

表 1.

対象患者

	BMT	PBSCT
患者数	24	16
年齢	6(1-13)	9(0.7-14)
性別		
男	10	8
女	14	8
診断		
ALL	15	7
AML	4	4
MD	1	2
SA	0	2
Others	4	1

ALL:急性リンパ性白血病, AML: 急性骨髄性白血病
MDS:骨髄異形成症候群, SAA: 重症再生不良性貧血

図 1.

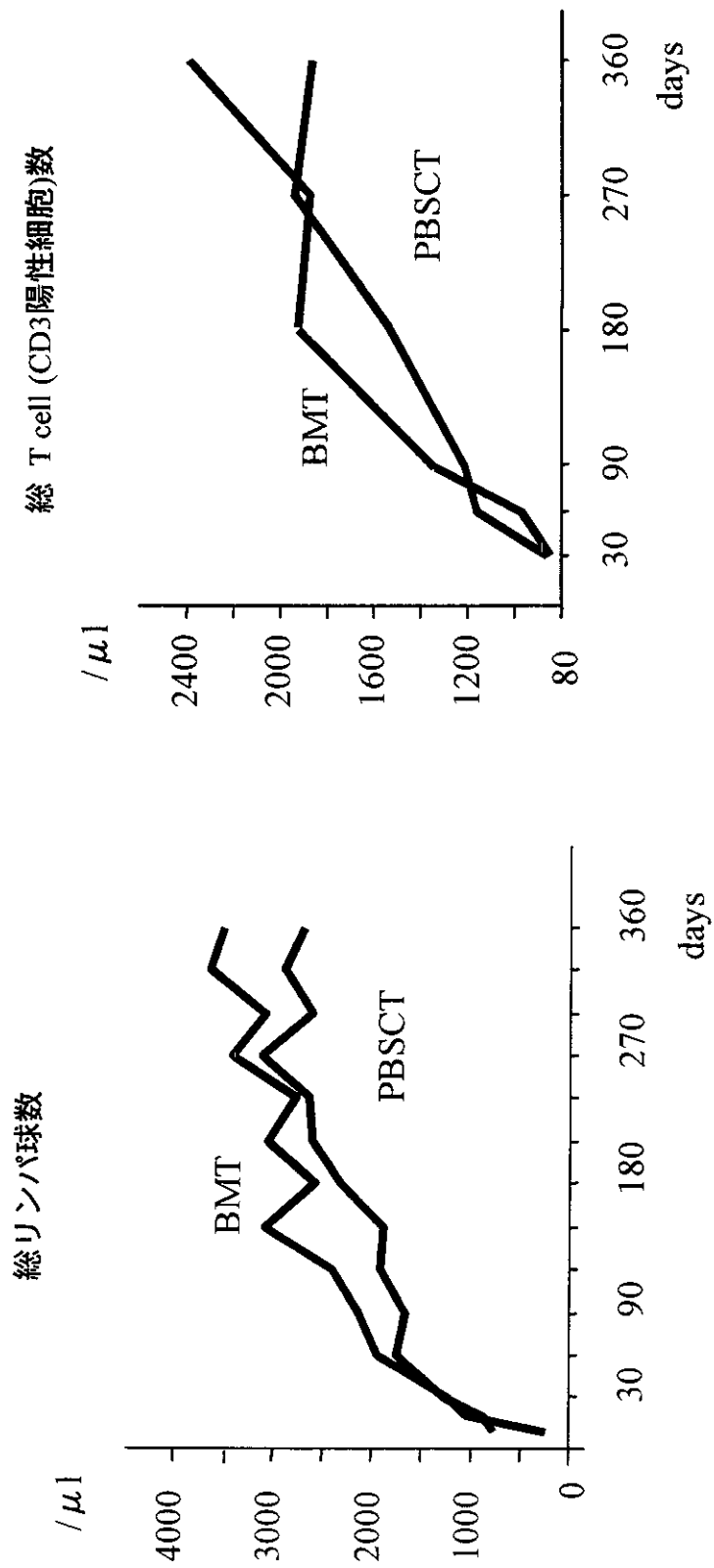
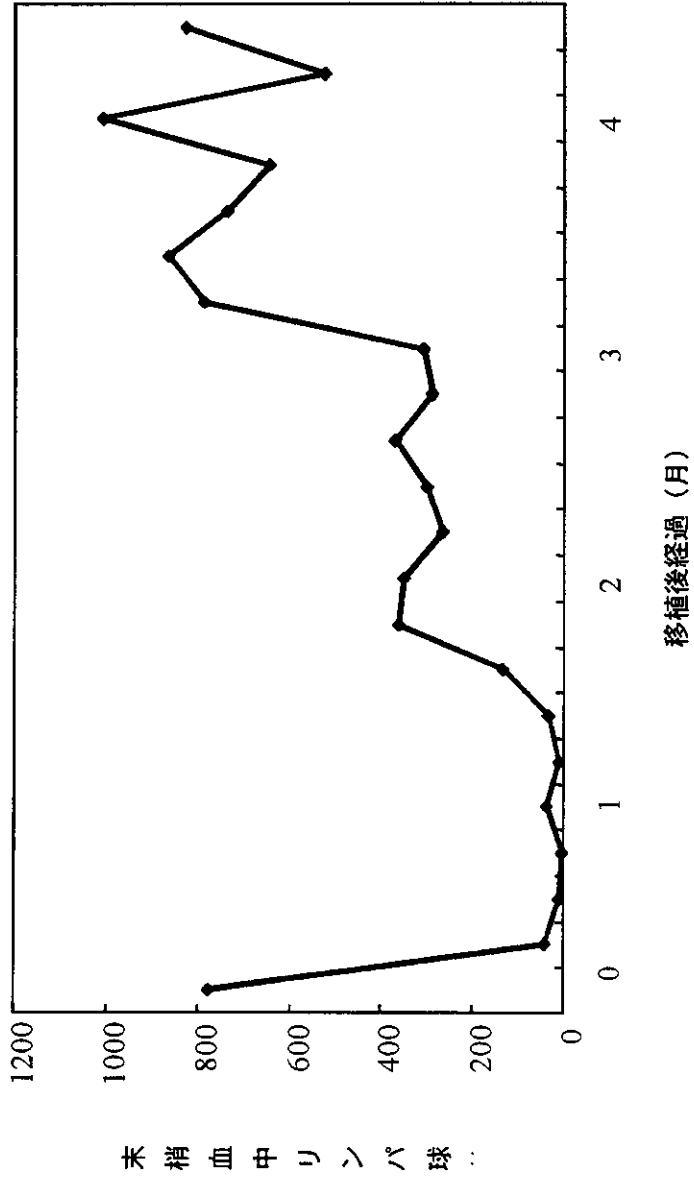


図 2.

70歳腎癌骨髄非破壊的前処置による末梢血幹細胞移植術後



分担研究報告書

「末梢血幹細胞移植の臨床ガイドライン策定に関する研究」

分担研究者 北折 健次郎 名古屋第一赤十字病院 第四内科副部長
研究協力者 笠井雅信、寺倉精太郎、大庭拓、稲本賢弘、杉本恭子、鋤塚八千代、
辻村朱音、小寺良尚、（名古屋第一赤十字病院）
鬼塚真仁、（東海大学医学部）三田貴臣（名古屋市立大学医学部）
原朋子（徳島大学医学部）

研究要旨

骨髓非破壊的前処置法を用いた同種造血幹細胞移植を施行するにあたり、ドナーソースとして末梢血幹細胞（以下 PBSCT）と同種骨髓細胞（以下 BMT）のいずれを選択すべきかの理論的根拠を得るために、後方視的比較をおこなった。当院の合わせて32例の解析より、急性および慢性 GVHD の発症頻度が増加する傾向にあり、また、その臓器分布に差がある傾向にあることが分かった。また再発率、生存率には特に差はみとめなかった。ただしリスク度ではあきらかに PBSCT 群のほうがハイリスク症例が多く、この点を考慮すれば PBSCT のほうが有用であるとも考えられる。また、慢性 GVHD の臓器分布に差があることは、マイナー抗原の臓器分布との関連性を推定させるものであり、今後の固形腫瘍への骨髓非破壊的前処置法の応用にあたり、疾患の選択や、HLA ハプロタイプとの関連性を示唆するものであった。

A. 研究目的

同種造血幹細胞移植における臨床像を PBSCT と BMT とで後方視的に比較し、骨髓非破壊的前処置を用いた移植においての有用性を推定する。そのために、急性および慢性 GVHD の発症頻度、再発率、移植関連死亡率などを BMT と比較解析し、PBSCT の安全性・有効性を確認することを目的とした。

B. 研究方法

2000年1月から2002年10月までに当院血液内科において造血器腫瘍32例に対して実施された HLA 一致同胞間同種造血幹細胞移植について PBSCT と BMT を施行した患者について、後方視的に臨床データを解析した。

（倫理面への配慮）

臨床試験の実施に当たってはプロトコルを定め実施施設の倫理委員会の承認を得るとともに、患者、ドナーの同意を文書で取得した後行なっている。各種造血細胞移植療法の成績等その可能性と限界について

は、造血細胞移植学会、骨髓移植推進財団等からのデータを逐一情報公開している。

C. 研究結果

患者背景は表1、疾患の内訳は表2のとおりである。PB群にハイリスク症例が多く（60%）、BM群にはスタンダードリスク症例が多い（82%）のが特徴である。これは、ドナーにインフォームする場合に再発ハイリスク症例にはPBを推奨している結果こうなったものである。

造血回復はいずれもPB群がBM群に勝っていた。表3に示すように好中球、血小板、網状赤血球回復に要した日数はそれぞれ、3、11、12日間の差があった。G-CSF投与日数、血小板輸血最終日、退院日でもそれぞれ、10、6、18日の開きがあった。

急性GVHD（IⅠ-IⅣ）頻度はPB群28%、BM群6%とPBで多い傾向であった（ $p=0.16$ ）。臓器分布には差はなかった（表4）。慢性GVHDの発症頻度もPB群72%、BM群43%とPB群で

多い傾向にあった ($p = 0.24$)。臓器分布においても眼 (75% vs 28%) と肺 (50% vs 14%)、抗核抗体陽性率 (50% vs 14%) でPB群に多い傾向があった。また1次治療に対する反応性では、16% vs 66%とPB群で治療に難渋する傾向が認められた(表5)。

移植関連死亡率、再発率はそれぞれ、26% vs 23%、13% vs 17%と差は認めなかった(表6)が、この結果は、ハイリスク症例を多く含んでいるPB群の有益性とも考えられる。

無病生存率 (EFS) と全生存率 (OS) には統計学的 (Kaplan-Meier 法および log-rank statistics) には差は認めなかった(図1. 図2)。

D. 考察

PB群ではBM群に比較し、急性および慢性GVHDの頻度が増加傾向であった。急性GVHDの標的臓器に差はなかったが、慢性GVHDの臓器分布には差があった。PB群では眼と肺と抗核抗体陽性で頻度が多い傾向があった。また治療に対する反応性が悪い傾向にあった。再発率、生存率に両群では差はなかった。

E. 結論

Allo-PBSCTはAllo-BMTと同等かすぐれた移植方法であることが示唆される。骨髄非破壊的前処置を用いる場合でも同様の効果が期待できるものと考えられる。

F. 健康危険情報 特記すべきことなし

G. 研究発表

1. 論文発表

Ishikawa Y, Kashiwase K, Akaza T, Morishima Y, Inoko H, Sasazuki T, Kodera Y, and Juji T: Polymorphisms in TNFA and TNFR2 affect outcome of unrelated bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplantation*, 29: 569-575, 2002.

Hamaguchi M, Yamada H, Gondo H, Takemoto Y, Morishima Y, Kodera Y:

Retrospective Study on the Impact of Hepatitis B and Hepatitis C Virus Infection on Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Japan. *International Journal of Hematology*, 75: 324-331, 2002.

Nishimori M, Yamada Y, Hoshi K, Akiyama Y, Hoshi Y, Morishima Y, Tsuchida M, Fukuhara S, and Kodera Y: Health-related quality of life of unrelated bone marrow donors in Japan. *LOOD*, 99: 1995-2001, 2002.

Morishima Y, Sasazuki T, Inoko H, Juji T, Akaza T, Yamamoto K, Ishikawa Y, Kato S, Sao H, Sakamaki H, Kawa K, Hamajima N, Asano S, and Kodera Y, for the Japan Marrow Donor Program: The clinical significance of human leukocyte antigen (HLA) allele compatibility in patients receiving a marrow transplant from serologically HLA-A, HLA-B, and HLA-DR matched unrelated donors. *BLOOD*, 99: 4200-4206, 2002.

Kojima S, Matsuyama T, Kato S, Kigasawa H, Kobayashi R, Kikuta A, Sakamaki H, Ikuta K, Tsuchida M, Hoshi Y, Morishima Y, and Kodera Y: Outcome of 154 patients with severe aplastic anemia who received transplants from unrelated donors :the Japan Marrow Donor Program. *BLOOD*, 100: 799-803, 2002.

Naoe T, Tagawa Y, Kiyoi H, Kodera Y, Miyawaki S, Asou N, Kuriyama K, Kusumoto S, Shimazaki C, Saito K, Akiyama H, Motoji T, Nishimura M, Shinagawa K, Ueda R, Saito H and Ohno R: Prognostic significance of the null genotype of glutathione S-transferase-T1 in patients with acute myeloid leukemia : increased early death after chemotherapy. *Leukemia*, 16: 203-208, 2002.

2. 学会発表

大庭 拓、稲本賢弘、杉本恭子、寺倉精太

郎、笠井雅信、北折健次郎、小寺良尚：血球貪食症候群を合併した Hodgkin 病の 1 例 日本臨床血液学会 第 144 回例会 名古屋 2002.6

杉本恭子、稲本賢弘、大庭 拓、寺倉精太郎、笠井雅信、北折健次郎、小寺良尚、鬼塚真仁：妊娠中に両側乳房巨大腫瘍で発症したパーキットリンパ腫の 1 例 日本臨床血液学会 第 144 回例会 名古屋 2002.6

鬼塚真仁、杉本恭子、稲本賢弘、大庭 拓、寺倉精太郎、笠井雅信、北折健次郎、小寺良尚：少量内服メルファランが著効した hypoplastic MDS overt leukemia の一例 日本臨床血液学会 第 144 回例会 名古屋 2002.6

阿部正理、宮村耕一、佐々木 毅、大庭 拓、寺倉精太郎、笠井雅信、北折健次郎、小寺良尚：非血縁者間骨髄移植後のアデノウィルス、ヘルペスウィルス混合感染症に対して経口 Ribavirin が著効した 1 例 日本臨床血液学会 第 144 回例会 名古屋 2002.6

稲本賢弘、杉本恭子、大庭 拓、寺倉精太郎、笠井雅信、北折健次郎、小寺良尚、白方俊章：アクラルピジンによる心筋障害を合併した AML 患者に 骨髄非破壊的幹細胞移植を行い得た 1 例 日本臨床血液学会 第 144 回例会 名古屋 2002.6

Terakura S, Koder Y, Harada M, Kato S, Shiobara S, Hamajima N, Morishima Y, Tanimoto M, Asano S, Ikeda Y, Dohi H, Nkahata T, for Japan Society of Hematopoietic Cell Transplantation: A system to follow up the safety of allogeneic peripheral blood stem cell (PBSC) donors. The 29th World Congress of the International Society of Hematology. Korea 2002.8

寺倉精太郎、鍛塚八千代、辻村朱音、杉本恭子、稲本賢弘、大庭 拓、笠井雅信、北折健次郎、小寺良尚：比較的高齢者における放射線照射減量レジメン院内第 I・II 相試験 第 6 4 回日本血液学会総会 横浜 2002.9

大庭 拓、鍛塚八千代、辻村朱音、稲本賢弘、杉本恭子、寺倉精太郎、笠井雅信、北

折健次郎、小寺良尚：急性リンパ性白血病に対する移植前処置 L-PAM+TBI の単一施設での検討 第 6 4 回日本血液学会総会 横浜 2002.9

杉本恭子、辻村朱音、鍛塚八千代、稲本賢弘、大庭 拓、寺倉精太郎、笠井雅信、北折健次郎、小寺良尚：単一施設における AML(M2, M3)の治療戦略の検証 第 6 4 回日本血液学会総会 横浜 2002.9

稲本賢弘、寺倉精太郎、西田徹也、阿部正理、辻村朱音、鍛塚八千代、杉本恭子、大庭 拓、笠井雅信、北折健次郎、丸屋悦子、佐治博夫、小寺良尚：単一施設におけるマイクロキメリズムを指標とした HLA 不一致血縁者間骨髄移植の経験 第 6 4 回日本血液学会総会 横浜 2002.9

鬼塚真仁、杉本恭子、稲本賢弘、大庭 拓、寺倉精太郎、笠井雅信、北折健次郎、小寺良尚：造血幹細胞移植後合併症とサイトカイン遺伝子多型性と血中濃度の検討 第 2 5 回日本造血細胞移植学会総会 大阪 2002.10

稲本賢弘、鬼塚真仁、鍛塚八千代、辻村朱音、杉本恭子、大庭 拓、寺倉精太郎、笠井雅信、北折健次郎、小寺良尚：NMDP ドナーより採取、4 8 時間後に骨髄移植を施行し生着を認めた一例 第 2 5 回日本造血細胞移植学会総会 大阪 2002.10

杉本恭子、鍛塚八千代、辻村朱音、稲本賢弘、大庭 拓、寺倉精太郎、笠井雅信、北折健次郎、小寺良尚：移植時骨髄線維症であった同種造血細胞移植例の予後 第 2 5 回日本造血細胞移植学会総会 大阪 2002.10

平岡 諱、加藤俊一、小寺良尚：非血縁者間骨髄移植の施設間成績較差 - 慢性骨髄性白血病第一慢性期移植 - 第 2 5 回日本造血細胞移植学会総会 大阪 2002.10

西田徹也、赤塚美樹、近藤英生、宮崎幹規、田地浩史、辻村邦夫、森島泰雄、小寺良尚、葛島清隆、高橋利忠：マイナー組織適合抗原特異的 CTL クローンの樹立とリンケージ解析による抗原遺伝子座同定 第 2 5 回日本造血細胞移植学会総会 大阪 2002.10

吉岡 聡、谷本哲也、平林憲之、笠井正晴、

笠井雅信、山崎 聡、金 成元、樋口雅一、
原田実根、高上洋一：非ホジキンリンパ腫
(NHL) に対する骨髄破壊的前処置を用い
た同種造血幹細胞移植治療成績 第25回
日本造血細胞移植学会総会 大阪
2002.10

Yoshihisa Koderu: Current status of
stem cell transplantation in Japan. 8th
Asia-Pacific Bone Marrow
Transplantation Group. India 2002.11

稲本賢弘、原 朋子、寺倉精太郎、白方俊
章、鍬塚八千代、辻村朱音、杉本恭子、大
庭 拓、笠井雅信、北折健次郎、小寺良尚：
単一施設における成人臍帯血移植4例の経
験 第36回日本無菌生物ノートバイオロ
ジー学会総会 名古屋 2003.1

H. 知的財産の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

表1. 患者背景

	PBSCT (n=15)	BMT (n=17)
年齢中央値	42(23-56)	42(16-56)
性別 M/F	46.7%/53.3%	76.5%/23.5%
ドナー		
HLA一致	15(100%)	15(88.2%)
HLADRI座不一致	0(0%)	2(11.8%)
GVHD予防		
CsA+MTX	13(86.7%)	11(64.7%)
FK+MTX	2(13.3%)	6(35.3%)
Risk別		
High-risk	9(60%)	3(17.6%)
Standard-risk	6(40%)	14(82.4%)
前処置		
TBI-containing	13(86.7%)	14(82.4%)
non-TBI	2(13.3%)	3(17.6%)

表2. 疾患の内訳

	PBSCT	BMT
AML	3	4
ALL	4	3
CML	3	6
MDS	3	3
ML	1	1
MM	1	0

表3. 造血回復

	PB n=14	BM n=16
好中球>500/uI	d 12	d 15
血小板>50000/uI	d 18	d 29
網状赤血球>1% (血型一致のみ)	d 17 (n=10)	d 29 (n=10)
G-CSF投与日数	9days	19days
最終PC投与日	d 17	d 23
退院日	d 87 (n=9)	d 105 (n=14)

表4. 急性GVHD

・評価可能症例数	PB n=14	BM n=16
・total	9/14(64.3%)	5/16(31.3%)
・ II—IV p=0.16	4/14(28.6%)	1/16(6.3%)
・ III—IV	2/14(14.3%)	1/16(6.3%)
・臓器分布		
・ Skin	9/9(100%)	5/5(100%)
・ Liver	2/9(22.2%)	1/5(20%)
・ Gut	2/9(22.2%)	1/5(20%)
・発症日(中央値)	d 17	d 23

表5. 慢性GVHD

・評価可能症例数	PB n=11	BM n=16	p=0.24
・total	8/11(72.7%)	7/16(43.8%)	
・ type extensive	7/11(63.6%)	6/16(37.5%)	
・ limited	1/11(9.1%)	1/16(6.3%)	
・臓器分布			
・ skin	7/8(87.5%)	4/7(57.1%)	
・ eye	6(75.0%)	2(28.6%)	
・ lung	4(50%)	2(14.3%)	
・ mouth	7(87.5%)	4(57.1%)	
・ liver	4(50%)	3(42.9%)	
・ 抗核抗体陽性	4(50%)	1(14.3%)	
・1次治療の反応良	1/6(16.7%)	4/6(66.7%)	

表6. TRM

Day<100	PBSCT 4 (26.7%)	BMT 1 (5.9%)
Total	4 (26.7%)	4 (23.5%)

再発

PBSCT	2 (13.3%)	BMT	3 (17.6%)
-------	-----------	-----	-----------

非再発死因

PBSCT(n=4)	BMT(n=4)
急性GVHD	BO 1
VOD	IP 2
腎不全	腎不全 1

图1. EFS

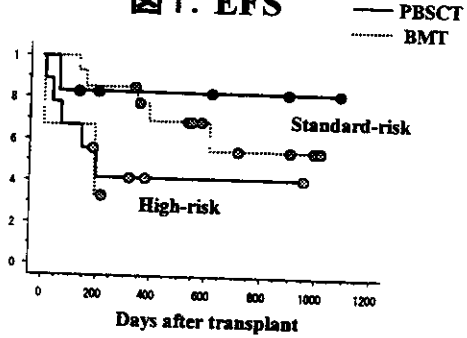
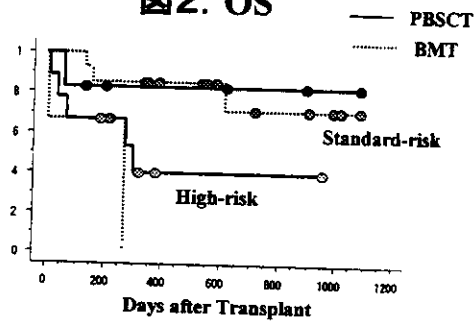


图2. OS



アクリルピシンによる心筋障害を合併したAML患者にReduced-Intensity SCTを行い得た一例

名古屋第一赤十字病院 第四内科
 稲本 賢弘 杉本 恭子 大庭 拓 寺倉 精太郎
 笠井 雅信 北折 健次郎 小寺 良尚
 大阪大学大学院医学系研究科分子病態医学
 白方 俊章

目的

アントラサイクリン系抗癌剤は血液悪性疾患治療において重要であるが、総投与量に比例して心筋障害を起こすことが知られている。一方、近年Reduced-Intensity SCTが行われるようになり、臓器障害を有する患者にも安全に移植が行われるようになってきた。

我々は、AML治療中にアクリルピシンによる心筋障害を合併した患者に対しReduced-Intensity SCTを行い得た症例を経験したので報告する。

症例

38歳 男性
 疾患:急性骨髄性白血病(M4Eo)
 現病歴:
 1999年9月 健診にて貧血を指摘され、精査しAML(M4Eo)と診断された。
 初診時検査:WBC 5520/ μ K(Blast 50%), RBC 266万/ μ l, Hb 9.8g/dl, Plt 17.3万/ μ l
 骨髄 NCC 257000/ μ l(Blast 72.3%) CD 13,34,HLA-DR(+) 46,XY inv(16)(p13q22)
 AML97に準じて化学療法を施行し寛解となり、good riskとしてB群に割り付け。
 2000年11月 維持療法終了。
 2001年3月 骨髄再発。
 骨髄 NCC 33000/ μ K(Blast 16.2%) 46,XY inv(16)(p13q22),+22
 再度寛解導入療法施行し第2寛解となり、AML97A群に準じた地固め療法を施行。
 2001年6月(1コース後) 染色体は46,XYと正常化。
 2001年8月(2コース後) FISH(inv16)は陰性化(0.4%)。
 2001年9月 地固め3コース目で呼吸苦発生し、SetOx(RA)88%に低下した。

胸部レントゲン-CT



ECG diffuse myocardial damage
 UCG びまん性壁運動低下(EF50%)
 MIBIゲートシンチ LAD,RAD領域に交感神経機能障害 EF44% CO 7.7l CI 4.3
 BNP 433 pg/ml
 →アクリルピシンによる心筋症と診断。
 2001年12月HLA identical sibling(妹)からの骨髄移植目的で入院となる。

既往歴:江戸川閉塞、血小板輸血アレルギー、抗生剤アレルギー

入院時現症:

身長 164.8cm、体重 63kg、血圧 106/74、脈拍 90動、体温 36.5°C
 咽頭結膜貧血なし、咽球結膜黄疸なし、胸部腹部異常なし、下肢浮腫なし
 表在リンパ節腫脹なし

入院時検査所見:

血液検査:WBC 4600/ μ l (Neutro 55%,Lymph33%,Mono9%), RBC441万/ μ l
 Hb 14.5g/dl, Hct 43.0%, Plt 38.5万/ μ l, Ret 13.0%, CRP 0.3mg/dl, TP 8.8g/dl
 Alb 5.7g/dl, T-Bil 0.3mg/dl, AST 27IU/L, ALT 45IU/L, LDH 231IU/L
 ALP 407IU/L,Ch-E 426IU/L, γ -GPT 40IU/L, BUN 9mg/dl, Cr 0.8mg/dl
 尿検査:pH6.0, 蛋白(-), 糖(-), 潜血(-), 尿酸値異常なし
 骨髄検査:NCC 90000/ μ K(Blast 0%,Myelo 34%,Meta 6%,Band 8%,Seg 2%)
 Lymph 6%,Mono 8%) CBF β /MYH11 mRNA RT-PCR陽性
 循環器系検査:ECG non-specific myocardial damage
 UCG mild LV dysfunction EF 49%
 BNP 110pg/ml

骨髄移植

ドナー:HLA identical sibling(妹)

血液型:match

性別:mismatch

day -8 -7 -6 -5 -4 -3 -2

前処置:L-PAM 70mg/m² × 2

↓ ↓

Fludarabine 30mg/m² × 5

↓ ↓ ↓ ↓ ↓

GVHD予防:

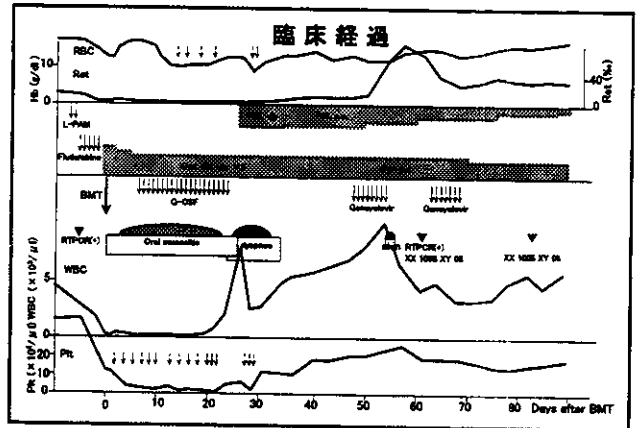
短期MTX (day1 15mg/body, day3,5 10mg/body)

CyA (day-1~ 3.0mg/kg/day 4hr.div.分2)

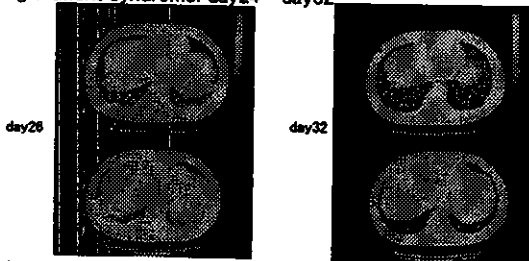
輸注細胞数:有核細胞数 3.14 × 10⁸/kg

移植後経過

- # hematological recovery:
WBC $\geq 1000/\mu\text{l}$ day22, Neutro $\geq 500/\mu\text{l}$ day22, Ret. $\geq 1\%$ day22
Plt $\geq 50000/\mu\text{l}$ day29, 最終血小板輸注日 day29
総輸血量 MAP 12U PC 185U
- # acute GVHD:
day54 に両手掌・前腕に軽度の落屑を伴う発赤が出現したが自然に軽快した。Grade I (skin 1, gut 0, liver 0)
- # RRT:
day2より口腔粘膜障害出現したがday22には自然治癒した。
NCI Grade3
- # infection:
day46, day60 CMV antigenemia 陽性となったためgancyclovir投与し、いずれも短時間で陰性となった。Day8より口内炎感染生じたがCZOP投与にて感染は治癒した。



Engraftment syndrome: day24~day32



- # 心機能: day85でのUGGIは左室全体に収縮低下していたが、EF44%と移植前に比べ有意な悪化はなかった。
- # outcome:
day140にて現在無病生存中である。(KS 90%)

考察

- ・L-PAM+Fludarabineを用いたReduced-Intensity SCTは今回のような心筋症を持った患者に対しても安全に施行できた。
- ・移植に伴い心不全の悪化はなく、移植後の心機能は移植前とほぼ同じであった。
- ・Hematological recoveryもconventional BMTと比べ変わらなかった。
- ・L-PAMによるRRTとして、Grade3の口腔粘膜障害が見られた。
- ・移植後day61,83のキメリズムはdonor typeが100%であり、DLIを要しなかった。L-PAM+Fludarabineにてfull chimerismが得られた。
- ・Day24頃より急激に発症した呼吸困難は生着に伴うallo-reaction (engraftment syndrome)と思われ、PSLにて順調な経過を辿った。
- ・Day61にてCBF β /MYH11 mRNA RT-PCRは陽性であり、AML(M4Eo)の再発に対してこの前処置がどのような影響を及ぼすのか、今後症例の蓄積が必要と思われた。

分担研究報告書

「免疫学的治療としての末梢血幹細胞移植法の評価に関する研究」

分担研究者 権藤久司 九州大学大学院 病態修復内科学助手

研究要旨

骨髄非破壊的前処置療法を用いた同種造血幹細胞移植（ミニ移植）後の免疫機能再構築に関する特徴を明らかにするために、HLA テトラマーを用いてサイトメガロウイルス（CMV）に特異的な T 細胞の動態について検討した。CMV 特異的 T 細胞は、全例で移植後 2 ヶ月目から増加し、6 ヶ月目までにピークを形成したのち少しずつ減少した。7 例中 3 例で、 $1/\mu\text{L}$ 以上の CMV 特異的 T 細胞が移植後 2 ヶ月目に検出された。中等度の急性 GVHD を合併した 2 症例では、CMV 特異的 T 細胞(最大値)は $0.18/\mu\text{L}$ および $0.15/\mu\text{L}$ と低値であり、GVHD 合併例における免疫再構築遅延が示唆された。HLA テトラマーを用いた CMV 特異的 T 細胞の検出は、移植後の CMV に対する免疫再構築の直接指標として有用で、さらなる症例の集積が望まれた。

A. 研究目的

骨髄非破壊的前処置療法を用いた同種造血幹細胞移植（以下、ミニ移植）は、超大量放射線化学療法を併用したこれまでの移植法とは異なり、前治療を減量し、移植片の免疫学的機序に基づく抗腫瘍効果を応用した治療法である。その作用機序の基礎となる免疫学的機能、およびその再構築の特徴を明らかにするために、サイトメガロウイルス（CMV）に特異的な細胞傷害性 T 細胞の動態について HLA テトラマーを用いて検討した。

B. 研究方法

ミニ移植を実施した 7 症例を対象とした。疾患は、造血器悪性腫瘍 5 例、固形腫瘍 2 例であった（表 1）。ミニ移植の前処置は、fludarabine (Flu) $25 \text{ mg}/\text{m}^2$, 5 日間と cyclophosphamide (CY) $30\text{mg}/\text{kg}$, 2 日間を 4 例に、Flu $30 \text{ mg}/\text{m}^2$, 6 日間と busulfan (BU) $4 \text{ mg}/\text{kg}$, 2 日間を 3 例に用いた。GVHD 予防には、cyclosporine $3\text{mg}/\text{kg}/\text{day}$ と methotrexate $10\text{mg}/\text{m}^2$,

day 1; $7 \text{ mg}/\text{m}^2$, day 3, day 6 を投与した。

移植細胞には、HLA 一致の同胞に G-CSF 投与後、末梢に動員された末梢血幹細胞を用いた。ドナー (D) およびレシピエント (R) の CMV 抗体は、D+/R+ が 6 例、D-R+ が 1 例であった（表 1）。末梢血中の CMV 特異的 T 細胞の測定は、HLA A2402 を有している症例を対象とし、移植後 1 ヶ月目から 1 年後まで毎月、HLA A2402 に特異的で CMV pp65 抗原を認識するテトラマーを用いて FACS で行った。ミニ移植の実施、また CMV 特異的 T 細胞の検査は、informed consent が得られた症例を対象とした。

C. 研究結果

1) CMV 特異的 T 細胞の動態

移植後、全例で CMV 特異的 T 細胞が検出された。最大値は、CD8 細胞中の 2.55%、また絶対数で $41.53/\mu\text{L}$ であった（表 1）。CMV 特異的 T 細胞の CD8 中の比率と絶対数の間には高い相関が認められ (data not shown)、その後の解析の指標には絶対数を用いた。

CMV 特異的 T 細胞は、移植後 2 ヶ月目から増加し、6 ヶ月目までに最大値となった。ピークは、7 例中 4 例で 2 ヶ月目に、またそれぞれ 1 例で 3 ヶ月目、5 ヶ月目、6 ヶ月目にピークが認められた。移植後 6 ヶ月目以降は、CMV 特異的 T 細胞数も少しずつ減少した。

7 例中 3 例で、CMV 特異的 T 細胞は $1/\mu\text{L}$ 以上に増加した。一方、中等度の急性 GVHD を合併した 2 症例では、CMV 特異的 T 細胞の最大値が $0.18/\mu\text{L}$ と $0.15/\mu\text{L}$ であり、再構築の遅延が示唆された。

年齢、性、疾患、移植時病期、前治療法、GVHD 予防法、ドナーとレシピエントの CMV 抗体の有無、CMV 再活性化の有無、慢性 GVHD、副腎ステロイド投与の有無などの要因と CMV 特異的 T 細胞数との関連については、症例数が少なく一定の関連性は見出せなかった。

CMV 再活性化の有無や時期との関連性については、CMV 再活性化が確認された 4 例中 3 例で、CMV 再活性化後に CMV 特異的 T 細胞の増加が認められた。また、CMV 再活性化が認められなかった 3 例中 2 例では、CMV 特異的 T 細胞は $1/\mu\text{L}$ 以上に増加せず、低値のままであった。

2) CMV 再活性化および CMV 感染症

CMV 抗原血症および real-time PCR 検査により、移植後 100 日までに、7 例中 4 例で CMV 再活性化が確認された。しかしながら、CMV 感染症の合併は認められなかった。

D. 考察

CMV に特異的な HLA テトラマーを用いることによって、造血幹細胞移植後の CMV に対する免疫再構築の動態を直接定量的に解析することが可能となった。欧米からは、HLA A0201 を有している移植症例を対象に CMV 特異的 T 細胞の動態が検討され報告さ

れている。それによると、CMV 再活性化が認められない症例では CMV 特異的 T 細胞の増加はなく、CMV 特異的 T 細胞の増加には CMV 再活性化が重要であること、GVHD 合併例での再構築が遅延すること、CMV 再活性化があっても CMV 特異的 T 細胞の回復がみられない症例では、CMV 感染症が合併しやすいことなどが示されている。

今回の検討では、本邦に最も多い HLA A2402 を有する症例を対象とした。その結果、CMV 特異的 T 細胞は、移植後 2 ヶ月目に増加し、移植後 6 ヶ月までにピークを形成し、以後、少なくなることが示された。再構築に影響を及ぼす因子として、中等度の急性 GVHD が示唆され、CMV 特異的 T 細胞の増加には、CMV 再活性化が重要であること、CMV 再活性化に反応して CMV 特異的 T 細胞が誘導、増幅されることが示唆された。

今回の 7 例では、CMV 感染症は認められなかった。いずれも CMV 再活性化のモニタリングに基づくガンシクロピルの preemptive therapy が実施されており、抗ウイルス薬を用いた CMV 感染症の予防が有用であると考えられた。CMV 特異的 T 細胞数と CMV 再活性化の頻度、CMV 感染症、ガンシクロピル投与期間との間に一定の関連は見出せなかった。

検討症例数が少なく結論を導くことは危険であったが、CMV 感染症の危険因子の同定のみならず、移植後の免疫機能再構築の機序解明に有用な指標となる可能性が示唆された。今後の症例の集積と検討の継続が望まれた。

E. 結論

ミニ移植後の免疫機能の解析において、CMV 特異的 T 細胞の測定は有力な手段となる可能性が示唆された。ミニ移植後の免疫機能の特徴を明らかにするためにも、更な

る検討が望まれた。

F. 健康危険情報 特記すべきことなし

G. 研究発表

1. 論文発表

K Yakushiji, H Gondo, et al. Monitoring of cytomegalovirus reactivation after allogeneic stem cell transplantation: comparison of an antigenemia assay and quantitative real-time polymerase chain reaction. Bone Marrow Transplant, 29: 599-606, 2002.

K Shide, H Gondo, et al. Dynamics of Epstein-Barr virus load in pyothorax-associated lymphoma. J Med Virol, 2003 (in press)

2. 学会発表

権藤久司：造血幹細胞移植後の CMV 感染症の診断と対策. 第 25 回日本造血細胞移植学会総会 特別セミナー (2002 年 10 月 24 日、大阪)

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし

2. 実用新案登録 なし

3. その他 なし

I. その他

CMV 特異的 T 細胞の測定は、愛知県がんセンター腫瘍ウイルス学部葛島清隆博士、鶴見達也博士、および大塚アッセイ研究所との共同研究である。

表1 骨髓非破壊的前処置療法を用いた同種造血幹細胞移植後のCMV特異的T細胞の動態

年齢/性	疾患	前処置	CMV抗体	CMV再活性化	急性GVHD	CMV特異的T細胞 (μL)、移植後 (月)											
						1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1) 68/男	AML	Flu/CY CSP/MTX	D+/R+	day 38	0	16.19	41.53	13.61	8.45	2.45	3.21	2.00	2.77	1.55	2.20	3.27	1.51
2) 38/男	NHL	Flu/CY CSP/MTX	D+/R+	day 43	0	0.08	15.22	8.04	6.74	5.18	16.15	11.69	5.27	6.60	5.90	2.48	2.92
3) 25/女	CML	Flu/BU CSP/MTX	D+/R+	(-)	II	0.01	0.05	0.18	0.06	0.09	0.00	0.05	0.00	0.00	0.00	0.08	0.00
4) 63/女	MDS	Flu/CY CSP/MTX	D+/R+	(-)	0	0.16	0.25	0.17	0.16	0.30	0.00	0.09	0.06	0.16	0.23	0.03	nd
5) 49/女	NHL	Flu/BU CSP/MTX	D-/R+	day 62	II	0.06	0.15	0.06	0.00	0.04	0.00	nd	nd	nd	nd	nd	nd
6) 58/男	胃がん	Flu/CY CSP/MTX	D+/R+	(-)	I	0.93	14.78	7.42	4.31	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
7) 60/男	腎がん	Flu/BU CSP/MTX	D+/R+	day 43	0	0.08	0.59	0.20	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd

Flu, fludarabine, CY, cyclophosphamide; BU, busulfan, CSP, cyclosporine; MTX, methotrexate; D, donor; R, recipient; nd, not determined

分担研究報告書

「同種造血幹細胞移植における移植片対宿主病予防法開発に関する研究」

分担研究者 豊嶋 崇徳 岡山大学医学部附属病院 第二内科助手

研究要旨

GVHD における胸腺ネガティブセレクションの関与と Th2 シフトによる GVHD 予防法の可能性が明らかになった。

A. 研究目的

同種造血幹細胞移植における最大の合併症である移植片対宿主病 (GVHD) の病態生理の理解を深めるとともに、その有効な予防法、および治療法の開発を目的とする。

B. 研究方法

マウスモデルにおいて、MHC 不一致あるいはマイナー抗原不一致のドナーから骨髄と脾細胞を分離し、骨髄破壊的前処置を受けたホストマウスに骨髄移植を行った。骨髄キメラマウスは既報の方法で作製した。NKT リガンドは移植日に単回投与した。

(倫理面への配慮) 岡山大学動物実験施設のガイドラインを遵守した。

C. 研究結果

1. 胸腺の negative selection に欠陥のある骨髄キメラマウスを作成し、急性 GVHD の発症を証明した。胸腺摘出により GVHD 発症が抑制された。

2. ドナーへの IL-18 投与あるいはホストへの NKT リガンドの投与により、ドナー T 細胞の Th2 シフトを誘導し、GVHD が抑制可能であることが示された。

D. 考察

ホスト胸腺の GVHD 発症における意義はいままで明らかでなかったが、本研究によ

り胸腺が GVHD 発症に重要な因子であることが示された。またサイトカイン投与あるいは NKT 細胞-T 細胞相互作用を利用した Th2 シフトによる新たな GVHD 抑制法確立の可能性が示された。

E. 結論

胸腺におけるネガティブセレクションと GVHD の関連、IL-18 や NKT 細胞を利用した新たな GVHD 予防法の可能性が示唆された。

F. 健康危険情報 特記すべきことなし

G. 研究発表

1. 論文発表

Reddy P, Teshima T, et al., Pretreatment of donors with interleukin-18 attenuates acute graft-versus-host disease via STAT6 and preserves graft-versus-leukemia effects. *Blood*, online published, 2003.

Reddy P, Teshima T, et al., Interleukin-18 preserves perforin dependent graft-versus-leukemia effect after allogeneic bone marrow transplantation. *Blood*, 100: 3429-3431, 2002.

2. 学会発表

Teshima T, et al: Lack of MHC class II-dependent central tolerance causes syngeneic graft-versus-host disease. Experimental Biology 2002. April 20-24, New Orleans

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

分担研究報告書

「白血病、骨髄異形成症候群に対する適切な骨髄非破壊的前処置療法の開発に関する研究」

分担研究者 神田 善伸 東京大学医学部附属病院無菌治療部助手

研究要旨

白血病、骨髄異形成症候群に対して骨髄非破壊的同種造血幹細胞移植を安全に行いうること等が明らかになった。

A. 研究目的

造血器腫瘍、特に白血病や骨髄異形成症候群を有する患者で、高齢あるいは臓器障害のために通常同種造血幹細胞移植を行うことができない患者を対象として、骨髄非破壊的同種造血幹細胞移植の安全性を検討する。

B. 研究方法

50歳以上、あるいは臓器障害を有する造血器腫瘍患者のうち、HLA一致あるいは一座不一致の血縁ドナーがいる患者を対象として、クラドリピンとブスルファンを用いた骨髄非破壊的前処置を行い、末梢造血幹細胞移植を行った。移植の安全性は移植後100日以内の生存率とドナー由来の造血の構築で評価した。倫理面の配慮として、臨床試験の目的、移植に伴う合併症などについて十分なinformed consentが得られた患者のみを対象とした。

C. 研究結果

4症例が移植後100日以内に死亡したが、移植前処置に伴うグレードIII以上の毒性が認められたのは1名のみであった。43%の患者が急性移植片対宿主病を発症した。1年生存率及び1年無病生存率はそれぞれ69%、50%であった。

D. 考察

高齢あるいは臓器障害を有する患者を対象としたにもかかわらず、移植前処置の毒性は許容範囲内であった。また、進行期造血器腫瘍を対象としたにもかかわらず、腫瘍の再発が認められたのは2名のみであり、強い抗腫瘍効果が発揮されていると考えられた。

E. 結論

クラドリピンとブスルファンを用いた骨髄非破壊的前処置は高齢者や臓器障害を有する患者にも安全に行うことができ、強い抗腫瘍効果を有することが示唆された。

F. 健康危険情報 特記すべきことなし

G. 研究発表

Kanda Y. et al. Response-oriented pre-emptive therapy against cytomegalovirus diseases with low-dose ganciclovir: a prospective evaluation. *Transplantation*, 73: 568-572, 2002.

Nakai K, Kanda Y. et al. Delayed immune recovery against cytomegalovirus after allogeneic blood stem cell transplantation

with a reduced-intensity regimen. Bone Marrow Transplantation, 29: 237-241, 2002.

Ohnishi M, Kanda Y. et al. Prophylactic treatment with lamivudine for hepatitis B virus carriers undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. Transplantation, 73: 812-815, 2002.

Saito T, Kanda Y. et al. Therapeutic potential of a reduced-intensity preparative regimen for allogeneic transplantation with cladribine, busulfan and anti-thymocyte globulin against advanced/refractory acute leukemia/lymphoma. Clin Cancer Res, 8: 1014-1020, 2002.

Kanda Y. et al. Impact of stem cell source and conditioning regimen on erythrocyte recovery kinetics after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation from an ABO-incompatible donor. British Journal of Haematology, 118: 128-131, 2002.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

分担研究報告書

「造血幹細胞移植に関する臨床試験体制の構築に関する研究」
～研究者主導型臨床研究による市販後臨床試験の質確保に関する研究～

分担研究者 森 慎一郎 東京都立駒込病院 血液内科医員

研究要旨

研究者主導型研究による信頼性確保のあり方を検討した。営利目的の企業が実施する治験と異なり、試験結果を将来の患者治療に還元することを目的とした研究者主導型臨床試験では、その目的の違いから、信頼性確保のために採るべき方法論が異なると思われる。最も重要な点は試験に関連したあらゆる利害関係の透明化であると考えられる。

A. 研究目的

我が国の公的な研究事業の委託研究等により実施される、医師主導型研究による市販後の臨床試験を実施する際に、その信頼性を確保する上での問題点とその解決法等を明らかにする

B. 研究方法

本研究班の研究事業である、「骨髄非破壊的前処置法を用いた同種造血幹細胞移植に関する研究」の試験は新 GCP に準拠した試験データの質管理が行われている。この際、造血幹細胞移植という特殊な領域において GCP に準拠した臨床試験を行う場合に発生した様々な問題点を電子メールを用いて調査、情報収集を行った。今回は特にデータの質管理の上で今後の課題と考えられた報告を整理し、個々の対応策を考察した。

C. 研究結果

参加資格を設けない大規模なメーリングリスト、及び protocol 委員、データセンターのデータマネージャー間での電子メールによって取り交わされた約 2,000 通に及ぶ公開、及び非公開の電子メールを収集し、そのうちデータの質管理上の問題点と考えられる項目

を抽出、列挙し、対応策を検討した。

本試験は旧厚生省研究開発振興・医薬安全局審査管理課長連名通知（平成 11 年 2 月 11 日）「適応外使用に係わる医療用医薬品の取り扱いについて」に基づいて、厳正な医師主導型臨床研究結果による適応承認取得可能な臨床試験とする事を目標としているため、GCP に準拠した試験データの質管理を行っている。そのため、あらゆる有害事象についての情報を収集し、重篤度、予測可能性に応じて緊急報告体制なども整えている。また、併用薬剤に関しても網羅的に情報収集することを義務づけている。

しかし、造血幹細胞移植領域においては、既知と考えられる多数の有害事象が発生し、緊急報告を要する有害事象が極めて多数報告される結果となった。また、予測可能性の根拠を薬剤添付文書の記載に基づいて既知、未知の判断をしているため、造血幹細胞移植の現場では極めて良く知られた、発生頻度の高い軽微な有害事象（例えば抗がん剤投与時の静脈炎）であっても、薬剤添付文書の記載がないため、「未知有害事象」扱いとなり、多数の緊急報告を要する結果となった。しかし実際に緊急報告の対象となった有害事象の多くは