

と考えられる。死因としては感染症、GVHD、臓器障害が主のもので、その他、原病の再発、出血等が報告されている。生存率に影響を与える予後因子の単変量解析では、Grade IIまたはIII以上の急性GVHDが有意な予後不良因子として検出された（Figure 2）。一方で、年齢、性の一致・不一致、ドナーの人種、allele disparity、原疾患の病期、GVHDの予防法（CSA vs. FK506）などは予後因子にはならなかった。

#### D. E. 考察および結論

同種造血幹細胞移植の中で、HLA一致の血縁者からの骨髄または末梢血幹細胞移植は各種疾患の治療戦略上の位置づけが明確となっている。非血縁者間骨髄移植は血縁者間のそれに比して、GVHDなどの移植関連合併症が増加する問題点はあるものの、疾患/病気によって根治的治療法として積極的に行われている。しかしながら本邦では血縁者に適合ドナーを見いだされる確立は約35%であり、少子化の影響から今後はさらに低くなることが予想される。血縁者にドナーが見いだせない場合にJMDPを介してドナーを検索することで、約80%の患者がHLA適合ドナーを見いだすことができている。JMDPでも適合ドナーがない場合には、海外バンク

ドナーを検索することになり、残りの約50%の患者に適合ドナーが見い出されており、これらの国内で稀なHLAを持つ患者の多くに移植の機会を提供することができるようになっていく。

今回の検討にて海外バンクドナーを用いた骨髄移植では、JMDPドナーを用いた骨髄移植とはほぼ同等の成績が得られていることが明らかとなった。当初、危惧された人種の違いは急性GVHDおよび生存率の危険因子とはならず、これまでに報告されている非血縁者間骨髄移植の結果と同様に、移植成績を妨げる最も重要な危険因子としては急性GVHDであり、2 locus以上のallele mismatchおよびGVHD予防としてのCSAの使用がFK506に比して危険因子であることが明らかになった。これらのことからmolecular matchのドナー、GVHD予防としてFK506を選択することで移植成績の向上が期待できると考えられた。しかしながら、現時点では症例数も少なく、また観察期間も短いために移植片対白血病（GVL）効果による再発率の低下という要素が反映されていない可能性もあり、さらなる長期の検討が必要であると考えられる。

しかしながら、海外バンクからの提供には多額な費用がかかり、また海外からの輸送に伴う不確実さの問題

がある。多様化している造血幹細胞移植の中でHLA不一致非血縁ドナー、臍帯血の選択も可能となっている現在、海外バンクドナーの位置づけをこれらの問題点も考慮した上で決定していく必要がある。

#### F.健康危険情報

無し

#### G.研究発表

##### 1. 論文発表

Aoki Y., Yarchoan R., Wyvill K., Okamoto S., Little R.F., Tosato G. : Detection of viral interleukin-6 in Kaposi sarcoma-associated herpesvirus-linked disorders. *Blood* 97 (7):2173-2176, 2001.

Hiraoka A., Ohashi Y., Okamoto S., Moriyama Y., Nagao T., Kodera Y., Kanamaru A., Dohy H., Masaoka T., for the Japanese FK506 BMT Study Group : Graft-versus-host disease: Phase III study comparing tacrolimus (FK506) with cyclosporine for graft-versus-host disease prophylaxis after allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplantation* 28 : 181-185, 2001.

Matsushita M., Ikeda H., Kizaki M., Okamoto S., Ogasawara M., Ikeda Y., Kawakami Y. : Quantitative monitoring of the PRAME gene for the detection of minimal residual disease in leukaemia.

*British Journal of Haematology* 112 : 916-926, 2001.

Mori T., Takada R., Watanabe R., Okamoto S., Ikeda Y. : T-Helper (Th) 1 / Th-2 imbalance in patients with non-Hodgkin's lymphoma. *Cancer Immunol Immunother* 50 : 566-568, 2001.

Ogawa Y., Okamoto S., Kuwana M., Mori T., Watanabe R., Nakajima T., Yamada M., Mashima Y., Tsubota K., Oguchi Y. : Successful treatment of dry eye in two patients with chronic graft-versus-host disease with systemic administration of FK506 and corticosteroids. *Cornea* 20 (4) : 430-434, 2001.

Mori T., Okamoto S., et al. : Dose-adjusted preemptive therapy for cytomegalovirus disease based on real-time polymerase chain reaction after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplantation*, 2001 (in press).

##### 2. 学会発表

Watanabe R., Okamoto S., Mori T., Asahi A., Ikeda Y. : MCVAC as an effective non-TBI regimen for autologous stem cell transplantation in patients with high-risk lymphoma. 27<sup>th</sup> Annual Meeting of European Group for Blood and Marrow Transplantation and 17<sup>th</sup>

Meeting of the Nurses Group. Maastricht,  
The Netherlands, 2001.

Okamoto S. : Unrelated bone marrow  
transplantation; state of the art. 25<sup>th</sup>  
Annual Meeting of Thai Society of  
Hematology. Bangkok, The Thailand,  
2002.

H.知的財産権の出願・登録状況

(予定)

無し

**Table 1. Patient characteristics (n=91)**

---

<b>Median age</b>	28.0
<b>Gender (M/F)</b>	64/27
<b>Disease</b>	
CML-CP	15 (15.6%)
CML-AP	10 (11.0%)
CML-BC	2 (2.2%)
AML-1st CR	4 (4.4%)
AML->2nd CR	8 (8.8%)
AML-non CR	5 (5.5%)
ALL-1st CR	6 (6.6%)
ALL->2nd CR	12 (13.2%)
ALL-non CR	5 (5.5%)
SAA	5 (5.5%)
MDS (RA)	2 (2.2%)
MDS (non-RA)	9 (9.9%)
others	8 (8.8%)
<b>Conditioning*</b>	
TBI regimen	80 (88.9%)
non-TBI regimen	10 (11.1%)
<b>GVHD prophylaxis*</b>	
CSA+MTX	38 (41.8%)
CSA+MTX + $\alpha$	7 (7.7%)
FK506	2 (2.2%)
FK506+MTX	33 (36.3%)
FK506+MTX+ $\alpha$	7 (7.7%)
MTX	1 (1.1%)
<b>Median duration (days)</b>	
Presearch to BMT	199.0
Formal search to BMT	164.0

---

\* Some cases were not evaluable.

**Table 2. Donor characteristics (n=91)**

---

<b>Median age</b>	33.0 (19-56)
<b>Gender (M/F)</b>	45/46
<b>Race</b>	
Japanese	14 (15.4%)
API, Asian, Korean, Philipino	53 (58.2%)
others	24 (26.4%)
<b>HLA disparity</b>	
Complete match	52 (57.1%)
Class I mismatch	10 (11.0%)
Class II mismatch	23 (25.6%)
Class I+II, II+II mismatch	6 (6.7%)

---

API = asian pacific islander; Others include CAU, HIS, NAM, EUR, MSWHIS, UNK, EURWRC.

**Table 3. Multivariate analysis of risk factors for grades III-IV acute GVHD**

Age	>40	
	<20	P=0.1111
	20< <40	P=0.4587
Allele matching	Complete match	
	Class I mismatch	P=0.0906
	Class II mismatch	P=0.1271
	Class I+II, II+II mismatch	<u>P=0.0019</u>
GVHD prophylaxis	CSA-based	
	FK506-based	<u>P=0.0175</u>

# Overall Survival

— whole patients —

Figure 1

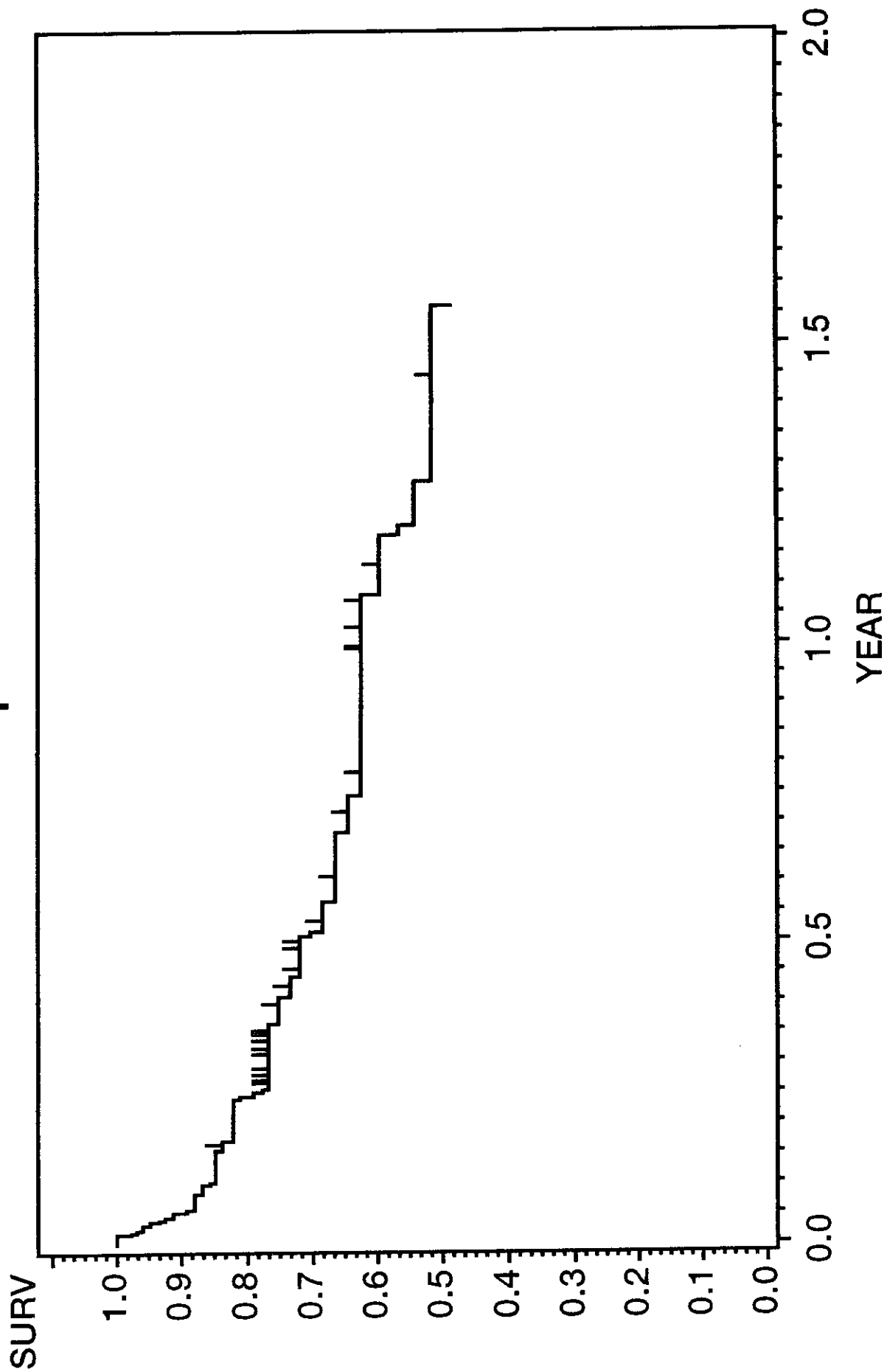
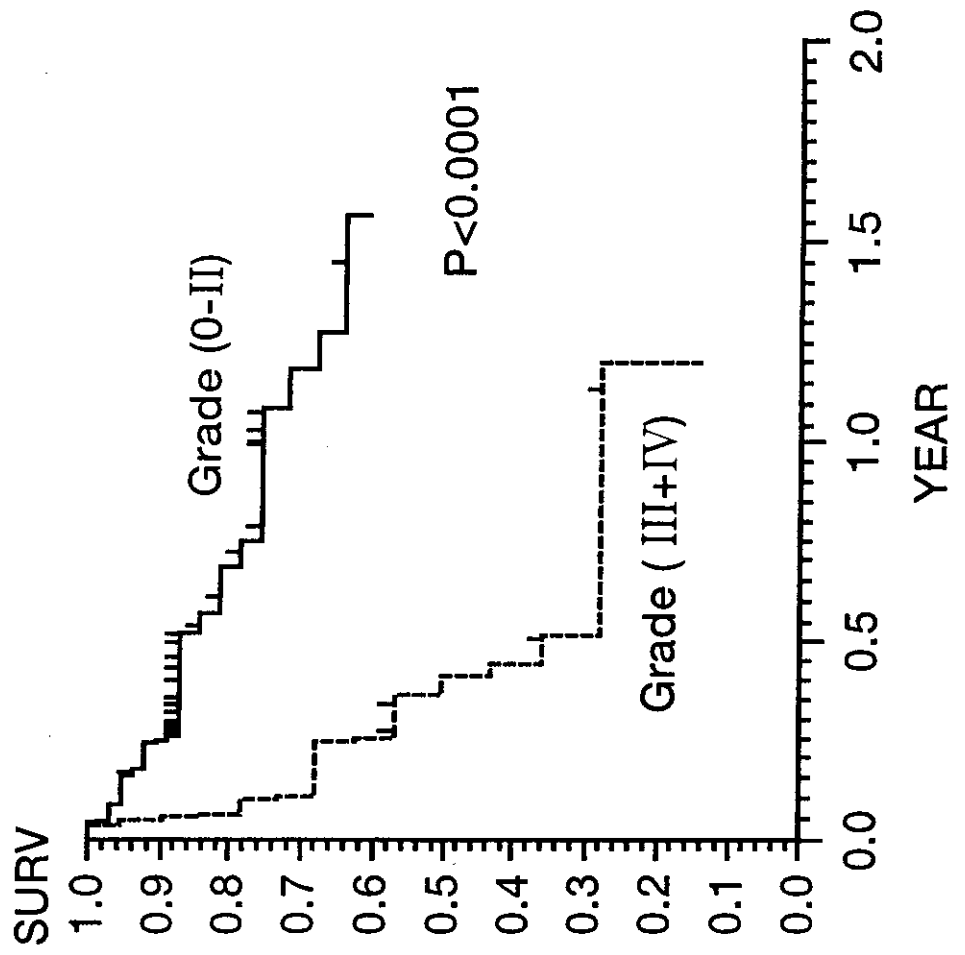
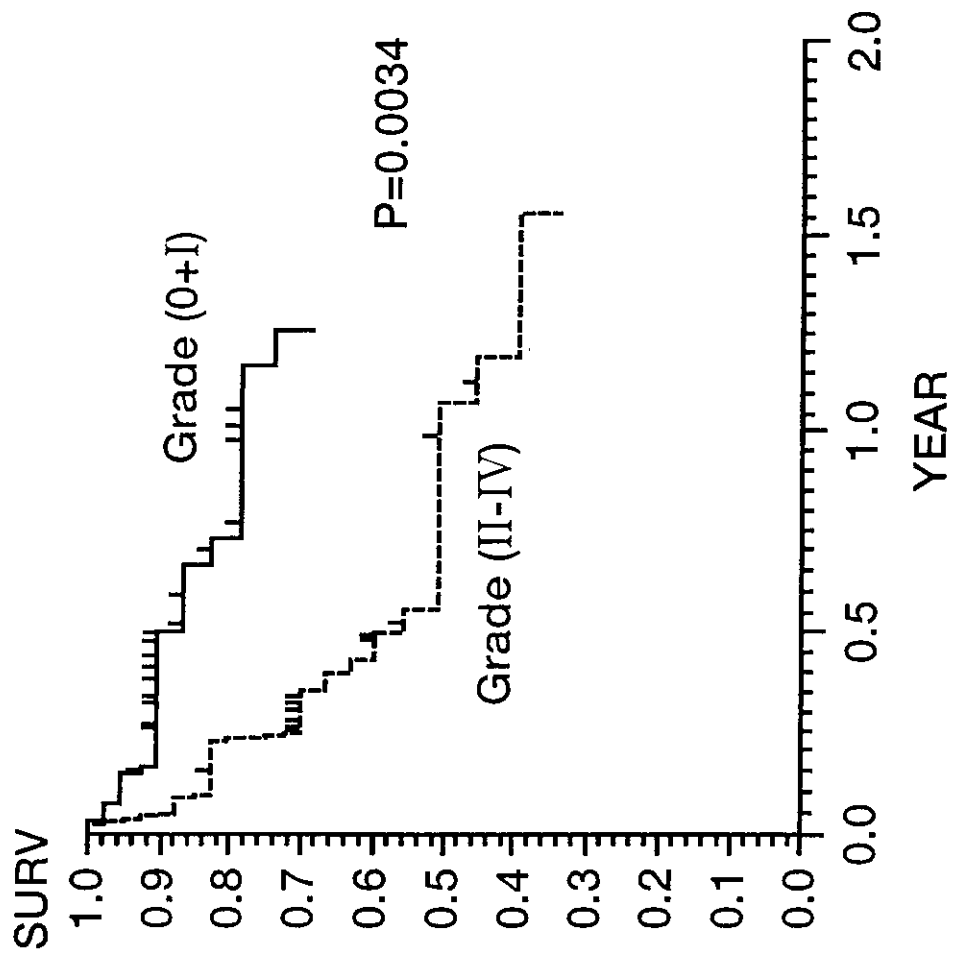


Figure 2.

# Overall survival — Grades of GVHD —





厚生科学研究費補助金(厚生科学研究ヒトゲノム・再生医療当研究事業) 「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」(小寺良尚班長) 分担研究報告書

分担研究者 峯石 真 国立がんセンター中央病院特殊病棟部 造血幹細胞移植病棟医長

研究要旨 HLA2-3 抗原ミスマッチのドナーより CD34 細胞純化の同種末梢血幹細胞移植を施行する。

研究目的 同種移植の絶対適応である患者で HLA 適合のドナーを持たない場合に HLA 不一致の血縁ドナーより同種末梢血幹細胞移植を施行する方法を確立する。

B. 研究方法 HLA2 血清型 2-3 抗原ミスマッチのドナーより採取した末梢血幹細胞より免疫磁気ビーズ法を用いて CD34 陽性細胞を純化して、TBI、フルダラビン、チオテパ、ATG の前処置の後に移植する。今年度は CD34 陽性細胞純化技術の開発とプロトコール作成を行った。

C. 研究結果 現在までに研究参加施設とともに研究プロトコールを作成し新 GCP 準拠の CRF を作成中である。来年度の早期(平成 14 年夏)に研究プロトコールを施行するべく準備中である。これとともに免疫磁気ビーズ法を用いて CD34 陽性細胞を純化する技術を検討し、臨床的レベルで純度は 94%以上、回収率は 75%前後という成績を得た。

D. 考察 CD34 陽性細胞純化において免疫磁気ビーズ法は十分臨床的使用に有用であると思われるレベルで純化を施行可能である。

E. 結論 CD34 陽性細胞純化によるミスマッチ移植の多施設共同研究を施行する準備が整い近く症例登録を開始する。

F. 健康危険情報 特になし

G. 研究発表  
論文発表

1. Saito T, Nakamura F, Kanda Y, Tanosaki R, Takaue Y, Mineishi S. Reduced intensity regimen for a second mismatched transplant. *Haematologica* 2001;86:780-781
2. Niiya H, Kanda Y, Saito T, Ohnishi T, Kanai S, Kaano Y, Kamijo K, Izuka A, Yakushijin K, Ueda K, Chizuka A, Iijima K, Ohnishi M, Nakai K, Makimoto A, Tanosaki R, Tobinai K, Wakasugi H, Takaue Y, Mineishi S. Early full donor myeloid chimerism after reduced-intensity stem cell transplantation using a combination of fludarabine and busulfan. *Haematologica*. 2001;86:1071-1074
3. Miyakoshi S, Mineishi S, Kami M, et al. Conditioning regimens containing 200cgy tbi, fludarabine, and atg facilitate engraftment of mismatched related donor cells after failed initial

unrelated transplant. Submitted

4. Mineishi S, Takaue Y, Kanda Y, et al. Haploidentical hematopoietic stem cell transplantation for high-risk leukemia and MDS patients - Japanese experience using CliniMACS. Blood 2001, 98;385b.

H. 知的財産権の出願・登録  
特になし

分担研究報告書

骨髄、末梢血系造血幹細胞の ex vivo 増幅に関する研究

分担研究者 浅野茂隆 東京大学医科学研究所・先端医療研究センター センター長

研究要旨

本研究は、骨髄、末梢血中の造血幹細胞の ex vivo 増幅法の開発を目的とする。今回は、特に骨髄造血幹細胞の ex vivo 増幅法を確立するために、骨髄造血幹細胞と臍帯血造血幹細胞の造血能の差について検討した。その結果、骨髄造血幹細胞と臍帯血造血幹細胞の間には、その造血能に明らかな差があり、骨髄造血幹細胞の ex vivo 増幅法の開発のためには、従来の臍帯血造血幹細胞の ex vivo 増幅法とは異なる培養法の開発が必要と考えられた。

研究協力者 辻浩一郎

東京大学医科学研究所・先端医療研究センター

細胞療法分野 助教授

A. 研究目的

骨髄中の造血幹細胞の ex vivo 増幅の可能性を検討するために、骨髄 CD34+ 細胞と臍帯血 CD34+ 細胞の造血能を、細胞表面マーカー解析、コロニー形成能、NOD/SCID マウスへの移植系を用いて比較検討した。

B. 研究方法

1. 骨髄および臍帯血単核球における CD34 の発現、および CD34+ 細胞における CD33、CD38 の発現について、フローサイトメトリーにより検討した。
2. 骨髄および臍帯血 CD34+ 細胞 (5 x 10<sup>2</sup> 個) を、stem cell factor (SCF)、interleukin (IL)-3、IL-6、granulocyte macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF)、erythropoietin (EPO)、thrombopoietin (TPO) 存在下でメチルセルロース培養し、培養 14 日目に形成されるコロニーを解析した。
3. 種々の細胞数の骨髄、および臍帯血 CD34+ 細胞を、240 rad 放射線照射した NOD/SCID マウスに尾静脈から静注し、移植後 10 から 12 週で、骨髄中のヒト CD45+ 細胞の有無とその亜分画について検討した。

(倫理面への配慮)

臍帯血の採取にあたっては、両親に本研究の主旨を十分に説明し、インフォームド・コンセントを得た後、本研究に供した。

C. 研究結果

1. 単核球における CD34+ 細胞の比率を検討してみると、骨髄細胞では臍帯血細胞と比較して、その比率は高かったが、CD34+ 細胞中の未分化細胞分画である CD34+CD33- 細胞、CD34+CD38- 細胞の比率は骨髄

細胞の方が低かった。

2. 骨髄 CD34+ 細胞のコロニー形成能を検討してみると、GM (granulocyte-macrophage) コロニー形成細胞数は臍帯血 CD34+ 細胞と有意の差はなかったが、赤芽球バースト形成細胞数はやや減少していた。また、特に未分化な混合コロニー形成細胞は、臍帯血 CD34+ 細胞中に著明に存在した。

3. 5 x 10<sup>4</sup> 個以上の臍帯血を 8 匹の NOD/SCID マウスに移植すると、全例でヒト血液細胞の再構築が認められたが、骨髄 CD34+ 細胞を 3 x 10<sup>5</sup> 個を移植してもヒト血液細胞の生着は認められなかった。

D. 考察

これまでヒト造血幹細胞の ex vivo 増幅は、主に採取量に限界のある臍帯血造血幹細胞を対象としてきたが、骨髄造血幹細胞の ex vivo 増幅も可能となれば、骨髄移植に必要とされる採取造血幹細胞数を減らすことができ、ドナーからより安全に造血幹細胞を採取することが可能となる。また、造血幹細胞を標的とする遺伝子治療においても、自己骨髄造血幹細胞の ex vivo 増幅法の開発は、その確立のためには必須と考えられる。

一方、マウス等の研究成果から明らかなように、胎生期から成体期にかけて発達にともない造血幹細胞の性状は変化する。したがって、骨髄造血幹細胞の ex vivo 増幅法を確立するためには、臍帯血造血幹細胞との性状の違い、特にその造血能の違いを明らかにすることが重要と考えられる。

今回の我々の研究では、フローサイトメトリー、およびコロニー形成法を用いた検討により、骨髄単核球中には、臍帯血単核球中と比べて多数の CD34+ 細胞が存在するものの、比較的分化した造血前駆細胞が多く含まれており、未分化な造血細胞はむしろ臍帯血 CD34+ 細胞中に多く含まれていた。特に NOD/SCID マウスへの移植系を用いた検討では、臍帯血 CD34+ 細胞中には骨髄 CD34+ 細胞と比較して、より高い頻度で造血幹細胞が含まれていることが明らかとなった。これらの結果は、骨髄造血幹細胞の ex vivo 増幅のために

は、臍帯血造血幹細胞の ex vivo 増幅法とは異なる培養法の開発が必要であると考えられた。

#### E. 結論

骨髄中の造血幹細胞は臍帯血幹細胞とは異なる性状を有し、その ex vivo 増幅のためには従来の臍帯血造血幹細胞の ex vivo 増幅法とは異なる培養法の開発が必要と考えられた。

#### F. 健康危険情報

より安全な骨髄造血幹細胞の ex vivo 増幅法の開発のためには、従来の臍帯血造血幹細胞の ex vivo 増幅法とは異なる培養法の開発が必要と考えられる。

#### G. 研究発表

Shiobara S, Asano S, Futaki M., Asano S, et al. Donor leukocyte infusion for Japanese patients with relapsed leukemia after allogeneic bone marrow transplantation: indications and dose escalation. Ther Apher:1 40-5, 2001.

Hibino H, Asano S:et.al et al Haematopoietic progenitor cells from the common marmoset as targets of gene transduction by retroviral and adenoviral vectors. Eur J Haematol 66: 272-280 (2001)

Ooi, J., Asano, S., et al. Unrelated cord blood transplantation for adult patients with MDS-related secondary acute myeloid leukaemia. Br J Haematol (in press)

Ooi, J., Asano, S. Successful unrelated cord blood transplantation for relapse after autologous transplantation in non-Hodgkin's lymphoma. Leuk Lymphoma (in press)

Tomonari A, Asano S., et al. Severe autoimmune thrombocytopenia after allogeneic bone marrow transplantation for aplastic anemia. Int J Hematol (in press)

Inazawa T, Asano S., et al. Glucorticoid-regulated expression of exogenous human growth hormone gene in rats. Molecular Therapy 4:267- 272, 2001.

Duda, D. J., Asano, S., et al. Overexpression of the p53-induced brain angiogenesis inhibitor 1 suppresses efficiently tumor angiogenesis. Br. J Cancer (in press)

Kuwabara, T., Asano, S., et al. Allosterically controllable maxizyme-mediated suppression of progression of leukemia in mice. Biomacromolecules (in press)

Adachi, D., Oda T, Garcia-Higuera, I., Tetteh, N., Alan D. D'Andrea, Futaki, M., Asano, S., Yamashita, T. : A Cytoplasmic Serine Protein Kinase Binds and May Regulate the Fanconi Anemia Protein FANCA. Blood (in press)

Yagasaki, H., Asano, S., et al. HSH2: A Novel SH2 Domain-containing Adapter Protein Involved in Tyrosine Kinase Signaling in Hematopoietic Cells. Biochem. Biophys. Res. Commun. (in press).

Oda, T, Asano, S., et al. IL-12 gene-transduced murine lymphoma cells for effective and safe therapeutic vaccination strategy (in press) .

Sumimoto Asano S, et al. Cytotoxic activity of a human granulocyte colony-stimulating factor- Pseudomonas exotoxin fusion protein on murine myeloid leukemia cells (in press).

Oshima Y, Asano S, et al . Biological activity of human granulocyte colony stimulating factor with a modified C-terminus. Biochem Biophys Res Commun. 27:267(3):924-7, 2000.

Oshima Y, Asano S, et al. Glycoprotein 130 and c-kit signals synergistically induce thrombopoietin production by hematopoietic cells. Int J Hematol 72: 455-462, 2000

Matsui A, Asano S., et al. The IVS4 + 4 A to T mutation of the fanconi anemia gene FANCC is not associated with a severe phenotype in Japanese patients. Blood. 15;95(4):1493-8, 2000.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)  
特になし

## IV, テーマー 2

### ヒト組織適合抗原の解析と応用

## 研究課題 HLAクラスI抗原と移植免疫反応との関連についての研究

分担研究者 森島泰雄（愛知県がんセンター血液化学療法部長）

研究協力者 赤塚美樹（愛知県がんセンター研究所 腫瘍免疫）

研究要旨 日本骨髄バンク(JMDP)を介した非血縁者間骨髄移植において患者とドナーのHLAの違いが移植免疫反応および移植後の生存に及ぼす影響につき、クラスI抗原を中心に解析した。さらに、複数のHLA座の不適合による影響について検討した。HLA不適合のレベルは急性GVHDでは各HLA抗原 alleleレベルで、慢性GVHDではHLA-A/Bのレベルで、生着不全ではHLA-A/B/CのクラスI抗原のレベルで解析することにより有意に独立した因子としてHLA不適合が危険因子であった。白血病の再発(GVL効果)については有意なHLAレベルは検出できなかった。複数のHLA遺伝子座の不適合と生存との関連については生存率の良好な順に、完全適合>Cの1座不適合 = DR/DQの1座不適合>A/Bの1座不適合 = A/B + Cの2座不適合 = A/B + DR/DQの2座不適合 = C + DR/DQの2座不適合>A/B + C + DR/DQの3座不適合であった。このことは、DRのDNA型不適合で、かつA/BのDNA型適合症例の場合にHLA-CのDNA型の適合したドナーを選択すれば移植後の生存が良好である可能性を示唆するものである。

### A. 研究目的

非血縁者間骨髄移植においてはドナーと患者間の主要組織適合性抗原(HLA)の違いが移植の成績を大きく左右している。これまでの研究班において日本骨髄バンク(JMDP)を介した非血縁者間骨髄移植440症例のHLA-DNA型をレトロスペクティブに解析し、HLAクラスI抗原(HLA-A, B, C)の違いが急性GVHDの発症や移植後の生存に関与していることが見いだされた(Sasazuki T. et al. New Engl J Med 339:1177 - 1185, 1998)。さらに、昨年度の解析により以下の点が明らかになった。(1)急性GVHDの頻度はHLA-A, CのDNA型単独の違いだけでなく、HLA-BやDRB1の単独の違いでも有意に高くなること、(2)HLA-Cではいずれかの他のHLA型の不適合が加わるとさらに急性GVHDの頻度は高率になる傾向を示し、HLA-A座とは異なる発症様式を示し、(3)白血病の再発はHLA-C差の不適合により低

率な傾向であった。(4)生着不全に関しては、クラスI抗原がクラスII抗原に比べてより重大な影響を及ぼすことが明らかになった。(5)最終的に移植後の生存に関与しているHLA型はHLA-AとBのDNA型の違いであった。

今年度は(1)慢性GVHDの発症とHLA適合度との関連、(2)多変量解析による因子分析、(3)複数のHLA座の不適合が移植免疫反応と生存に及ぼす影響につき解析を加えたので報告する。

### B. 研究方法

JMDPにおいてHLA-A, B, DRの血清型が適合したドナーから初回非血縁者間骨髄移植が実施され、かつ、本研究班のHLA研究者によってHLA-A, B, C, DR, DQのDNAタイピングがレトロスペクティブに実施された1298症例を対象とした。HLA適合度(GVHD方向)別の症例の内訳

を表1に示した。HLA の適合度は、HLA-A and/or B allele を A/B、HLA-DR and/or DQ allele を DR/DQ にまとめた上で、表 1 の如く 8 群に分けて単変量解析を行なった。また、3 段階の HLA 適合度(表 2)を用いて、多変量解析を Cox 比例ハザードモデルを用いて実施した。

### C. 研究結果

#### 1. 移植免疫反応と患者の生存(死亡)に関与する因子の解析(表 2)。

HLA と臨床因子を含めた stepwise 解析により重症急性 GVHD に関与する HLA は HLA-C、HLA-A、HLA-B、HLA-DRB1 であり、慢性 GVHD は HLA-A/B allele、生着は HLA クラス I allele、死亡は HLA-A、HLA-B の適合度が有意に独立した因子であることが明らかになった。白血病再発に関しては HLA は有意な因子として示されなかった。

#### 2. 複数の HLA 座不適合の効果について

表3にそれぞれ急性 GVHD、慢性 GVHD、生着不全についての解析結果を示した。

急性 GVHD では HLA-C に付加的 GVHD 発症効果が認められた。

慢性 GVHD では HLA-A/B 不適合症例と HLA3 座不適合症例で高率に発症していた。

生着不全では HLA-1 座不適合、HLA-2 座不適合、HLA-3 座不適合の順に生着不全率が高くなる傾向があった。

白血病症例を移植時の病期により白血病スタンダードリスク群とハイリスク群に分けて、複数の HLA 座不適合の影響につき移植後 3 年の非再発生存率、再発率、全生存率を表4に示した。HLA-A/B ならびに HLA-AB+C、HLA-C+DR、HLA3 座不適合症例では生存率が低下しており、その原因として再発以外の死亡が強く関連していた。

### D. まとめと考察

移植免疫反応と HLA 適合度との関連は急性 GVHD、慢性 GVHD、生着不全、GVL 効果毎に異なっていた。HLA 適合のレベルは急性 GVHD では各 HLA 抗原 allele レベルで有意であるが、慢性 GVHD では HLA-A/B のレベル、生着不全では HLA-A/B/C のクラス I 抗原のレベルで解析することにより有意に独立した因子であることが明らかになった。白血病の再発(GVL 効果)については有意な HLA レベルは検出できなかった。

複数の HLA 遺伝子座の不適合と生存との関連については生存率の良好な順に、完全適合 > C=DR/DQ1 座不適合 > A/B の 1 座不適合 = A/B + C の 2 座不適合 = A/B + DR/DQ の 2 座不適合 = C + DR/DQ の 2 座不適合 > A/B + C + DR/DQ の 3 座不適合であった。このことは、DR の DNA 型不適合で、かつ A/B の DNA 型適合の症例の場合に HLA-C の DNA 型の適合したドナーを選択すれば移植後の生存が良好である可能性を示唆するものである。ここに示した成績は日本骨髄バンクにおける HLA 適合度に基づくドナー選択のための基本データとなろう。

### F.健康危険情報

特になし

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

1: Morishima Y, Sasazuki T, Iniko H, Juji T, Akaza T, Yamamoto K, Ishikawa Y, Kato S, Sao H, Sakamaki H, Kawa K, Hamajima N, Asano S, Kodera Y. The clinical significance of human leucocyte antigen allele compatibility in patients receiving a marrow transplant from serologically HLA-A, HLA-B, and HLA-DR matched unrelated donors. Blood(in

press).

2: Ishikawa Y, Kashiwase K, Okai M, Ogawa A, Akaza T, Morishima Y, Inoko H, Sasazuki T, Kodera Y, Juji T. Polymorphisms in the coding region of mtDNA and effects on clinical outcome of unrelated bone marrow transplantation. Bone Marrow Transplant. 2001;28:603-7.

3: Maeda S, Kagami Y, Ogura M, Taji H, Suzuki R, Kondo E, Asakura S, Takeuchi T, Miura K, Ando M, Nakamura S, Ito T, Kinoshita T, Ueda R, Morishima Y. CD34+-selected autologous peripheral blood stem cell transplantation conditioned with total body irradiation for malignant lymphoma: increased risk of infectious complications. Int J Hematol. 2001;74:214-21.

4: Kondo E, Ogura M, Kagami Y, Taji H, Miura K, Takeuchi T, Maeda S, Asakura S, Suzuki R, Nakamura S, Morishima Y.

Assessment of prognostic factors in follicular lymphoma patients. Int J Hematol. 2001;73:363-8.

5: Matsuo K, Suzuki R, Hamajima N, Ogura M, Kagami Y, Taji H, Kondoh E, Maeda S, Asakura S, Kaba S, Nakamura S, Seto M, Morishima Y, Tajima K. Association between polymorphisms of folate- and methionine-metabolizing enzymes and susceptibility to malignant lymphoma. Blood. 2001;97:3205-9.

6: Kagami Y, Jung J, Choi YS, Osumi K, Nakamura S, Morishima Y, Seto M. Establishment of a follicular lymphoma cell line (FLK-1) dependent on follicular dendritic cell-like cell line HK. Leukemia. 2001;15:148-56.

H. 知的財産権の出願・登録状況  
なし



表 1。症例と HLA 適合度

	HLA mismatch locus*								
	Total	Match	A/B	C	DR/DQ	A/B +C	A/B +DR/DQ	C +DR/DQ	A/B +C +DR/DQ
Number of cases	1298	566	118	156	141	124	45	90	58
Patient age (median y.o.)	23	23	25	22	24	25	24	24	21
Sex (Donor - Patient)									
Male - Male	494	214	40	61	44	55	20	41	19
Male - Female	268	112	30	32	28	22	10	22	12
Female - Male	298	138	20	38	41	27	8	15	11
Female - Female	238	102	28	25	28	20	7	12	16
Disease**									
AML	304	150	24	34	34	28	12	14	8
ALL	353	151	31	46	45	34	14	23	9
CML	367	141	39	42	39	36	15	29	26
MDS	99	43	12	15	8	9	1	7	4
Malignant lymphoma	39	23	1	3	6	0	0	3	3
Severe aplastic anemia	101	38	7	11	8	16	3	11	7
Hereditary disease	35	20	4	5	1	1	0	3	1
Risk of leukemia relapse									
Standard	480	218	45	60	51	40	13	34	19
High	544	224	49	62	67	58	28	32	24
GVHD prophylaxis									
Cyclosporine based	964	425	98	123	109	89	30	52	38
Tacrolimus based	141	65	9	14	18	10	5	13	7
ATG based	176	70	11	18	11	23	7	23	13
T cell depletion	16	6	0	0	3	2	3	2	0
Preconditioning									
TBI regimen	1027	447	99	121	109	98	34	73	46
Non-TBI regimen	271	119	19	35	32	26	11	17	12

\* Match : HLA-A, B, C, DR and DQ allele match. A/B : HLA-A and/or B allele mismatch. C : HLA-C allele mismatch. DR/DQ : HLA-DRB1 and/or DQB1 mismatch in GVHD vector.

\*\* AML : acute myelocytic leukemia. ALL : acute lymphoblastic leukemia. MDS : myelo-dysplastic syndrome.

表 2. 多変量解析による移植免疫反応と生存に関する有意な因子。

Outcome and Significant Factor* value	Hazard Risk (95% CI)	p
<b>Acute GVHD (grade III or IV)**</b>		
HLA-C allele (match vs. mismatch)	1.85 (1.42 – 2.41)	<0.001
HLA-A allele (match vs. mismatch)	1.58 (1.20 – 2.09)	0.001
HLA-B allele (match vs. mismatch)	1.43 (1.01 – 2.01)	0.041
HLA-DRB1 allele (match vs. mismatch)	1.42 (1.07 – 1.90)	0.017
<b>Chronic GVHD **</b>		
HLA-A/B allele**** (match vs. mismatch)	1.45 (1.13 – 1.85)	0.003
Patients' age (linear)	1.014 (1.003 – 1.024)	0.006
<b>Engraftment **</b>		
HLA class I allele***** (match vs. mismatch)	0.86 (0.76 – 0.96)	0.011
Transplanted cell number (linear)	1.00047 (1.00007 – 1.00088)	0.023
Disease (ALL vs. CML)	0.79 (0.69 – 0.90)	0.001
<b>Leukemia relapse***</b>		
Risk (standard risk vs. high risk)	3.40 (2.43 – 4.76)	<0.001
<b>Mortality***</b>		
HLA-A allele (match vs. mismatch)	1.63 (1.35 – 1.97)	<0.001
HLA-B allele (match vs. mismatch)	1.33 (1.04 – 1.70)	0.022
Patients' age (linear)	1.019 (1.012 – 1.026)	<0.001
Risk of leukemia relapse (standard vs. high)	2.05 (1.72 – 2.45)	<0.001
GVHD prophylaxis (cyclosporine vs. ATG)	1.39 (1.03 – 1.89)	0.030

\*The variables entered in each stepwise analysis were sex (donor – recipient pairs), patient age, donor age, diagnosis, risk of leukemia relapse, GVHD prophylaxis, preconditioning, transplanted cell dose and matching of HLA-A, B, C, DRB1, DQB1 allele (see Table 1 and the matching of HLA allele between patient and donor in the section of patients and methods). Significant level of HLA matching in each event was shown in this Table. \*\* Analyzed in all cases. \*\*\*Analyzed in leukemia cases. \*\*\*\*HLA-A and/or HLA-B allele. \*\*\*\*\*HLA-A, HLA-B and/or HLA-C allele.

表 3. 移植免疫反応と HLA 適合度

A:急性 GVHD

HLA mismatch locus	No. of Cases	Incidence of acute GVHD			
		Grade II-IV	p	Grade III-IV	p
Match	561	34.5	-	11.8	-
A/B	115	54.9	<0.001	27.8	<0.001
C	156	42.7	0.030	20.6	0.005
DR/DQ	141	34.4	0.764	16.1	0.139
A/B + C	123	60.9	<0.001	37.0	<0.001
A/B + DR/DQ	45	38.4	0.391	18.3	0.166
C + DR/DQ	90	55.7	<0.001	30.9	<0.001
A/B + C + DR/DQ	57	64.3	<0.001	42.1	<0.001

B:慢性 GVHD

HLA mismatch locus	No. of cases	Incidence (%) of chronic GVHD			
		LD* + EX**	p	EX**	p
Match	310	44.8	-	29.9	-
A/B	67	59.6	0.004	40.2	0.015
C	86	50.5	0.178	37.6	0.146
DR/DQ	60	40.5	0.960	31.5	0.546
A/B + C	74	51.0	0.163	33.2	0.429
A/B + DR/DQ	26	55.2	0.135	39.7	0.188
C + DR/DQ	39	52.5	0.084	37.8	0.103
A/B + C + DR/DQ	32	76.8	0.010	53.3	0.021

\*Limited type. \*\*Extensive type

C:生着不全

HLA mismatch* locus	No. of cases	Incidence(%) of engraftment failure			
		primary + secondary	p	primary	p
Match	554	1.7	-	0.7	-
A/B	114	4.8	0.226	3.5	0.171
C	141	4.1	0.085	1.3	0.216
DR/DQ	125	4.8	0.226	2.5	0.225
A/B + C	114	10.4	0.009	6.2	0.063
A/B + DR/DQ	45	8.9	0.021	7.1	0.014
C + DR/DQ	89	6.0	0.472	4.7	0.491
A/B + C + DR/DQ	57	10.6	0.022	8.9	0.009

\* rejection vector

表 4. 移植後の生存、再発、非再発生存と HLA 適合度

HLA mismatch* locus	No. of cases	3-year non-RM(%)	p**	3-year Relapse rate(%)	p	3-year Survival(%)	p
<i>Standard Risk</i>							
Match	210	27.7	-	12.6	-	65.4	-
A/B	47	54.6	<0.001	20.8	0.364	39.9	<0.001
C	61	28.2	0.672	11.0	0.707	68.9	0.969
DR /DQ	52	27.5	0.953	4.9	0.162	70.9	0.631
A/B + C	38	43.2	<0.001	19.0	0.460	51.5	0.101
A/B + DR/DQ	14	55.6	0.048	22.9	0.425	50.0	0.092
C + DR/DQ	35	50.8	0.022	10.5	0.953	50.6	0.062
A/B + C + DR/DQ	23	58.8	<0.001	15.6	0.758	39.1	<0.001
<i>High Risk</i>							
Match	214	38.0	-	40.1	-	43.1	-
A/B	44	61.9	<0.001	49.2	0.632	23.9	0.002
C	62	49.8	0.077	34.4	0.518	36.1	0.225
DR /DQ	64	42.4	0.578	39.3	0.880	35.5	0.362
A/B + C	64	64.1	<0.001	37.7	0.767	21.2	<0.001
A/B + DR/DQ	30	71.1	0.048	24.9	0.329	32.6	0.145
C + DR/DQ	35	61.8	0.006	32.5	0.874	25.7	0.018
A/B + C + DR/DQ	31	78.0	0.001	27.5	0.952	15.9	0.003

\* GVHD vector and/or rejection vector

\*\* p value compared with HLA matched cases by univariate analyses.