

## 免疫関連分子多型の移植への影響

日赤中央血液センター  
石川善英・赤座達也・十字猛夫

- CD1d : NKT induction
- CD6 : T cell activation
- CD26 : T cell activation
- TNFA : inflammatory cytokine
- TNFR2 : TNF receptor

### CD1D遺伝子の多型報告

author	method	ethnic	polymorphism
Oteo et al. (Tissue Antigens 1999)	PCR-SSCP	70 Cau. from Euro. 33 Black African 19 Cau. from Sahara 44 Asian from China	no
Han et al. (Tissue Antigens 1999)	PCR-SSCP	110 diverse ethnic backgrounds	A190T Thr44Ser in exon2

### 材料(CD1D多型解析)

日本人健常者 cDNAサンプル (N=48)

### 方法

#### PCR-SSCP

全コーディング領域(約1kb)を4 fragmentに分けて解析

各SSCPは3泳動温度条件(10,20,30°C)



exon2をdirect sequence解析

### CD6

	codon				n
	169	197	205		
Com.	Thr	Thr	Arg		68
M1	-	-	Trp		6
M2	-	Met	-		7
M3	-	-	Trp		15

### TNFA

Higuchi T et al. 1998  
Matsushita et al. 1999

Allele	Frequency
-1031T/-863C/-857C	66.1
-1031T/-863C/-857T	17.5
-1031C/-863A/-857C	13.8
-1031C/-863C/-857C	2.6

### TNFR2

Komata T et al. 1999

196R/196M = 19/81

「造血幹細胞の自己複製能力、再生能力を利用した治療法の開発と普及に関する研究班」

平成 12 年度第一回研究打ち合わせ会 (2000 年 6 月 3 日・名古屋オー赤十字病院)

## 「母児免疫とマイナー組織適合性抗原の視点から SCT を考える」

佐治博夫 HLA 研究所

マイナー組織適合性抗原などの研究から次のようなことが明らかになった。

- 1、SCT における GVHD の発症 (頻度と重症度) は HLA と同等以上にマイナー組織適合性抗原の不適合性が関与している (表 1)。
- 2、SCT における GVL のターゲット分子はマイナー組織適合性抗原が主たるものである。
- 3、ミトコンドリア DNA は高い多型性を示し、マイナー組織適合性抗原として機能する。
- 4、ドナー/レシピエント間の、マイナー組織適合性抗原不適合確率は血縁間では低く、非血縁間ではその 2 倍である (図 1)。

また、末梢血中の極微量のキメリズム (マイクロ・キメリズム) を検出する技法が進んで、妊娠中の母児間には 100%キメリズムが成立し、分娩後も長期 (数 10 年) にわたって維持されることがわかってきた。これは母児間にある種の免疫寛容が長期にわたって成立していることを示している。さらに、ミトコンドリアの母系遺伝様式を勘案すると、従来よりも選択順位として上位にランクされるべきドナー/レシピエントの組み合わせが浮上する。すなわち、haploidentical の母子間とある種の同胞間である。HLA が一致しない同胞のうち、haplo-identical の組み合わせは次の 2 種類に分類される。

- 1、父ハプロタイプを共有していて、異なる母由来ハプロタイプを持つ同胞。
  - 2、母ハプロタイプを共有していて、異なる父由来ハプロタイプを持つ同胞
- 母児間にマイクロ・キメリズムが成立している

ときは、1 の組み合わせの同胞間では、母体を通じて、相互にミスマッチ・ハプロタイプの各 HLA 抗原に対して免疫寛容が成立していることが考えられる。

メジャーはGVHD要因としてもメジャーか？ マイナー抗原は臨床でもマイナーか？	
<b>HLA不適合効果</b>	
GVHD(>II) 頻度の差	
>(同胞HLA不適合)-(同胞一致)	=10%
GVHD(>II)頻度: 31.2% -21.6%	
>(非血縁HLA不適合)-(非血縁適合)	=10%
GVHD(>II)頻度: 46.5% -37.9%	
<b>mHa不適合効果</b>	
> 同胞HLA一致	=21%
>(非血縁HLA適合)-(同胞一致)	=16%
GVHD(>II)頻度: 37.9% -21.6%	

表 1、日本造血幹細胞移植学会、平成 11 年度全国調査報告書のデータを引用。HLA 一致同胞間で起こる 2 度以上の GVHD はマイナー組織適合性抗原不適合による、また非血縁間と同胞間の GVHD 発症の差はマイナー組織適合性抗原不適合性が主たる原因と仮定して計算した。

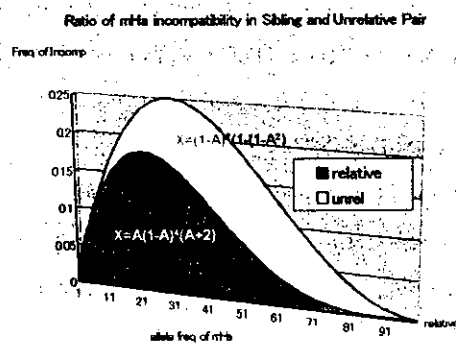


図 1、血縁間 (同胞、親子間) と非血縁間におけるマイナー組織適合性抗原の不適合確率。曲線を積分すると面積は非血縁が血縁の約 2 倍になる。

SCTにおける組織適合性のコンセプト

次のようなドナーの選択肢の順位が考えられる。

- 1、 HLA 一致同胞間と HLA 適合母子間
  - 1-1、 HLA 一致同胞間
  - 1-2、 HLA 表現型一致母子間
- 2、 Haplotype 不一致血縁間と HLA 適合非血縁間
  - 2-1、 HLA 適合非同胞血縁間
  - 2-2、 Haplotype 頻度の高い HLA 適合非血縁間
  - 2-3、 HLA1 ミスマッチ同胞または母子間
- 3、 haploidentical 母子と父由来 haploidentical 同胞間 (2-3 ミスマッチで、マイクロ・キメリズムが証明できる例を優先)
- 4、 Haplotype 頻度の低い HLA 適合非血縁間
- 5、 Haploidentical 父子間
- 6、 1 ミスマッチ非血縁間

上記の順位はミトコンドリア由来マイナー組織適合性抗原の適合性も考慮してある。すなわち、母子および同胞はミトコンドリアを共有しているが、父子および父系の血縁と非血縁はミトコンドリアが異なり、それ由来マイナー組織適合性抗原の不適合確率が高い。またミトコンドリア由来マイナー組織適合性抗原は、分布の組織臓器特異性は乏しいので、GVL と GVHD の分離は困難である。よって、ミトコンドリア由来マイナー組織適合性抗原は GVHD と GVL への関与の程度は同じであるから、適合させた方が好ましい。

研究計画の提案

- 1、 haploidentical ミスマッチ移植の検討
 

家族の HLA データを網羅したデータベースを構築して以下の臨床的検討をおこなう。

  - 1-1、 母子間と父子間 SCT の臨床データを比較する。
  - 1-2、 haploidentical ミスマッチ同胞間 SCT を母由来 haplotype ミスマッチ群と父由来 haplotype ミスマッチ群で比較する。

- 2、 臍帯血移植における「許容抗原」の検討
 

「適合性の高いミスマッチ」を同定する。

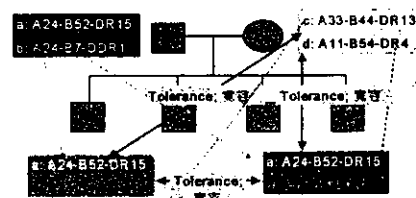
  - 2-1、 臍帯血バンクは臍帯血の母血液を凍結保存し (DNA 材料)、移植後に母 HLA を検査し、母と臍帯血の haplotype を推定し、「ドナーの母非遺伝抗原」を同定する。
  - 2-2、 ミスマッチ臍帯血移植のミスマッチ抗原が「ドナーの母非遺伝抗原」であるか否かにより、臨床データを解析する。
 

仮説：ドナー (臍帯血) 免疫担当細胞は母非遺伝抗原に対して免疫寛容が成立している。
  - 2-3、 上記の仮説が棄却できないときは、臍帯血バンクのデータに「許容抗原」として「臍帯血の母非遺伝抗原」を登録し、許容抗原検索ができるようにする。

臍帯血バンクへ母免疫寛容戦略を導入する

- 臍帯血採取時に、母血液を採取し、
- 母 HLA を検査して、母と臍帯血の HLA ハプロタイプを推定しておく
- 臍帯血 HLA 登録時に、母の「非遺伝ハプロタイプ」の各抗原を「許容抗原」として入力
- ミスマッチ抗原は「許容抗原」を優先的に選択

母免疫寛容と母児・同胞間骨髄移植



結語

SCT における今日の「組織適合性」を総合的に研究し、ドナー選択への実際の応用を目指す。

## 平成 12年度厚生科学研究ヒトゲノム・再生医療等研究事業

### 造血幹細胞の自己修復能力、再生能力を利用した治療法の開発と普及 に関する研究班 研究計画書

#### マイクロサテライト多型を用いたゲノムワイドな組織適合性遺伝子の探索

東海大学医学部分子生命科学部門

猪子 英俊

HLA一致の同種骨髄移植における GVHD 発症の要因として、レシピエントの細胞上に発現しているマイナー組織適合性抗原(mHags)の関与が挙げられる。現在までにHA-1~HA-5, H-Yなど、数種のmHagsやその候補抗原が同定されているが、これらのmHagsはHLA、特にクラスI 拘束性CTLの標的となることが知られており、すでにHLA-A2, -B7など特定のHLA抗原特異的拘束性CTLクローンも複数樹立されている。しかしながら、mHagsに関する解析は20年以前より行われているにもかかわらず、未知の抗原に対するCTLクローンの同定は容易ではなく、従って従来の造血細胞移植における組織適合性に関しては、HLA とHA-1など限られたマイナー抗原のみが、散発的に調べられているのみであった。

そこで本研究は、ゲノムワイドな組織適合性遺伝子の探索法として、約30,000 個の多型マイクロサテライトを用いて、ゲノムワイドレベルで組織適合性に関与する遺伝子を系統的に同定することを試みる。

サンプルは、これまで骨髄バンクを通じて骨髄移植が施行された非血縁ドナーとレシピエントのうち、HLA遺伝子型完全一致でGVHDを発症した組み合わせや予後不良の組み合わせのDNAを用い、我々がゲノムワイドに設定する予定である、約30,000個の多型マイクロサテライトについて、DNA 自動シーケンサーと質量分析法にもとづく DNA チップにより、多型を検索する。ドナー、レシピエント間でマイクロサテライト多型に相違がみられた領域を中心に、マイナー組織適合性遺伝子の候補領域を約100kb以内に絞り込む。この候補領域内に存在する発現遺伝子について多型解析を行い、多型がみられるマイナー組織適合性抗原遺伝子候補を選択する。さらに、骨髄移植後の臨床経過とこれらの候補遺伝子多型との相関を比較することにより、候補領域内に存在する組織適合性に関与する遺伝子を同定する。

非血縁者間の移植、特に造血幹細胞移植における移植後GVHDの発症は、移植予後や成績に大きく影響するため、HLA以外に多数存在するmHagsの早急な解析が必須と考えられるが、現況では遺伝子座の同定がなされているものはごくわずかであり、DNAを用いた実用的な多型解析法も確立されていない。我々が本研究で用いる多型マイクロサテライトは、ゲノムワイドなマッピングの際の優れた遺伝子多型マーカーとして、すでに疾患感受性遺伝子などの絞り込み検索に応用されており、候補領域を的確に100kb前後まで絞り込むことが可能である。従って、従来、散発的に行われてきた組織適合性遺伝子の多型解析も、多型マイクロサテライトの採用により、ゲノムワイドなかつ系統的な同定が可能となり、マイナー組織適合性遺伝子の解析は一気に加速されると期待される。

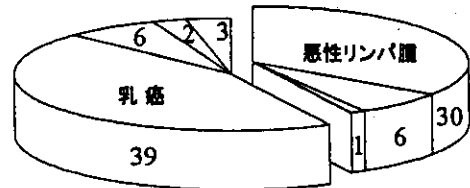
乳癌に対する自己PBSCT後に慢性関節リウマチの症状改善を得た1例

藤田保健衛生大学

血液・化学療法科  
感染症・膠原病内科

自己造血幹細胞移植の対象疾患

- 悪性リンパ腫  急性白血病  骨髄腫  
 乳癌  睾丸腫瘍  脳腫瘍  その他



藤田保健衛生大学 1988-1999.12 n=87

自己末梢血幹細胞移植に合併した免疫性疾患

藤田保健衛生大学 n=87

疾患	年齢	性	原疾患	移植後転帰
1. 慢性関節リウマチ 喘息性気管支炎	46	F	乳癌(術後補助)	軽快 不変
2. パセド一病	39	F	乳癌(術後補助)	不変
3. パセド一病	41	F	乳癌(術後補助)	不変
4. アトピー性皮膚炎	27	M	胚細胞腫	悪化
5. 花粉症	44	F	乳癌(術後補助)	不変
6. 花粉症	52	F	乳癌(術後補助)	不変

症例 46才 女性

既往歴 気管支喘息

現病歴

1998年1月左乳癌にて手術 (T2 N2 M0, stage III, ER+, PgR+) 腋窩リンパ節転移 13/29と多数であり、再発ハイリスクのためPBSCT目的で当院を紹介(術後14日)。

1991年より慢性関節リウマチの診断でA医大にて、オーラノフィン (6mg/day)、プシラミン (200mg/day)、ジクロフェナク (75mg/day) の投薬を受けているが、歩行時の膝関節痛を有している。

入院時検査所見 46才 女性

末梢血		免疫学的検査	
WBC	11,100 / $\mu$ l	CRP	0.3> mg/dl
PLT	$48 \times 10^6$ / $\mu$ l	ESR	27 mm/hr
RBC	$454 \times 10^6$ / $\mu$ l	RA	570 IU/ml (20>)
Hb	11.8 mg/dl	RAHA	640 倍 (40>)
Ht	36.5 %	ANA	20> (20>)
		CH50	40.8 U/ml (28-38)
		C3c	66 mg/dl (40-140)
		C4	22 mg/dl (14-60)
		IgG	1570 mg/dl (880-1670)
		IgM	236 mg/dl (90-390)
		IgA	282 mg/dl (40-290)

乳癌治療方針

- 1) 手術; 乳房(乳腺)切除、腋窩リンパ節廓清
- 2) 病期診断; 胸部-腹部 CT, 骨シンチ, 骨髄穿刺
- 3) 通常量化学療法; 3 コース (2-3 週毎)
- 4) PBSCT 採取; 第2/3 コース後
- 5) 放射線療法 (鎖骨部-傍胸骨領域); 50Gy (化学療法に平行して実施)
- 6) 大量化学療法 (PBSCT)
- 7) ER陽性例では Tamoxifen 5 年間

通常量化学療法

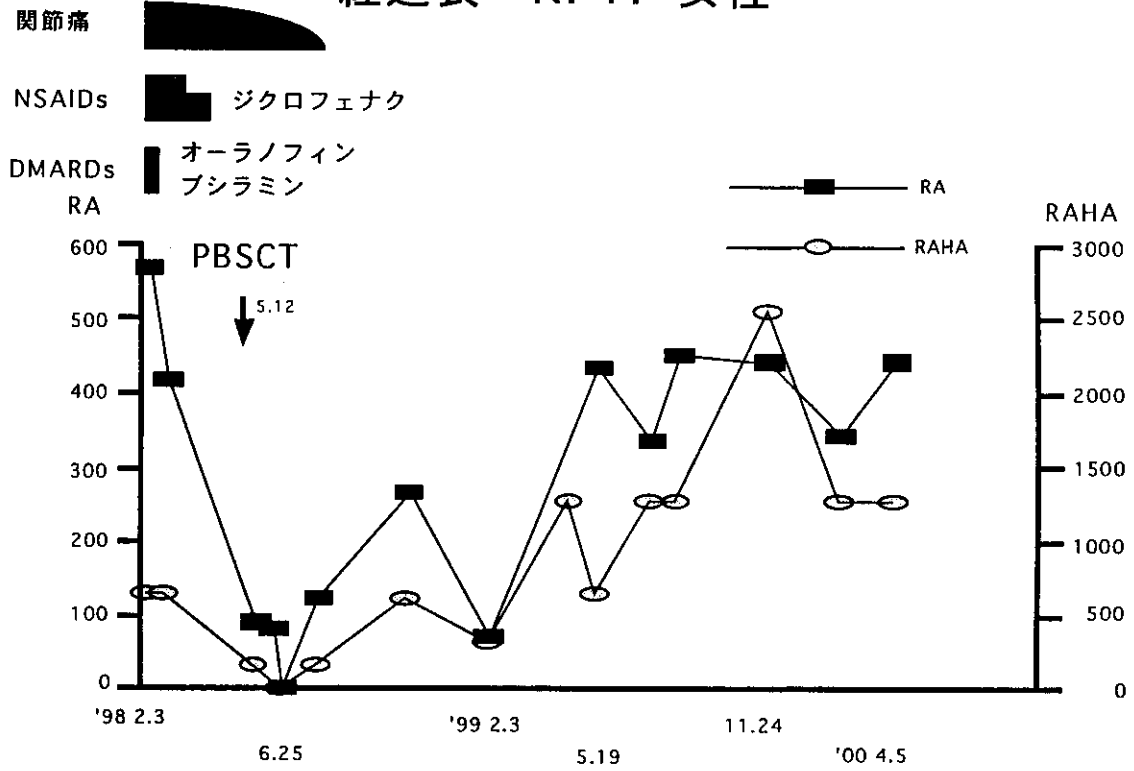
drugs	dose	days				
		1	2	3	4	5
<input type="checkbox"/> doxorubicin	50 mg/m <sup>2</sup> div	↓				
<input type="checkbox"/> cyclophosphamide	1,000 mg/m <sup>2</sup> div	↓				
<input type="checkbox"/> vincristine	1.0 mg/m <sup>2</sup> iv	↓				
<input type="checkbox"/> methotrexate	200 mg/m <sup>2</sup> div		↓			
<input type="checkbox"/> leucovorin (q 6hr)	15 mg/body po			↓	↓	...
<input type="checkbox"/> G-CSF	100-250 $\mu$ g/body sc				↓	...

repeat 3 courses, q3 weeks

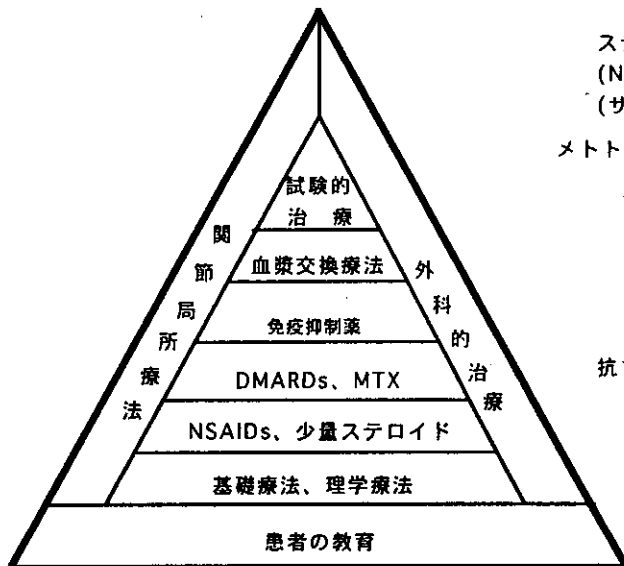
大量化学療法

drugs	dose	days						
		-5	-4	-3	-2	-1	0	1
<input type="checkbox"/> thio-TEPA	200 mg/m <sup>2</sup> div	↓	↓	↓				PBSCT
<input type="checkbox"/> etoposide	300 mg/m <sup>2</sup> cont. div	↓	↓	↓			↓	
<input type="checkbox"/> cyclophosphamide	2,000 mg/m <sup>2</sup> div	↓	↓	↓				
<input type="checkbox"/> G-CSF	8 $\mu$ g/kg sc							↓

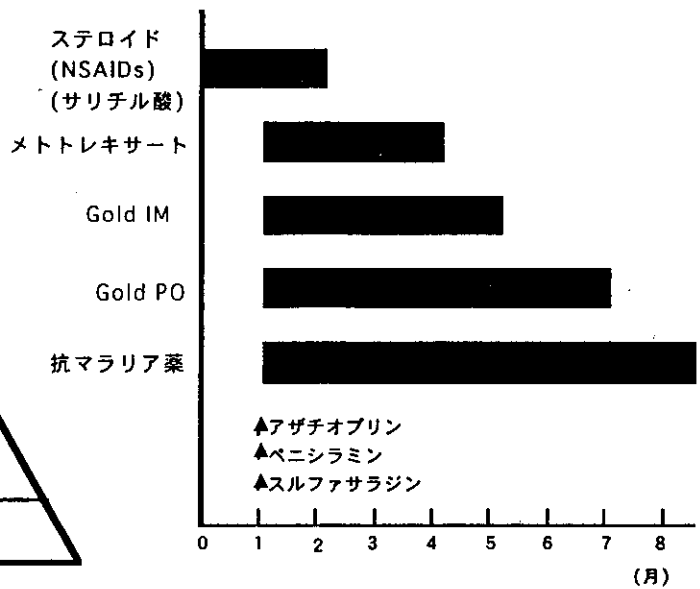
# 経過表 K. T. 女性



## ピラミッド方式



## Step-down bridge療法



(再掲)

2. 平成12年度第二回研究班会議

【タイトル】

I. 主任研究者挨拶並びに報告:

- 造血細胞移植の現状、問題点、将来 ..... 131  
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

II. 分担研究報告

テーマ I. 造血細胞移植から細胞治療へ

- 1) HLA 不一致血縁者間骨髄移植後の再発に際し、活性化 CD4 リンパ球輸注を  
施行した AML の 1 例 ..... 133  
加藤剛二 松山孝治 小寺良尚 名古屋第一赤十字病院 骨髄移植センター  
山本興太郎<sup>1)</sup> 関根 軍彬<sup>2)</sup> 1) 東京医科歯科大学 2) 株式会社リンフォテック
- 2) 造血幹細胞移植における活性化 T リンパ球の DLI への応用 ..... 135  
伊藤仁也 旭川医科大学 小児科
- 3) ① Y 染色体特異的のマイナー組織適合抗原の GVHD および GVL 効果への関与 ..... 137  
② CML 再発例に対する DLI 後の GVL 効果発現に関する臨床研究 ..... 138  
① 塩原信太郎 ② 中尾眞二 金沢大学医学部 輸血部/第三内科
- 4) 骨髄移植後 GVHD における HHV-6 の関与 ..... 139  
工藤寿子 小島勢二 名古屋大学大学院 成長発達医学
- 5) 当科における同種末梢血幹細胞移植の治療成績 ..... 141  
原田実根 岡山大学医学部 第二内科
- 6) 自家造血幹細胞移植の確立 ..... 143  
岡本真一郎 慶應義塾大学医学部 内科
- 7) 自家造血幹細胞移植 の治療成績 ..... 145  
小川啓恭 大阪大学医学部 分子病態内科学 血液腫瘍学
- 8) 骨髄非破壊的前処置療法を用いた同種造血幹細胞移植に関する研究 ..... 147  
神田善伸、高上洋一 国立がんセンター中央病院 内科
- 9) 多発性骨髄腫に対するミニ移植 ..... 報告文書なし  
吉田 喬 富山県立中央病院 内科
- 10) 効率的な体外増幅法のためのヒト造血幹細胞の純化に関する研究 ..... 149  
辻 浩一郎 浅野茂隆 東京大学医科学研究所先端医療研究センター

テーマ II. ヒト組織適合抗原の解析と応用

- 11) 移植免疫反応と HLA-C, E 抗原 ..... 151  
赤塚美樹 森島泰雄 愛知県がんセンター 腫瘍免疫部/血液化学療法部
- 12) HLA の DNA タイピングの普及に関する研究 ..... 152  
山本 健 笹月健彦 九州大学・生体防御医学研究所 遺伝学部門
- 13) ① TNF 遺伝子多型の移植への影響 ..... 154  
② 日本人 HLA-A, B, DR の DNA 検査法の改良 ..... 156  
① 石川善英、② 坂内 誠 赤座達也 十字猛夫 日本赤十字社中央血液センター

- 14) マイナー組織適合性遺伝子検索のためのゲノムワイドな多型マイクロサテライトの  
 収集 ..... 報告文書なし  
 猪子英俊 東海大学医学部 分子生命科学2
- 15) 新規に同定されたマイナー抗原 HA-8 とその臨床的意義 ..... 158  
 赤塚美樹 森島泰雄 愛知県がんセンター 腫瘍免疫部/血液化学療法部
- 16) 母児免疫寛容の指標としてのマイクロ・キメリズム ..... 160  
 佐治博夫 丸屋悦子 特定非営利活動法人 HLA 研究所
- 17) 母子間マイクロキメリズムの HLA 不適合造血細胞移植への応用 ..... 162  
 一戸辰夫<sup>1)</sup> 玉木茂久<sup>2)</sup> 1) 京都大学医学部附属病院 第一内科  
 2) 山田赤十字病院 内科

テーマ III. 膠原病に対する造血細胞移植—適応疾患拡大のモデルとして—

- 18) 重症強皮症患者への末梢血幹細胞移植 ..... 報告文書なし  
 小池隆夫 北海道大学医学部 第二内科
- 19) 自家造血幹細胞移植を用いた難治性若年性関節リウマチの治療 ..... 164  
 河 敬世 大阪府立母子保健総合医療センター 小児血液
- 20) 造血幹細胞移植の適応拡大に向けて ——膠原病合併症例における現状—— ..... 166  
 深谷修作 鳥飼勝隆 藤田保健衛生大学 感染症・リウマチ内科



**厚生省ミレニアムプロジェクト**

造血細胞の自己修復能力、再生能力を利用した治療法の  
開発と普及に関する研究

「造血細胞移植の現状、問題点、将来」

主任研究者  
小寺良尚

平成13年2月10日  
東京

**Nationwide Registry System of Hematopoietic Stem Cell Transplantation  
in Japan-(1)**

For adult patients:  
The Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation

For pediatric patients:  
The Japanese Society of Pediatric Hematology

Both were combined since 1998.

Registered institutes (as of December, 1999):  
Internal Medicine: 154, Pediatrics: 115, Urology: 14  
Gynecology: 4, Surgery: 1

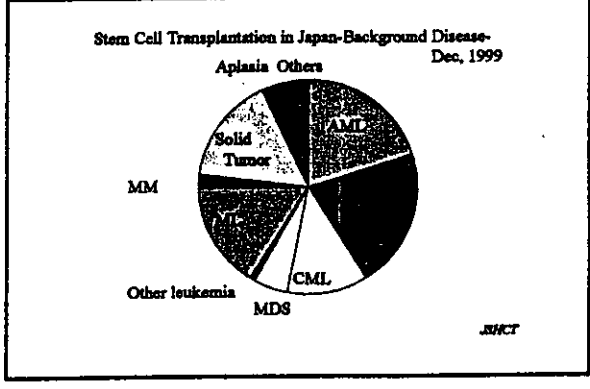
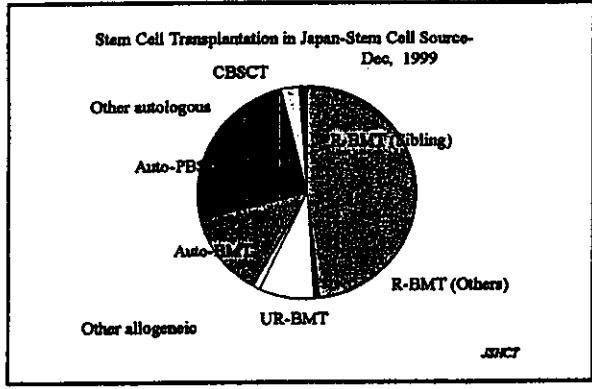
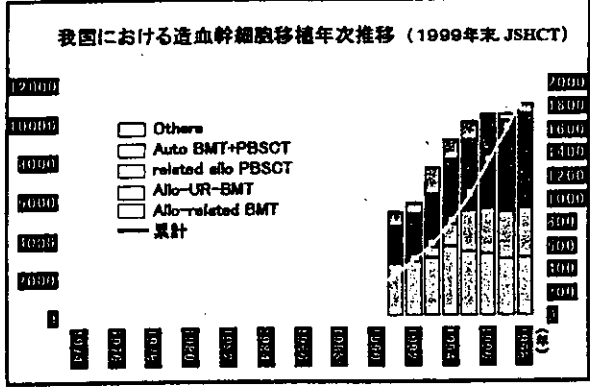
Total: 288 institutes JSHCT

**Nationwide Registry System of Hematopoietic Stem Cell Transplantation  
in Japan-(2)**

The cases of UR-BMT are also independently reported to JMDP.

The cases of unrelated CBSCT are also independently reported to Japan Cord Blood Bank Network.

The cases of allogeneic PBSCT are also independently reported to the subcommittee for allogeneic PBSCT in JSHCT since April 2000.



**我が国における造血細胞移植の潜在需要と供給率**

	年間発生例数	44歳以下	化療等治療例	潜在需要 (a)
1. 血液系悪性腫瘍				
急性白血病	4,066	2,526	740	1,786
慢性白血病	845	480	?	480
2. 血液系非悪性疾患				
再生不良性貧血(重症)	300	200	?	200

	1999年実績(全年齢) (b)	実施率(供給率) (b/a)
1. 血液系悪性腫瘍		
急性白血病	580	32%
慢性白血病	217	45%
2. 血液系非悪性疾患		
再生不良性貧血(重症)	66	33%

Nationwide Registry System of Hematopoietic Stem Cell Transplantation  
in Japan-(3)

*Capture rate (in terms of case numbers)*

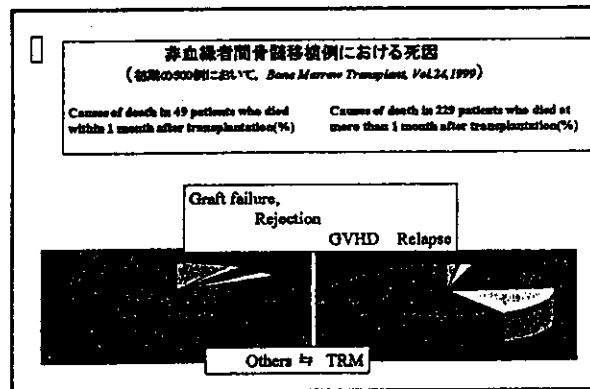
Overall allogeneic BMT: approx. 70%

Overall autologous HSCT: <70%

UR-BMT: nearly 100%

CBSCT: nearly 100%

Allogeneic PBSCT: nearly 100%



**研究全体の目的**

血液、骨髄系の細胞はもともと再生能力を有し、その特質を利用した同種ならびに自己造血細胞移植療法(同種骨髄、末梢血、臍帯血、自己骨髄、末梢血幹細胞移植ならびに同種リンパ球系細胞輸注;DLI)は、それまで不治の病とされてきた各種疾患、病態を有する患者に高い確率で治療と良好なQOLをもたらしてきた。本研究はこれら多様な同種、自己造血細胞移植を一体的に捉え、そのさらなる成績向上、適用範囲の拡大、ならびにドナーの負担の軽減を、同種又は自己由来の血液、骨髄系細胞の、自己修復、再生能力を最大限に引き出すことにより実践することを目的とする。

- 研究テーマ**
- テーマ 1. 造血細胞移植から細胞治療へ
- 1) DLTと細胞治療
  - 2) 同種末梢血幹細胞移植
  - 3) 自家造血幹細胞移植の確立と海外ドナーからの移植の推進
  - 4) ミニトランスプラント
  - 5) 成分移植
- テーマ 2. ヒト組織適合抗原の解析と応用
- 6) HLA-C座抗原の役割
  - 7) HLA-DNAタイピングの意義の確立
  - 8) マイナー抗原の解析
  - 9) ゲノムワイドな組織適合性遺伝子の件策
- テーマ 3. 膠原病に対する造血細胞移植  
—適応疾患拡大のモデルとして—

問題点	現行、将来
供給率:	自家移植、母児間移植、成分移植(Clin-max) ↑↓
拒絶とGVHD:	組織適合性抗原(MHC, mHa) ↑↓
再発:	DLI, CD-4細胞治療, HLA-C, mHa, 特異的T細胞治療 ↑↓
TRM:	同種末梢血幹細胞移植、Mini-transplant ↑↓
対象年齢:	Mini-transplant ↑↓
対象疾患:	膠原病、その他の癌など

## HLA不一致血縁者間骨髄移植後の再発に際し、活性化CD4リンパ球輸注を 施行したAMLの1例

加藤剛二、松山孝治、小寺良尚 名古屋第一赤十字病院 骨髄移植センター  
山本興太郎 東京医科歯科大学、関根暉彬 株式会社リンフォテック

### 症例

- 1, 症例 15歳 男
- 2, 診断 AML M2
- 3, 現病歴：1997年10月22日AML発症  
末梢血 WBC  $1900/\text{mm}^3$  (blast 39%), Hb 8.4g/dl, Plt  $3.3 \times 10^4/\text{mm}^3$ ,  
骨髄 NCC  $9 \times 10^4/\text{mm}^3$ , POX (+)のblast 85%, FAB M2と診断。  
染色体46, XY, マーカーはCD13, CD15, CD33, HLA-DR陽性。  
ANLL91にて治療開始し、強化1回施行後に寛解到達。その後も強化療法施行し1999年1月off  
therapyとしたがリケ月後の骨髄穿刺にてblast 46%と再発。再寛解導入を試みるも寛解に到らず  
造血幹細胞移植目的に当科紹介入院。
- 4, 当科入院時現症及び検査結果  
体重38kg、発熱なく全身状態良好。  
末梢血 WBC  $1900/\text{mm}^3$  (blast 0%), Hb8.3g/dl, Plt  $7.4 \times 10^4/\text{mm}^3$ ,  
骨髄 NCC  $6 \times 10^4/\text{mm}^3$ , blast 24%,

### 骨髄移植

1. HLA：患者 A24, B35, 62, Cw3, DR9,10  
ドナー (母) A11, 24, B35, 62, Cw3, DR4,10
2. 前処置：BU+L-PAM+ TBI+ ATG
3. GVHD予防：MTX+FK506
4. 移植：平成12年1月13日、血型一致の母より $3.60 \times 10^8/\text{kg}$ のBMを採取して移植。
5. 血液学的回復：WBC  $\geq 1000/\text{mm}^3$  day18, ANC  $\geq 500/\text{mm}^3$  day18  
Ret.  $\geq 1\%$  day28, Plt  $\geq 5$ 万 day28
6. 移植後経過：急性及び慢性GVHD(-)、特記すべき合併症なし、day194に骨髄再発

### DLI

骨髄再発をきたしたため母親より末梢血リンパ球を採取し以下の3回にわたって投与。  
day200 ( $1.0 \times 10^7/\text{kg}$ ), day221 ( $1.0 \times 10^8/\text{kg}$ ), day249 ( $3.2 \times 10^8/\text{kg}$ ),  
DLI施行後も芽球は増加し(max78%)、好中球の低下に伴って発熱を繰り返し、頻回の赤血球及  
び血小板輸血が必要となった。

## 活性化CD4リンパ球輸注

### 1. 細胞培養及び輸注

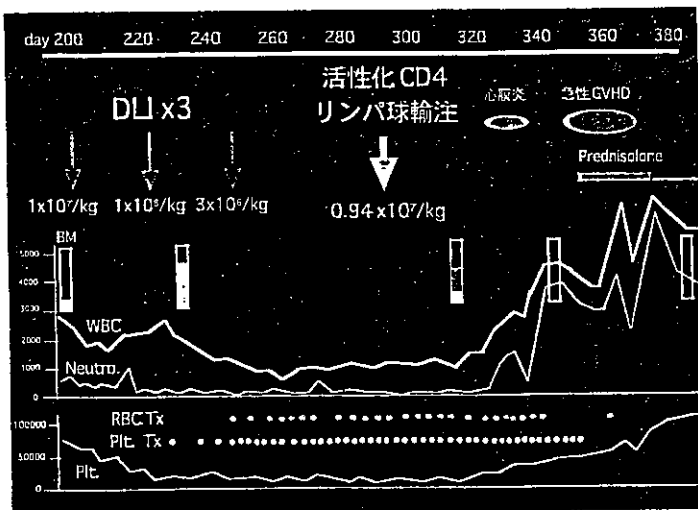
母より末梢血50ml採取し感染症細胞治療研究会に活性化CD4リンパ球の培養を依頼。  
11月1日 (day293)に $0.94 \times 10^7/\text{kg}$ の細胞を輸注。

### 2. 輸注後の血液学的変化

末梢血：輸注後29日より好中球が増加、その後網状球、血小板も増加し現在は輸血不要。  
骨髄：輸注後23日の骨髄にて大型の単球様細胞が増加し芽球は10%に減少。  
輸注ご 50日目の骨髄にて寛解が確認され、同日のFISHでXYは1.9%に減少。

### 3. 合併症

心膜炎：輸注後約30日頃より心拡大あり、エコーにて心嚢水の貯留が確認され穿刺にて約300ml排出。  
心嚢液は血性であるが細胞成分は少なく細胞診、細菌培養、ウイルス分離は陰性。  
GVHD：輸注後59日より水様性下痢が500ml/dayみられ、腸管粘膜生検にて急性GVHDの病理診断。  
また黄疸及び皮疹（顔面、手掌、足底）も出現したがPrednisoloneにて改善中。



移植後日数	活性化リンパ球 輸注後日数	キメリズム (%)		BM blasts (%)
		XX	XY	
194		89.8	10.2	9
214		78.9	21.1	4
235		21.8	78.2	78
293	0			
316	23	90.9	9.1	10
341	50	98.1	1.9	0
356	64	95.1	4.0	0

結語：HLA不一致血縁者間骨髄移植後の再発に際してドナーより3回のDLIを施行したが反応の得られなかった症例に対して同一ドナーからの活性化リンパ球輸注を施行した。  
この輸注にて血液学的寛解が得られ、合併症として心膜炎及び急性GVHDが発症したがいずれもコントロールが可能であった。

考案：同種造血幹細胞施行後に再発をきたしてDLIが無効な症例に対しては活性化リンパ球輸注は有効な治療法であり、今後症例を重ねる事によってその有用性、至適投与細胞数、合併症対策等を検討する事が重要と考えられた。

本症例に対し活性化リンパ球輸注を施行するにあたり以下の諸氏に深く御礼申し上げます。（敬称略）

#### 1. 治療プロトコール作成

感染症細胞治療研究会

会長：山本興太郎（東京医科歯科大学）

代表幹事：関根暉彬（株式会社リンフォテック、前国立がんセンター室長）

臨床研究作業部会：伊藤仁也（旭川医科大学）、黒岩保幸（リンフォテック）、

清水則夫（東京医科歯科大学）、土田昌弘（茨城県立こども病院）

中村哲也（東京大学）、森尾友宏（東京医科歯科大学）

#### 2. ドナーCD4陽性Tリンパ球調整

関根暉彬、山口智宏、馬場憲三（リンフォテック）、清水則夫（東京医科歯科大学）

# 造血幹細胞移植における活性化 T リンパ球の DLI への応用

旭川医科大学小児科 伊藤 仁也

リンホテック 関根 暉彬

## 1. 目的

ドナーリンパ球輸注療法(DLI)は、移植後再発白血病においてその有効性が報告されているが、問題点も明らかになってきた。1) II 度以上の GVHD が 34~46%出現し、致死性 GVHD も約 7%出現している。2) 慢性骨髄性白血病においては約 75%の有効性を示すが、急性白血病の有効率は低い(0~35%) 3) リンパ球の採取にはフェレーシスが必要で、ドナーの負担が大きい。4) 臍帯血移植においては事実上 DLI は不可能である。我々はこれらの問題点を解決すべく、少量の末梢血から固相化 CD3 抗体と IL-2 を用い、T リンパ球を活性化、増幅することにより患者に輸注するドナー活性化 CD4 陽性細胞輸注療法を開発した。今回、移植後再発白血病に対し有効性と安全性を検討した。

## 2. 患者と方法

### 活性化 CD4 陽性細胞培養方法

- 1) ドナー末梢血 20ml を Ficol 比重遠心法により単核球に分離した。
- 2) 単核球を OKT-3 を固相化フラスコにて 700U/ml IL-2 添加 RPMI にて 3日間培養した。
- 3) magnetimmunobeads 法にて CD4 陽性細胞に分離し、さらに活性化培養を 2日間継続した。
- 4) 活性化した CD4 陽性細胞をガス透過性バッグに移し、175U/ml IL-2 添加 AIM 培地にて 6-8日間培養し、輸注細胞数の目安を  $5 \times 10^7/\text{kg}$  とし、約 1000 倍増幅した。
- 5) 輸注前には安全試験として細菌培養試験およびエンドトキシンの定量を行い、合格したものを投与した。

### 患者

骨髄移植後再発白血病の 4 例に活性化 CD4 輸注を行った。患者の概要を Table1 に示した。3 例は転座を伴う予後不良型 ALL, 1 例は CML であった。ALL の 1 例は HLA 3loci mismatch ドナーからの CD34 陽性細胞移植、あとの 3 例は HLA 一致ドナーからの骨髄移植を行った。3 例では移植後 II~III 度の GVHD があり、また移植後早期再発例であるため、GVHD high risk 群であった。

UPN	Age/Sex	Leukemia	SCT	State of SCT	Donor/HLA	GVHD (BMT)	Relapse from BMT
019	6/M	ALL t(6;9)	BMT	non CR	sibling 6/6	III	11M
022	1/F	ALL t(11;19)	CD34	non CR	mother 3/6	II	3M
024	16/M	ALL t(2;3)	BMT	1stCR	sibling 6/6	II	2M
003	19/M	CML t(9;22)	BMT	CP	sibling 6/6	0	4Y

Table 1. Patient Characteristics

### Study design

再発確認後、ドナーより末梢血 20 ml を採血し、培養を開始した。輸注は 1 回のみとして、効果と副作用を検討した。副作用の評価は身体所見、血液生化学検査を行い、GVHD の評価として臨床症状の他、全例で直腸生検を実施した。観察期間は輸注後 5 週間とし、免疫能の評価(リンパ球サブセット、IL-2 産生能、反応能試験、リンパ球幼弱試験、NK 活性)を 1 週間毎に行った。GVL の評価として、あらかじめ、樹立してあった自己白血病細胞株を用い 51Cr release 法を用い細胞障害活性を測定した。観察期間中、化学療法やステロイドの投与は行わないものとした。Study は旭川医科大学の IRB に従い、患者、ドナー、家族には文書による Informed consent を得た。

### 3. 結果

臨床効果を Table2 に示した。ALL の 3 例では MRD が消失した。CML の 1 例は 1 回の輸注では、末梢血の bcr/abl 陽性細胞は 50% から 7% まで減少したが CR は得られなかった。Study 終了後、

INF- $\alpha$  + 活性化 CD4 輸注により、8 か月後の骨髓検査にて細胞遺伝学的寛解を得た。発熱など輸注に伴う急性の副作用は認めなかった。1 例で I 度の急性 GVHD を認め、慢性化した。HLA mismatch の例を含め 3 例は GVHD を全く認めなかった。1 例は 3 か月後に再発し、死亡した。1 例は輸注後寛解を継続したが、CMV VHS のため、9 か月後に死亡した。2 例は現在も disease free で生存している。

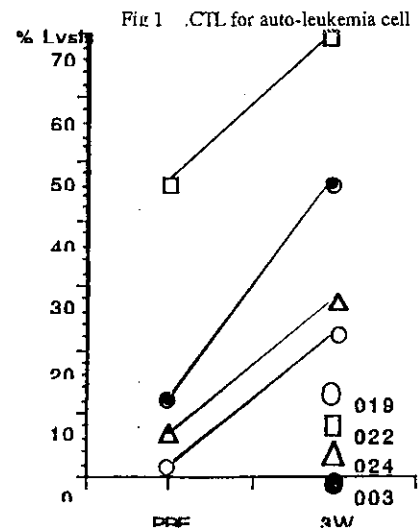
活性化 CD4 陽性細胞輸注後の免疫能の経時変化を検討した。リンパ球サブセットは CD4/CD8 の上昇を認め、活性化マーカーである CD3, HLA-DR double positive cell は輸注後 3 週間をピークに上昇した。また、輸注後 CD19 の上昇を認め、B cell の回復は促進した。PHA に対するリンパ球幼若化反応、IL-2 反応能も輸注後 3 週をピークに上昇した。

GVL 効果の指標として自己白血病細胞に対する Cytotoxic Activity を、Cr 放出法を用いて検討した。Target cell は自己白血病細胞を Effector cell は経時的に患者より採血したリンパ球を用い、E/T ratio=1:50 に設定した。

自己白血病細胞に対する Cytotoxic activity は活性化 CD4 陽性細胞輸注後 3 週間で上昇し、有意差を認めた。(P=0.04) (Fig 1)

UPN	Patient	Blast	DLI (/kg)	Effect	GVHD	Outcome
019	6/M	ALL	5%	2.0x10 <sup>7</sup>	CR(cytogenetic)	I +9M(CMV)
022	1/F	ALL	MRD	5.0x10 <sup>6</sup>	CR(cytogenetic)	0 relapse(3M)
024	16/M	ALL	3%	4.2x10 <sup>7</sup>	CR(cytogenetic)	0 DF
003	19/M	CML	90%	3.1x10 <sup>7</sup>	PR	0 DF

Table 2. Result of donor activated-CD4 infusion



### 4. 考案

我々は、DLI の問題点を改善する目的で活性化 CD4 陽性細胞輸注療法を開発した。DLI の最大の問題点は、GVHD の頻度が高く、約 7% が致死的になることである。Giralt らは CD8 を除去した細胞を、また Edwin らは CD4 に純化した細胞を用いて DLI を行い、GVHD を減少させたと報告している。我々は活性化 CD4 陽性細胞輸注療法後に再発した ALL 女児に対し、活性化 CD4 陽性細胞に活性化 CD8 陽性細胞を混ぜ、dose escalation していく治療を行った。その結果、CD8+細胞を 2.1x10<sup>7</sup>/kg 輸注したところで、GVHD が出現し、1.42x10<sup>8</sup>/kg の輸注では、IV 度の GVHD が出現し、致死的となった。

一方、DLI では CML と比べ、急性白血病では有効率は低いと報告されている。白血病細胞の免疫原性の違いが指摘されているが、その機序は未だ解明されていない。DLI では通常効果発現までの期間が 2 週から 8 週を要することが多いが、これは in vivo での CTL の誘導と活性化までの期間とおおむね一致する。急性白血病では細胞回転が早く、リンパ球の in vivo での活性化が間に合わないことも治療効果が低いことの一因であると推測される。我々は、活性化した T cell を輸注することにより、この time lag を短縮し、急性白血病にも効果があると仮定した。実際、微小再発であれば、当科の急性白血病の 3 例は CR を得ることが可能であった。以上の仮説に基づき、我々は CD8 の混入率は 1x10<sup>7</sup>/kg 以下になるよう CD4 を純化し、固相化 CD3 と IL-2 で活性化する活性化 CD4 輸注療法を行っている。また活性化リンパ球輸注療法の利点として、少量の末梢血から増幅可能であることである。リンパ球の採取にフェレーシスは必要なく、ドナーの負担を軽減できるため、小児ドナーにも安全に行えることができる。また臍帯血においても 1000 倍から 5000 倍 T cell を増幅できることから臍帯血移植へ適応できる可能性があり、今後、期待される治療である。有効な細胞数や投与回数および安全性の検討を行う臨床試験が必要と考えられる。

厚生省科学研究ヒトゲノム・再生医療研究事業『造血細胞の自己修復能力、再生能力を利用した治療法の開発と普及に関する研究』班。平成13年2月8日。協力研究員：塩原信太郎・佐藤英洋・森田真紀・笠原慶子（金沢大学輸血部）、近藤恭夫・村田了一・中条達也・高見昭良・中尾真二（同第三内科）

『Y染色体特異的マイナー組織的合抗原のGVHDおよびGVL効果への関与』

【目的】HLA一致ドナーが複数いる場合には、血液細胞のみに発現しているマイナー組織適合抗原（mHa）の不適合ドナーを選択することで、GVHDを回避しながらGVL効果の発現を期待することが出来る。現在、9種類のmHaが検討可能だが、このうち4種類はY染色体特異抗原（H-Y抗原）であり、性別とHLA型だけから不一致の有無を推測出来る。自験例についてmHaをタイピングするとともに、JSHCTのデータを用いてH-Y抗原不適合が移植成績に及ぼす影響を検討した。

【対象】金沢大学移植班で施行したHLA適合ドナーからの骨髄移植症例58例と、JSHCTに報告された移植例中、HLA一致非血縁ドナーから移植されたCML慢性期例219例を対象とした。

【方法】9種類のmHaは佐治・丸屋らの方法に準じてPCR-RFLP法で検討し、4種類のH-Y抗原の不適合はドナーとホストの性別と、H-Y抗原の提示に必要なHLAクラスⅡ抗原の保有の有無（A1, A2, B7, B60）で検討した。JSHCTから資料提供を受けた219例はドナーの性別を調べ、HLAと移植成績からH-Y抗原不適合の影響を検討した。

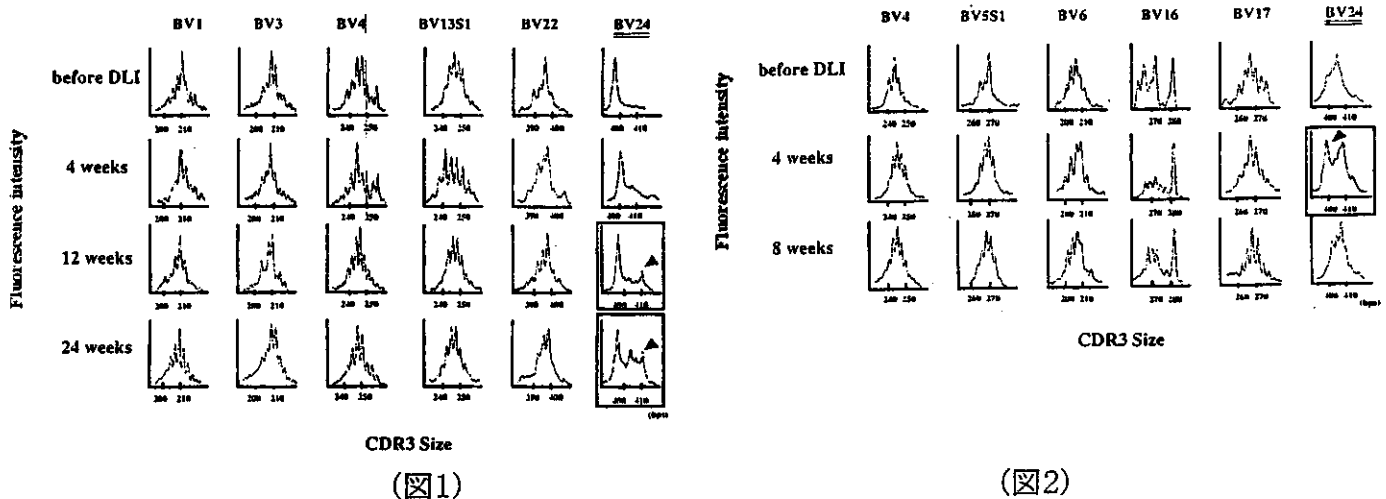
【結果】1) われわれの施設で9種類のmHaを検討した27例中、mHaの不適合例（HLA拘束性でGVHD方向の不一致例）は合計8例、非血縁ドナーからの移植（UR）4例と血縁ドナーからの移植（R）4例であった。mHa不適合8例の急性GVHD（ $\geq 2$ ）発症はURで4/4（100%）、Rで2/4（50%）であった。2) URの4例はいずれもH-Y抗原の不一致を認め、うち3例はH-Y抗原の不一致のみであった。3) 金沢大学でURBMTを施行した28例のうち、女性ドナーから男性患者への移植例は7例で、抗原提示に必要なHLAアリルをもつ4例では100%GVHDを認めたが、アリルをもたない3例のGVHD発症は3例中1例（33%）であった。RBMTの30例中女性ドナーから男性患者への移植例は11例で、このうちHLAアリルをもつ5例中2例（40%）がGVHDを発症した。4) JSHCTの219例中、女性ドナーから男性患者への移植例は50例で、急性GVHD（ $\geq 2$ ）合併は17/50（34%）であった。この50例中H-Y抗原を提示出来るHLAアリル陽性患者は32例で、この群の急性GVHD（ $\geq 2$ ）発症は11/32例（34%）であった。再発例を検討したところ、50例全体の再発例は4例（8%）、H-Y抗原を提示できる32例中では3例（9%）と差を認めなかった。

【考察】少数の検討ではあるが、今回の検討によりGVHDの発症に現在検討可能なmHaが関与していることが示唆された。特にH-Y抗原は重要と考えられたが、URBMTを受けたCML慢性期例ではH-Y抗原のGVHDやGVL効果への関与は否定的と考えられた。従って、男性のCML慢性期患者がドナーを選ぶ際に、ドナーの性別を考慮する必要はないと考えられる。今後はCML急性期やAML、ALLの患者についてH-Y抗原の不一致がGVHDや再発に及ぼす影響を検討する予定である。

平成12年度厚生科学研究ヒトゲノム・再生医療等研究事業  
 「造血細胞の自己修復能力、再生能力を利用した治療法の開発と普及に関する研究」班  
 『CML再発例に対するDLI後のGVL効果発現に関する臨床研究』  
 中間報告

金沢大学第三内科 近藤恭夫、中尾眞二 同輸血部 塩原信太郎

共通プロトコールを提案後2症例が登録された。CDR3 size spectratyping法による末梢血および骨髄T細胞レパトアの変化とGVL効果の発現について解析結果を中間報告する。【結果】UPN001は26才女性、UPN002は46才男性。いずれも同種骨髄移植後細胞遺伝学的再発でDLI後の観察期間はそれぞれ24週、8週である。UPN001はDLI後4週までは骨髄および末梢血T細胞レパトアに変化を認めなかったが、8週の骨髄BV24陽性T細胞に、T細胞のクローン性増殖を示すピークが認められた(図1)。12週には末梢血BV24陽性T細胞にも同様のピークが認められるようになった。24週の現在まで一貫してピークを認めるが、末梢血および骨髄Ph染色体陽性細胞は減少しておらず、汎血球減少やGVHDの合併も認めていない。UPN002はDLI後4週の骨髄および末梢血BV24陽性T細胞にクローン性増殖を示すピークが認められた(図2)。このピークの出現は一過性で骨髄Ph染色体陽性細胞が陰性化した8週目には末梢血から消失したが骨髄では残存していた。



【まとめ】DLI後のある時期には骨髄および末梢血において、T細胞のクローン性増殖を示すピークが認められ、発現時期は末梢血が骨髄に先行することはなかった。これまで報告してきた自験2例と同様にUPN002では、GVL効果発現時期に一致して末梢血のCDR3サイズプロフィールにピークが出現し短時間で消失したが、骨髄では同じピークが残存した。またDLI抵抗例でも骨髄および末梢血においてT細胞のクローン性増殖が認められたが、有効例とは異なり末梢血のピークは持続した。【考察】オランダのライデン大学のグループは、CML再発に対するDLI後に、マイナー組織適合抗原 (mHa) のHA-1・HA-2に特異的なCTLをテトラマーを用いて経時的に観察し、GVL効果の発現に一致してこれらのCTLが急速に増加し、Ph染色体陽性細胞の減少ともなって速やかに減少することを報告した。これは、UPN002や自験例で観察されたT細胞のクローン性増殖の経過と一致していることから、これらのT細胞も何らかのmHaを認識して増殖していた可能性がある。現在、T細胞のクローニングと機能の解析を試みている。



## 「骨髄移植後 GVHD における HHV-6 の関与」

名古屋大学大学院医学研究科小児科学／成長発達学 工藤寿子、小島勢二

### 【はじめに】

HHV-6は骨髄移植後2週間から3週間頃約半数のレシビエントで活動性感染が見られ、臨床的に発熱や acute GVHDに類似した発疹を認めることが多い。HHV-6感染と acute GVHDの関連性を解明することは、患児の治療方針を決定して行くうえで重要な課題である。

#### 仮説

- ・ HHV-6感染に伴なうウイルス性発疹症
- ・ HHV-6感染が acute GVHDの引き金となる
- ・ acute GVHDがHHV-6の再活性化を助長する

### 【方 法】

- ・ 検体採取方法：  
BMT後経時的に（2週間間隔）約2ヶ月後までEDTA加末梢血を採取。皮膚生検時にも同様の採血。皮疹出現時、acute GVHD鑑別を目的として皮膚生検を施行。
- ・ HHV-6分離方法：  
採取末梢血単核球を臍帯血単核球と混合培養。
- ・ HHV-6抗体測定法：  
間接蛍光抗体法。
- ・ DNA抽出ならびにPCR法：  
生検皮膚組織よりQIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN)でDNA抽出。  
HHV-6 U31遺伝子部分をnested PCR法にて増幅。
- ・ 統計計算：  
X二乗検定

### 【対 象】

名古屋第一赤小児医療センター、名大小児科、藤田保健衛生大学血液内科で同種骨髄移植を受け、移植後に皮疹が出現しGVHD鑑別のために皮膚生検を施行された22例、25検体。

- ・ 性別：男性：15例、女性：7例
- ・ 年齢：1～57歳（平均19.5歳）
- ・ 原疾患：ML（2例）、ALL（6例）、AML（8例）、CML（4例）、SAA（1例）、WAS（1例）
- ・ 皮疹出現日：7～198日（平均35日）

### 【前処置ならびにGVHD予防】

- ・ 前処置  
血液悪性腫瘍  
TBI+MEL（±BU or VP16）  
TBI+CY（BU or VP16 or AraC）  
その他  
再生不良性貧血、Wiskott-Aldrich症候群  
TBI+ATG+CY
- ・ GVHD予防  
CsA+MTX

Details of the virological examinations  
in each recipient (group A)

No. of cases	Age (yrs)	HHV-6			
		antibody titers	DNA in skin tissue*	Isolation of virus*	Onset of skin rash*
1	16	32	-(12)	-	9
2	10	64	-(14)	-	15
3	43	64	-(15)	-	10
4	6	128	-(27)	-	24
5	2	64	-(14)	+(14)#	12
6	25	128	-(10)	+(17)#	7
7	5	32	-(11)	+(17)#	8
8	15	256	-(12)	+(22)#	12
9	19	128	-(13)	+(14)#	9
10	6	128	-(22)	+(15)#	18
11	8	256	-(40)	+(28)#	29
12	7	128	+(13)	-	13
13	45	64	+(22)	-	19
14	11	64	+(18)	+(15)#	
15	39		+(21)	+(20)#	18

\* days after BMT

# HHV-6 was isolated 10 days before or after the onset of skin rash.

Details of the virological examinations  
in each recipient (group B)

No. of cases	Age (yrs)	HHV-6			
		antibody titers	DNA in skin tissue*	Isolation of virus*	Onset of skin rash*
16	19	128	-(201)	+(14)	198
17	15	16	-(33)	-	32
18	1	64	-(34)	-	33
19	4	256	-(35)	+(23)	34
20	9	8	-(40)	+(15)	35
21	57	64	-(43)	-	37
22	36	64	-(67)	-	60
23	2	64	-(69)	+(14)	64
24	19	128	-(85)	+(14)	80
25	49	64	-(92)	-	89

\* days after BMT

Association between the results of virological examinations and onset of skin rash

Category of virological examinations	Onset of skin rash		p value
	day 0-day 30 (n=15)	day 31- (n=10)	
HHV-6 genome in skin tissue			
Positive	4	0	0.220
Negative	11	10	
Isolation of HHV-6 from PBMC			
Positive	9	0	0.008
Negative	6	10	
HHV-6 infection			
Positive	11	0	0.001
Negative	4	10	

【考 察】

- ・HHV-6感染は、骨髄移植後30日までの早期に出現するGVHD様皮膚発症に関与している可能性が考えられた。
- ・皮膚発症のメカニズムに関しては、一部に皮膚部からウイルスゲノムが検出されたり、皮膚出現時期とウイルス分離時期が一致する症例があることからウイルス性発疹症、あるいは皮膚に感染したHHV-6がGVHDを増悪させる可能性が推測された。
- ・一方で、皮膚出現から遅れてウイルスが分離される症例も多く、このような症例ではacute GVHDによりHHV-6再活性化が助長されている可能性が考えられた。

【共同研究者】

名古屋大学病態研、ウイルス感染  
吉川哲史

藤田保健衛生大学医学部小児科  
大橋正博、鈴木恭子、  
須賀定雄、浅野喜造

名古屋第一日赤小児医療センター、  
血液腫瘍科  
加藤剛二、松山孝治

藤田保健衛生大学医学部皮膚科  
鈴木加余子、松永佳世子

名古屋第一日赤病理部  
平林紀男

藤田保健衛生大学医学部血液内科  
宮崎 仁、平野正美

1. 岡山大学第二内科における同種末梢血幹細胞移植の治療成績

Patient Characteristics	
No. of patients	30
Age	36 (16-57)
Male:Female	22:8
Diagnosis & Disease status	
Standard risk	13
AML/1,2CR	7
ALL/MCR	1
CMML/CP	5
High risk	17
AML/Ref	5
ALL/Ref	3
CMML/BC	3
MDS	2
Others	4

Okayama University Medical School

Transplant data	
Conditioning regimen	TBI containing 17 non-TBI 13
GVHD prophylaxis	CSP/eMTX 23 CSP/mPDN 7
Transplanted CD34+ cell doses (10 <sup>6</sup> /kg): median (range)	5.9 (1.3-19.7)
G-CSF following allo-PBSCT Filgrastim 200µg/m <sup>2</sup> from day 1	
Hematologic recovery (median/range)	
Days to ANC >500/µl	12 (9-35)
Days to PLT >20,000/µl	14 (12-128)
Days to Ret >1.0%	16 (12-27)

Okayama University Medical School

Acute-GVHD	
No. evaluable = 26/30 (Standard risk 12, High risk 14)	
Grade I-IV	6/26 (23%) (Standard 4/12, High 4/14)
III-IV	3/26 (12%) (Standard risk 3/12)
Onset	day 30 (15-57)
No. of infused cells (Age: median)	
	CD34+                      CD3+
GVHD (+)	5.5 × 10 <sup>6</sup> na    5.2 × 10 <sup>6</sup> na
GVHD (-)	6.1 × 10 <sup>6</sup> na    6.3 × 10 <sup>6</sup> na
Prognosis	
Alive & well	3/6
Dead	3/6
	A C-GVHD 1 TMA 1 Relapse 2 Others 1

Okayama University Medical School

Chronic-GVHD	
No. evaluable = 22/30 (Standard risk 11, High risk 11)	
Limited	0/22 (0%)
Extensive	8/22 (36%) (Standard 5/11, High 3/11)
Onset	day 165 (55-300)
No. of infused cells (Age: median)	
	CD34+                      CD3+
GVHD (+)	6.0 × 10 <sup>6</sup> na    4.7 × 10 <sup>6</sup> na
GVHD (-)	6.4 × 10 <sup>6</sup> na    6.1 × 10 <sup>6</sup> na
Affected organs	
Oral	7/8
Liver	3/8
Lung	1/8
Skin	6/8
Eyes	2/8
Muscle	1/8
Prognosis	
Alive & well	4/8 (Impaired OOL 2)
Dead	2/8 (GVHD 1, Relapse 1)

Okayama University Medical School

Outcome		
	Standard risk n=13	High risk n=17
No. of pts. surviving	9/13	6/17
Overall survival at 4 year (median follow up: 26 mo.)	69%	27%
Early death (within 30 days)	1/13	2/17
Primary cause of death		
Disease progression	0	6
GVHD	1	0
TMA/VOD	1	1
Sepsis	1	0
Hemorrhage	0	1
RRT/MOF	1	1
Others	0	1

Okayama University Medical School

Summary	
1.	移植後の造血回復は速やかであるが、移植後早期死亡率に関しては standard risk 群と high risk 群での差異は明らかでない。
2.	GVHD 予防法は、CSP/eMTX または CSP/mPDN を用いたが、grade II-III の GVHD は 31% であった。
3.	慢性 GVHD は、extensive type が 36% にみられ、少数例に QOL の低下が著しい重症例が認められた。
4.	Standard risk 群での再発は認めないが、high risk 群の予後は不良であった。(4年予測生存率)
5.	慢性 GVHD の performance status に及ぼす影響や治療に対する反応性などはさらに検討を要する。また、移植後の Event free survival に関して、疾患および移植時期別に prospective な検討が必要であり、特に standard risk 群での allo-PBSCT と allo-BMT の成績の差異を明らかにする必要があると思われる。

Okayama University Medical School

### 移植前治療

fludarabine 25mg/m<sup>2</sup>, iv days -5~-1  
 cyclophosphamide 30mg/kg, iv days -7~-6

GVHD予防: CyA + short-term MTX

### Patient Characteristics

	Age Sex	Diagnosis	適応
Case 1	53F	NHL-ref	年齢 Auto-PBSCT後
Case 2	40F	AML-ref	腎障害
Case 3	58M	NHL-ref	年齢 Auto-PBSCT後
Case 4	67M	RAEB	年齢
Case 5	43F	ALL-ref	腎障害
Case 6	16M	AML-ref	Allo-PBSCT後

### PBSCH

	donor age/sex	No of apheresis For PBSCH	No of cells collected	
			CD34(10E6/kg)	CD3(10E8/kg)
Case 1	49M (弟)	2	2.9	5.3
Case 2	36F (妹)	2	5.0	6.0
Case 3	63M (兄)	2	5.1	6.4
Case 4	50M (弟)	1(VVR)	0.8	0.5
Case 5	21F (娘)	2	4.0	3.0
Case 6	50F (母)	2	3.8	1.3+α

### Transplantation Data

	No of cells collected		Days to		TRP (Grade>2)
	CD34(10E6/kg)	CD3(10E8/kg)	ANC>500	Ret>2000	
Case 1	2.9	5.3	Day 12	Day 9	なし
Case 2	4.8	5.0	Day 11	Day 25	なし
Case 3	5.1	6.4	Day 10	Day 9	なし
Case 4	2.0 (PB+BM)	0.5+α	Day 17	Day 22	前注時の 血圧上昇(2)
Case 5	4.0	3.0	Day 17	Day 22	低酸素血症 (生着度低群: 3)
Case 6	3.8	1.3+α	Day 10	Day 15	肝障害 (抗真菌剤: 3)

### 結果

	Donor >85%	aGVHD	転帰	観察期間(日)
Case 1	Flu(125/m <sup>2</sup> ) Cy(50mg/kg)	Day 7	なし	PD(死亡) 107
Case 2	Flu(125/m <sup>2</sup> ) Cy(50mg/kg)	Day 14	なし	PD 127+
Case 3	Flu(125/m <sup>2</sup> ) Cy(50mg/kg)	Day 14	III	感染症(死亡) 54
Case 4	Flu(125/m <sup>2</sup> ) Cy(50mg/kg)	Day 46	なし	NC 62+
Case 5	Flu/Cy Bu(8mg/kg)	Day 14	I	CR 91+
Case 6	Flu/Ida AraC/ATG	Day 14	III	PD 55+

### 考察

1. 不応期の造血器悪性腫瘍5例と未治療骨髓異形成症候群1例 (RAEB) に対して、fludarabineを含む前治療を用いて同種末梢血幹細胞移植を行った。
2. 前治療関連毒性は軽微であった。
3. 明らかな生着不全は見られず、進行期造血器悪性腫瘍5例では移植後早期に完全キメラとなった。
4. 不応期の造血器悪性腫瘍に対しての免疫学的抗腫瘍効果が示唆されたが、治療をもたらすには不十分であると考えられた。