

**bcr-ablペプチドをパルスしたDendritic Cell (DC) による腫瘍特異的CTLの誘導**

正常者末梢血付着細胞からDCの培養 (GM-CSF, IL-4添加)

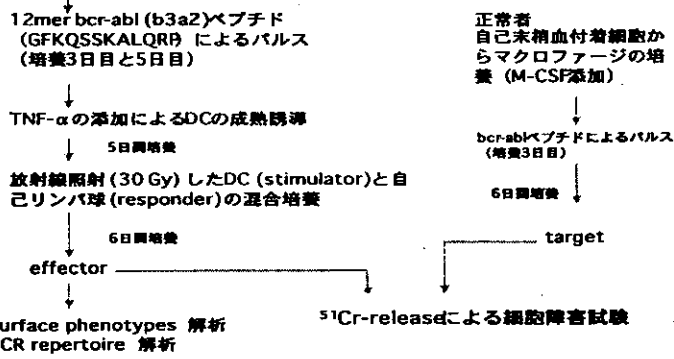


Fig 1

**suppression of hematopoietic colony growth by T cell line primed with autologous dendritic cells derived from OML peripheral blood. (Case 2)**  
(FACS analysis of whole cells in 2 culture dishes)

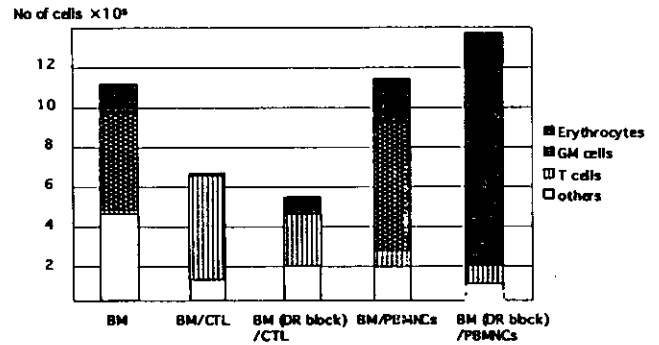


Fig 2

**Changes of surface phenotypes on leukemia cells (M5b) by culture with GM-CSF, IL-4 and TNF $\alpha$  for 10 days**

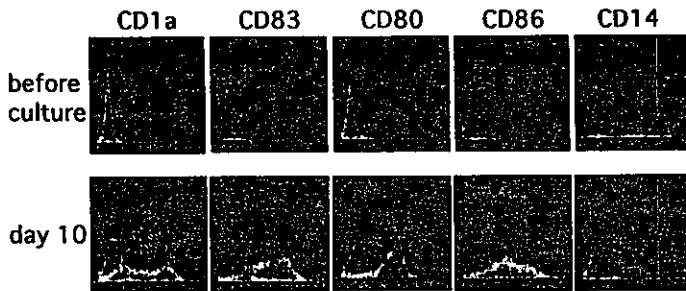


Fig 3

**Frequency of generation of leukemia derived DC by culture with GM-CSF, IL-4 & TNF $\alpha$  in patients with AML by FAB classification**

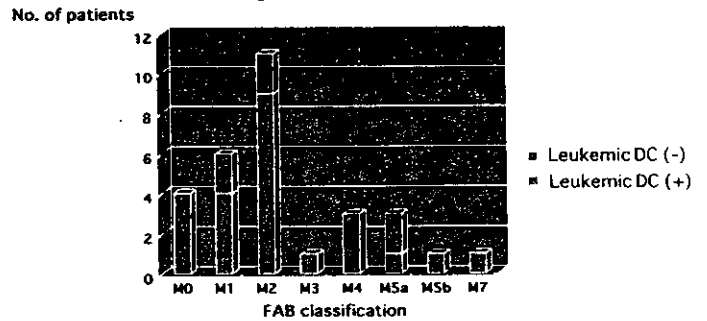


Fig 4

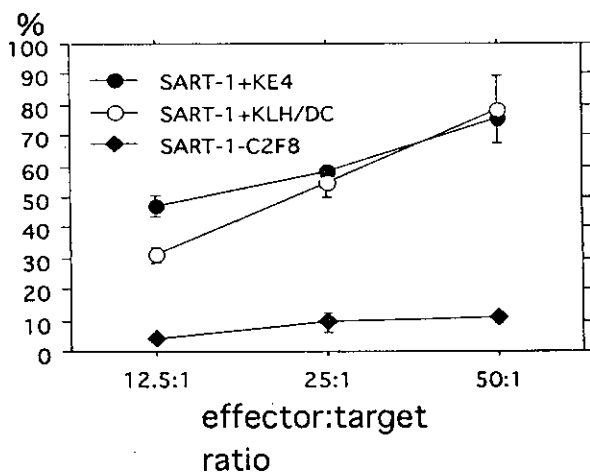


Fig 5

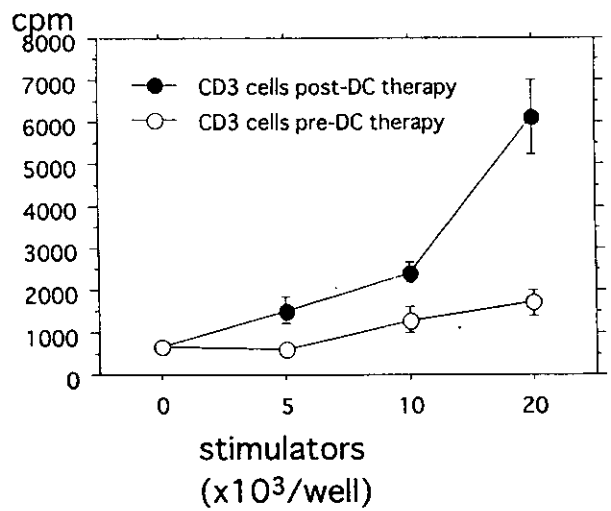


Fig 6

# Mantle cell lymphoma における腫瘍抗原の同定

九州大学病態修復内科学  
福岡大学第一内科

加藤光次、下田和哉、権藤久司、原田実根  
木村暢宏

【緒言】 mantle cell lymphoma(MCL)は、標準的化学療法では生存曲線の平坦化が得られず、現在のところ標準的治療法がない、aggressive lymphoma に匹敵する非常に予後不良の疾患である。しかし最近の報告では MCL に対して抗体療法(抗 CD20 抗体)をはじめとして、同種骨髄移植術、ドナーリンパ球輸注療法の有効性を認めた報告があり、臨床的に MCL に対する腫瘍免疫排除機構が想定される。一方、血液疾患における自然寛解例や緩徐な経過をとる例(多発性骨髄腫、慢性骨髄性白血病慢性期、慢性リンパ性白血病等)は、臨床的な観点や T 細胞の機能解析から細胞障害性 T 細胞をはじめとした腫瘍免疫監視機構の働きが証明されている。

現在、標準的化学療法や増悪期に行ったサルベージ化学療法にはほとんど反応せず、大量化学療法をはじめとする積極的治療を断念した白血化 MCL の患者において、その後ほぼ無治療にて 3 年間増悪することなく、腫瘍と“共存”し、日常生活を送っているという貴重な症例を経験している(発症より 6 年生存)。本患者において、末梢血より磁気ビーズを用いて分離した正常 CD4 陽性及び CD8 陽性 T 細胞受容体  $\beta$  鎖の遺伝子再構成や T 細胞レパトアを調べたところ、クローナルな T 細胞の増殖が示唆された。また末梢血中の放射線照射した MCL 細胞と磁気ビーズで分離した T 細胞を共培養した mixed lymphocyte tumor culture の  $^3\text{H}$ -thymidine による増殖アッセイにおいて有意な増加を認め、培養上清中の IFN- $\gamma$  も増加していた。以上から、白血化 MCL に対する T 細胞の腫瘍免疫監視機構により、腫瘍との“共存”が可能となっていると考えられ、本患者での“共存”という現象が腫瘍免疫監視機構解明のよいモデルと考えられた。現在まで腫瘍拒絶抗原同定や CTL の誘導は、腫瘍エスケープ機構の働きなどにより困難を極めている。本患者のように腫瘍と“共存”し、腫瘍免疫監視機構の働きが示唆される症例から得られる検体を用いることで、腫瘍拒絶抗原同定や CTL の誘導が可能となるのではないかと仮定した。家族を含めたインフォームド Consent のもと、本患者の協力が得られ、定期的な採血を行い、末梢血を検体として使用する承諾を得、以下実験をすすめている。また、その他の進行性 MCL の患者における腫瘍免疫排除機構としての T 細胞の役割についても検討した。

【方法、今後の展望】(1)末梢血より CD4 陽性 T 細胞、CD8 陽性 T 細胞をビーズ法にてそれぞれ分離。簡略 Inverse RT-PCR 法を用いて V $\beta$  レパートリーを解析し、さらに 13 種類の J $\beta$  遺伝子プライマーを用いて CDR3 領域を検討。白血化 MCL 5 症例については放射線照射 MCL 細胞と T 細胞を共培養し、 $^3\text{H}$ -thymidine による mixed lymphocyte tumor culture(MLTC)と培養上清中の IFN- $\gamma$  (ELISA)を測定。(2)SEREX(serological identification of antigens by recombinant expression cloning)法による MCL の腫瘍抗原の同定: 患者末梢血から CD19 陽性磁気ビーズを用い、MCL 細胞を分離し、cDNA ライブラリーを作製し、expression vector に導入した。患者血清を用いた抗体(IgG)にてスクリーニングを行っている。検索に用いる抗体を IgG クラスに限定することで、ヘルパー T 細胞に認識される腫瘍抗原の同定が可能であり、さらに腫瘍特異的 CTL を誘導しうる抗原同定の可能性が高い。(3)腫瘍特異的 CTL の樹立: 患者末梢血より分離した MCL 細胞を放射線照射したものを target として患者リンパ球と IL-2 存在下に混合培養する。混合培養したものから比重遠心法にて生細胞を分離し、さらに CD8 陽性磁気ビーズにて CD8 陽性 T 細胞を positive selection を行う。このようにしてえられた CD8 陽性 T 細胞を放射線照射した患者末梢血単核球と IL-2 存在下でさらに混合培養する。その後、患者正常 B 細胞に EBV virus を感染させた EBV transformed B cell line と患者 MCL 細胞(いずれも放射線照射)を target とし、先に得られた CD8 陽性 T 細胞を effector としてそれぞれに加え、IFN- $\gamma$  production assay にて比較することで、腫瘍特異性の高い CD8 陽性 T 細胞をスクリーニングする。得られた CD8 陽性 T 細胞を limiting dilution を行い、腫瘍特異的 CTL の誘導を行う。(4)T 細胞エピトープの決定:(1)で同定された抗原(cDNA ライブラリー)を、COS

細胞に HLA class と 共発現させ target cell とする。さらに(2)で誘導された autologous CTL を effector cell として cytotoxic assay を行い、エピトープのおおよその位置をきめる。この範囲内で患者 MHC に結合するペプチドモチーフを参考にしてペプチドを合成し、T細胞の反応を調べ、T細胞エピトープを決定する。(5)上記で得られた抗原が腫瘍細胞に特異的であるかどうか、HLA 拘束性はどうかなど検討を加えていく。また得られた抗原が、他の MCL の患者や その他の B cell lymphoma、血液疾患に発現しているかどうかを検討し、その性格を明らかにすることで、将来のペプチド免疫療法の可能性を探る。

## 厚生科学研究ヒトゲノム・再生医療等研究事業

「造血細胞の自己修理能力、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 年度第一回研究班班会議（平成 13 年 6 月 9 日）

造血幹細胞移植におけるウィルス特異的細胞障害性 T リンパ球の検討

名古屋大学大学院医学研究科 成長発達医学／小児科学

高橋義行、木村 宏、小島勢二

【目的】造血細胞移植後の代表的な日和見感染症である Epstein-Barr ウィルス(EBV) やサイトメガロウィルス(CMV)を制御しているのは主に CD8 陽性細胞障害性 T リンパ球と考えられる。移植後のウィルス感染症を治療するにあたっては 1) 特異性および定量性に優れたウィルス診断法の開発、2) 抗ウィルス剤の適正な使用、3) さらにウィルス特異的 CTL のモニタリングが有用と考えられる。この目的でこれまで、蛍光プローベを用いた real-time PCR 法による各種ヘルペス属の抗原量の定量法を開発し、その臨床的意義を明らかにしてきた。現在はウィルス特異的 CTL の測定法を開発し、造血幹細胞移植後の役割を検討中である。

【計画】ウィルス特異的 CTL の測定法には 1) Enzyme-linked immunospot assay, 2) Intracellular cytokine detection assay, 3) Tetramer staining 法がある。EBV については、抗原提示細胞として患者末梢血からは B リンパ芽球を用いた Intracellular cytokine detection assay 法を確立し、造血幹細胞移植後に内因性 CTL が出現し、EBV 感染細胞を制御していることを明らかにしてきた。内因性の特異的 CTL が出現しない症例は EB-LPD を発症する危険率が高いと考えられ、このような患者を対象に抗原特異的 ex vivo 培養 T 細胞による細胞療法の実施を計画している。抗原提示細胞を使用しないウィルス特異的 CTL の測定法としては Tetramer staining 法が優れているが、測定対象が単一 HLA に限られ、これまでは主に欧米人に多い HLA A2 を提示する抗原ペプチドを用いた技術が開発されてきた。現在、日本人の 60・70% が保有する HLA A24 が提示する EBV や CMV の抗原ペプチドを同定し、Tetramer の作製を研究中である。Tetramer を用いて内因性ウィルス特異的 CTL を定量することにより、移植後のウィルス感染に対する特異的 CTL の応答を明らかにする研究の進展が期待される。さらにウィルス特異的 CD8 陽性細胞の分離、増殖技術の開発は、特異的な養子免疫療法が可能となるであろう。

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

平成13年度第一回班会議

## 非血縁者間同種末梢血幹細胞移植 のための基盤整備

分担研究者

北折健次郎、原田実根、小寺良尚、  
平成13年6月9日 名古屋

## 同種末梢血幹細胞移植

一現段階でのまとめと非血縁移植との関わり

1. 対象疾患は骨髄移植と同じである。
2. 骨髄採取に比べ、ドナーの採取約一ヶ月前の自己血預血を必要としないので、ドナーが居れば緊急な移植が可能である。
3. ドナーは全身麻酔と外科的処置を受けなくて済む。
4. 従って採取、移植とも基本的には施設内の血液チームだけで行なうことが出来る。
5. 患者の血液学的回復は骨髄移植より速やかであり、移植後の消耗が少ない。
6. 3. ~5. の特徴は、この移植法を患者、ドナー、移植チームにとって馴染みやすいものになっている。

## 同種末梢血幹細胞移植一現段階でのまとめと 非血縁移植との関わり

7. 末梢血幹細胞の動員-G-CSFと投与とアフレーシニーには最短で計6日を要し、安全のためこの間ドナーを入院させるとすれば採取におけるドナーの拘束時間は骨髄の場合よりも長くなる。このことは本法を非血縁ドナーに応用するまでに解決しておかなければならない。
8. 幹細胞動員作業中の有害事象の中には生命に関わるものもかなりの数が報告されている。このような事態になった時の救命システムは骨髄採取が行われる麻酔医立ち会いの手術室に比べれば劣っている。緊急事態に備え、ドナーを救命センターへ運ぶまでの救急処置が行えない得る体制を整えておくべきであろう。詳細は日本造血細胞移植学会ガイドラインを参照されたい。

## 同種末梢血幹細胞移植一現段階でのまとめと 非血縁移植との関わり

9. ドナーの中、長期安全性に関しては海外のデータをもっても未だ情報が不十分である。造血細胞移植学会のドナーフォローアップ調査システムは一国におけるドナー全てを前もって登録してから採取を実施するという点において比類の無いものであり、全採取、移植施設の協力の下にドナー安全に関するエビデンスの確立が期待される。
10. 患者、ドナー双方において未解決の問題を残しながらも本法はその血液学的回復の速さと、それに多く含まれるリンパ球系細胞の機能故に、患者の対象年齢上限の引き上げ、移植時期や対象疾患の拡大に貢献するとともに、患者-ドナーの関わりにおける移植時期(Day-0)の設定に際しての柔軟な対応を可能にするものと思われる。ア

## 海外における同種末梢血幹細胞移植実施状況

一殊に非血縁者間移植への応用について(平成12.9.31現在)

アンケートの対象: 31カ国の主要血液病センター、回答数: 28カ国  
質問内容と回答:

- |  |   |
|--|---|
| 1) G-CSFを通常者に用いることに対し:<br>国として認可: 2国(オーストラリア、カナダ)<br>地域倫理委員会等で認可: 23国(含む米国)<br>国として認可検討中: 2国(ハンガリー、チェコ)            | 6) ドナーの長期フォローアップ:<br>アンケート+検査: 2国<br>アンケートのみ: 9国<br>実診、検査: 9国<br>電話、個人面談: 3国<br>フォローアップなし: 6国   |
| 2) 非血縁ドナーへの応用状況:<br>非血縁ドナーへも応用: 19国<br>初回提供のみ: 2国(ドイツ、スイス)<br>再提供時のみ: 7国(オーストラリア、ベルギー、カナダ、フィンランド、アイルランド、スウェーデン、米国) | 7) 1996年中にG-CSF投与を受けたドナー数(23国より回答あり):<br>100人以上: 4国<br>(イタ、フランス、1997年、スペイン)<br>31-100人: 4国<br>のナタ、ニュージーランド、南アフリカ、韓国、<br>30人以下: 16国<br>ポーランド、ベルギー、チェコ、デンマーク、<br>フィンランド、ハンガリー、オランダ、ソルウェー、<br>ポーランド、ポルトガル、ウズベキスタン、<br>スロバキア、スロベニア、スイス、台湾 |
| 3) 共通プロトコルの有無:<br>米国のみMMCPによる全国共通のG-CSF投与量とアフレーシニーに関するプロトコルあり  |   |
| 4) G-CSFの自己注射について:<br>18/27国(66%)において認可されている   |   |
| 6) 症例数:<br>末梢幹細胞のみ: 10/28国(36%)<br>中心幹細胞も可: 18/28国(64%)  |   |

## 非血縁者間末梢血幹細胞移植実現のためのステップ 骨髄移植推進財団の動き

平成11年度末通常理事会において前向きに検討することで合意

平成12年秋、財団内に開始判断に関する小委員会と実施法に関する小委員会を設置、討論を開始

平成13年春、日本造血細胞移植学会による平成12年度一年間の同種末梢血幹細胞ドナーフォローアップ調査の結果を見て、更に検討を進める旨合同小委員会で合意

実施に当たってはシステムの変更等に多大な時間と経費を要するため平成14年度実施を考えるならば方針決定までにはあまり時間的余裕は無いとの認識

## 非血縁者間末梢血幹細胞移植実現のためのステップ 財団の要請(諮問)に対する対応

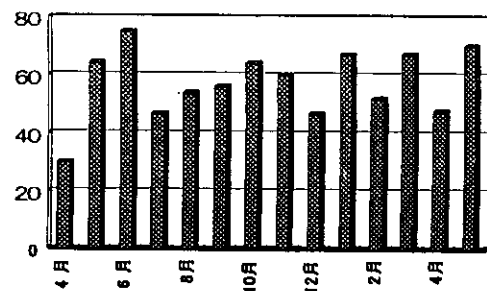
1. 平成12年度に登録された683例の血縁ドナーの、安全性に関する調査結果のまとめ(学会、原田班、当班の共同作業として)

2. 海外における重篤な有害事象のまとめ

3. 財団への答申

1. における調査項目  
年齢、性別、レシピエントとの関係、ドナー適格性(主治医判断)  
G-CSF投与日数、投与量、CD34+細胞数、ドナーの自他覚症状  
その他の有害事象、血液学的検査値、生化学的検査値

## 月別登録例数



調査例数 (平成13年5月31日現在)

2001年4月20日発行 日本移植学会認定 非血縁ドナー末梢血幹細胞ドナー登録センター  
FAX:011-26-7907023/09-4330 / TEL:011-26-7904081/09-3220

### ドナーの背景 (登録情報の集計)

集計期間:2000年04月01日～2001年03月31日 登録例数:683例(うち重複:9例)

年齢	登録例数(%)	レシピエントとの関係	
0歳～9歳	21 (3.1%)	HLA一致同胞	510 (74.7%)
10歳～18歳	53 (7.8%)	HLA表現型一致血縁者	60 (8.8%)
19歳～54歳	502 (73.5%)	HLA部分一致血縁者	113 (16.5%)
55歳～59歳	65 (9.5%)		
60歳～65歳	32 (4.7%)	ドナー適格性	
66歳以上	10 (1.5%)	↑適格性基準を満たす	667 (97.7%)
N	683	↑適格性基準を満たさない	16 (2.3%)
Mean±SD	38.9±15.2	↑適格性判定不能	0 (0.0%)
Median	41.0		
Min～Max	10ヶ月～72歳	↑...担当医師により登録票に記載されたドナー適格性	

性別  
男 364 (50.7%) 女 337 (49.3%)

- ### NMDPにおける非血縁ドナーからの初回同種末梢血幹細胞移植実施プロトコールの構成(1) (NMDP, 2000, 1, 27)
1. 概説
  2. 図表目次
  3. 研究概要図
  4. 導入
  5. 目的
    - 1) NMDPドナーからのG-CSF動員末梢血幹細胞採取システムの確立と評価
    - 2) NMDPドナーにおけるG-CSF投与と末梢血幹細胞アフェレーシスの安全性の評価
    - 3) 非血縁ドナーからの、G-CSF動員末梢血幹細胞移植の患者における安全性と有効性の評価

- ### NMDPにおける非血縁ドナーからの初回同種末梢血幹細胞移植実施プロトコールの構成(2) (NMDP, 2000, 1, 27)
6. 背景
    - 1) 同種末梢血幹細胞移植
    - 2) 臓器者に対するG-CSF
      - a) 薬剤の概要
      - b) 生物学的作用
      - c) 副作用
      - d) G-CSF投与にともなう有害事象
      - e) G-CSFに関する長期安全性
    - 3) 成分採血(アフェレーシス)操作
      - a) 概要
      - b) 副作用
      - c) 中心静脈からの採取の危険性

- ### NMDPにおける非血縁ドナーからの初回同種末梢血幹細胞移植実施プロトコールの構成(3) (NMDP, 2000, 1, 27)
7. プロトコールの全体像
    - 1) 現行の骨髓ドナー検索法並びに採取法
    - 2) 改訂される骨髄並びに末梢血幹細胞ドナー検索法並びに採取法
  8. NMDPセンターへの参加規準
    - 1) 共通規準
    - 2) NMDPドナーセンター参加規準
      - a) 医療責任者が当INOプロトコールに参加していること
      - b) データ報告書を提出すること
      - c) 末梢血幹細胞ドナーに対するインフォームドコンセントを確保すること
      - d) 一割以上のNMDPアフェレーシスセンター又はプロトコールに沿ったアフェレーシスを行なえる施設と契約していること

- ### NMDP移植センター参加規準(1)
1. ドナー適格規準
    - 1) 適応規準
    - 2) 除外規準
  2. 研究計画
    - 1) 末梢血幹細胞ドナー検索の開始と進行
      - a) 患者の適格性の確認
      - b) HLA確認試験時、ドナーは末梢血と骨髄双方の提供について特別のカウンセリングと情報提供を受ける
      - c) 移植センターは末梢血又は骨髄ドナーのいずれのワークアップかを選択する
    - 2) ドナーワークアップ
      - a) 情報提供
      - b) 末梢血幹細胞提供に対するドナーの意思決定
      - c) ドナーの健康診断-病歴、理学的所見、検査、コンパニオンスタディ、ドナーの医学的適格性認定、情報提供と同意の取得
      - d) 書式の作成
      - e) 以上ドナーワークアップの進行状況の評価

- ### NMDP移植センター参加規準(2)
- 3) 末梢血幹細胞の動員
    - a) 末梢血幹細胞動員の概要
    - b) 末梢血幹細胞採取日の決定
    - c) 投与スケジュールの決定
    - d) G-CSFの投与量
    - e) 投与前のドナーの評価-初日、2, 3, 4日目
    - f) G-CSFの投与-在宅治療派遣、G-CSFの注し、G-CSF注射記録情報
    - g) ドナーの症状に対する処置
    - h) G-CSFの減量
    - i) 書式の作成
  - 4) 末梢血幹細胞の採取
    - a) 成分採血スケジュール-患者体重35Kg以上、70Kg以下に  
対応するドナー、ドナーの血小板減少に対する調整、採取操作における制限
    - b) 採取前日(G-CSF投与5, 6日目)のドナーの評価
    - c) 5日目のG-CSF投与-白血球高値時の投与量調整、5日目G-CSF注射に  
際しての情報記録
    - d) 採取前日のドナー検査
    - e) 中心静脈採取-別途同意の必要性、ラインの位置、中心静脈穿刺ドナーの入院

- ### NMDP移植センター参加規準(3)
- 0) 採取施設における採取操作並びに採取産物分析結果の記録-採取産物の一部はCD34+細胞の定量のため、中央検査センターへ送られなければならない
    - a) 末梢血幹細胞液の表示(部類)
    - a) 書式の作成
  - 6) 末梢血幹細胞液の保存と輸送
  - 6) 採取後のドナーフォローアップ
    - a) 採取後2日後、1週後の調査結果
    - b) 1年後並びに毎年データの収集
    - c) 書式の作成

- ### NMDP移植センター参加規準(4)
1. 移植施設において行われるべき末梢血幹細胞液の検査
    - 1) 微生物学的培養検査
    - 2) その他の検査
    - 3) 移植施設における末梢血幹細胞液の処理
      - a) 無認可の凍結保存の禁止
      - b) 無認可の体外増殖の禁止
      - c) 無認可の遺伝子導入の禁止
    - 4) 移植施設における書式の作成
  2. 有害事象の報告手戻
  3. 中央検査センター
  4. データ解析計画と研究の中止規準
    - 1) データ解析計画
    - 2) 研究中止規準
      - a) 高頻度に見られる副作用の発生や不適切な採取が行われた時
      - b) 高頻度に見られる副作用が頻りに発生する時
  5. 研究計画の変更とNMDPからの連絡
    - 1) 研究計画の変更
    - 2) NMDPからの連絡
  6. 文献
  7. インフォームドコンセント書式
  8. 付録

「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年度第1回班会議

分担研究項目「自家造血幹細胞移植の確立」  
「海外ドナーからの移植の推進」

分担研究者 岡本真一郎

1. 自家造血幹細胞移植後の長期造血能・造血障害 (sMDS / AML)

(背景・目的)

自家造血幹細胞移植後の長期生存例の増加に伴い、後期合併症としての治療関連 sMDS / AMLの発症が問題となりつつある。アルキル化剤を主とした化学療法後に二次性のMDS / AMLを発症するが有意に増加することが知られているが、最近の解析ではこの様な移植前の要因だけではなく、移植に関連したmobilizationの方法、前処置の内容、輸注細胞数等の因子が移植後の二次性MDS / AMLの発症と相関することが示唆されている。JSHCTのdata baseに登録された5,214例の自家移植例のretrospectiveな解析では、55例のsecondary malignancy, 25例のsecondary MDS / AMLの発症が確認された(表1, 2)。造血幹細胞移植に関連する因子が移植後の二次性MDS / AMLに関与することを直接的に明らかにするにはJSHCT以外のdata set とのcase control study が不可欠であることはいうまでもないが、今回は、このJSHCTの data set をより充実し、それを用いて移植関連因子の移植後二次性MDS / AMLと長期造血能に及ぼす影響を解析し、自家造血幹細胞(特に末梢血幹細胞)の至適利用法を明らかにすることを計画した。

(対象)

1991年～2000年までに施行された自家造血幹細胞移植例でJSHCT data baseに登録された全症例を対象とする。

(Data base 作成)

2001年7月に施行されるJSHCTの全国調査に加えてアンケート調査を施行し、以下のdataを収集する。

1. Pretransplant factors として

1) 移植前治療の内容

- 局所的放射線治療(部位とDose)
  - Alkylating agent dose score (AAD) : (NM, CTX, CL, PCZ, Nitrosourea, TEPA, DTIC, IFO, Busulfan, LPAM) 1剤6ヵ月間使用をscore 1として算定 (Med Ped Oncol 17; 477, 1989)
  - Topoisomerase inhibitor dose score (TID) : (VP16 VM26, Anthracycline) 1剤の6ヵ月間使用をscore 1として算定 (Blood 95; 1588, 2000)
- Primingに用いたagentsも算定する。

- PBSCs採取目的以外でのG-CSF使用
- 移植直前の骨髄染色体検査

## 2) PBSCs採取の方法

- Harvestの方法 (Chemo-mobilization vs Cytokine-mobilization vs Both)
- 採取の時期 (採取日, 複数回の採取の場合は各々の日を記入)
- Chemo or Chemo / cytokine mobilization の場合使用された化学療法剤およびcytokineの種類
- 採取直前の骨髄染色体検査

## 3) 移植後造血能二次性MDS / AMLの評価

- 移植後早期の造血回復: 移植後のG-CSFの有無 (ANC 500, PLT 2万/  $\mu$ l, およびPLT 5万/  $\mu$ lまでの期間)
- 移植後後期の造血回復: 最近の各血球数と好中球数, 骨髄所見 (異型性, 染色体検査, Cellularity), 二次性graft failureの有無
- 二次性MDS / AMLの診断 (FAB分類に基づいた形態的診断に基づく, できればCentral reviewを行う)
- 診断日と診断時の移植の対象となった原病の状態 (染色体検査結果)
- 移植後二次性MDS / AML発症までの化学療法・放射線照射 (部位, dose)の有無

## 解析方法

- 1) Kaplan-Meier product limit method による二次性MDS / AMLのcumulative incidence (全症例及び移植対象となった疾患別—造血器悪性腫瘍, 悪性リンパ腫等)
- 2) JSHCTのdata set に加えてアンケートで収集した移植前因子, 移植関連因子と長期造血能・二次性MDS / AMLとの関連を多変量解析で検討する。
- 3) Case-control study (?)。

表 1

### Secondary Malignancies after Autologous SCT

(N=55)

#### ○ Type of malignancies

MDS / AML : 25	Breast ca : 2
Unknown : 8	Rectum ca : 1
HCC : 5	Esophageal ca : 1
Pancrease ca : 1	Tongue ca : 2
Lung ca : 3	Uterus ca : 1
Stomach ca : 1	Thyroid ca : 1
Brain tumor : 1	NHL : 1
	HD : 2

表 2

### MDS / AML after Autologous SCT

- No. of reported cases : 25
- Diagnosis for which autologous SCT was indicated
 

Non-Hodgkin's lymphoma : 14	Lung cancer : 1
Acute myelogenous leukemia : 4	Ovarian cancer : 1
Hodgkin's disease : 4	
Germ cell tumor : 2	
Myeloma : 1	
- Sources of stem cells
 

PBSCT : 20
PBSCT + BMT : 3
BMT : 2
- Median age : 43 (20 - 67)
- Median time from transplant to secondary malignancy : 4.2 (1-9) (n=9 ; data not available, 16)



### 小児急性白血病に対する自家骨髄移植の治療成績

名古屋第一赤十字病院 小児医療センター 血液腫瘍科  
加藤剛二、日高啓量、前田尚子、松山孝治

#### 症例

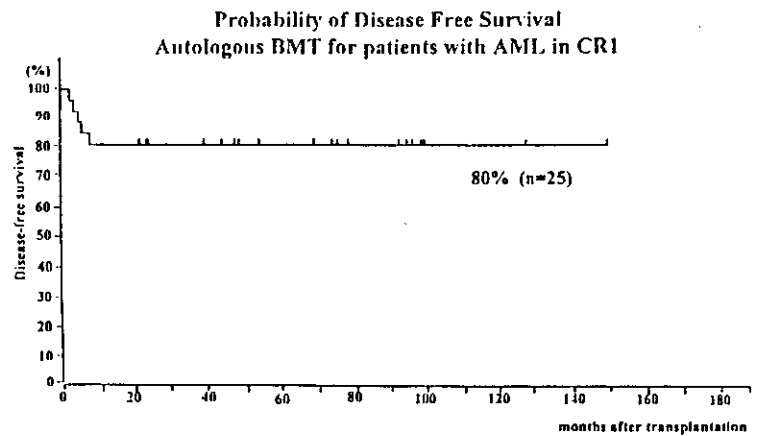
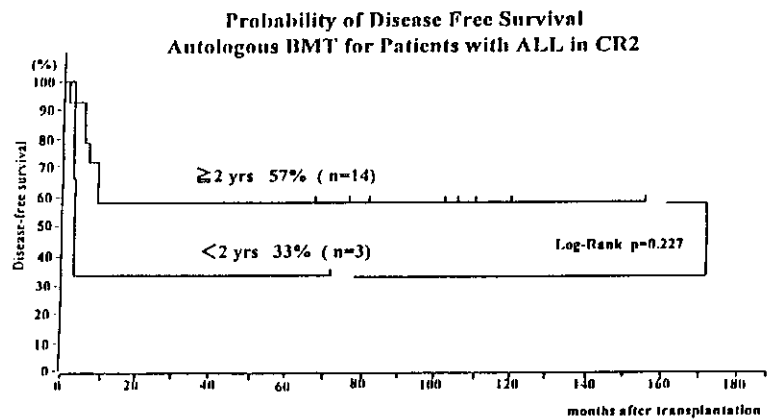
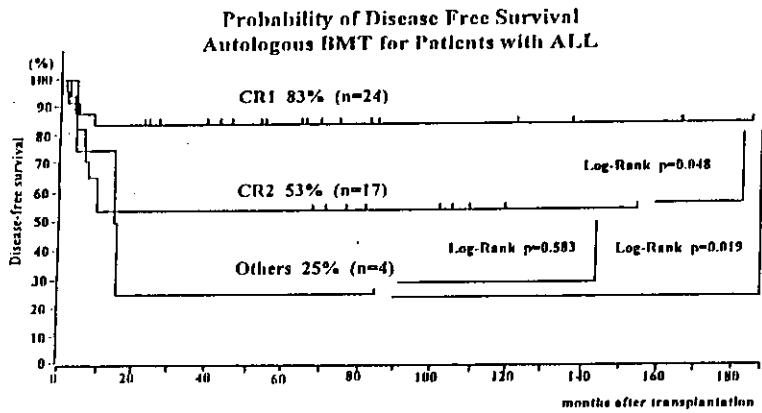
- 1, 症例数 70例 (1985年-2000年)
- 2, 年齢 (歳) 7.4 (0.7-18)
- 3, 性 (男/女) 25/45
- 4, 病型  
ALL 45例 (Ph+ 4例)  
AML 25例 M 1 4例  
M 2 9例  
M 4 1例  
M 5 4例  
M 7 7例
- 5, 病期  
ALL CR1 24例  
CR2 17例  
Others 4例  
AML CR1 25例

#### 移植前処置

ALL	BU+L-PAM	17
	CA+CY+TBI	6
	L-PAM+TBI	7
	VP16+L-PAM+TBI	7
	BU+L-PAM+TBI	8
AML	BU+L-PAM	25

#### 血液学的回復

		n	med. (range)
ALL	ANC $\geq$ 500	39	15 (10-32)
	last Plt Tx.	42	54 (26-214)
AML	ANC $\geq$ 500	25	35 (12-78)
	last Plt Tx.	25	54 (35-154)



免疫寛容の指標としての母児間マイクロ・キメリズム

特定非営利活動法人 HLA 研究所 佐治博夫、丸屋悦子

■哺乳動物における妊娠現象は自然アロ免疫■  
 哺乳動物は母児免疫寛容により、妊娠を継続し分娩に至る。妊娠中の母児間には各種の交換があり、血液（有核）細胞も少量ながら交換されていて、マイクロ・キメリズムの状態が成立する。マイクロ・キメリズムは分娩後も長期に高い確率で維持される。これを long-term feto-maternal microchimerism と呼ぶことにする。Long-term

feto-maternal microchimerism は母児免疫寛容の結果であるとすれば、免疫寛容の指標となり得る。

■マイクロ・キメリズムの成立頻度■

○分娩直前後：100%に検出できる（人戸ら）  
 男児妊娠の母血中 y 染色体の PCR による検出  
 ○児成長後約 70%に母児間マイクロ・キメリズムが維持される。（母に 73%、子に 64%）

Table 1. Reciprocal chimeric cells in fetal maternal pairs

Chimeric cells in fetal-maternal pair		observed
Chimeric maternal cells	Chimeric offspring cells	28 (54%)
Chimeric maternal cells	No chimeric offspring cells	5 (10%)
No chimeric maternal cells	Chimeric offspring cells	10 (19%)
No chimeric maternal cells	No chimeric offspring cells	9 (17%)
Total		52

■年齢別頻度；逐年的に減少するか？■表 2

子の年齢別にマイクロ・キメリズム頻度を見たと  
 ころ、有意差はなかった。すなわち、逐年的に  
 Chimerism が解消されることはなさそうである。

有意差なし。ただし「母」は後述の Double また  
 は Triple キメリズムがあり得るのでマイクロ・キ  
 メリズムの頻度は高い（母；82%、子 66%）。

■性差はあるか？■表 2

■Leukemia と normal の比較■

Leukemia の母に多い傾向がある（91%対 78%）。

Table 2. Persistence of chimerism. The age of the child represents the duration of chimerism.

Chimeric state	Duration of chimerism - yrs						Sex		Disease		Total
	0-9	10-19	20-29	30-39	40-49	50-59	Male	Fe-male	Normal	Leuk	
Chimeric maternal cell	6 54%	14 60%	17 74%	5 83%	4 57%	1 33%	24 60%	26 72%	22 66%	23 66%	50 66%
No chimeric maternal cell	5	9	6	1	3	2	16	10	11	12	26
Chimeric offspring cell	8 80%	12 92%	15 88%	4 80%	3 60%	0	24 80%	22 85%	31 78%	10 91%	46 82%
No chimeric offspring cell	2	1	2	1	2	1	6	4	9	1	10
Total	21	36	40	11	12	4	70	62	73	46	132

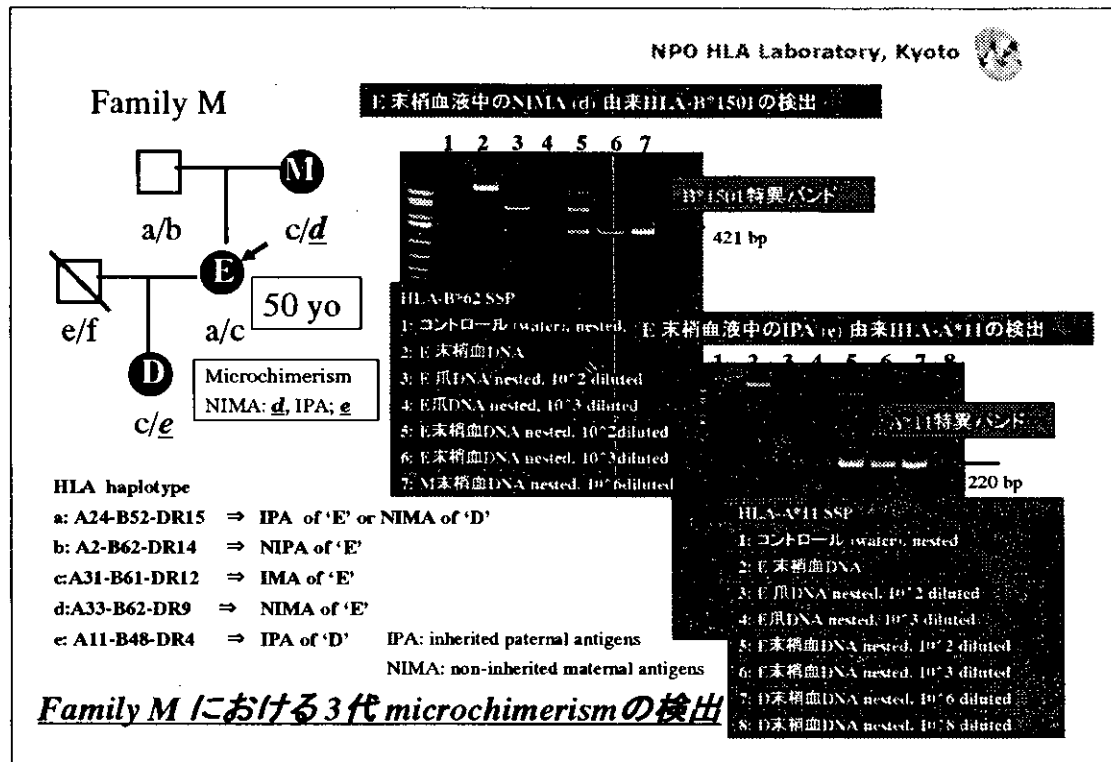
特定非営利活動法人 HLA 研究所  
 e-mail : hla@hla-labo.org saji1@mbox.kyoto-inet.or.jp  
 電話：075-762-5201 Fax：075-762-5202 携帯：090-4282-9172

Table 3. Double and triple chimerism. Two mothers had chimeric cells from their mothers and from their children.

Case #	First chimeric cell	Second chimeric cell	Third chimeric cell
36, 37 E.M.	A33, B62, DR9 from mother for 50 yrs	A11, B48, DR4 from 24 yr old child	
45,46,47,48, A.O.	A24, B55 from mother for 42 years	A24, B60 from 15 yr old child	A24, B52, DR15 from 13 yr old and /or 9 yr old children

■母末梢血中 Multiple chimerism 表 3

母はその母の NIMA と子の IPA (一夫では最大 2) を、double または triple chimeric にもち得る。



■SCT への応用

- 母児間 haploidentical NIMA/IPA 不適合移植
- 同胞間 NIMA complementary 移植
- 臍帯血バンク；臍帯血の NIMA を許容抗原

■DLI への応用

- 母児間、NIMA complementary 同胞間 DLI

■ドナー選択肢順位の變更⇒検討課題

血縁間はマイナー組織適合性抗原の適合性が非血縁間より 2 倍良好、母子・同胞間はミトコンドリアを共有することを重視する。

1, HLA identical sibling

- 2, 親子間 HLA-A,B,DR 表現型一致
- 3, 親子、同胞間、GVHD 方向 0 ミスマッチ
- 4, 母児間、NIMA complementary 同胞間 1 座ミスマッチ (父、女系 2~3 親等をどうする?)
- 5, 非血縁間 HLA 適合、非血縁臍帯血適合 (許容抗原 1 ミスマッチまで) 適応的 haplotype を重視
- 6, 母子間、NIMA complementary 同胞間 2~3 座ミスマッチ (マイクロ・キメリズム要請を優先)
- 7, 非血縁臍帯血ミスマッチ (許容抗原を優先)
- 8, 非血縁間 1 ミスマッチ

特定非営利活動法人 HLA 研究所

e-mail : hla@hla-labo.org saji1@mbox.kyoto-inet.or.jp

電話 : 075-762-5201 Fax : 075-762-5202 携帯 : 090-4282-9172

厚生科学研究ヒトゲノム・発生医療等研究事業  
「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」  
平成13年度第一回研究報告書 (2001年6月9日)

FK506をGVHD予防に用いた  
母子間・非遺伝母HLA抗原 (NIMA) 相補的同胞間  
造血幹細胞移植に関する臨床第II相試験の提案

一戸辰夫<sup>1)</sup>、玉木茂久<sup>2)</sup>、丸屋悦子<sup>3)</sup>、佐治博夫<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>京都大学附属病院第一内科、<sup>2)</sup>山田赤十字病院内科、<sup>3)</sup>特定非営利活動法人HLA研究所

### 腎移植において示されたNIMA効果

- \* 同胞間haploidentical腎移植のgraft survivalの解析:  
NIMA不適合同胞=HLA適合同胞>NIPA不適合同胞  
(Burlingham WJ, et al. *N Engl J Med* 339:1657, 1998)
- \* Eurotransplant非血縁者間腎移植におけるHLA不適合症とgraft survivalの解析:  
HLA-A: NIMA不適合>NIMA以外の不適合  
HLA-B, HLA-DRでは有意差なし  
HLA-AのNIMA不適合>HLA-A適合  
NIMAとの接触による免疫寛容の誘導効果?  
(Smits JMA, et al. *Transplant Int* 11:82, 1998)

### Long-term feto-maternal microchimerism:

Detection of maternal or fetal hematopoietic cells from peripheral blood of immunocompetent adults or of postpartum women.

- #1 Usually present at a very low frequency (<0.1% of PB).
- #2 No tendency to drop off by age (<51 yrs).
- #3 A similar incidence of maternal cell microchimerism between males and females.
- #4 Present in stem-cell harvest (both marrow and G-PBSC).
- #5 Might be associated with long-term feto-maternal "tolerance".

KYOTO UNIVERSITY HOSPITAL  
DEPARTMENT OF BONE MARROW TRANSPLANT

### SCTにおけるhistocompatibility見直しの必要性

- 1) HLA適合同胞間においても\*約8%に重症GVHD (III度以上)が認められる。
- 2) HLA部分不適合血縁者間移植における重症GVHDの発症頻度 (16.7%)は高々HLA適合同胞間の2倍であり、HLA適合非血縁者間 (15.4%)と同等である。
- 3) HLA部分不適合者間移植例の中にもHLA適合同胞間に匹敵するほどきわめて軽微な良好な症例が存在する。

HLA適合者間におけるunacceptable match, HLA部分不適合者間におけるpermissible mismatchが明らかにされる必要があるのではないかと

\*GVHDの発症頻度は日本造血細胞移植学会平成11年度全国調査より

### Incidence of Acute GVHD in Related Haploidentical UCB Transplantation

n=15	aGVHD	
	Grade 0-1	Grade II-IV
Disparity at NIMA (n=10)	10	0
Disparity at NIPA (n=5)	1	4

NIMA: non-inherited maternal HLA antigen NIPA: non-inherited paternal HLA antigen (Duke University Medical Center)

(Kurtsberg J, at 24th ASHI Annual Meeting, Vancouver, 1998)

Duration of chimerism (yr)	MATERNAL CELL CHIMERISM		OFFSPRING CELL CHIMERISM	
	No. of subjects studied	Detected	No. of subjects studied	Detected
0-9	11	6 (54%)	10	6 (60%)
10-19	23	14 (60%)	13	12 (92%)
20-29	23	17 (74%)	17	15 (86%)
30-39	6	5 (83%)	5	4 (80%)
40-49	7	4 (57%)	5	3 (60%)
50-59	3	1 (33%)	1	0 (0%)
Offspring's Sex				
Male	40	24 (60%)	30	24 (80%)
Female	36	26 (72%)	26	22 (85%)
Presence of hematologic disease				
Absent	33	22 (65%)	40	31 (78%)
Present	35	23 (65%)	11	10 (91%)
Total	76	50 (65%)	56	46 (82%)

Common occurrence of long-term feto-maternal microchimerism detected by HLA-specific nested PCR-SSP.

133 subjects studied (aged 6-74 yrs)

More than two thirds were proved to be chimeric.

O. HLA Laboratory Kyoto Lab O  
KYOTO UNIVERSITY HOSPITAL  
DEPARTMENT OF BONE MARROW TRANSPLANT

### Claas-van Roodの仮説

- 妊娠を通じて母子間には非自己HLAに対するトレランスが成立する。
- このトレランスは獲得免疫寛容として妊娠終了後も最長期間持続する。
- 母子間長期免疫寛容は、移植片に対するhyporesponsiveness /toleranceに關与する。
- したがってヒトの組織適合性を考える時には、ドナーとレシピエントの自己HLAだけではなく、非遺伝母HLAも (妊娠を経験した女性では配偶者HLAも) 重要である。

### Long-term feto-maternal effect was also confirmed by IBMTR

Analysis of the outcomes in HLA-haploidentical SCTs with regard to GVHD, TRM, and survival. (n=319)

Non-T-cell-depleted transplants:

Acute GVHD: NIMA-mismatch<NIPA-mismatch (P<0.01)

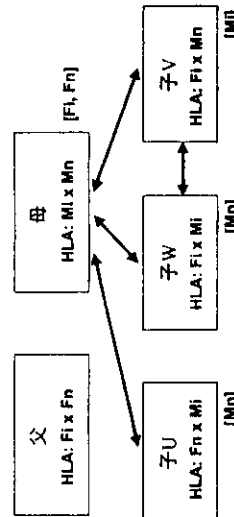
Chronic GVHD: Maternal graft<Paternal graft (P<0.02)

Risks of Acute/chronic GVHD and TRM:

NIMA-incompatible sibling SCT<NIPA-incompatible sibling or parental donor SCT

(van Rood JJ et al., 42nd ASH, San Francisco, 2000)

### 血縁者間における非遺伝HLAの相補的なマイクロキメリズム

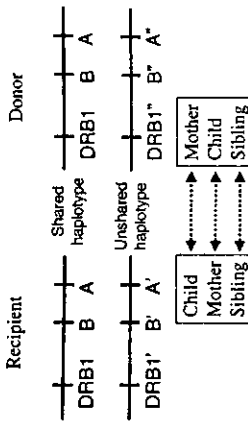


F1/M1: 子Wに遺伝した父 (母) HLA x 母Wタイプ

F2/M2: 子Wに遺伝しなかった父 (母) HLA x 母Wタイプ

[ ]内はマイクロキメリズムとして検出可能な非遺伝HLA抗原を含むWタイプ

### NIMA-complementary donor



Recipient's unshared haplotype=Donor's NIMA or Donor's unshared haplotype=Recipient's NIMA

KYOTO UNIVERSITY HOSPITAL  
DEPARTMENT OF IMMUNOHISTOCHEMISTRY

### UPN 64(P2): CML-BC

Mother 64 y.o.

A26-Cw10-B61-DRB1\*0410 (NIMA)  
/A24-Cw1-B54-DRB1\*0405

1 serological and  
2 allelic mismatch  
at GVH

A24-CBL-B51-DRB1\*0406 (IPA)  
/A24-Cw1-B54-DRB1\*0405 (IMA)

39 y.o. Male

Fetal MC in mother: (+) [B51]  
Maternal MC in donor:  
not examined

Conditioning: BUJCY

Stem-cell source: Marrow

GVHD prophylaxis: FK506+MTX

aGVHD: Initially grade II (skin 2, gut 1)

OS score 3

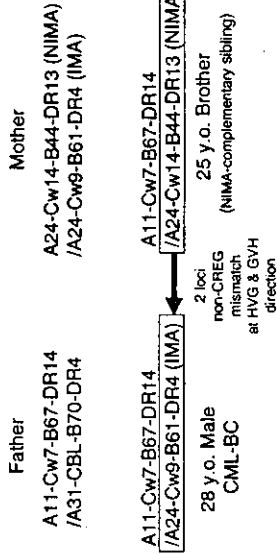
→ Grade III after withdrawal of FK506

+DLI

Died in NR (day 68)

KYOTO UNIVERSITY HOSPITAL  
DEPARTMENT OF IMMUNOHISTOCHEMISTRY

### The first successful 2-loci-mismatched SCT based on NIMA-complementary donor selection



28 y.o. Male  
CML-BC

25 y.o. Brother  
(NIMA-complementary sibling)

### UPN-P1: CML-BC (28/M)

Donor: NIMA-complementary sibling (2 serological MIM)  
Maternal microchimerism: donor(+)/recipient(+)

Conditioning: CY/CA/TBI

Graft: T-cell-non-depleted G-PBSC  
(transplanted May 18, 2000)

GVHD prophylaxis: FK506+MTX

Acute GVHD: Grade I (skin 2) day 49-

Completely responded to PSL 20 mg/body

Current status: Relapsed day 148-

Partial response to IFN-α

Currently AWD (day 317 as of March 31, 2001)

### UPN65(P3): Refractory ALL

Mother 72 y.o.

A2-Cw1-B\*4002-DRB1\*0410 (NIMA)  
/A3-CBL-B13-DRB1\*0701

1 Serological and  
2 allelic mismatch  
at GVH

A11-Cw9-B\*4002-DRB1\*0405 (IPA)  
/A3-CBL-B13-DRB1\*0701 (IMA)

31 y.o. Male

Fetal MC in mother: (+) [A11]  
Maternal MC in recipient: (+) [A2]

Conditioning: L-PAM/TBI

Stem-cell source: Marrow +G-PBSC

GVHD prophylaxis: FK506 alone

aGVHD: Day 34-, grade II (skin 2, gut 2)

OS score (skin 2, gut 4)

completely responded to

1 mg/kg of PSL

cGVHD: Limited skin lesion + GI

Current status: Relapsed on day 271

Died of MOF (day 308)

KYOTO UNIVERSITY HOSPITAL  
DEPARTMENT OF IMMUNOHISTOCHEMISTRY

### UPN88(P4): Refractory NHL

Mother 66 y.o.

A24-Cw4-B54-DRB1\*0405 (NIMA)  
/A24-CBL-B52-DRB1\*1502

1 Serological and  
2 allelic mismatch  
at GVH

A24-Cw1-B62-DRB1\*0406 (IPA)  
/A24-CBL-B52-DRB1\*1502 (IMA)

41 y.o. Female

Fetal MC in mother: (+)  
Maternal MC in recipient: (-)

Conditioning: Flu/BU/ATG

Stem-cell source: G-PBSC

GVHD prophylaxis: FK506+MTX

Day 9-: Fever & Rash

CMV, HHV-6: PCR negative

Day 14: 100% recipient hematopoiesis

→ Graft rejection

Current status: Autologous recovery

Alive with disease

KYOTO UNIVERSITY HOSPITAL  
DEPARTMENT OF IMMUNOHISTOCHEMISTRY

### 母子間マイクロメリスムを長期免疫寛容の指標とした造血細胞移植におけるhistocompatibilityの見直し

#### 血縁ドナー

新しいAlternative donorとしての、NIMA不一致血縁者の見直し、特にHLA 2層以上不一致例での移植のfeasibilityの検討、妊娠歴のあるドナーの場合、配偶者のHLAの検査も必要。

#### 非血縁ドナー (調停血を寄与)

レシピエントとの不適合アレルがNIMA不一致 Non-NIMA不一致の2群間における移植成績の相違を比較研究が必要。(少なくともCBSCTでは可能?)

KYOTO UNIVERSITY HOSPITAL  
DEPARTMENT OF IMMUNOHISTOCHEMISTRY

骨髄移植

HLA 2座不一致 母親から骨髄移植を施行した  
骨髄異形成症候群の一例

西田 徹也<sup>1,2</sup>、大庭 拓<sup>1</sup>、阿部 正理<sup>1</sup>、鬼塚 真仁<sup>1</sup>、  
熱田 由子<sup>1</sup>、寺倉 精太郎<sup>1</sup>、笠井 雅信<sup>1</sup>、北折 健次郎<sup>1</sup>、  
丸屋 悦子<sup>3</sup>、佐治 博夫<sup>3</sup>、小寺 良尚<sup>1</sup>

1 名古屋第一赤十字病院 内科  
2 名鉄病院 血液内科  
3 HLA研究所

ドナー: HLA2座不一致母 (GVH方向1座、拒絶方向2座)

血型 B(+) match

前処置: BU 1mg/kg × 8 (day-8~-6)

CY 60mg/kg × 2 (day-5~-4)

TBI 2.5Gy × 4 (day-2~-1)

GVHD予防:

短期MTX (day1 10mg/m<sup>2</sup>, day3,5 7mg/m<sup>2</sup>)

FK506 (day-1~ 0.03mg/kg/day 24hr.cont.)

輸注有核細胞数: 3.74 × 10<sup>9</sup>/kg (未処理)

緒言

成人の末梢血球から、母由来の非遺伝性HLAが検出され、また、母の末梢血球に配偶者型のHLAが検出されるという事実が明らかになり、分娩後も長期間にわたり母子間にマイクロキリズムが成立し、免疫寛容を誘導している可能性が示唆されている。

我々は、マイクロキリズムが成立しているHLA2座不一致の母子間において、T細胞非除去骨髄移植を施行したので報告する。

症例

31歳 女性

疾患: 骨髄異形成症候群 (RAEB)

現病歴: H10.1/8 汎血球減少を指摘され、他院を受診し、骨髄検査にてBlast 10.4% 認め、MDS(RAEB)と診断され、当院紹介受診。HLA適合同胞見つからず。

H10.8/20~赤血球輸血依存性となり、骨髄バンクに登録するも、適合ドナー見つからず、HLA 2座不一致の実母からの造血幹細胞移植を予定。

H13.1/4 骨髄移植目的で入院。輸血は、MAP約3単位/月施行。WBC 1500/μl、Hb 5g/dl、Plt 5000/μl前後で経過。

入院までの総輸血量: MAP 81単位、PC 15単位 (抜歯時のみ)

既往歴: アトピー性皮膚炎 (17歳まで)

入院時検査所見: WBC 1400/μl (Blast 0%, Neutro 12%, Lymph 87%, Mono 0%)  
RBC 132万/μl, Hb 4.6g/dl, Ht 12.9%, Plt 5000/μl, Ret 12.1%

CRP 0.2mg/dl, TP 5.7g/dl, T-Bil 0.6mg/dl, GOT 53IU/L, GPT 90IU/L

LDH 325IU/L, ALP 367IU/L, Ch-E 167IU/L, γ-GPT 21IU/L, Fe 172 μg/dl

BUN 18mg/dl, Cr 0.5mg/dl

尿検査: pH 6.0, 蛋白 (-), 糖 (-), 潜血 (-), 尿沈渣異常なし

骨髄検査: NCC 2000/μl (Blast 4%, Myelo 0%, Meta 12%, Band 6%, Seg 6%

Lymph 30%, Mono 30%) 染色体 46,XX

HLA family study

患者(31歳): A 31 B 61(4006), 51(5101) DR 4,12

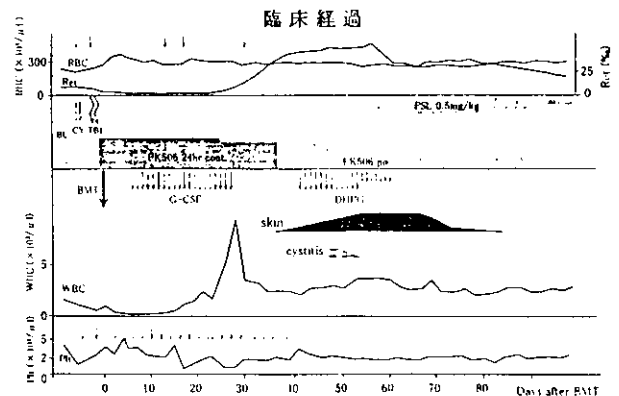
母(59歳): A 24,31 B 61(4006), 51(5101) DR 9,12

父(67歳): A 3,31 B 61(4006), 44(4403) DR 4,6

姉(37歳): A 3,31 B 44,51

妹(29歳): A 3,24 B 44,61

HLA microchimerism: 母(ドナー)の末梢血球中に父由来HLAアリル(HLA-DRB1 04)が検出され、また、患者の末梢血球中に母非遺伝性HLAハプロタイプ由来のHLAアリル(HLA-A24)が検出された。



移植後経過

# hematological recovery:

WBC ≥ 1000/μl day16, Neutro ≥ 500/μl day16

Ret. ≥ 1% day29, Plt ≥ 50000/μl 未,

最終血小板輸注日 day39

#キリズム(microsatellite): day28 recipient <10% (信頼限界10%)

# acute GVHD: Day35頃から皮膚に掻痒感を伴う紅斑出現し、徐々に拡大(stage3)、ステロイド外用剤使用しても改善せず day65 PSL 0.5mg/kg開始し、その後、皮疹改善した。

# infection: Day39 CMV antigenemia陽性となり、DHPGをday60まで投与した。Day48頃より膀胱炎症状出現(尿よりウイルスは分離されず)したが、数日で軽快した。

#短期記憶障害: 移植後早期より短期記憶障害を認めたが、頭部CT, MRI上異常所見認めず、精神科にて抑うつによる思考、注意障害あるいは心因性健忘と診断され、改善傾向にある。

# outcome: 移植後 4ヵ月経過し、再発なく生存中である。

結語

マイクロキリズムが確認されたHLA 2座不一致母子間骨髄移植(T細胞非除去)は、造血幹細胞移植以外では治療や長期生存が期待できず、HLA適合または1座不適合血縁ドナーおよび非血縁ドナーの存在しない患者に対し、有望な治療法と考えられる。

実際に母子間マイクロキリズムが長期免疫寛容の指標となり得るか、また、HLA 2座以上不一致母子間移植の安全性、有効性などについては、さらなる症例の蓄積による検討が必要である。

## HLA 不適合母子間移植の 3 例

国立名古屋病院血液内科 濱口元洋

【目的】急性白血病非寛解期などの造血幹細胞移植適応患者の中には、同胞のみならず骨髄バンクにおいても HLA 一致適合ドナーが見つからないことが多い。我々は母子間のマイクログリムの理論に基づき HLA 不適合母子間移植を 3 例実施したので報告する。

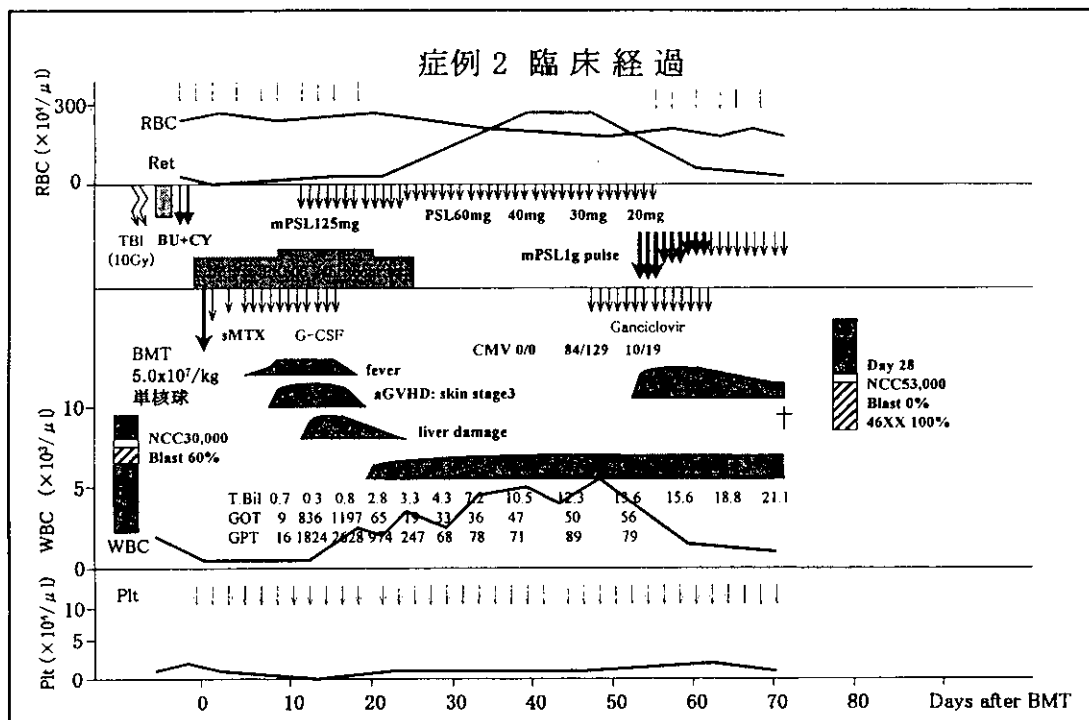
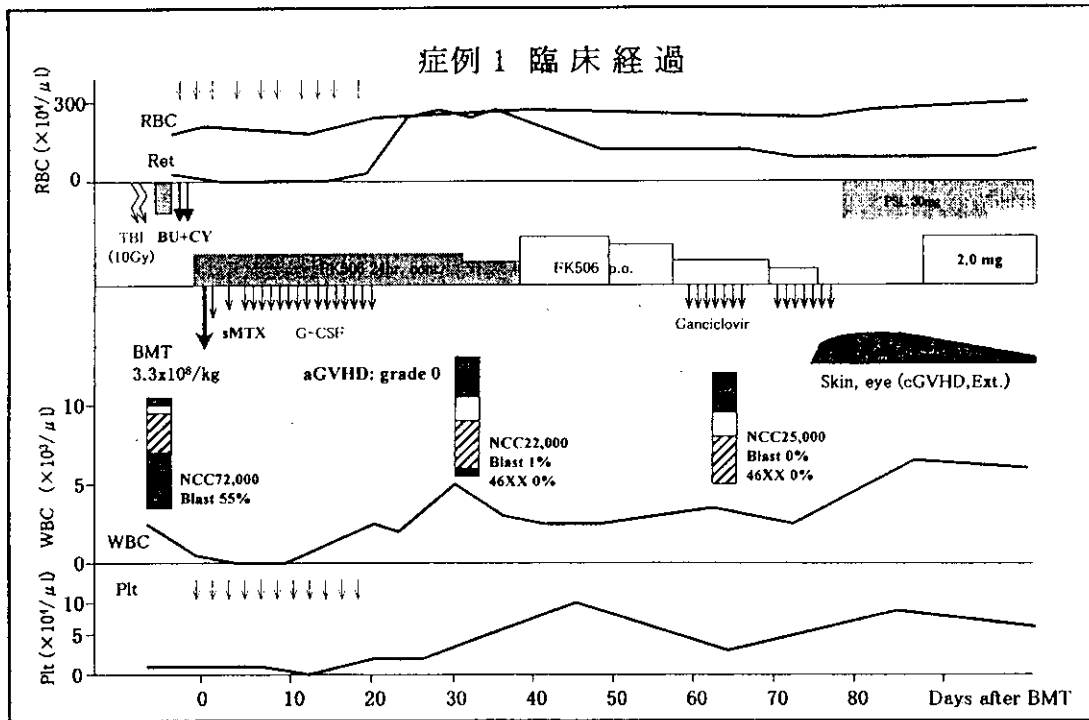
症例 1	症例 2	症例 3
<p>患者: K.T., 49歳, 女性, 身長 160 cm, 体重 56 kg, 血型 A, Rh+.</p> <p>ドナー: 長男, 19歳, 血型 O, Rh+.</p> <p>疾患: 急性骨髄性白血病 AML(M1), 非寛解期</p> <p>染色体: 46XX [17], 47XX+5 [1], 46XX del(2)(q33) [1], 46XX add(13)(q32) [1].</p> <p>現病歴: 以前より糖尿病・甲状腺機能亢進症にて近医通院されていた。 2000年3月15日、市立四日市病院血液内科に紹介入院となる。 初診時WBC 7,500 (blast 30%), RBC 460x10<sup>4</sup>, Plt 1.6x10<sup>4</sup>. Bone Marrow NCC 31,000 (blast 40%)と低形成骨髄であったため寛解導入療法をBHAC, VP-16, VDSで実施し完全寛解を得た。しかし、地固の療法後の血小板回復が遅く、治療延期となり結果的には再発となった。骨髄移植目的でHLA検査実施。同胞では一致者もなく、骨髄バンク登録としたがドナーが見つからず、長男と血清学的DR1座不一致ということで長男からの移植目的で、2000年12月22日に国立名古屋病院血液内科に紹介入院となる。 入院時WBC 3,000, RBC 263x10<sup>4</sup>, Hb 8.8 g/dl, Plt 3.0x10<sup>4</sup>. BM NCC 72,000 (blast 55%), PS 1</p> <p>HLA serotype (DNA type) patient: A 2 (2406), 33, B 54, 61, Cw 1, 3, DR 4, 6 donor: A 2 (2411), 33, B 54, 61, Cw 1, 3, DR 2, 6</p>	<p>患者: S.U., 41歳, 男性, 身長 173 cm, 体重 74 kg, 血型 AB, Rh+.</p> <p>ドナー: 母親, 64歳, 血型 A, Rh+, 糖尿病あり.</p> <p>疾患: 急性骨髄性白血病 AML(M2), 非寛解期</p> <p>染色体: 46XY, t(6;21)(q22;q22) [17], 46XY [3].</p> <p>現病歴: 1999年11月産科市立病院に入院, JALSG AMI 97プロトコルにて寛解導入療法開始となる。初回寛解となりその後地固の療法も順調に消化され、2000年9月に自己末梢血幹細胞移植を予定されていたところ再発が判明し、再度の寛解導入療法を実施された。初診時WBC 9,800 (blast 49%), Hb 7.0g/dl, Plt 0.8x10<sup>4</sup>. Bone Marrow blast 49%, CD13, 33, 34, 56, DR陽性。 初回からの治療は, IDA+AraC, MIT+AraC, DNR+AraC, ACR+AraC, VP16+AraC+VCR, その後PBSC採骨川にHD+AraC, HD-VP16, 再発判明後にIDA+AraC, MIT+AraC, ACR+AraC, HD+AraCを実施された。 骨髄移植目的でHLA検査実施。同胞では一致者もなく、骨髄バンク登録としたがドナーが見つからず、母親と血清学的A座1座不一致ということで母親からの移植目的で、2001年2月16日に国立名古屋病院血液内科に紹介入院となる。 入院時WBC 1,800, RBC 292x10<sup>4</sup>, Hb 10.5 g/dl, Plt 7.1x10<sup>4</sup>. BM NCC 45,000 (blast 44%), PS 1</p> <p>HLA serotype (DNA type) patient: A 2 (2421), 33, B 61(4002), 14, DR 2(1502), 6(1302) donor: A 24 (2402), 33, B 61(4002), 44, DR 2(1502), 6(1302)</p>	<p>患者: T.T., 25歳, 男性, 身長 167 cm, 体重 56 kg, 血型 A, Rh+.</p> <p>ドナー: 母親, 48歳, 血型 A, Rh+.</p> <p>疾患: 血球貪食症候群 (VAHS)</p> <p>染色体: 46XY</p> <p>現病歴: 2000年8月発熱、関節痛で発症。その後肝機能障害が出現し急性肝障害と診断される。11月から汎血球減少が進行し、ステロイド投与され経過みられたが、さらに汎血球減少が進行。2001年2月にMRSA肺炎を合併。3月に国立名古屋病院血液内科に紹介入院となる。入院時WBC 500, RBC 212x10<sup>4</sup>, Hb 6.1g/dl, Plt 2.9x10<sup>4</sup>. Ferritin 3,514ng/ml, IL2R 1,643U/ml。胸部X-PTにて左下葉に肺炎が認められ培養からMRSA検出。翌日39.40℃の発熱を認めた。骨髄穿刺所見では造血細胞をほとんど認めず、血球を貪食したマクロファージが多数認められた。血球貪食症候群 (VAHS) と診断し、造血幹細胞移植が適応と考えられた。</p> <p>PS 3</p> <p>HLA serotype (DNA type) patient: A24, 11, B48, 51, Cw7, DR4(0405) donor: A24, 11, B39, 51, Cw7, DR4(0405), 8(0802)</p>

### 【3症例のまとめ】

Case	患者	ドナー	疾患	病期	HLA不適合	Microchimerism	前処置治療	GVHD予防	急性GVHD	慢性GVHD	予後	死因
1	49歳, 母	19歳, 長男	AML(M1)	NCR	A:DNA, DR	検査せず	BU+CY+TBI(10Gy)	sMTX+FK506	Grade0	Ext	Alive(123d)	
2	41歳, 長男	64歳, 母	AML(M2)	NCR	A	+	BU+CY+TBI(10Gy)	sMTX+FK506	Grade2		Died(71d)	IP, TMA
3	25歳, 長男	48歳, 母	VAHS	NCR	B, DR	+	LPAM+TBI(7.5Gy)	sMTX+FK506			Died(16d)	生着不全

### 【考察】

国立名古屋病院血液内科においては、現在緊急の移植適応である症例で、かつ、骨髄バンクに適当なドナーのいない症例に対し、HLA 不適合母子間移植を実施している。2座不適合ドナーであってもコントロール可能なGVHDの範囲であり、1 Haplo不適合をドナーとして採択できるかどうかは今後の課題である。それにはMicrochimerism 検査が重要となる。Standard Risk 症例への適応拡大に関しても検討したい。





平成13年6月9日

テーマ I 造血細胞移植から細胞治療へ

5. HLA不適合移植の基盤整備

分担研究者 峯石 真 (国立がんセンター中央病院)

造血幹細胞移植は非血縁同種骨髄移植や臍帯血移植の発達につれて選択の幅を広げ、1抗原ミスマッチの非血縁移植の開始も含めて、多くの患者が造血幹細胞移植の機会を得られるようになってきた。しかしながら、いまだに適切なドナーの見つからない患者やコーディネートの間に合わない患者はおり、また非血縁移植後に拒絶が起こった場合などにはその選択の余地は極めて限られる現状である。このような問題を解決するためHLA Haploidenticalな血縁ドナーからのCD34陽性細胞純化移植(ハプロ移植)のプロトコルを提案する。これまでもハプロ移植の報告は見られるが多くは小児を対象としたものであった。ここでは主に成人を対象として、成人のハプロ移植を最も多く手がけているイタリアのグループの方法をもとに改良を加えて、移植の絶対適応でありながらドナーの見つからない患者やコーディネートが間に合わない患者に対してハプロ移植を行なうプロトコルを提案する。

Proposed Regimens

TBIを用いる場合	Days	-6	-7	-8	-5	-4	-3	-2	-1	0			
TBI(200cGy x 6)		XX	XX	XX									
Fludarabine(30mg/m <sup>2</sup> /d)				X	X	X	X	X					
ThioTepa(5mg/kg x 2)						XX							
Thymoglobulin(2.5mg/kg/d)							X	X	X				
PBSCT										X			
TBI 200cGyを用いる場合 再移植の場合に用いる	Days	-6	-5	-4	-3	-2	-1	0					
TBI 200cGy		X											
Fludarabine(30mg/m <sup>2</sup> /d)		X	X	X	X	X							
Cyclophosphamide(50mg/kg/d)		X											
Thymoglobulin(2.5mg/kg/d)				X	X	X							
PBSCT								X					
TBIを用いない場合	Days	-6	-5	-4	-3	-2	-1	0					
Melphalan(140mg/m <sup>2</sup> , IV)		X											
Fludarabine(30mg/m <sup>2</sup> /d)		X	X	X	X	X							
ThioTepa(5mg/kg x 2)				XX									
Thymoglobulin(2.5mg/kg/d)				X	X	X							
PBSCT								X					
2抗原ミスマッチあるいは それ以下の場合に 選択可能	Days	-11	-10	-9	-8	-7	-6	-5	-4	-3	-2	-1	0
TBI 200cGy x 6				XX	XX	XX							
ThioTepa 100mg/m <sup>2</sup> x 8		X	X	X	X	X	X	X	X	X			
Cyclophosphamide 80mg/kg/d										X	X		
PBSCT													X

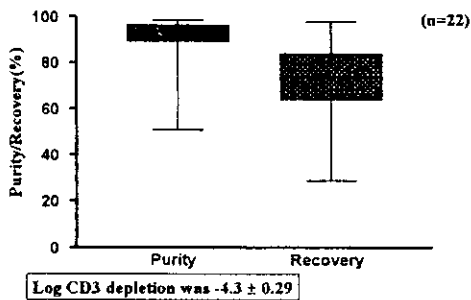
## 対象疾患

- ・ 同種末梢血幹細胞移植の絶対的適応となる以下の患者。
- ・ ①急性骨髄性白血病 (AML)
- ・ ②骨髄異形成症候群 (MDS)
- ・ ③慢性骨髄性白血病 (CML)
- ・ ④急性リンパ性白血病 (ALL), リンパ芽球性リンパ腫 (LBL)
- ・ ⑤非ホジキンリンパ腫 (NHL) あるいはホジキン病 (HD)

## 対象症例

- ・ HLA一致あるいはHLA 1抗原不一致 (血清レベル) の血縁者 (親子や兄弟 (姉妹) 等 4 親等内) がない者。
- ・ 骨髄バンクにHLA適合あるいはHLA 1抗原不一致のドナーがない者。  
〔適合者 (HLA適合ドナーあるいはHLA 1抗原不一致の者) がいなくても病状の悪化により移植を早急に実施する必要があるため、幹細胞の提供が間に合わない者を含む。〕
- ・ 臍帯血バンクよりHLA適合あるいはHLA 1~2抗原不一致の臍帯血が得られない者。  
〔臍帯血バンクよりHLA一致・不一致に関係なく十分量の幹細胞が得られないと考えられる者を含む。〕
- ・ 健康なHLA 2~3抗原不一致 (血清レベル) の血縁者 (親子や兄弟 (姉妹) 等 4 親等内) ドナーがいる者。Haplidenticalの場合に限る。
- ・ 年齢: 1歳以上60歳未満。

Purity and Recovery of CD34 cells after CliniMACS selection (n=22)



## 目標症例数

- ・ 移植後100日において無病生存である場合を成功とみなすこととし、期待する成功率を30%、最低の成功率を10%として、 $\alpha$ を5%、 $\beta$ を20%とした場合に必要症例数は第一段階で10例、第二段階までで計29例である。
- ・ 第一段階の10例のうち2例以上が成功でなければこの研究は中止される。

## 評価項目 (Endpoint)

- ・ 主要評価項目 (Primary End Point)
  - 生存率 (移植後 100日、1年及び3年で評価するものとする)
- ・ 副次的評価項目
  - 生着 (白血球500/mm<sup>3</sup>以上、血小板2万/mm<sup>3</sup>以上となった日)
  - 2次生着不全
  - 前処置関連毒性
  - 合併症 (感染症, GVHD) の発症頻度及び重症度

## 移植細胞数

- ・ 目標CD34陽性細胞数
  - 合計  $1 \times 10^7$  cells/kg  $\cdot$   $\text{BSA}^2$  以上。
- ・ 最低CD34陽性細胞数
  - 合計  $6 \times 10^6$  cells/kg  $\cdot$   $\text{BSA}^2$  以上。

平成13年度第1回研究会議

非血縁者間骨髄移植後8か月に再発し骨髄  
非破壊的前処置を用いて父親より末梢血  
CD34陽性細胞移植を施行したT-NHLの1例

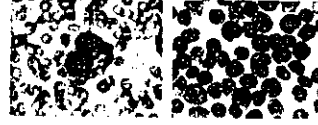
大阪府立母子保健総合医療センター 小児内科  
安井昌博, 河 敬世

株式会社リンフォテック  
山口智宏, 髙根輝彬

於 平成13年 6月9日 (土) 名古屋

Osaka Medical Center & Research Institute for Maternal & Child Health, Japan

症例(1回目入院)



表面マーカー : CD2, 5, 7, 8, 10 (+)

染色体 : t(8;14)(q24;q713)

発症時BM

発症時リンパ節

【病歴】

平成10年4月、頸部リンパ節腫脹で発症。前症にて頸部リンパ節生検および細胞表面マーカーよりT-NHL(lymphoblastic type)と診断された。某大学protocolで治療開始され寛解。平成11年5月、髄液細胞増多も細胞診では悪性所見なしとのことで強化療法を繰り返していたが、同年10月骨髄・髄液再発。再寛解導入は遅やかであった。しかし平成12年2月、HD-MTX後に2nd relapseを体験。同年4月CR3となり、非血縁者間骨髄移植目的で平成12年4月当科入院となった。

【既往歴】 特記すべき所見なし

【入院時現症】 肝脾腫なく、表在リンパ節触知せず

Osaka Medical Center & Research Institute for Maternal & Child Health, Japan

症例(1回目入院)

【当科入院時検査】

WBC 1400 ( neutro. 25, eos 1, baso 1, mono 39, lymph 34 )  
Hb 10.2g/dl, Plt. 8.7 X 10e4

GOT 53, GPT 60,  $\gamma$ -GTP 99, ALP 602, LDH 280, CRP 0.1

【入院後経過】

ITを2回行った後、CI (6Gy), TBI (12Gy), CA (12g/m<sup>2</sup>), L-PAM (140mg/m<sup>2</sup>)で前処置し、DRB1不一致のドナーよりUBMTを5月19日行った。CMV感染を認めたものの急性GVHDも発症せずday82の7月20日に退院となった。以後、外来フォローとなる。

Osaka Medical Center & Research Institute for Maternal & Child Health, Japan

Clinical course after UBM

【engraftment】

WBC > 1000 / $\mu$ l	day14
ANC > 500 / $\mu$ l	14
Reti. > 1%	24
Plt. > 20000 / $\mu$ l	19
Plt. > 50000 / $\mu$ l	24

【GVHD】 aGVHD (0), cGVHD (limited; skln)

【complication】 CMV infection

【outcome】 relapse (8months)

Osaka Medical Center & Research Institute for Maternal & Child Health, Japan

症例(2回目入院)



1st relapse

2nd relapse

3rd relapse

【病歴】

平成13年1月30日、前胸部の出血斑を認めた。2月2日、末梢血検査でWBC 22300 (blast 10%), 骨髄穿刺で有核細胞数79.9万 (blast 94%), CD2, 3, 6, 7, 8, 13, DP陽性であり3rd relapseを体験された。髄液細胞診では悪性所見なしであった。PSLで治療開始され、VCR, CY, DEX, DNR, I-Asp, ITで寛解導入試みられたが、腫瘍細胞は残存していた。本人および家族が再移植を希望されたため同型末梢血幹細胞移植目的で平成13年2月27日当科入院となった。

【入院時現症】 肝脾腫なく、表在リンパ節触知せず

Osaka Medical Center & Research Institute for Maternal & Child Health, Japan

症例(2回目入院)

【当科入院時検査】

WBC 200 ( neutro. 0, mono 10, lymph 90 ), Hb 10.2g/dl,  
Plt. 7.0 X 10e4

GOT 29, GPT 38,  $\gamma$ -GTP 34, ALP 294, LDH 227, CRP 0.1

【入院後経過】

個室隔離とし入院後5日目より、Flu (120mg/m<sup>2</sup>), L-PAM (140mg/m<sup>2</sup>), ATG (40mg/kg)で前処置し、3産不一致の父よりCD34陽性末梢血幹細胞移植を3月12日行った。CMV感染を認めたため活性化CD4 cell (aCD4)を輸注したところ、grade IIの皮膚急性GVHDを発症したが、PSLでコントロールできた。これまで計4回のaCD4を行ったが、皮膚症状も沈静化し、退院に向けて準備中である。

Osaka Medical Center & Research Institute for Maternal & Child Health, Japan

### Clinical course after allo PBSCT

[engraftment]

WBC > 1000 /  $\mu$ l day12  
 ANC > 500 /  $\mu$ l 14  
 Retl. > 1% 18  
 Plt. > 20000 /  $\mu$ l 21  
 Plt. > 50000 /  $\mu$ l 21  
 confirmation to complete chimerism day 28

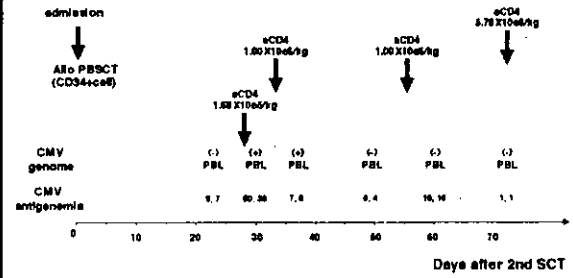
[GVHD] acute GVHD ( skin; II ) after aCD4

[complication] CMV infection

[outcome] CR ( day82 )

Osaka Medical Center & Research Institute for Maternal & Child Health, Japan

### Infusion of activated CD4+ cells



Osaka Medical Center & Research Institute for Maternal & Child Health, Japan

### Changes of peripheral blood T cell subset post PBSCT

	pre SCT	post SCT (day 15)	post SCT (day 23)	pre aCD4(1) (day 28)	pre aCD4(2) (day 32)	post aCD4(3) (day 51)
WBC (/ul)	7400	5200	3900	2300	13200	2600
Lym. (%)	6	3	9	12	10	27
CD2 (%)	92	84	74	72	76	58
CD3 (%)	69	5	8	11	17	3
CD4 (%)	25	22	7	5	-	3
CD8 (%)	52	33	46	41	-	18
CD4 / CD8	0.48	0.67	0.15	0.12	-	0.17
CD20 (%)	2	2	3	2	2	9
CD56 (%)	34	79	88	79	65	57

Osaka Medical Center & Research Institute for Maternal & Child Health, Japan

### Summary of SCT

SCT	UBMT	Allo PBSCT( CD34+cell )
Stem cell source	BM	PB
Donor	unrelated	father
HLA disparity	5 / 6 (DR)	3 / 6 (A, B, DR)
Preconditioning	TBI + L-PAM + CA + CSI	Flu + L-PAM + ATG
GVHD prophylaxis	FK506+MTX+vmPBL	FK506
Interval from onset to SCT ( month )	24	32
Status at SCT	CR 3	3rd relapse
CD34+ cells / kg	9.78 X 10 <sup>6</sup>	7.99 X 10 <sup>6</sup>
CD3+ cells / kg	3.41 X 10 <sup>7</sup>	3.21 X 10 <sup>5</sup>
ANC > 500 / $\mu$ l	14	14
Retlca > 1 %	24	18
Plt. > 2 X 10 <sup>4</sup> / $\mu$ l	18	21
Acute GVHD	0	II (skin) after aCD4
Chronic GVHD	Limited ( skin )	-
Complications	CMV infection	CMV infection
Outcome	Relapse (8 months)	Alive and well ( 2 months )

Osaka Medical Center & Research Institute for Maternal & Child Health, Japan  
 Status on May, 28, 2001

### Conclusions

UBMT後再発のT-NHLの男児にたいしてHLA haploidenticalの父親の末梢血よりCD34陽性細胞を採取しSCTを行った。

UBMT後の早期再発例であったが、T-NHLでありATGを含むmini-transplantを施行し安全に寛解導入できた。

前処置に用いたATGによると思われるTリンパ球の回復の遅延が認められ、また、CMV感染を認めたため活性化CD4の輸注を行った。grade IIの皮膚GVHDを発症したもののcontrollableであり、CMVの再活性化も抑えることができた。

今後は原病の再発予防およびウイルス感染の再活性化予防のために引き続き活性化CD4の輸注を行う予定である。

Osaka Medical Center & Research Institute for Maternal & Child Health, Japan