

($1.69-19.93 \times 10^7/\text{kg}$)、 $2.08 \times 10^5/\text{kg}$ ($0.295-3.83 \times 10^5/\text{kg}$)であり成人の方が有意に少なかった。生着は、成人では移植後 28 日以内の早期死亡(生着が確認されたが早期死亡の 2 例は除く) 5 例を除いた 41 例中 31 例(76%)に、小児では早期死亡 2 例を除く 43 例中 35 例(81%)に得られ、永続的な生着はそれぞれ 30 例、34 例であった。移植後 60 日における好中球 $500/\mu\text{l}$ 以上の到達率は成人、小児それぞれ、83%および 86%であり、好中球回復($500/\mu\text{l}$ 以上)に要した期間は 14-42 日(中央値: 25 日、 $n=31$)および 13-43 日(中央値: 22 日、 $n=35$)で両群に差を認めなかった。移植後 180 日における血小板 $50000/\mu\text{l}$ 以上の到達率は 64%および 93%で成人移植例の方が有意に低かった。血小板数が $50000/\mu\text{l}$ 以上に回復するまでに要した期間は成人では 30-207 日(中央値: 56 日、 $n=18$)、小児では 29-132 日(中央値: 53 日、 $n=27$)と血小板回復例においては回復までの期間に有意差は認めなかった(表 2)。

2 度以上および 3 度以上の急性 GVHD 合併率は成人では 40.7%および 17.7%小児では 41.5%および 22.4%と両群間で有意差を認めなかった。慢性 GVHD は成人では評価可能症例 20 例中 7 例、小児では 28 例中 9 例に合併(有意差なし)した(表 2)。

全症例の EFS は 25.4%(移植後 4 年)であり、単変量解析では年齢(16 歳未満)、凍結保存前有核細胞数 ($3.7 \times 10^7/\text{kg}$ 以上)、CD34 陽性細胞数($1.0 \times 10^5/\text{kg}$ 以上)、移植病期(標準危険群)は EFS に有意に好影響を及ぼしていた(表 3)。

成人移植例では小児と比較して移植後 1 年までの累積非再発イベント頻度が高く(61% vs 23%、 $p<0.01$)、生着例を対象としても同様であった(47% vs 22%; $p<0.05$)。小児では、臍帯血 CD34 陽性細胞数が $1.0 \times 10^5/\text{kg}$ 以上と未満の症例で非再発イベ

ント頻度に有意差を認めたが ($1.0 \times 10^5/\text{kg}$ 以上 $n=30$ vs 未満 $n=15$; 3% vs 57%, $p<0.01$) 成人ではその傾向はあるものの有意差は認めなかった ($1.0 \times 10^5/\text{kg}$ 以上 $n=19$ vs 未満 $n=25$; 54% vs 74%, NS)。CD34 陽性細胞数で $1.0 \times 10^5/\text{kg}$ 以上を移植した成人と小児例の比較では累積非再発イベント($p<0.01$)および DFS (40% vs 53.2%; $p<0.05$)とも有意差を認めたが、 $1.0 \times 10^5/\text{kg}$ 未満の症例では累積非再発イベントおよび DFS(14.5% vs 12%)とも有意差を認めなかった(図 1)。

移植病期別にみた移植後 1 年の DFS は、標準危険群(急性白血病初回および第 2 寛解期移植、慢性骨髄性白血病初回および第 2 慢性期移植)では成人 ($n=10$) および小児 ($n=22$)がそれぞれ 50%および 71% (59%; 移植後 4 年)であり、再移植例を除く高度危険群の DFS はそれぞれ 23%($n=27$)、24%($n=15$)で両群間に有意差を認めなかった。一方、再移植としてさい帯血移植を施行した症例の DFS は、成人が 0%(1 年、 $n=9$)、小児が 13%(1 年、 $n=8$)で共に極めて悪い成績であった(表 3)。

成人、小児各 45 例中 23 例および 21 例が死亡、その死因を表 4 に示した。成人高度危険群では感染症や出血、間質性肺炎など非再発死亡が多く、死亡 15 例中 10 例が 100 日以内に死亡、小児高度危険群移植例では再発死が多くみられている。成人標準危険群移植では 10 例中 4 例に生着不全を認めたが、4 例中 2 例が再移植により救命、1 例は自己造血回復し生存している。

D, 考察

近年、成人に対するさい帯血移植が増加しているが、今回解析した造血器悪性腫瘍に対するさい帯血移植 90 例中成人例は 50%に達していた。成人移植例は小児に比較して移植細胞数が約 1/2 と少なく、また高度危険

群・HLA 不適合度の高い症例が多く含まれていた。このように小児例と背景は異なるが、再移植例を除いた高度危険群移植では成人と小児間で成績に差はみられなかった。しかし、その死因の主たるものは小児では再発であったが、成人では生着不全を含む感染症や移植関連合併症であり、移植後 100 日以内の死亡例が多かった。一方、標準危険群は成人では症例数が 10 例と少なく比較は困難であるが移植後 1 年における DFS は 50%であり、4 例が生着不全を起こしている。

このように成人移植例では、生着不全や感染症等移植関連合併症による死亡率が小児に比較して高く、更に、生着例でのみ解析しても累積非再発イベント頻度は有意に高かった。

移植細胞数を増やすことにより、非再発イベントの発症率が減少するかどうかを検討したところ、凍結保存時の CD34 陽性細胞数ではあるが、小児においては移植 CD34 陽性細胞数 $1.0 \times 10^5/\text{kg}$ 以上とそれ未満では非再発イベント頻度、DFS に有意差を認めなかった。成人でも有意差は得られなかったものの、その傾向はみられた。しかし、一方 CD34 陽性細胞数 $1.0 \times 10^5/\text{kg}$ 以上の成人と小児の比較でも、成人の成績は非再発イベント頻度、DFS とも有意に劣っていた。CD34 陽性細胞 $1.0 \times 10^5/\text{kg}$ 以上でも、成人と小児ではその数に 2 倍以上の開きがある（成人； $1.48 \times 10^5/\text{kg}$ (1.02-2.915)、小児 $3.34 \times 10^5/\text{kg}$ (1.215-38.31)) ことから、小児において CD34 陽性細胞数が $1.0-3.0 \times 10^5/\text{kg}$ の症例(n=13)を選び成人と比較したが同様の結果であった（非再発イベント頻度：成人 vs 小児、54% vs 8%、 $p < 0.05$ ；DFS：40% vs 58%、 $p < 0.05$ ）(図 1 a, b)。

これらの結果から、成人さい帯血移植では、骨髄移植と同様年齢の因子が移植成績に大きな影響を及ぼしており小児における移植と本質的に異なっている可能性が示唆された。

成人さい帯血移植では小児に比較して移植有核細胞数や CD34 陽性細胞数が少ない。小児に移植されるような細胞数を成人に望むことは困難であり、かつ同じ細胞数が移植されても小児に比較して成人の成績は劣るが、移植細胞数を多すればその成績は良くなる傾向にあるのも事実である。症例数の蓄積と共に、複数さい帯血移植や、ex vivo 増幅したさい帯血移植の導入により成人さい帯血移植成績の向上が得られるかどうか今後の課題と考えられる。

E, 結論

成人および小児造血器悪性腫瘍に対するさい帯血移植の成績を比較した。成人移植の成績は小児と比べて有意に非再発イベント頻度が高く、DFS が低いものの、移植細胞数を増やすことによりその成績の向上がみられる可能性を示唆する成績が得られた。

F, 健康危険情報

該当なし。

G, 研究発表

1, 論文発表

- 1) 甲斐俊朗(2002)：さい帯血移植の新しい試み。臨床病理レビュー 122, 75-80.
- 2) 甲斐俊朗(2002)：成人に対するさい帯血移植。臨床血液 Vol 43, 450-453.
- 3) 甲斐俊朗(2002)：非血縁者間さい帯血移植—非血縁者間骨髄移植とどちらを選ぶか、血液・腫瘍科 45, 411-418, 2002.
- 4) Tabata M, Hara H, et al. (2002)：Long-term outcome after allogeneic bone marrow transplantation for hematological malignancies with non-remission status. Results of a single-center study of 24 patients. Ann Hematol 81, 582-587.

2, 学会発表

- 1) 甲斐俊朗、原 宏 他：単一施設におけ

る成人造血器悪性腫瘍に対する非血縁骨髄移植と臍帯血移植の比較検討、「臍帯血移植」

(ワークショップ)、第25回日本造血細胞移植学会 2002.10.24 (大阪)

2) 山口雅生、原 宏 他：骨髄非破壊的前処置にてさい帯血移植を行った2症例、「臍帯血移植」(ワークショップ)、第25回日本造血細胞移植学会、2002.10.24 (大阪)

3) 甲斐俊朗、原 宏：臍帯血移植の現況(シンポジウム) 第29回低温医学会総会 2002.11.26 (岐阜)

4) Kai S, Hara H. et al.: Unrelated cord blood transplantation (UCBT) for hematological malignancies in adults with use of total body irradiation (TBI), fludarabine and granulocyte-colony stimulating (G-CSF)-combined cytosine arabinoside as conditioning regimen. The 29th World Congress of the International Society of Hematology. (Seoul) 2002.8.24-28

H, 知的所有権の出願・取得状況
該当なし。

表 1, Patient's Characteristics

	16y >	16yr ≤
No. of patients	45	45(46 CBT)
Diagnosis		
AML	13	16
ALL	22	11
NK-Leukemia	0	1
CML	3	9
JMML	2	0
ATL	0	3
CLL	0	1
NHL	2	3
HD	0	1
FEL	3	0
Gender(M/F)	24/21	27(28)/18
Median age	6yr (5M0-15yr)	35yr(17-64yr)
Weight(kg)	21 (6-48)	56 (40-80)
Stage at CBT		
Standard risk	22(49%)	10(21%)
High risk	15(33%)	27(59%)
Prior SCT(+)	8(18%)	9(20%)
ABO		
Match	15	14
Minor mismatch	12	6
Major mismatch	16	26
Not reported	2	0
HLA (A,B; serology, DRB1 high resolution)		
3/6	6	12
4/6	22	24
5/6	15	9
6/6	2	1

(Hyogo CBB, as of 2003.1.31)

表 2, Clinical Results.

	16yr >	16yr ≤	
No. of patients	45	46	
early death*	2	7*	
primary graft failure	8/43(19%)	10/41(24%)	
permanent engraftment	34	30	
Neutrophil engraftment	day22 (13-43)	day25 (14-42)	NS
Platelet engraftment	day53 (29-132)	day 56 (30-207)	NS
Probability of AGVHD			
II to IV	41.5%	40.7%	NS
III to IV	22.4%	17.7%	NS
CGVHD	9/28	7/20	NS
Probability of relapse	61%(1yr)	34.2%(1yr)	NS
Cumulative incidence of non-relapse mortality	22.6%(1yr)	61%(1yr)	p<0.01

*: death within 28 days after CBT, #: Including 2 pts who had neutrophil engraftment

表 3, Factors associated with disease survival after CBT.

	n	DFS	p
Total	90(91)	25.4%(4yr)	
Age			
16yr>	45	43%(1yr) 34%(4yr)	<0.05
16yr=<	45(46)	26%(1yr)	
NCC			
3.7x10 ⁷ /kg=<	32	34.4%	<0.05
3.7x10 ⁷ /kg>	59	20.7%	
CD34+ cells			
1.0x10 ⁵ /kg=<	50	35%	<0.05
1.0x10 ⁵ /kg>	40	12.3%	
stage at CBT			
standard risk	32	46%	<0.01
high risk	42	22%	
prior SCT(+)	17	7%	

表 4, Cause of death

	standard risk	high risk	prior SCT(+)
16yr>	n=3(0)*/22	n=11(5)/15	n=7(4)/8
No. of death n=21	relapse (2) graft failure (reTx,relapse) (1)	relapse (7) IP (2) graft failure (2)	infection (2) SIRS(MOF) (1) VOD (bleeding) (1) TMA (bleeding) (1) TMA (GVHD) (1) relapse (1)
16yr=<	n=2(1)/10	n=15(10)/27	n=6(5)/9
No. of death n=23	acute pulmonary edema (sepsis) (1) bleeding (1)	infection (4) relapse (3) IP (2) bleeding (2) HPS(pneumonia) (1) GVHD after DLI (1) TTP(bleeding)(1) encephalopathy (1)	infection (2) VOD (1) relapse (1) TMA (1) bleeding (1)

* number of death within 100 days after CBT

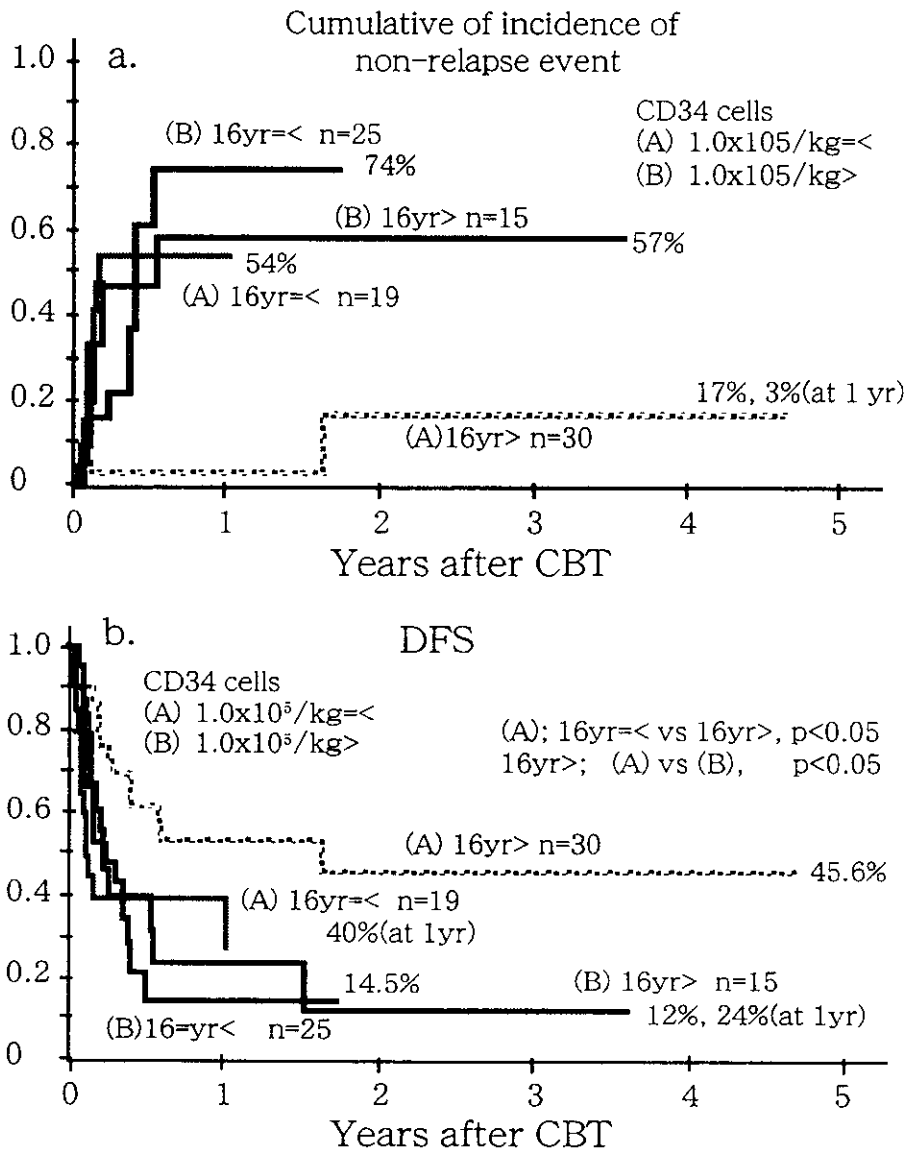


図 1. 累積非再発イベント頻度 (a) および無病生存率

インターロイキン-18によるヒト臍帯血 $V\alpha 24^+V\beta 11^+$ natural killer T (NKT) 細胞
からの Th1, Th2 サイトカイン産生制御に関する研究

分担研究者 原 宏 兵庫医科大学教授

研究要旨 臍帯血 NKT 細胞の表面抗原の特徴と、サイトカイン産生について検討した。臍帯血 NKT 細胞は $CD4^+$ が大多数を占め、IL-18 の存在下に、IL-12 と協調して Th1 サイトカインである IFN- γ を産生し、IL-2 と協調して、Th2 サイトカインである IL-4 を産生した。IL-18 は臍帯血 NKT 細胞の多様な働きを制御している。

A. 研究目的

Natural killer T (NKT) 細胞は、T 細胞と NK 細胞の中間の形質を有し、腫瘍免疫や自己免疫疾患・移植片対宿主病の制御に重要な役割を担っている。IL-18 は IFN- γ 誘導因子として発見されその Th1 増強作用が知られているが、近年その機能の多様性が注目されている。最近マウスの系で T 細胞のみならず $NK1.1^+NKT$ 細胞が IL-18 に反応することが示された。我々は、ヒト臍帯血の $V\alpha 24^+V\beta 11^+$ NKT 細胞の IFN- γ 、IL-4 産生と IL-18 への反応性を検討した。

B. 研究方法

臍帯血単核球を PE 標識抗 $V\alpha 24$ 抗体で染色後、抗 PE インモビライズを反応させ、AutoMACS で分離し、この分画を flow cytometry で解析した。さらに、 α -

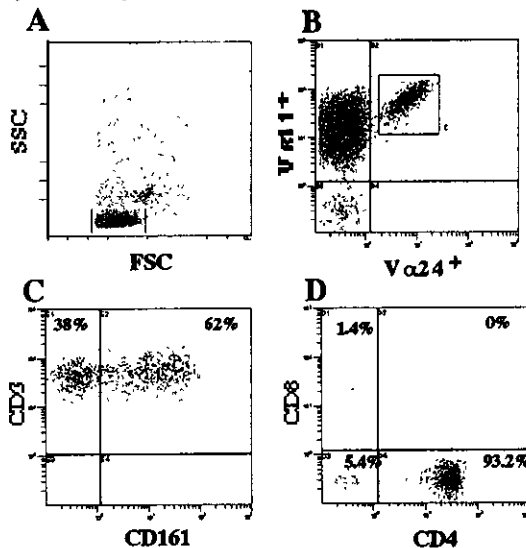


Fig. 1

galactosylceramide (KRN7000) と IL-2 で2週間培養した後、IL-2、IL-12、IL-18 で刺激して上清中の IFN- γ 、IL-4 の産生を ELISA 法で検討した。

C. 研究結果

- 1) 臍帯血 $V\alpha 24^+$ NKT 細胞は $CD4^+$ が 97% をしめ、DN が 75% を占める成人と対照的であった。(Fig. 1)
- 2) 臍帯血 $V\alpha 24^+$ NKT 細胞は IL-18 レセプターを発現していた。

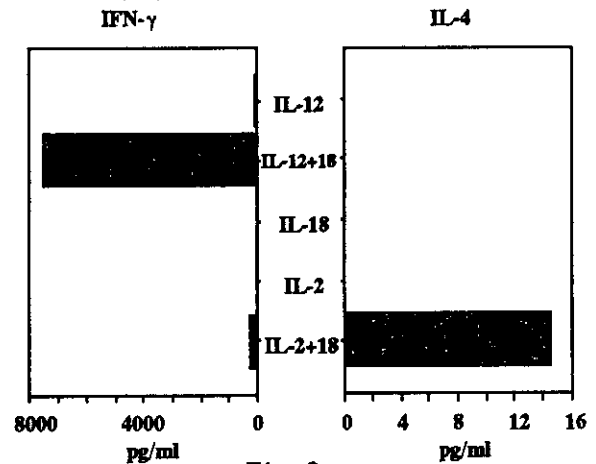


Fig. 2

- 3) 臍帯血 $V\alpha 24^+$ NKT 細胞は IL-12 の存在で IFN- γ を産生し、これは IL-18 との協調により著明に増強された。また、IL-2 と IL-18 の協調により IL-4 の産生を促進した。(Fig. 2)

D. 考察

臍帯血 $V\alpha 24^+V\beta 11^+NKT$ 細胞は、 $CD4^+$ phenotype が多く、二次刺激で IFN- γ 、IL-4 を分泌し得る。IL-18 は、IL-12 存在下で Th1 サイトカインである

IFN- γ を産生を促進し、IL-2 存在下で Th2 サイトカインである IL-4 産生した。IL-18 は、異なるサイトカインとの共存下で Th1 と Th2 サイトカイン産生を制御する。

E. 結論

IL-18 は臍帯血 NKT 細胞の多様な働きを制御している。

F. 健康危機情報

核当なし

G. 研究発表

学会発表 藤林由香, 藤盛好啓, 粕本育代, 原 宏 (2002)インターロイキン (IL)-18 はヒトさい帯血 $\alpha 24^{+} V\beta 11^{+}$ natural killer T (NKT) 細胞からの IL-4 の産生を増強する. 第 64 回日本血液学会総会, 9.13, 横浜.(第 64 回日本血液学会総会プログラム・抄録集, 173, 2002)

H. 知的財産権の出願・登録状況

核当なし

厚生科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）
分担研究報告書

研究課題：臍帯血中の血液幹細胞から免疫細胞への分化・増殖と養子免疫法の開発

分担研究者：直江知樹 名古屋大学大学院分子細胞内科学教授

研究協力者：清井 仁 名古屋大学医学部難治感染症部講師

廣瀬由佳 名古屋大学医学部難治感染症部

造血幹細胞を用いた治療は、造血器疾患のみならず、その適用の範囲を拡大しつつある。臍帯血移植に関しては、現在のところほぼ造血器疾患に限られた目的で使用されているが、今後さらに臍帯血移植を推進するにあたっては、解決すべき問題が残されている。その一つは、免疫能に代表される臍帯血自身のimmatureなcharacterをどのように克服あるいは活用するかということであり、移植後GVHDや感染症コントロールといった臨床に直結した問題を含んでいる。また、近年、移植後GVHD、感染症、再発あるいは各種癌における活性化リンパ球療法が注目されており、臨床的に有効であるとの報告がなされているが、これらを評価検討するための*in vivo*モデルは確立されていない。今回我々は、最近開発された新たな免疫不全マウスであるNOGマウスを用いた臍帯血CD34陽性細胞移植のデータをもとに、NOGマウスと臍帯血を用いた免疫療法のモデルマウス作成に関し検討した。

A. 研究目的

臍帯血移植後には他の造血幹細胞移植後に比較して、免疫学的再構築が遅延している可能性が示唆されている。これは臍帯血が免疫学的に未熟であるがための移植ソースに特有に生じる合併症であるのか、GVHDやGVLの成立とどのように関連しているのか、そもそも造血幹細胞移植後の免疫系の再構築とはいかなるものなのか、それらの詳細な検討はいまだ十分に成されているとは言い難い。これらの解析をおこなうための*in vivo*モデルとしては、免疫不全マウスを用いた研究が広く行われているが、これまでのマウスでは免疫担当細胞、特にT細胞の再構築がほとんどみられないため、十分満足できる移植モデルとはなり得なかった。最近開発されたNOD-scid/IL-2γ^{cm}(NOG)マウスは、臍帯血CD34陽性細胞移植後のT細胞を含むヒト免疫担当細胞を再構築可能なことから、様々な用途での*in vivo*モデルとして有用であろうと期待されている。今回我々は、先

に行ったNOD/shi-scidにおける臍帯血CD34陽性細胞移植におけるデータとNOGを用いた移植データの比較検討を行うとともに、近年注目されている細胞・免疫療法への応用について、検討した。

B. 研究方法

1. マウスへの臍帯血CD34陽性細胞移植に関する検討：6～8週令のNOGマウスに2.5GyのTBI照射後、磁気ビーズを用いたnegative selectionで得られた2～10×10⁴の臍帯血CD34陽性細胞を移植し、経時的に採取した骨髄、脾細胞を用いてヒト細胞の再構築過程をFACS,RT-PCR,免疫グロブリン構造解析の手法を用いて検討するとともに、マウス末梢血におけるヒト免疫グロブリン(IgG,IgM)をELISA法にて定量した。また、抗原特異的IgMおよびIgG産生が可能かにつき、ヒト血清アルブミンを抗原として接種し、抗原特異的抗体産生と脾臓におけるGerminal center形成の有無につき検討

した。これらの結果は、それ以前に施行したNOD/shi-SCIDマウスを用いた同様の実験における結果とあわせて検討した。

2. 細胞・免疫療法モデル確立へむけての臍帯血移植NOGマウスにおける抗原特異的IgG産生に関する検討：2.5GyのTBIを施行したNOGマウスへ1)CBMNC単独移植、2)CBMNCおよび同一検体より作成したactivated CD4の同時移植、3)activated CD4単独移植、の3群の移植を行い、それぞれにおけるヒト細胞の生着状況の比較検討とこれらのマウスにヒト血清アルブミンを抗原として接種後の抗ヒト血清アルブミンIgMおよびIgGの産生が生じるかにつき検討した。activated CD4は、CBMNCよりCD4陽性細胞を分離後にヒトIL-2と抗CD3抗体の存在下で10日間の培養を行い作成した。

(倫理面への配慮)

臍帯血は、東海臍帯血バンクより各種条件によりバンク登録不可となったものを、東海臍帯血バンク運営委員会の承認の上、研究用として供与戴いている。マウスの実験は、名古屋大学動物実験ガイドラインに従って行った。

C. 研究結果

1. マウスへの臍帯血CD34陽性細胞移植に関する検討：

1-1. NOD/shi-SCIDにおけるB細胞分化：

1) ヒト臍帯血CD34陽性細胞移植後の骨髓、脾細胞において再構築されたCD45陽性ヒト細胞の多くはCD19陽性のB細胞であり、残りはCD33陽性の骨髓球系細胞であった。これらのCD19陽性細胞はRT-PCR法にてIgM transcriptが確認されたが、IgGおよびIgA transcriptは発現が確認できず、IgL-λ鎖の発現も不十分であった。また、週数を経てもヒトT細胞は出現が認められなかった。

2) マウス末梢血中のヒト免疫グロブリン定量では、IgMは移植後6週以降から

次第に分泌量が増加していく傾向が観察されたが、IgGは測定限界以下であった。

1-2. NOGマウスにおける免疫系再構築：

1) 移植後12週時点でのマウス脾細胞のFCMにおいて、ヒトCD45陽性細胞は約20～30%存在し、その8割以上はCD19陽性、CD10陽性のpre-B細胞であり、かつCD5陽性のいわゆるB1細胞であった。また、この時点ではCD3あるいはCD41陽性細胞は認められなかった。

2) 移植後16週になると、脾細胞の60～80%をヒトCD45陽性細胞が占め、CD3陽性細胞や、巨核芽球への分化を示すCD41陽性細胞がみられるようになった。B細胞系では、CD10陽性細胞はほとんどみられず、CD5陽性細胞も著減し、CD20、23陽性の成熟B細胞が主体をなすが、CD38強陽性の細胞集団も出現し、一部にはCD56、CD138陽性細胞も確認されることから、これらは形質細胞までの分化が進行しているものと考えられた。T細胞系ではCD4/CD8 double positive細胞とともに、single positive細胞も出現が確認された。

3) 16週時点の脾組織標本は、マウス細胞と比較して明らかに大型のヒト細胞が確認され、巨核球と思われる細胞も認められた。CD38による免疫組織染色では小型のリンパ球の他に、やや大型で、核の偏在した形態的にも形質細胞と考えられる細胞が観察された。

4) マウス末梢血中のヒト免疫グロブリン定量では、移植後6週頃より、マウス末梢血中にヒトIgMの分泌が確認され、その後次第に増加傾向を示したが、IgGは移植後12週頃までは確認されず、13週以降にマウス血中に確認できるようになった。これらのIgGのサブタイプを測定したところ、通常のヒトに見られるのと同様にIgG1、IgG2が優位であり、IgG3,4は測定限界以下であった。

5) RT-PCR法にて、各種遺伝子の発現を比較検討したところ、12週ではIgM transcriptの発現は見られるが、IgGは

発現しておらず、IgL- λ の発現も弱い状態であった。class switchに必要な遺伝子であることが証明されているAID遺伝子の発現も脾細胞ではみられず、memory B cellのマーカールともいわれているCD27とそのligandであるCD70の発現も見られなかった。一方16週では、IgM, IgG, κ , λ の他、AID遺伝子、CD27, CD70発現が骨髄細胞、脾細胞ともに確認された。

6) 免疫グロブリン構造解析によるsomatic mutationの評価では、mutationを有するクローンの割合は12週に比較し16週で増加する傾向にあり、かつそれぞれのクローンにおけるmutationの比率も上昇傾向にはあったが、そのほとんどはアミノ酸置換を伴わないsilent mutationであり、アミノ酸置換を伴うreplacement mutationとの比(R/S)に有意差はなかった。これは、抗原刺激によらないrandom mutationが主体であるためと考えられた。

7) ヒト血清アルブミン接種後の抗原特異的グロブリンは、IgMのみの産生が確認されたが、IgGは確認されなかった。

2. 細胞・免疫療法モデル確立へむけての臍帯血移植NOGマウスにおける抗原特異的IgG産生に関する検討:

2-1. 作成されたactivated CD4は大半がCD25陽性細胞であり、また約半数の細胞は、CD154(CD40L)陽性で、CD45RA細胞はごくわずかに残るのみであった。対してCBMNCにはCD4/CD25陽性細胞はごくわずかであり、CD4陽性細胞のほとんどはCD45RA陽性であった。また、CD154陽性細胞はみられなかった。

2-2. 移植後6週のCBMNC単独移植マウスでは、CD3陽性細胞を中心とした無秩序なヒト細胞の生着増殖を認めたが、骨髄には明らかな形質細胞は存在せず、CBMNC+activated CD4移植マウスの脾臓で、ほぼ正常なリンパ球分布と骨髄でのCD38強陽性形質細胞が確認されたことと比較し、明らかな違いを認めた。

activated CD4単独投与マウスではヒト細胞の生着は確認されなかった。

2-3. 移植マウスより得られたヒトCD19陽性細胞上のCD40発現や、CD4陽性細胞上のCD25発現の程度には有為な違いを認めなかった。

2-4. これらのマウスにヒト血清アルブミンを免疫したところ、CBMNC単独投与群では、抗ヒト血清アルブミンIgM抗体のみがみられ、IgG抗体はみられず、CBMNC+activated CD4移植マウスでは、抗原接種後の一過性の抗ヒト血清アルブミンIgM抗体上昇とその後の減少に引き続き、抗ヒト血清アルブミンIgG抗体産生を認めた。

D. 考察

NOGマウスへの臍帯血CD34陽性細胞移植におけるヒト免疫系再構築に関する検討では、B細胞系では、*in vivo*において、抗体産生可能な形質細胞までの分化が可能であることが確認された。T細胞もCD4/CD8 single positive細胞の分化が確認された。しかし、抗原接種後の抗原特異的IgMは産生されるものの、IgGは産生が確認されず、脾臓におけるGerminal centerも形成されないことから、免疫系再構築は不十分な状態にとどまっているものと考えられた。一方、CBMNCにactivated CD4細胞を同時に移植すると、移植後早期から、脾臓への正常なリンパ球分布が生じ、抗原接種に対しても正常な抗原特異的抗体産生の反応が生じたことは、特筆すべき事である。一つには、移植したactivated CD4とCBMNCにおけるCD40L発現の違いから、通常のCBMNCあるいはCBCD34陽性細胞移植では、CD40Lの発現もしくは機能が障害されており、CD40-CD40L interactionがうまくいかず、その分を同時に移植したactivated CD4が補っている可能性が考えられる。しかし、activated CD4単独移植では、移植後6週時点で、既に細胞生着は確認できず、脾臓や骨髄以外での存在や、他の細胞と

同時であれば長期生存生着する可能性を含めても、抗原特異的IgG産生にまで至る理由を説明するには不十分であるかもしれない。むしろ、活性化された、regulatory T cellが移植時点で存在することによって、過剰なT細胞の増殖が抑制され、それぞれの細胞があるべきところに生着し、分化していく過程こそが重要であるのかもしれない。これらの検討を進めることで、それぞれの細胞が果たす役割やそれらがどのように分化していくのかを明らかにし、移植後GVHD、感染症コントロール、細胞・免疫療法への応用などへの研究が大きく拡大することが期待される。

E. 結論

細胞・免疫療法の*in vivo*モデル確立へむけての、臍帯血移植NOGマウスにおける抗原特異的IgG産生に関する検討を行い、良好な結果を得たので報告する。細胞・免疫療法は今後ますます注目されると予想される分野であり、*in vivo*での実験系を整えることは、造血器疾患のみならず、各種固形癌の治療戦略を考える上でも有用な実験モデルとなりうる可能性がある。NOGマウスを用いた臍帯血移植システムは、造血幹細胞移植後のGVHD、再発、感染症コントロールを研究する上でも有用な実験モデルであり、今回、抗原特異的IgG産生のメカニズムの一端を示せたことで、今後の研究の発展に大きく寄与するものと考えている。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Luo JM, Yoshida H, Komura S, Ohishi N, Pan L, Shigeno K, Hanamura I, Miura K, Iida S, Ueda R, Naoe T, Akao Y, Ohno R, Ohnishi K. Possible dominant-negative mutation of the SHIP gene in acute myeloid leukemia. *Leukemia*. 2003;17:1-8.
2. Nishihira H, Kato K, Isoyama K, Takahashi TA, Kai S, Kato S, Takanashi M, Sato N, Sato H, Kitajima K, Naoe T, Saito H. The Japanese cord blood bank network experience with cord blood transplantation from unrelated donors for haematological malignancies: an evaluation of graft-versus-host disease prophylaxis. *Br J Haematol* 2003 ;120(3):516-522
3. Osumi K, Fukui T, Kiyoi H, Kasai M, Kodera Y, Kudo K, Kato K, Matsuyama M, Naito K, Tamimoto M, Hirai H, Saito H, Ohno R, Naoe T. Rapid screening of leukemia fusion transcripts in acute leukemia by Real-time PCR. *Leuk Lymphoma* 2002; 43:2291-2299.
4. Hirose Y, Kiyoi H, Iwai M, Yokozawa T, Ito M, Naoe T: Successful Treatment with Imatinib Mesylate of a CML Patient in Megakaryoblastic Crisis with Severe Fibrosis. *Int J Hematol* 76:349-353, 2002.
5. Kiyoi H, Naoe T. FLT3 in human hematologic malignancies. *Leuk Lymphoma* 2002; 43:1541-1547.
6. Minami Y, Kiyoi H, Yamamoto Y, Yamamoto K, Ueda R, Saito H, Naoe T. Selective apoptosis of tandemly duplicated FLT3-transformed leukemia cells by Hsp90 inhibitors. *Leukemia* 16:1535-1540, 2002.
7. Kiyoi H, Ohno R, Ueda R, Saito H, Naoe T. Mechanism of constitutive activation of FLT3 with internal tandem duplication in the juxtamembrane domain. *Oncogene* 2002; 21: 2555-2563
8. Hirose Y, Kiyoi H, Itoh K, Kato K, Saito H, Naoe T. B cell precursors

differentiated from cord blood CD34⁺ cells are more immature than those derived from G-CSF mobilized peripheral blood CD34⁺ cells. Immunology 2001; 104: 410-417.

2. 学会発表

1. 廣瀬由佳,清井 仁,伊藤 守,伊藤雅文,齋藤英彦,直江知樹:臍帯血 CD34 陽性細胞からの B 細胞分化 (NOG マウス移植モデルでの解析).第 64 回日本血液学会総会・第 44 回日本臨床血液学会総会,2002.9.横浜
2. 清井 仁、廣瀬由佳、直江知樹:ヒト造血幹細胞移植マウスによるヒト抗体.第 17 回 BACT シンポジウム,2002.9.名古屋
3. 清井 仁、廣瀬由佳、直江知樹:臍帯血 CD34 陽性細胞からの B 細胞分化 (NOG マウス移植モデルでの解析).第 36 回日本無菌生物ノートバイオロジー学会総会,2003.1.名古屋

臍帯血造血幹細胞の血管内皮細胞の共存下における相乗的増殖効果の検討

分担研究者：高倉 伸幸 金沢大学がん研究所教授

造血幹細胞の生体内局在様式から、造血幹細胞は血管内皮細胞に接着して、未分化性の維持および自己複製を営むことが示唆された。この内皮細胞と造血幹細胞の選択的接着に、造血幹細胞、内皮細胞とともに発現するレセプター型チロシンキナーゼ TIE2 が活性化することが必要と考えられた。この TIE2 の活性化は造血幹細胞から特異的に分泌されるアンジオポエチン-1 のオートクライン、パラクラインループによると考えられる。しかし恒常的な TIE2 の活性化は幹細胞の未分化性は維持するが、細胞周期を遅延化させ、幹細胞の増殖を抑制させると考えられた。造血幹細胞の増幅には TIE2 の活性化、不活性化の段階的な制御が必要であり、今後この機構を利用して試験管内での造血幹細胞の増幅にアプローチする。また未分化造血幹細胞に特異的に発現する新規の核内転写因子と考えられる分子を単離した。本分子は幹細胞の均等分裂に関わることを予想され、今後造血幹細胞における解析を行なう。

A. 研究目的

臍帯血中に存在する造血幹細胞を効率良く増幅させ、種々の再生医療に応用する為に、造血幹細胞が骨髄内で自己複製を営む分子機構を明らかにし、本機構を試験管内で展開可能にすることを研究の目的とする。

B. 研究方法

造血幹細胞の未分化性を制御しない限り、その試験管内増幅はあり得ない。今回造血幹細胞のニッチ形成に重要であることを報告してきた、造血幹細胞と血管内皮細胞両者に発現するレセプター型チロシンキナーゼ TIE2 に関し、恒常的活性化型 TIE2 を TIE2 プロモーター制御下で発現するトランスジェニックマウスを作成し造血幹細胞の未分化性、自己複製に与える影響を観察した。また未分化造血幹細胞に発現し、幹細胞の分裂に関する新規分子の単離を幹細胞と成熟した血液細胞との間でサブトラクション法により行なった。

(倫理面への配慮)

臍帯血提供者の個人情報の保護、及び解析結果の本人への報告等に関して、事前に十分なインフォームドコンセントを行なう。

C. 研究結果

恒常的活性化型 TIE2 受容体を造血幹細胞、血管内皮細胞の両者に TIE2 プロモーター制御下で発現させたコンディショナルトランスジェニックマウスは胎生 11 日目までに血管新生の抑制により致死となった。造血幹細胞の最も早期の発生増殖現場である胎生 9 日目の臍腸間膜動脈内での造血幹細胞の局在を観察したところ、造血幹細胞は発生するものの、その細胞周期が遅延化し、野生型のマウスに比し、幹細胞の増殖の開始が抑制されていることが判明した。またトランスジェニックマウスにおいては成熟、分化した血液細胞の発現が遅延化することも明らかになった（投稿準備中）。

さらに今回造血幹細胞に特異的に発現する核内転写因子と考えられる新規遺伝子を同定した。本 e11(仮名)は成体の組織中では細胞の分化、分裂が僅かにしか観察されない、心、脳、肺などの組織では発現は認めないものの、精巣や卵巣といった幹細胞分裂の観察される組織に発現が強い。さらに胸腺や骨髄と

いった造血組織には発現が認められることから本分子に注目して検討を行なった。e11 は酵母からは乳類まで保存されており、機能解析をまず *C. elegans* による RNAi 法にて行なったところ、卵の不均等分裂により早期に致死となった（投稿準備中）。

D. 考察および結論

TIE2 受容体の恒常的活性化は幹細胞の未分化性を維持するには重要であるが、幹細胞の増殖を抑制する可能性が考えられる。試験管内で幹細胞の増幅を誘導するには、TIE2 活性化を基盤として、幹細胞の未分化性を維持させ、さらに細胞周期を迅速にする分子の添加が必要である。また e11 は造血幹細胞の均等、あるいは不均等分裂に関わる可能性があり、今後 e11 をノックアウトする、或は TIE2 プロモーター制御下で造血幹細胞に恒常的に発現するマウスを作成し、その表現型を解析し、造血幹細胞の自己複製に関わる分子であるか否かを明確にする。

E. 健康危険情報

特になし。

F. 研究発表

1. 論文発表

Yamada Y., Oike Y., Ogawa H., Ito Y., Fujisawa H., Suda T., & Takakura N. : Neuropilin-1 on hematopoietic cells as a source of vascular development. *Blood*, in press

他、原著論文 4 編

2. 学会発表

Takakura N.: Hematopoietic Cells and Angiogenesis

XIIth International Vascular Biology Meeting, Karuizawa, May

15, 2002

他、9 件

G. 知的所有権の出願・取得状況（予定を含む）

出願・取得：なし

予定：幹細胞上の TIE2 制御による試験管内造血 幹細胞増殖技術

厚生科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）
分担研究報告書

臍帯血あるいは胚性幹細胞培養による造血幹細胞や血管内皮細胞への増殖・分化に関する研究
研究者 仲野 徹大阪大学 微生物病研究所 教授

研究要旨 マウス胚性幹細胞から巨核球分化における転写因子の機能解析をおこなった。また、ヒト臍帯血および末梢血からの巨核球分化における遺伝子の発現パターンの解析をおこなった。

A. 研究目的

臍帯血の移植では、血小板の回復が遅延することが知られている。ヒト臍帯血と末梢血を比較して原因を明らかにすること、そして、マウス ES 細胞の研究により、人為的な操作によって巨核球・血小板への増殖・分化を促進すること、を目的に研究をおこなった。

B. 研究方法

マウス ES 細胞をストロマ細胞 OP9 との共生培養をおこない、血液細胞へと分化誘導をおこなった。テトラサイクリン遺伝子誘導システムを用いて、造血前駆細胞の段階でいろいろな転写因子を発現させ、巨核球への分化に対する影響を調べた。

臍帯血および末梢血の未分化造血細胞から巨核球への分化培養をおこなった。その過程において、遺伝子発現の違いをマイクロアレイにより解析した。

(倫理面への配慮)

臍帯血の採取は十分なインフォームドコンセントに基づいている。

C. 研究結果

マウス ES 細胞からの分化誘導において、トロンボポエチン (TPO) 存在下に転写因子 GATA-2 を強制発現させたところ、巨核球への分化・増殖が促進された。一方、マクロファージコロニー存在下において GATA-2 を発現させたところ、マクロファージへの分化がブロックされ、巨核球系の細胞が出現した。また、この巨核球系への細胞系列スイッチは、GATA-2 を発現させるタイミングが非常に重要であることも明らかとなった。

ヒト臍帯血、末梢血の AC133 陽性 CD34 陽性分画にある未分化造血細胞を TPO、Flt3 リガンド存在下に培養し、6日目および10日目における遺伝子発現の差異をマイクロアレイ法により解析した。その結果、末梢血からの培養において二つの遺伝子が有意に高発現していることが明らかになった。

D. 考察

本年度の ES 細胞を用いた研究によって、遺

伝子操作をおこなうことにより、未分化な造血細胞から巨核球への増殖・分化の促進が可能であること、また、骨髄系の細胞から巨核球系の細胞へと分化をスイッチできる可能性のあること、が明らかとなった。

また、前年度までの解析において、臍帯血と末梢血では、巨核球の多倍体化などにおいて顕著な差が認められたが、遺伝子発現の解析ではその違いは軽微であった。

E. 結論

臍帯血の造血細胞に遺伝子操作をおこない、巨核球への分化を促進できる可能性があることが明らかになった。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表:

Kitajima K, Masuhara M, Era T, Enver T, Nakano T. GATA-2 and GATA-2/ER display opposing activities in the development and differentiation of blood progenitors. *EMBO J*, 21:3060-69, 2002

Lian RH, Maeda M, Lohwasser S, Delcommenne M, Nakano T, Vance RE, Raulet DH, Takei F. Orderly and nonstochastic acquisition of CD94/NKG2 receptors by developing NK cells derived from embryonic stem cells in vitro *J Immunol*, 168:4980-7, 2002
Eto K, Murphy R, Kerrigan SW, Bertoni A, Stuhlmann H, Nakano T, Leavitt AD, Shattil SJ. Megakaryocytes derived from embryonic stem cells implicate CalDAG-GEFI in integrin signaling. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 99:12819-12824, 2002

他、原著論文による発表 9件

それ以外 (レビュー等) の発表 6件

2. 学会発表

仲野徹: がん抑制遺伝子 PTEN と幹細胞システム、第75回日本生化学会大会 (京都) 他

H. 知的所有権の出願・取得状況 (予定を含む) なし

厚生労働科学研究補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）
「臍帯血を用いた移植・再生医療に関する研究」班 分担研究報告書
造血幹細胞移植の需要予測

1. 小児における予測

分担研究者 北海道大学大学院医学研究科 教授 今村雅寛
研究協力者 東海大学総合医学研究所 教授 加藤俊一
岡山大学大学院医歯学総合研究科 教授 谷本光音
九州大学大学院医学研究院 教授 原田実根
大阪府立成人病センター 第5内科 部長 平岡諱

要旨 15歳以下の小児における今後3～5年間における造血幹細胞移植の需要を、過去5年間における造血幹細胞移植の実施実績、疾患ごとの年間新規発生数、造血幹細胞移植適応ガイドラインなどを基に推測した。また、血縁者間に適合ドナーが見出される確率、移植種別の最近の成績などを基に、ドナー別、移植種別の実施予測数を推計した。その結果、全体として年間約500例において造血幹細胞移植が適応となり、そのうち約150例は血縁者から骨髄移植もしくは末梢血幹細胞移植が実施され、約200例が骨髄バンクからの非血縁者間骨髄移植、約150例が臍帯血バンクからの非血縁者間臍帯血移植を受けるものと推測された。

はじめに

造血幹細胞移植は難治性白血病、重症再生不良貧血などの予後不良とされる血液疾患の根治療法として積極的に行われている。小児科領域においては、これらの血液疾患の他に先天性免疫不全症、先天代謝異常症などの遺伝性疾患に対しても適応があり、成人領域とは異なった状況である。

造血幹細胞移植の需要を予測するにあたって、疾患別の年間患者発生数の統計、疾患毎の治療法選択の現状、造血幹細胞移植の適応に対する学会のガイドラインなどを、できるだけ正確なエビデンスに基づいて試算した。

なお、本研究では同種造血幹細胞移植の

みを対象とし、自家（自己）造血幹細胞移植は含めずに試算することとした。

移植療法の将来における実施数を予測する際には、化学療法や免疫抑制療法などの進歩との関係において行われ、移植療法自体にも進歩がありうることから、正確な予測は極めて困難であることを最初に断っておきたい。その上で概数としての予測を試みたものである。

I. 小児科領域における同種造血幹細胞移植の実施状況

表1に過去5年間における小児科領域での造血幹細胞移植の実施状況を示した。この統計は日本小児血液学会が毎年行ってい

る造血幹細胞移植全国調査によるもので、わが国において実施された造血幹細胞移植のほぼすべてを網羅しているものと考えられている。

疾患別にみると、ALLの初回寛解期で183例、それ以外の病期で488例、合計671例(平均134例/年)、AMLの初回寛解期で164例、それ以外の病期で242例、合計406例(平均81例/年)、CMLの初回慢性期で48例、それ以外の病期で34例、合計82例(平均16例/年)、MDS174例(35例/年)、その他の白血病39例(8例/年)で、白血病だけで年間平均274例の同種造血幹細胞移植が報告されていた。

固形腫瘍は全体で158例(平均32例/年)の移植が行われ、悪性リンパ腫75例、神経芽細胞腫57例であり、両者で全体の80%以上を占めていた。

造血障害は234例(平均47例/年)で、再生不良性貧血が80%、残りをFanconi貧血、Diamond-Blackfan症候群などの先天性疾患が占めていた。

先天性免疫不全は90例(平均18例/年)で、SCIDとWiskott-Aldrich症候群(WAS)がほぼ同数で30%ずつ、ついで慢性肉芽腫(CGD)、高IgM症候群などがそれぞれ10%を占めていた。

先天代謝異常は71例(平均14例/年)で、ムコ多糖症(MPS)が41例、副腎白質ジストロフィー(ALD)が22例であり、MPSの内ではII型のHunter病が31例で4分の3を占めていた。

その他の疾患としては血球貪食症候群(HPS)22例、慢性活動性EBV感染症(CAEBV)14例などであり、最近では若

年性関節リウマチ(JRA)でも2例で造血幹細胞移植が行われている。

同種造血幹細胞移植は5年間で1963例に行われており、移植の種類別にみると、HLA一致同胞間骨髄移植が508例(26%)、その他の血縁者間骨髄移植188例(10%)、非血縁者間骨髄移植615例(31%)、HLA一致同胞間末梢血幹細胞移植123例(6%)、その他の血縁者間末梢血幹細胞移植145例(7%)、血縁者間臍帯血移植36例(2%)、非血縁者間臍帯血移植327例(17%)であった。最近の傾向としては血縁者間での末梢血幹細胞移植と非血縁者間臍帯血移植の増加があげられる。しかし、非血縁者間臍帯血移植の成績が徐々に明らかになるにつれ、生着不全の多い再生不良性貧血や先天代謝異常などの非腫瘍性疾患では成績の安定した非血縁者間骨髄移植が選ばれるようになっていく。

II. 疾患別の造血幹細胞移植適応ガイドライン

2001年に日本造血細胞移植学会では疾患別に造血幹細胞移植の適応ガイドラインを定めた。その要点を表2にまとめて示した。現時点ではこのガイドラインは急性白血病、骨髄異形成症候群、再生不良性貧血についてのみであるが、多くの小児科医のコンセンサスに基づくものであり、日本小児血液学会においても承認されているものであることから、今後の治療選択はこのガイドラインに準拠していくものと予想される。

1. 急性リンパ性白血病(ALL)

診断時の予後予知因子により低リスク、標準リスク、高リスクに分けて治療計画が

組まれるが、初回寛解期に造血幹細胞移植が適応となるのは高リスク群のみである。

高リスク群には、Ph1 あるいは bcr-abl 陽性例、11q23 あるいは MLL 陽性例、ステロイド反応不良例、寛解遅延（治療開始6週以降）例などが含まれる。

第2寛解期での移植は再発時期により分けられが、血縁あるいは非血縁ドナーがいれば基本的には同種移植が選択されることになる。

第3寛解期以降、あるいは再発時では同種移植が適応となる。

2. 急性骨髄性白血病（AML）

従来はすべて初回寛解期から造血幹細胞移植が適応とされていたが、化学療法の進歩がめざましく、ALLと同様にリスクにより移植の適応が決定されるようになっていく。

低リスク群では初回寛解期で移植の適応はない。標準リスク群では適合同胞ドナーがいる場合にのみ同種移植が適応とされる。高リスク群では初回寛解期から同種造血幹細胞移植が適応となる。

高リスク群には、monosomy 7 陽性例、5q- 陽性例、t(16;21) 陽性例、Ph 1 陽性例、寛解遅延（治療2コース以降）例、2次性AML例などが含まれる。

第2寛解期以降と再発時などでは同種造血幹細胞移植が適応となる。

3. 骨髄異形成症候群（MDS）

MDSにおいては同種造血幹細胞移植のみが適応であり、自家（自己）造血幹細胞移植の適応はない。RAの一部で輸血を必要としない症例では経過観察をするが、輸血依存例では適合血縁ドナーがいれば早急に移植を行う。さらに汎血球減少や病型移

行などがみられる症例では非血縁者間造血幹細胞移植やHLA不一致血縁者間造血幹細胞移植を考慮する。

その他のMDS症例ではすべての症例で同種造血幹細胞移植が適応となる。

4. 再生不良性貧血

再生不良性貧血においては1990年代に免疫抑制療法の治療成績が向上し、従来の骨髄移植適応が見なおされている。一方で免疫抑制療法後の長期生存例からMDSやAMLへの移行例が高頻度にみられることが報告されており、今後の移植適応の基準はなお変動することが予想される。

診断時の重症度が「重症」の症例では同胞にドナーがいればただちに骨髄移植が適応となるが、いなければまずは免疫抑制療法を実施する。「中等症」においては初回治療としての移植の適応はない。

免疫抑制療法に対する反応が6カ月の時点でみられなければ、重症例では血縁者間造血幹細胞移植あるいは非血縁者間骨髄移植が適応となる。中等症例ではHLA一致同胞がいる場合に、臨床研究として位置づけられた移植が適応とされている。

III. 疾患別患者発生数と移植適応数の予測

造血幹細胞移植が適応となる疾患別に年間新規患者発生数を予測し、上記ガイドラインに基づいて移植適応患者数を試算した。

また、疾患別にそれぞれの領域の専門医師にも個別に意見を求め、より客観性のある数字を出すように努力した。

- ・ 白血病：土田昌宏先生（日本小児血液学会造血幹細胞移植委員会委員長、TCCSG運営委員会委員長、骨髄移植推進財団企画管理委員会委員）、堀部敬三先生（JACLS運営委員会委員長、厚生労

働省研究班班長、骨髄移植推進財団医療委員会委員)、生田孝一郎先生(TCCSG ALL委員会委員長、骨髄移植推進財団医療委員会委員)

- ・ 再生不良性貧血:小島勢二先生(日本小児血液学会再生不良性委員会担当理事)
- ・ 先天性免疫不全症:森尾友宏先生(東京医科歯科大学小児科、厚生労働省研究班班員)
- ・ 先天性代謝異常症:大橋十也先生(東京慈恵会医科大学小児科、厚生労働省研究班事務局)

1. 小児白血病の年間発生数

0~15歳の小児人口は1,850万人で、この人口あたりの白血病発生率が4.0人/10万人であることから、年間の白血病全体の新患者は740人と計算される。

一方各治療研究グループや厚生労働省研究班(水谷班)への登録などから推測すると、700~850例程度の幅にあるのではないかと思われる。

2. 急性リンパ性白血病(ALL)

ALLの新患者数は500~600人程度と推計し、初回寛解期で移植適応となるPh1陽性例、MLL陽性例、乳児、その他の超ハイリスク例の合計は60~80例と試算される。

寛解導入不能あるいは再発例のうち移植が適応となる症例数は90~120例ではないかと思われるが、再発後の症例での移植適応は主治医によって異なることがあり、この数字を若干上回る可能性もある。

以上よりALL全体では150~200例がいずれかの時期に造血幹細胞移植が適応となると予想される。

3. 急性骨髄性白血病(AML)

AMLの新患者数を150~185と推計し、HR群15~20例が第1寛解期で移植が適応となり、IR群で同胞ドナーがえられて移植が適応となるのが15~18例、寛解導入不能、再発例で移植適応となるのが50~65例となる。

以上よりAML全体ではいずれかの時期に移植が適応となるのは80~103例と予想される。

4. 慢性骨髄性白血病(CML)

Ph1陽性のCMLは小児白血病の約2%をしめ、年間15~20例ほどの新患となる。STI(グリベック)の登場により、従来どおりすべてのCMLが移植適応となるかどうか不明であるが、小児においては当面はドナーがみつければ移植を優先する主治医が多いものと予想される。

5. 骨髄異形成症候群(MDS)

MDSの発生率の予測は最も困難であるが、30~60例と推計した。RAの50%とその他のMDSの全例が移植適応となると25~50例と計算される。

6. 固形腫瘍

固形腫瘍全体の発生数の予測は困難であるが、悪性リンパ腫での移植適応は減少し、神経芽細胞腫では大きな変化はないと仮定すると、35~45例程度の移植適応となるのではないかと予測した。

7. 再生不良性貧血

特発性再生不良性貧血の年間新患が80~100人であり、重症と中等症が80%を占める。家族内にHLA一致ドナーがえられる30%、すなわち20~25例の患者では診断後早期に骨髄移植が適応となる。

残りの55~70例ではまず免疫抑制療法が行われ、その50%に相当する不応あ

るいは再発例が25～35例程度となり、これらの患者ではHLA適合血縁ドナー以外のドナーからの移植が適応となる。

以上より、特発性再生不良性貧血ではHLA血縁者間骨髄移植適応が20～25例、非血縁者間骨髄移植が25～35例と予想される。

この他にFanconi貧血やDBSなどの先天性（家族性）再生不良性貧血が年間10～15例程度加わることにより、造血障害全体としては55～75例が移植されると予想される。

8. 先天性免疫不全症

造血幹細胞移植が適応となる疾患の年間の発生数はSCID5～10例、Wiskott-Aldrich症候群5～10例、慢性肉芽腫症10～15例、Chediak-Higashi症候群0～1例、DiGeorge症候群2～3例、高IgM症候群3～5例で、合計25～44例となる。

9. 先天性代謝異常症

MPS全体としては60～80例程度が発病すると推測されるが、造血幹細胞移植が適応となるI型、II型の重症型、VI型、VII型とALDについてみれば年間50～80例程度ではないかと思われる。

10. その他の疾患

血球貪食症候群、慢性活動性EBV感染症などの症例数は予測が困難であるが、今後移植適応が若干増加するのではないかと考え、年間10～20例程度と推測した。

11. 合計

以上を合計すると、小児においては年間420～610例が何らかの同種造血幹細胞移植を必要とすると結論づけられた。

IV. 移植種類別の実施数予測

以上の需要予測に基づいて実際の移植施行例数について試算してみたい。なお、小児における血縁者間造血幹細胞移植で末梢血幹細胞移植がどの程度行われるかという予測は難しいので、血縁者間骨髄移植・末梢血幹細胞移植として一括した。また、血縁者間臍帯血移植はごく少数例と考えられるので非血縁者間臍帯血移植と一括した。

なお、移植が適応となる症例のすべてがなんらかの移植を受けるものとして試算したので、実際の施行例数は多少下回るものとなる。

1. 血縁者ドナーからの造血幹細胞移植

ALLでは約30%に血縁適合ドナーが見いだせるとして、35～55例がHLA一致血縁者間造血幹細胞移植を受けると予想される。

AMLにおいてはHR群初回寛解期5～6例、IR群初回寛解期15～18例、再発例15～20例、合計35～44例が適合血縁ドナーからの移植になる。

特発性再生不良貧血では20～25例が血縁者間骨髄移植となる。

免疫不全や代謝異常などの先天性疾患では、同胞に適合ドナーを見いだせる確率が低いことから、全体の10%程度にあたる3～5例が骨髄移植を受けると推測される。

その他の疾患においては20～30%程度で血縁者間造血幹細胞移植を受けるとすると、全体では141～190例となる。

2. 非血縁者間造血幹細胞移植

血縁者に適合ドナーを見出せない患者のうち、再生不良性貧血のほとんど、AML、

MDS、代謝異常などの3分の2、ALL、CML、免疫不全、その他の疾患の約半数が非血縁者間骨髄移植を選択し、残りが非血縁者間臍帯血移植を選択すると仮定して、それぞれの移植数を予測した。

非血縁者間骨髄移植全体としては162～245例、非血縁者間臍帯血移植全体と

して107～175例程度となるのではないかと考えられる。