

(surface marker, gene rearrangement) が明らかな症例。6. 患者から文書での Informed consent を得られた症例。

(研究計画)

I) 末梢血幹細胞採取

化学療法 : IVAC (Ifomide 1500 mg/m² days 1-3, AraC 1000 mg/m² × 2 days 1-2, Etoposide 60 mg/m² days 1-3)、場合により CHOP/ high CHOP、その他の治療 (DHAP, ICE 等) により harvest を行う。

G-CSF : 200 µg/m² × 2 s.c. または G-CSF 400 µg/m² × 1 s.c. days 12-16 (harvest 終了まで)。

幹細胞採取 : WBC > 4000, Plt > 50000 に回復時 (day 14 頃) に採取開始、最高3日間連続。採取した幹細胞の CD34 陽性細胞数を FACS にて測定し、1日目あるいは2日目までに十分な CD34 陽性細胞 (2.0 × 10⁶/kg) が採取できたかを確認する。

II) CD34 陽性細胞の純化 : 十分な CD34 陽性細胞が採取できたことを確認後、2日目あるいは3日目に採取した末梢血を CD34 陽性細胞純化に使用する。精製した細胞を患者に戻すことはしない。

III) CD34 陽性細胞の分離 : 磁気細胞分離システム (Isolex : Baxter) を用い、末梢血単核細胞と抗 CD34 モノクローナル抗体を反応させ、CD34 陽性細胞を回収する。CD34 精製の効率 (陽性率、回収率) を FACS、コロニーアッセイで解析するとともに、この CD34 陽性細胞画分への lymphoma cell への混入、遺伝子導入の効率について、以下に従って検討する。

IV) CD34 陽性細胞の精製の前後における MRD の検討 : 精製前の患者末梢血単核細胞及び精製後の CD34 陽性細胞を用い、MRD の検討を行う。あらかじめ保存してあるリンパ腫細胞 (リンパ節、骨髄、血液等) を用い FISH、surface marker、rearrangement 等の検討を行っておく。実際の MRD の検討は PCR で行い、FISH、surface marker を補助的に用いる。

- i) follicular lymphoma: t (14;18) rearrangement が明らかな症例では、JH/bcl-2 nested PCR にて MRD を検出する。
- ii) mantle cell lymphoma: t (11;14) rearrangement が明らかな症例では、bcl-1 (cyclin D1) /JH nested PCR にて MRD を検出する。
- iii) diffuse large B cell lymphoma and other B cell lymphoma: B リンパ腫で、特定の rearrangement が明かでない症例では、VDJ rearrangement を PCR にて cloning し、clone-specific primer を作成して PCR にて MRD を

検出する。

iv) T cell lymphoma: T リンパ腫では、TCR rearrangement を PCR にて cloning し、clone-specific primer を作成して PCR にて MRD を検出する。

V) 純化 CD34 陽性細胞への遺伝子導入の検討

現在癌研で施行中の「乳癌に対する癌化学療法の有効性と安全性を高めるための耐性遺伝子治療の臨床研究」のプロトコールに従い、CD34 陽性細胞への MDR1 遺伝子導入を行い、その効率、効果を評価する。更に遺伝子導入された細胞における MRD の有無、増殖可能性を検討する。

(倫理面への配慮)

本臨床研究の対象患者へのインフォームド・コンセントの取得に用いる説明文には、患者の自発的意志による研究への参加および中止・中断、予想される副作用とその対策、秘密保持などについても詳細に記載されている。

C. 研究成果

(基礎的検討)

I) IVAC 療法等の化学療法および G-CSF を用いた末梢血幹細胞採取については Clinical Practice あるいは別の臨床研究としてデータが蓄積されており、IVAC+G-CSF による採取については1回で $2.63 \pm 0.77 \times 10^8$ cells と十分量が採取できることが明らかになった。

II) CD34 陽性細胞の精製については「乳癌に対する癌化学療法の有効性と安全性を高めるための耐性遺伝子治療の臨床研究」において十分なデータが蓄積されている。

III) MRD の測定については、リンパ腫細胞の検体を用いて 1) follicular lymphoma における JH/bcl-2 rearrangement、2) mantle cell lymphoma における JH/bcl-1 rearrangement の nested PCR による MRD 検出についてはほぼ確立した。現在、B cell lymphoma の VDJ rearrangement の cloning--PCR による検出について検討中である。

(臨床研究)

平成13年に本研究のプロトコールが財団法人癌研究会附属病院倫理審査委員会において承認され、平成13年12月から臨床研究が開始された。現在1例が末梢血幹細胞採取—CD34 陽性細胞精製—MRD の検討まで完了している。第1例は mantle cell lymphoma の再発患者 (全身リンパ節、口蓋、胃、骨髄) で、IVAC 療法を2コース施行し、CRに入った。IVAC 第1コース目に G-CSF との併用にて Day 15 から幹細胞採取を開始し、第1日目

にて十分量 (4.4×10^8 cells、 8.8×10^6 cells/kg) が得られ、第2日目の採取幹細胞をCD34精製に用いた。total cell 3.82×10^{10} cells (CD34陽性細胞 9.86×10^8 cells) からCD34カラムを用いた精製によって採取した細胞は 3.43×10^8 cells、CD34陽性率は93.9%であった。MRDはFISHによっては検出できず、PCRで検討中である。

D. 考察

化学療法 (IVAC)、末梢血幹細胞採取については確立され、非常に効率よく採取が可能であり、安全に施行しうると考えられた。

E. 結論

本年度から臨床研究を開始し、平成14年2月までに1症例が登録され現在研究が進行中である。

CD34陽性細胞はIVACおよびG-CSF投与により極めて効率よく採取可能となり、また副作用も血液毒性の他は脱毛、倦怠感などの軽度で安全に施行し得た。

F. 健康危険情報

特にありません。

G. 研究発表

1. 論文発表

- Sugiyama, K., Omachi, K., Fujiwara, K., Saotome, T., Mizunuma, N., Takahashi, S., Ito, Y., Aiba, K. and Horikoshi, N. Irinotecan hydrochloride for recurrent and refractory Non-Hodgkin's lymphoma: Single Institution Experience. *Cancer*, 94 (3): 594-600, 2002.
- Koizumi, M., Takahashi, S. and Ogata, E. Bone Metabolic Markers and metastatic bone tumors. *Res. Adv. In Cancer*, 1: 33-46, 2001.
- Ito, Y., Aiba, K., Horikoshi, N., Saotome, T., Irie, T., Sugiyama, K., Nakane, M., Hashimoto, D., Yoshida, N., Mizunuma, N., Takahashi, S. and Tanigawara, Y. Dose-finding phase I study of simultaneous weekly infusion with doxorubicin and docetaxel in patients with advanced breast cancer. *Int. J. Clin. Oncol.*, 6: 242-247, 2001.
- 高橋俊二. PTHrPに対する抗体治療. *カレントセラピー*, 20 (1): 51-57頁, 2002年
- 高橋俊二. ホジキン病の化学療法. *臨床放射線*, 46 (10): 1249-1257頁, 2001年

2. 学会発表

- Takahashi, S., Nagamine, T., Ito, Y., Horikoshi, N., Roodman, G.D., Ogata E. Annexin II

expression in breast cancer cells and enhance ment of osteoclast formation. *Proceeding of the 23th Annual Meeting of the American Society of Bone and Mineral Research*. p453, 2001.

- Takahashi, S., Yoshida, N., Koizumi, M., Horikoshi, N. and Ogata, E. Bone metabolic markers predict prognosis in patients with bone metastases of breast cancer. *Proceeding of the 3rd International Conference on Cancer-induced Bone diseases*, p56, 2001.
- 高橋俊二, 伊藤良則, 入江哲也, 中根実, 杉山勝紀, 水沼信之, 相羽恵介, 堀越昇, 山下孝, 霞富士雄. 乳腺原発悪性リンパ腫の治療方針. 第10回乳癌学会, 2001年

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む)
特にありません。

研究成果の刊行に関する一覧表

刊行書籍又は雑誌論文

著者氏名	論文タイトル名	出版社・発表雑誌名	巻・号、ページ 出版年
Kage, K., Tsukahara, S., Sugiyama, T., Asada, S., Ishikawa, E., Tsuruo, T., Sugimoto, Y.	Dominant-negative inhibition of breast cancer resistance protein as drug efflux pump through the inhibition of S-S dependent homodimerization	Int. J. Cancer	97: 626-630, 2002
Sugiyama, K., Omachi, K., Fujiwara, K., Saotome, T., Mizunuma, N., Takahashi, S., Ito, Y., Aiba, K., Horikoshi, N.	Irinotecan hydrochloride for recurrent and refractory Non-Hodgkin's lymphoma: Single Institution Experience	Cancer	94 (3): 594-600, 2002
Koizumi, M., Takahashi, S., Ogata, E.	Bone Metabolic Markers and metastatic bone tumors	Res. Adv. In Cancer	1: 33-46, 2001
Ito, Y., Aiba, K., Horikoshi, N., Saotome, T., Irie, T., Sugiyama, K., Nakane, M., Hashimoto, D., Yoshida, N., Mizunuma, N., Takahashi, S., Tanigawara, Y.	Dose-finding phase I study of simultaneous weekly infusion with doxorubicin and docetaxel in patients with advanced breast cancer	Int. J. Clin. Oncol.	6: 242-247, 2001
Imai, Y., Tsukahara, S., Ishikawa, E., Tsuruo, T., Sugimoto, Y.	Estrone and 17 β -estradiol reverse breast cancer resistance protein-mediated multidrug resistance	Jpn. J. Cancer Res.	in press
高橋俊二	PTHrP に対する抗体治療	カレントセラピー	20 (1): 51-57 頁, 2002 年
入江哲也, 伊藤良則, 相羽恵介, 高橋俊二, 渡邊純一郎, 多田敬一郎, 荒川泰弘, 宮里昌代, 奥平多恵子, 堀越昇, 畠清彦	Herceptin (trastuzumab) が奏効した乳癌皮膚転移の 1 例	癌と化学療法	16 (1): 87-90 頁, 2001 年
相羽恵介	5-Fluorouracil (5-FU). 抗癌剤の至適投与方法を検証する	癌と化学療法	28 (10): 1368-1379 頁, 2001 年
荒川泰弘, 相羽恵介	末期悪性腫瘍	臨床栄養	99 (5): 663-667 頁, 2001 年

著者氏名	論文タイトル名	出版社・発表雑誌名	巻・号、ページ 出版年
赤座英之, 西條長宏, 相羽恵介, 磯西成治, 大橋靖雄, 河合弘二, 小西俊郎, 佐伯俊昭, 曾根三郎, 塚越茂, 鶴 尾隆, 野口眞三郎, 三 木恒治, 三上修, Mark Smith, Guido Hocion- Boes, Don Stribling	癌治療における白金製剤 - 過去、 現在、未来	癌と化学療法	28 (5): 625-635 頁, 2001 年
赤座英之, 佐伯俊昭, 河合弘二, 相羽恵介, 磯西成治, 大橋靖雄, 曾根三郎, 田村友秀, 塚越茂, 鶴尾隆, 野口 眞三郎, 三木恒治, 加 藤益弘, 三上修, Alan Barge, George Blackledge	各癌腫における進行癌の治療方 針の比較と新薬開発の必要性	癌と化学療法	28 (12): 1845-1855 頁, 2001 年
堀越昇, 相羽恵介, 高 橋俊二, 畠清彦	薬剤耐性 - 癌の分子標的治療 - Practical	Oncology	14 (3): 14-17 頁, 2001 年
相羽恵介	巻頭言	Review of Cancer Treatment	2 (1): 2 頁, 2001 年
相羽恵介	巻頭言	Review of Cancer Treatment	2 (2): 2 頁, 2001 年
相羽恵介	巻頭言	Review of Cancer Treatment	2 (3): 2 頁, 2001 年
小林国彦, 工藤翔二, 栗原稔, 長谷川浩一, 堀越昇, 中井祐之, 安 藤真弘, 樋口昭子, 平 方眞, 亀岡祐一, 片倉 恒徳, 小林信之, 松川 正明, 三浦建, 西田二 郎, 小野充一, 佐藤俊 哉, 渋谷昌彦, 篠崎俊 秀, 滝口裕一, 武内浩 一郎, 横山晶, 吉森浩 三, 仁井谷久暢, 長尾 啓一, 塚越茂	癌性疼痛患者に対する TNK951 の有効性および安全性の検討 - 硫黄モルヒネ徐放錠からの切り 替え試験	医学と薬学	46 (5): 715-726 頁, 2001 年

著者氏名	論文タイトル名	出版社・発表雑誌名	巻・号、ページ 出版年
堀越昇, 橋本大吾, 相羽恵介	がん化学療法の基礎知識 - 第1回 がんの化学療法とは	総合消化器ケア	6 (1): 117-121 頁, 2001 年
堀越昇, 渡邊純一郎, 畠清彦	がん化学療法の基礎知識 - 第2回 血液のがん	総合消化器ケア	6 (2): 122-126 頁, 2001 年
堀越昇, 入江哲也, 伊藤良則	がん化学療法の基礎知識 - 第3回 乳がん	総合消化器ケア	6 (3): 122-127 頁, 2001 年
堀越昇, 水沼信之, 相羽恵介	がん化学療法の基礎知識 - 第4回 消化器がん	総合消化器ケア	6 (4): 137-143 頁, 2001 年
堀越昇, 高橋俊二, 荒川泰弘	がん化学療法の基礎知識 - 第5回 泌尿生殖器がんの化学療法	総合消化器ケア	6 (5): 121-126 頁, 2001 年
高橋俊二	ホジキン病の化学療法	臨床放射線	46 (10): 1249-1257 頁, 2001 年
Aiba, K.	Upper gastrointestinal tumors. Cancer Chemotherapy and Biological Response Modifiers, Annual 19. Giaccone, G., Schilsky, R. and Sondel, P. (eds.)	Elsevier Science	535-545, 2001.
Sugimoto, Y., Tsuruo, T., Pastan, I., Gottesman, M. M.	Bicistronic retrovirus vectors encoding drug-resistant genes. In: R. A. Aubin (ed.), Transgene Delivery and Expression in Mammalian Cells (a volume of Methods in Molecular Biology)	Humana Press	in press
山崎博之, 相羽恵介	急性骨髄性白血病患者へのインフォームド・コンセントの進め方. インフォームド・コンセントガイドランス - 血液疾患診療編 - 月本一郎編	先端医学社	199-212 頁, 2001 年
堀越昇, 相羽恵介	フッ化ピリミジン類. 治療ガイド. 和田功, 大久保昭行, 永田直一, 矢崎義雄編	文光堂	915-923 頁, 2001 年

著者氏名	論文タイトル名	出版社・発表雑誌名	巻・号、ページ 出版年
相羽恵介	2. フッ化ピリミジン系薬剤およびプリン代謝拮抗剤.V. 各薬剤に特異的な耐性機構とその克服. 癌の薬剤耐性とその克服 - 基礎と臨床 - 大沼尚夫, 竹村護編	宇宙堂	211-221 頁, 2001 年
堀越昇, 相羽恵介	抗癌剤の使い方, 今日の治療指針, 2001, 多賀須幸男, 尾形悦郎, 山口徹, 北原光夫編	医学書院	1039-1057 頁, 2001 年
相羽恵介	Leucovorin・5-Fluorouracil 療法の変遷	セプリー総研	1-86 頁, 2001 年

20010435

以降のページは雑誌/図書等に掲載された論文となりますので
「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。