL の急性型あるいはリンパ腫型と診断された 5 例に対し、同種末梢血移植（末梢血幹細胞移植 4 例、骨髄移植 1 例）を施行し、その治療成績を検討した。1 例は移植後 51 日目に HUS を併発し死亡した。1 例は 6 ヶ月後に再発し死亡した。残りの 3 例は完全寛解ないしくすぶり型の状態にて生存中である。

A. 研究目的

成人 T 細胞性白血病（ATL）は、南九州に多く発症する完治が困難な悪性腫瘍であり、平均生存期間は 6 - 10 ヶ月ときわめて短い。しかし同種幹細胞移植を施行することで長期生存例の報告もみられ、完全治癒が期待できる。我々は ATL の急性型あるいはリンパ腫型と診断された 5 例に対し、同種幹細胞移植（末梢血幹細胞移植 4 例、骨髄移植 1 例）を施行しその症例の特徴と治療成績を検討した。

B. 研究方法

患者は男性 4 例、女性 1 例の計 5 例。年齢は 38 ~ 50 歳で、中央値は 44 歳であった。化学療法開始時病態は急性型 3 例（高カルシウム血症 1 例、漿膜炎 2 例）リンパ腫型 2 例であった。初診から移植までの期間は 5 ~ 19 ヶ月（中央値 9 ヶ月）移植時病態は第 1 寛解期 2 例、部分寛解 1 例、くすぶり型 1 例、進行期 1 例であった。ドナーは HLA 完全一致の兄弟 3 例、1 座不一致子供 1 例、完全一致の骨髄バンク 1 例であった。幹細胞は、骨髄バンクのドナーのみ骨髄液を使用し、他の 4 例は血縁者の末梢血幹細胞を使用した。うち HTLV-1 陰性は 3 例、陽性は 1 例、不明 1 例であった。コンディショニングは TBI+VP-16+CY 1 例 TBI+L-PAM 1 例 BU+CY 2 例 BU+L-PAM 1 例、GVHD 予防は FK506+MTX が 3 例、FK506 単独が 1 例、CsA+MTX が 1 例であった。

（倫理面への配慮）

同種幹細胞移植自体については、当院倫理委員会にて認可を得た。また、患者家族に対しては、術前に十分な説明を行い同意を得た。

C. 研究結果

1. 移植後の観察期間は 2 ~ 44 ヶ月（中央値 6 ヶ月）であった。1 例は移植後に溶血性尿毒症性症候群(HUS)を発症し 51 日目に死亡、1 例は 6 ヶ月後に再発し死亡している。他 3 例は完全寛解ないしくすぶり型の状態で生存中である。進行期で移植施行した症例も 9 ヶ月無病生存中である。

2. 移植後早期に 3 例が Thrombotic

microangiopathy (TMA)を発症し、うち 2 例は急性腎不全に陥り、血液透析を行った。TMA を発症した 3 例中、t-PA の使用で 2 例は回復し、血液透析を必要とした 1 例も離脱できたが、HUS で発症した 1 例は早期に死亡している。慢性 GVHD は 1 例が角膜潰瘍、1 例が閉塞性細気管支炎を認めている。

D. 考察

1. 移植後早期に重篤な合併症を 3 例が併発している。ATL の患者は移植前に化学療法を密に施行され、移植を間をおかずに行うため早期の合併症が多い可能性が示唆された。また HUS を発症した例は初発症状が重篤な高カルシウム血症であり、腎不全をきたしていた。移植前は正常に復していたが、このような症例にはコンディショニングの調節が必要と考えられた。

2. 移植可能例は年齢も若く、移植を行う時期までに ATL の平均生存期間を超えており移植の効果を判断する時には、このことも考慮する必要がある。

E. 結論

観察期間は短い移植後 60% の生存率をみており、ATL の平均生存期間と比較すると同種幹細胞移植の効果は大きい。

F. 健康危険情報

移植後早期に重篤な合併症（TMA）を起こすことが多いので、特に十分な注意が必要である。

G. 研究発表

1. 論文発表

Utsunomiya A et al : Improved outcome of adult T cell leukemia/lymphoma with allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. Bone marrow transplant 27:15-20, 2001.

2. 学会発表

塚本敦子ら：同種幹細胞移植を施行した ATL 5 例 第 63 回日本血液学会総会 H13 年 4 月 19 日、名古屋市

分担研究課題名

ATL 患者における同種造血幹細胞移植後の HTLV-I プロウイルス量の変動に関する研究

分担研究者 宇都宮 興

所属・職名 慈愛会 今村病院分院 血液内科部長

研究要旨

同種造血幹細胞移植 (allo-SCT) を施行した成人T細胞白血病リンパ腫 (ATL) 15 例について、allo-SCT 前後の HTLV-I プロウイルス量の測定を行い、その変動について解析した。移植後 HTLV-I プロウイルス量は、ほとんどの例で感度以下まで低下した。その後もキャリアドナーからの移植の 1 例を除いてキャリアレベル以下の HTLV-I プロウイルス量を維持していた。allo-SCT 後の HTLV-I プロウイルス量の測定は、再発やドナーリンパ球からの ATL 発症の監視に有用である。

A. 研究目的

ATL 患者の同種造血幹細胞移植 (allo-SCT) 後の経過観察として HTLV-I プロウイルス量の測定を行ったので報告する。

B. 研究方法

対象：1997 年 3 月 - 2000 年 9 月の 3.5 年間に参加 11 施設で同種造血幹細胞移植 (allo-SCT) を受けた ATL 患者 15 例。男性 9 例，女性 6 例，年齢は，16 歳～51 歳 (43 歳)。病型は，急性型 11 例，リンパ腫型 3 例，慢性型からの急性転化 1 例。ドナーは，血縁 11 例，非血縁 4 例。ドナーの HTLV-I 抗体陽性は 3 例。造血幹細胞移植からの生存期間は，1.7～45.0+ヵ月 (中央値 10.5+ヵ月) であった。8 例が生存で，7 例が死亡。7 例の死因は，再発後の腫瘍死 2 例，TMA 3 例，HUS, VOD 1 例，CMV 感染 1 例であった。

方法：末梢血単核球中の HTLV-I tax DNA 量を Light Cycler System を用いてリアルタイム PCR 法にて測定した (コピー/細胞 1000 個当り)。

C. 研究結果

allo-SCT を受けた ATL 15 例について allo-SCT 前後の HTLV-I プロウイルス量の結果は Table 1 に示した。allo-SCT 後 2-3 ヶ月では，ほとんどの例で HTLV-I プロウイルス量が検出限界以下まで低下していた。HTLV-I プロウイルス量が移植後 6 ヶ月以内に検出限界以下まで低下した 9 例中 5 例が死亡した。死因は，TMA 2 例，HUS・VOD 1 例，CMV 感染 1 例，再発腫瘍死 1 例であった。移植後 12 ヶ月以上で HTLV-I プロウイルス量を検索できた 5 例のうち 2 例は検出限界以下を維持し，2 例はキャリアレベル以下 (うち 1 例は TMA にて死亡) であり，またキャリアドナーからの移植の 1 例は高ウイルス量でありながら無病生存している。

Table 1 HTLV-I proviral DNA in PBMC

Patient No.	Before conditioning treatment for allo-SCT	Months after allo-SCT											
		2	3	4	6	9	12	15	24	36	38		
1.	NT												0.0
2.	NT												442.7
3.	125.9		1.8			17.5		12.9† (TMA)					
4.	318.0				8.7	0.5	12.2	17.4	40.9	24.8		13.8	
5.	127.8		0.0† (CMV)										
6.	NT		0.0 † (tumor death)										
7.	NT		34.3	116.2									
8.	320.0	0.0											
9.	120.1	0.0											
10.	3.9				0.0			0.0					
11.	4151.1		0.0										
12.	726.1			0.0									
13.	0.5							18.5					
14.	(3379)	0.0											
15.	2378	0.0	0.0† (GVHD, TMA)										

The number represents the relative copy number of HTLV-I proviruses per 1000 peripheral blood mononuclear cells (PBMC)
NT = not tested

D. 考察

移植後 HTLV-I プロウイルス量は，ほとんどの例で感度以下まで低下した。その後もキャリアドナーからの移植の 1 例を除いてキャリアレベル以下の HTLV-I プロウイルス量を維持していた。allo-SCT 施行後の HTLV-I プロウイルス量の測定は，移植後の ATL の minimum residual disease (MRD)，移植後の ATL の再発，ドナーリンパ球からの ATL の発症などを考える上で重要と思われる。

E. 結論

ATL に対する allo-SCT は長期生存例を増加させる可能性があり，allo-SCT 後の HTLV-I プロウイルス量の測定は，再発やドナーリンパ球からの ATL 発症の監視に有用である。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表

Utsunomiya A, Miyazaki Y, Takatsuka Y, Hanada S, Uozumi K, Yashiki S, Tara M, Kawano F, Saburi Y, Kikuchi H, Hara M, Sao H, Morishima Y, Kodera Y, Sonoda S, Tomonaga M. Improved outcome of adult T cell leukemia/lymphoma with allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. Bone Marrow Transplantation 27, 15-20, 2001.

2. 学会発表

宇都宮 興, 高塚 祥芝, 魚住 公治, 花田 修一, 菊池 博, 今村 豊, 小寺 良尚, 河野 文夫, 谷口 修一, 原 雅道, 宮崎 泰司, 朝長 万左男. ATL患者におけるallo-SCT後のHTLV-Iプロウィルス量の変動. 第63回 日本血液学会総会, 2001年4月19日, 名古屋.

共同研究施設

鹿児島大学, 大分医科大学, 聖マリア病院, 名古屋第一赤十字病院, 国立熊本病院, 浜の町病院, 愛媛県立中央病院, 長崎大学, 国立病院九州がんセンター, 琉球大学

研究要旨

ATLは human T-lymphotropic virus type I (HTLV-I)の感染を契機に、高齢者に発症する予後不良な造血器腫瘍である。ウイルス関連腫瘍であることから抗原性が高い腫瘍である可能性があり、また高齢者が多いことから、骨髄非破壊的前処置法を用いた同種造血幹細胞移植法がATLに対して安全かつ有効に施行し得るかを明らかにすることを目的とする。免疫抑制剤やドナー・リンパ球輸注療法 (DLI) を利用して、移植片対腫瘍効果 (GVT) を誘導することも研究する。

A. 研究目的

高齢者が多い ATL 患者に対し、骨髄非破壊的前処置法を用いた同種造血幹細胞移植療法の安全性と有効性を評価する。また、免疫抑制剤の増減と DLI により GVT 効果を惹起し得るかを検討する。

B. 研究方法

通常の前処置に用いる量の半量のブスルファン、免疫抑制効果の高いフルダラビンと抗ヒト胸腺細胞免疫グロブリンを用いた同種造血幹細胞移植を ATL 患者に施行する。その前段階として、他の疾患に対する本治療の安全性・有効性の確認、ATL に対する通常の前処置の安全性・有効性の確認を行った。すべての治療は当施設倫理委員会で承認された臨床プロトコールに基づき施行され、事前に文書による患者のインフォームド・コンセントを得た。

C. 研究結果

骨髄非破壊的移植法は高齢者や合併症を有する患者に対しても安全に施行できる可能性が高く、また有効性も期待できることが判明しつつある。一方、急性型 ATL の 1 例が 2 年以上の無病生存を続け、また免疫抑制剤の減量により明らかな GVT 効果が惹起され寛解状態に至った 2 症例を経験した。

D. 考察

骨髄非破壊的移植法は比較的高齢な ATL 患者にも施行し得る可能性が高く、また ATL は GVT 効果が期待し得る疾患であることが示唆された。

E. 結論

これらの知見のもとに本試験を施行中である。

F. 健康危険情報

時に致死的合併症を伴う治療であるために十分な経験と技術が必要である。

G. 研究発表

1. 論文発表

Saito, T., Tanosaki, R., et al. 2000. Non-myeloablative stem cell transplant using 2-chlorodeoxyadenosine (2-CdA) in a patient with myelodysplastic syndrome (MDS). *Experimental Oncology* 22; 88-90.

Suenaga K, Tanosaki R., et al. 2001. Successful application of non-myeloablative transplantation for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Experimental Hematology*. (in press)

H. 知的財産権の出願・登録状況

特に無し。

分担研究課題名：ATL への同種末梢血幹細胞による骨髄非破壊的移植療法の実施

分担研究者：琉球大学医学部内科学第二講座 助手 増田 昌人

研究要旨

ATL への同種末梢血幹細胞移植を 2 例に行った。移植前の多剤併用化学療法では部分寛解しか得られなかったが、移植前処置により完全寛解へ導入できた。移植前（多剤併用化学療法後）HILV-I プロウイルス量は 2 例とも高値であったが、移植後は共に 0 となった。ATL への同種末梢血幹細胞移植は、その治療法として極めて有効な手段になると考えられる。

A. 研究目的

ATL への同種末梢血幹細胞移植 (allo-PBSCT) を行い、GVHD、HILV-I プロウイルス量と ATL の病勢との関係を明らかにする。

B. 研究方法

平成 12 年度に当施設に入院した ATL 急性型 2 例に allo-PBSCT を行い、GVHD の重症度、HILV-I プロウイルス量と ATL の病勢との関連を検討した。

（倫理面への配慮）

患者本人とドナーから文書での同意を得ている。結果については個人の守秘義務を厳守する。

C. 研究結果

症例 1：48 歳，男性。

Biweekly CHOP により部分寛解 (PR)。その後、HLA1 座不一致の姉をドナーに、TBI/CY + VP-16 を前処置に、GVHD 予防は短期 MTX + CyA を用いて allo-PBSCT を行った。Day+14 に生着を確認。完全寛解 (CR) を維持していたが、day+97 に IV 度の GVHD により死亡。

前処置直前の HILV-I プロウイルス量 (単位：copies/1,000cells) は 1,022 で、Day+37 と Day+84 では 0 であった。

症例 2：39 歳，男性。

LSG-15, CHOP 療法及び CHASE 療法するも PR。その後 HLA 完全一致の姉をドナーに、症例 1 と同様に allo-PBSCT を行った。Day+17 に生着を確認。IV 度の急性 GVHD が出現した。現在 day+104 で CR を維持している。前処置前のプロウイルス量は 5,020 で、day+42, day+47 及び day+63 では 0 であった。

D. 考察

HILV-I プロウイルスは 2 例とも day+37 と day+42 で既に検出されず、その後も増加はなかった。また、共に CR を維持していた。2 例とも IV 度の急性 GVHD を合併していた。これらに関連がある可能性があると考えられる。

E. 結論

ATL への allo-PBSCT は、その治療法として極めて有効な手段になると考えられる。

G. 研究発表 (学会発表)

<国際学会>

1) Shinjo T, Masuda M, et al. Involvement of mTOR/Bim, not Akt/Bad pathway in cytokine-mediated cell survival signaling downstream of PI3-kinase in murine hematopoietic progenitors. Blood 96 (suppl) 568-9a, 2000.

2) Miyagi J, Masuda M, et al. Establishment of primary effusion lymphoma cell line and characterizing its growth in scid mice. Blood 96 (suppl) 227b, 2000.

<国内学会>

1) 宮城敬, 友寄毅昭, 豊浜民子, 中里哲郎, 宮城純一, 新城哲治, 長崎明利, 平良直也, 増田昌人, 他 3 名. B 型慢性肝炎合併骨髓異形成症候群に対して同種骨髓移植後 seroconversion を認めた一例. 臨床血液 41 1129, 2000

2) 中里哲郎, 宮城敬, 豊浜民子, 友寄毅昭, 宮城純一, 新城哲治, 長崎明利, 平良直也, 増田昌人, 高須信行. 非血縁者間同種骨髓移植後にサイトメガロウイルスによる回腸の多発性潰瘍を呈した CML の 1 例. 第 23 回日本造血細胞移植学会総会プログラム・抄録集 154, 2000

3) 宮城敬, 百名伸之, 中里哲郎, 豊浜民子, 友寄毅昭, 宮城純一, 新城哲治, 長崎明利, 平良直也, 増田昌人, 高須信行. NK 細胞腫瘍に対する造血幹細胞移植. 第 23 回日本造血細胞移植学会総会プログラム・抄録集 168, 2000

分担研究課題名：成人T細胞白血病（ATL）に対する同種骨髄移植

分担研究者：国立病院九州がんセンター 造血器科 鶴池 直邦

研究要旨

成人T細胞白血病（ATL）に対する骨髄非破壊的同種移植の有用性を推し量る根拠のひとつに、本疾患に対する骨髄破壊的前処置による同種骨髄移植（通常同種骨髄移植）の治療成績の可否が上げられる。同種骨髄移植を施行した2例のATL患者の臨床成績から、その安全性と有効性について解析した。

A. 研究目的

ATLに対する通常同種移植療法の臨床成績を解析し、その安全性と有効性を検討する。

B. 研究方法

九州がんセンターにおいて同種骨髄移植を施行した2例について臨床的解析を行った。

C. 研究結果

【症例】①36歳女性。急性（転化）型ATLでmodified(m)EPOCH4コースと放射線療法で部分寛解となり、発症後7カ月の時点でHLA完全一致同胞（HTLV-Iキャリアー）より骨髄移植を行った。移植前処置はTBI, AraC, Cy, GVHD予防はCyA, MTX。

②41歳男性。リンパ腫型。mEPOCH6コースで完全寛解に至り、HLA完全一致非血縁ドナーから発症後8カ月に骨髄移植実施。前処置はTBI, AraC, Cy, GVHD予防はFK506, MTX。

【移植成績】

- 1) 生着 ①day+19。②day+32。
- 2) GVHD ①急性 grade I、慢性限局性 grade I。②急性 grade I。
- 3) 合併症 ①肺炎。②肺炎、出血性膀胱炎。
- 4) HTLV-Iプロウイルス量の推移 ①移植後10カ月にキャリアーレベルを保持している。②移植1カ月に一旦アッセイ感度以下となったが、6カ月にキャリアーレベルに戻った。
- 5) 生存期間 ①移植後22カ月に完全寛解中。②移植後11カ月に再発、ドナーリンパ球輸注（DLI）予定。

D. 考察

比較的若年発症の2例のATLに対して、

1例（①）はHTLV-Iキャリアードナーから、もう1例（②）は非血縁ドナーから同種骨髄移植を行ったが、特別な合併症なく安全に施行可能であり、ドナーがキャリアーでも、非血縁でも積極的に移植を考慮すべきであると思われた。健康人（HTLV-Iのキャリアーでない）ドナーからの移植後、一時的にHTLV-Iプロウイルスの消失を観察し得たが、これは通常化学療法のみでは観察されておらず、ATLに対する同種移植療法がHTLV-Iの抗ウイルス療法としての側面を持つことを示している。慢性GVHDを認めなかった症例②は一年以内に再発しており、GVATL効果の存在を示唆する結果かもしれない。今後症例②で実施予定のDLIの効果でそれを確認したい。

E. 結論

ATLはその発症年齢が高齢化しており、われわれの同種骨髄移植から得られた利点が骨髄非破壊的同種移植療法という手法を用いることにより、高齢者ATL患者にも応用できればその恩恵は大であると考えられ、この研究班の意義は大きい。

G. 研究発表

1. 論文発表
1. Takeyama, K., Seto, M., Uike, N., Hamajima, N., Ino T, Mikuni, C., Kobayashi, T., Maruta, A., Muto, Y., Maseki, N., Sakamaki, H., Saitoh, H., Shimoyama, M., Ueda, R. Therapy-related leukemia and myelodysplastic syndrome: a large-scale Japanese study of clinical and cytogenetic features as well as prognostic factors. Int J Hematol 71:144-152, 2000.

2. Okamoto T, Kanamaru A, Shimazaki C, Motoji T, Takemoto Y, Takahashi M, Fukushima T, Takeshita A, Kusumoto S, Kishimoto Y, Yorimitsu S, Tsukuda K, Uike N, Arima N, Ohono R. Combination chemotherapy with risk factor-adjusted dose attenuation for high-risk myelodysplastic syndrome and resulting leukemia in the multicenter study of the Japan adult leukemia study group (JALSG): results of an interim analysis. *Int J Hematol* 72:200-205, 2000.
 3. Itoh K, Ohtsu T, Sasaki Y, Ogura M, Morishima Y, Kasai M, Chou T, Yoshida K, Ohno T, Mizorogi F, Uike N, Sai T, Taniwaki M, Ikeda S, Tobinai K, and members of the lenograstim/Lymphoma Study Group. Randomized comparison of mobilization kinetics of circulating CD34+ cells between biweekly CHOP and dose-escalated CHOP with the prophylactic use of lenograstim (Glycosylated rHuG-CSF) in aggressive Non-Hodgkin's lymphoma. *Leukemia and Lymphoma* 38(5-6):521-532, 2000.
 4. Naoe T, Takeyama K, Yokozawa T, Kiyoi H, Seto M, Uike N, Ino T, Utsunomiya A, Maruta A, Jin-nai I, Kamada N, Kubota Y, Nakamura H, Shimazaki C, Horiike S, Koderia Y, Saito H, Ueda R, Joseph W, Ohno R. Analysis of genetic polymorphism in *NQO1*, *GST-M1*, *GST-T1*, and *CYP3A4* in 469 Japanese patients with therapy-related leukemia/myelodysplastic syndrome and *de novo* acute myeloid leukemia¹. *Clin. Cancer Res.* 6:4091-4095, 2000.
 5. Yatabe Y, Suzuki R, Tobinai K, Matsuno Y, Ichinohasama R, Okamoto M, Yamaguchi M, Tamaru J, Uike N, Hashimoto Y, Morishima Y, Suchi T, Seto M, Nakamura S. Significance of cyclin D1 overexpression for the diagnosis of mantle cell lymphoma: a clinicopathologic comparison of cyclin D1-positive MCL and cyclin D1-negative MCL-like B-cell lymphoma. *Blood*, 95(7):2253-2261, 2000.
 6. Toyoda K, Taniguchi J, Kikawa K, Uike N, Haraoka S, Ooshima K, Kikuchi M, Kawanishi H. Follicular dendritic cell sarcoma: Ultrastructural and immunohistochemical studies. *Int Med*, 39(11):950-955, 2000.
 7. Yufu Y, Kimura M, Kawano R, Noguchi Y, Takatsuki H, Uike N, Ohshima K. Epstein-Barr virus-associated T cell lymphoproliferative disorder following autologous blood stem cell transplantation for relapsed Hodgkin's disease. *Bone Marrow Transplant* 26:1339-1341, 2000.
 8. 鵜池直邦. Nucleoside analog 投与例における二次がんの発生. *血液腫瘍科*, 41:347-353, 2000
 9. 木村光秀、油布祐二、河野理子、後藤達郎、高月 浩、鵜池直邦. Near haploid 核型を呈した成人急性リンパ芽球性白血病. *臨床血液*, 41:764-767, 2000
 10. 河野理子、木村光秀、野口由実、後藤達郎、高月 浩、油布祐二、鵜池直邦. HLA 2 座不一致(hetero to homo)の子供から母親へ施行した同種骨髄移植. *臨床血液*,41:761-763, 2000
- 2.学会発表
(国内学会)
1. 鵜池直邦、清永真理、河野理子、野口由美、高月 浩、油布祐二、齊藤 健、小林幸夫、飛内賢正. クラドリピン(2-CdA)投与後に発症した治療関連 MDS の 2 例. 第 62 回日本血液学会総会
 2. 鵜池直邦、立川義倫、嶋本正弥、高月 浩、油布祐二、小鶴三男. 成人 T 細胞白血病/リンパ腫に対する modified EPOCH 療法の効果. 第 41 回臨床血液学会総会

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Utsunomiya A Miyazaki Y Takatsuka Y Hanada S Uozumi K Yashiki S Tara M Kawano F Saburi Y Kikuchi H Hara M,Sao H Morishima Y Kodera Y Sonoda S and Tomonaga M	Improved outcome of adult T cell leukemia/ lymphoma with allogeneic hematopoietic stem cell transplantation	Bone Marrow Transplantation	27	15-20	2001
Honda K Takada H Nagatoshi Y Akazawa K Ohga S,Ishii E Okamura J and Hara T	Thymus-independent expansion of T lymphocytes in children after allogeneic bone marrow transplantation	Bone Marrow Transplantation	25	647- 652	2000
Kannagi M Ohashi T Hanabuchi S Kato H, Koya Y Hasegawa A Masuda T and Yoshiki T	Immunological aspects of rat models of HTLV type 1-infected T lymphoproliferative disease	Aids Research and Human Retroviruses	16	1737- 1740	2000
Hanabuchi S Onashi T Koya Y, Kato H Takemura F Hirokawa K Yoshiki T Yagita H Okumura K and Kannagi M	Development of human T-cell leukemia virus type 1-transformed tumors in rats following suppression of T-cell immunity by CD80 and CD86 blockade	Journal of Virology	74	428- 435	2000
Ohashi T Hanabuchi S Kato H Takeno H Takemura F Tsukahara T Koya Y Hasegawa A Masuda T and Kannagi M	Prevention of adult T-cell leukemia-like lymphoproliferative disease in rats by adoptively transferred T cells from a donor immunized with human T-cell leukemia virus type 1 Tax-coding DNA vaccine	Journal of Virology	74	9610- 9616	2000

