

8. 臍帯血移植後の免疫能の回復遅延

臍帯血移植後の免疫能の回復遅延

名古屋大学小児科/成長発達医学
 渡辺修大 中村陽一 小山慎郎 山本知子 濱麻人
 梁鍋 蒲池吉朗 工藤寿子 小島勢二

はじめに

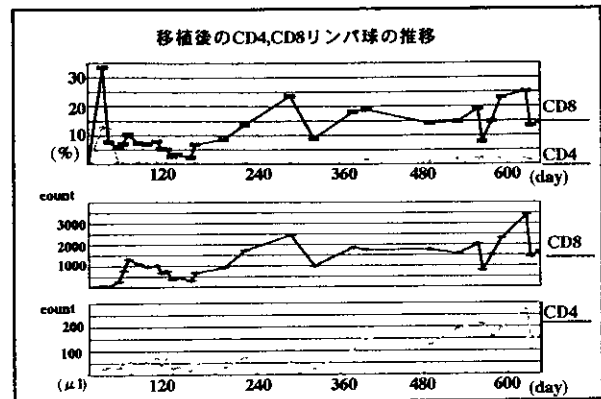
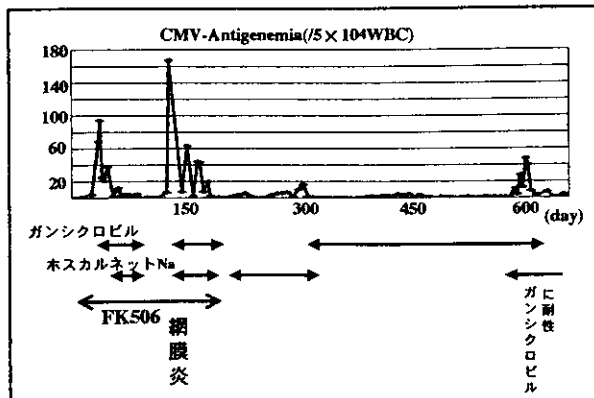
臍帯血移植後(CBT)の免疫の再構築に関してはこれまでいくつか骨髄移植(BMT)後の免疫再構築と比較した形で報告されているが、CBT,BMT共にCD4の回復はCD8,CD19,CD56に比べて遅延する傾向があるようである。以前、我々はCBT後のCD4陽性リンパ球の著明な回復遅延、またそれによる遅延するサイトメガロウイルス感染症の症例を報告した。今回はCD4リンパ球の回復遅延の機序、ならびにこのような特殊な状況におけるTcellの増幅についてさらに検討を重ねたので報告する。

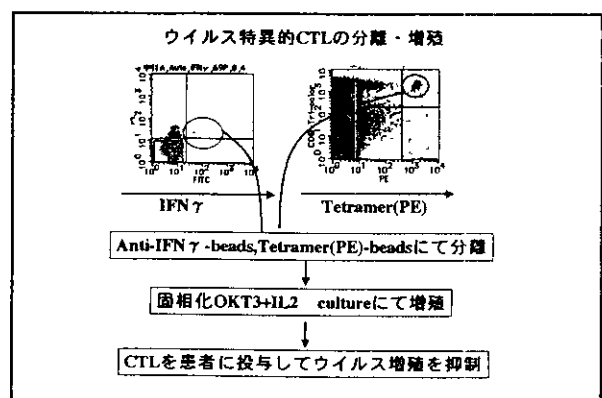
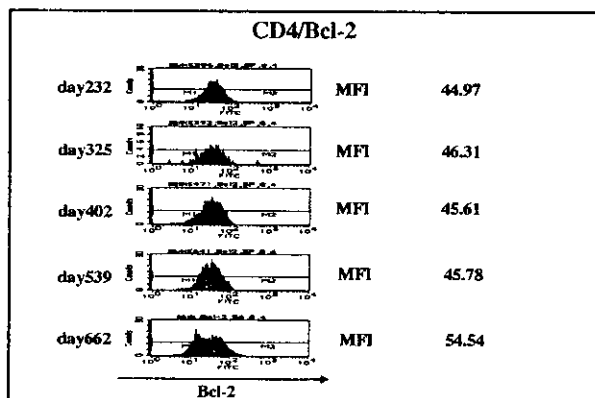
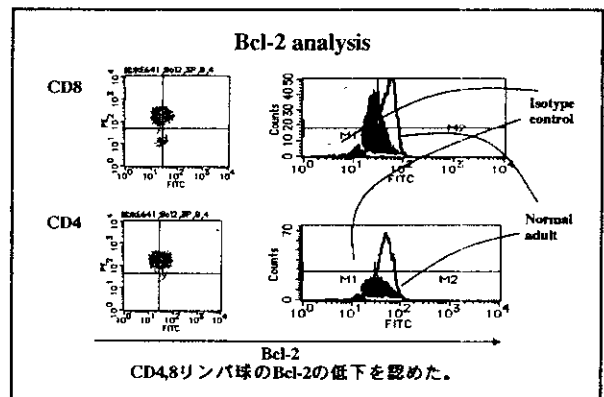
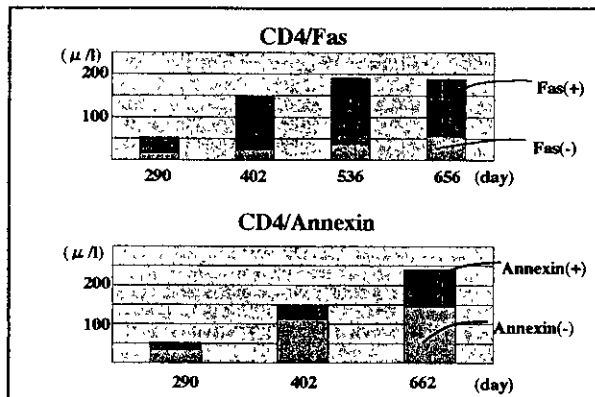
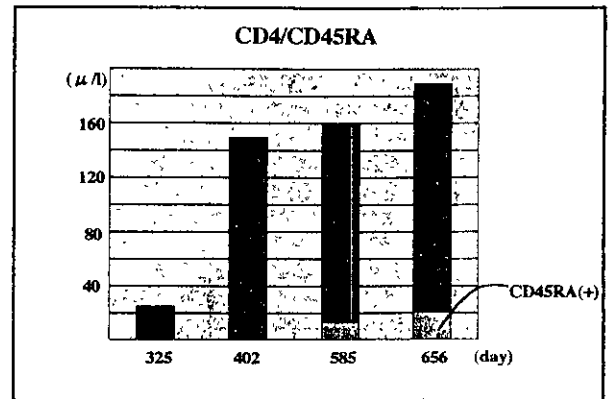
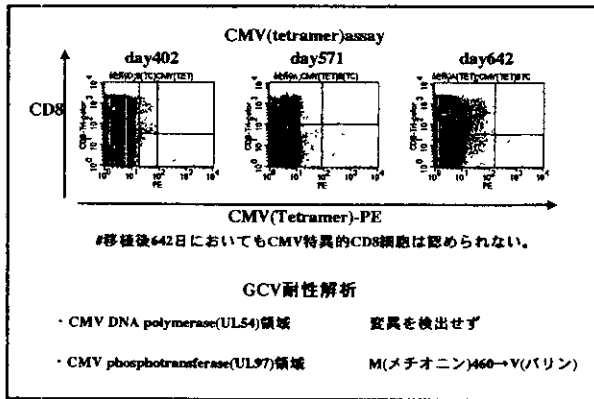
症例

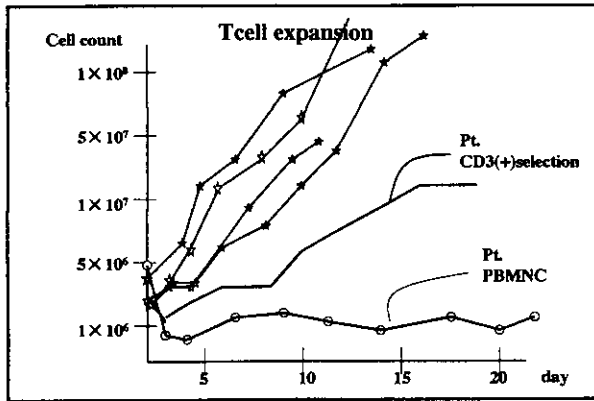
<患者>H.S 女児
 2歳 身長77.6cm 体重9.3kg 体表面積0.43m²
 <診断> Langerhanscell histiocytosis(LCH)
 <現病歴>平成12年7月より、発熱、頸部リンパ節の腫脹、肝脾腫を認め近医受診。汎血球減少、全身の紫斑を認め当院に紹介入院となる。入院後頸部リンパ節生検を行ったところ、CD1a陽性の組織球の浸潤を認めたためLCHと診断。その後化学療法(VP16,VBL,CPM,VCR,ADR,PSL)、脾摘を行うも病状は改善せず、頻回の輸血を要し、全身状態も悪化傾向であるため平成13年4月非血縁者同臍帯血移植を行った。

臍帯血移植

<HLA>
 Recipient ♀ B(+) A11,24 B 35(3501),62 DR2(1501),4(0406)
 Donor ♀ B(+) A11,1,24 B 35,52 DR15(1502),4(0405)
 <前処置> ATG+CY+TBI
 <GVHD予防> FK506+MTX
 <生着>
 網状赤血球 >10% : day30
 好中球 >500/μl : day26
 血小板 >20000/μl : day58
 <急性GVHD> 発症せず
 <慢性GVHD> 発症せず
 <CMV感染症>
 移植前にCMV-DNAが陽性になり、day-5-day-2までガンシクロビルを投与した。その後CMV-DNAは消失したが、day27にCMV-Agが陽性になり再びガンシクロビルを開始した。肺炎、胃腸炎、肝炎など特に症状は呈しなかった。







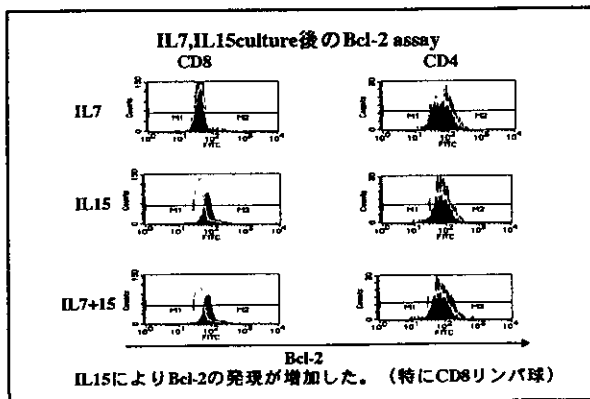
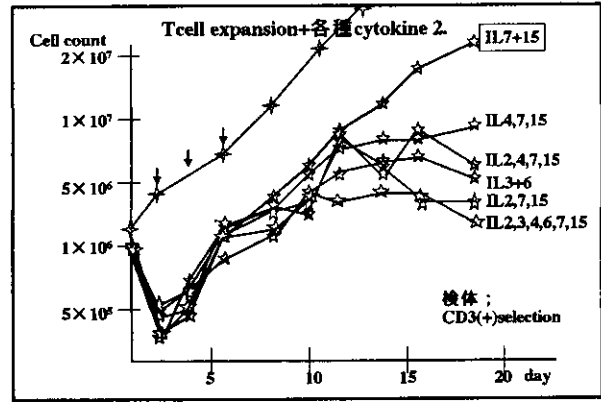
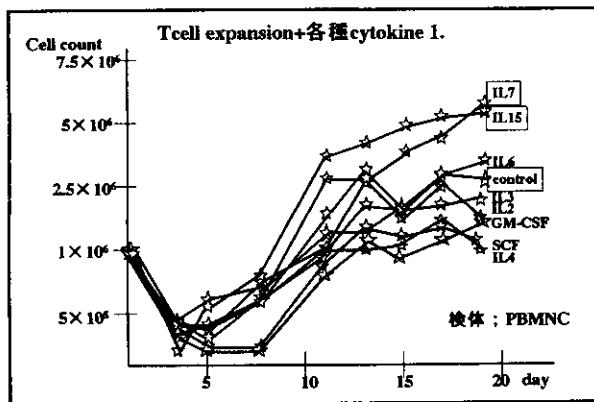
Tcell expansion+各種cytokine

方法

検体 (PBMNCもしくはCD3(+))selection	を各種サイトカイン (SCF,GM-CSF,IL2,3,4,6,7,15) を以下の濃度を加えて24時間培養する。
SCF	100U/ml
GM-CSF	100IU/ml
IL2	700U/ml
IL3	100ng/ml
IL4	100ng/ml
IL6	100ng/ml
IL7	100ng/ml
IL15	100ng/ml

↓

24時間後、固相化OKT3+IL2 culture



結語

- ・非血縁者同種骨髄移植後のCD4陽性リンパ球の著明な回復遅延による難治のサイトメガロウイルス感染を経験した。
- ・抗ウイルス剤(ganciclovir,foscarnet Na)、抗CMV高抗体価グロブリンに対する反応は不良で網膜炎を発症し、さらにGCVに対して耐性を示した。
- ・CD4リンパ球はCD45RA<CD45ROとmemory cellが優位であった。
- ・CD4リンパ球の回復遅延の原因はアポトーシスの亢進と考えられた。しかし、CD4リンパ球のBcl-2の発現は低下していたが、day60あたりからやや発現が増加してきた。
- ・IL2+固相化OKT3によるex vivoでのTcellの増幅能は正常に比べて著明に低下していたが、IL7+15の投与にてある程度の増幅は可能であった。

平成14年度厚生科学研究「造血幹細胞の増幅とその臨床応用に関する研究」
堀田班班会議

研究課題 9. Ex vivo 増幅造血幹細胞の臨床応用に関する研究
分担研究者 中畑龍俊 京都大学大学院医学研究科・教授

研究要旨： NOD/SCID/ $\gamma_c^{-/-}$ (NOG)マウスを用いたヒト造血幹細胞の測定系を開発した。造血幹細胞の大量培養法を確立するため造血幹細胞自己複製因子の同定を試みた。SCF、FL、TPO、IL-6/sIL-6R 複合体存在下で増幅した臍帯血造血幹細胞を用いた臨床研究のための基盤整備を行っている。

A. 研究目的

体外増幅造血幹細胞を用いたより安全な移植医療の開発を目的として、臨床応用可能な、安全かつ有効なヒト造血幹細胞体外増幅法を開発し、その臨床展開をはかることを目的としている。

B. 研究方法

1. NOD/SCID マウス、NOD/SCID/ $\beta 2M^{+/+}$ マウス、NOD/SCID/ $\gamma_c^{+/+}$ マウスに種々の数の CD34+細胞を移植した。移植後経時的に各種組織中のヒト細胞の存在をフローサイトメトリーで解析した。

2. ヒト臍帯血 CD34+細胞を各種サイトカイン存在下に液体培養し、造血幹細胞の増幅について検討した。

3. 造血幹細胞の発生する胎生 10.5 日のマウス AGM 領域から樹立したヒト造血幹細胞の増殖活性を持つストローマ細胞株(AGMS3)を用いて、造血幹細胞の自己複製因子の遺伝子クローニングを試みた。

4. トランスレーショナルリサーチのための基盤整備について検討した。

C. 研究結果および考察

1. われわれの開発した NOG マウスは従来のマウスに比べヒト造血幹細胞の生着率が著しく高く、T細胞を含む全ての血球分化が見られることから、ヒト造血幹細胞の測定系としては画期的なマウスと考えられる。現在、このマウスを用いて ex vivo 増幅造血幹細胞の定量的な測定などを検討中である。

2. 我々はこれまでの基礎研究の集積から、可溶性 IL-6 受容体(sIL-6R)/IL-6 複合体と SCF, TPO, Flt3 リガンド(FL)を組み合わせた新しいヒト造血幹細胞の増幅法を開発した。臍帯血から分離した CD34+細胞をこの条件下で 1 週間培養することにより、造血幹細胞を約 4.2 倍増幅できることが NOD/SCID マウスを用いた測定法で明らかとなった。この技術を基盤に ex vivo で増幅させた臍帯血幹細胞を臍帯血移植に応用する臨床研究まで含めたトランスレーショナルリサーチを計画している。

3. AGMS3 を用いて現在までに多くの新規遺伝子が同定されたが、本年度はその中から 5 つの遺伝子に絞り機能解析が進行中である。

4. 細胞治療の安全性を確保するために、GMP に沿った培養法の確立と品質管理法の開発が必須であり、具体的には伝染物質の混入を防いだり、細胞の取り違いなどを防ぐため、基準に合致した CPC(cell processing center)での培養や標準作業手順書(SOP)の作成、厳格な品質管理体制の確立などの整備を行う必要がある。

本年度、神戸先端医療センターに CPC を完成させた。また、その運用方法を含めた細胞療法の標準的培養施設となるべく細胞操作室、培養室、QC室、細胞保管庫、を完備し、セキュリティーも充実させた。さらに、医薬品グレードの試薬の使用による培養法の整備、細胞療法の安全性確保のため動物血清を用いない培養法の開発(無血清培養法の開発)、新しい培養液の開発、SOPの作成などを行った。さらには、GMPに乗っ取った培養を行うため、培養機器(培養バッグ、インキュベーター、バッグ細胞洗浄機)の開発を行っている。

D. 結論

ヒト造血幹細胞を増幅できることが示された。増幅造血幹細胞の臨床応用を準備中である。

E. 健康危害情報 なし

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Int. J. Hematol. 75(4):350-356, 2002.
- 2) Blood 100(7):2279-2288, 2002.
- 3) Leukemia. 16:645-649, 2002.
- 4) Blood 100(9):3175-3182, 2002.
- 5) Bone Marrow Transplant. 30:531-534, 2002.
- 6) Biochim Biophys Acta. 1592:313-321, 2002.
- 7) Brit. J. Haematol. 119:525-534, 2002.
- 8) Blood in press
- 9) Bone Marrow Transplant. In press.
- 10) Blood in press.

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

NOG マウスを用いたヒト造血幹細胞の測定

2. 実用新案登録 なし

3. その他 なし

- 平成14年度厚生労働科学研究「臍帯血を用いた移植・再生医療に関する研究」班
10. 研究課題 非血縁者間臍帯血移植における臍帯血の母親のHLAタイピングの意義
分担研究者 東海大学総合医学研究所 加藤俊一

[目的]

妊娠中の母児間には免疫学的寛容が成立し、生後も母児双方にマイクロキメリズムが長期間維持されると言われている。このような母児間免疫学的寛容理論に基づいて、母親あるいはNIMA相補性ドナーからの造血幹細胞移植が行われ始めている。また、血縁者臍帯血移植においてNIMA相補性ドナーからの移植ではNIPA相補性ドナーからの移植と比較してGVHDが軽症であると報告されたことがある。

非血縁者間臍帯血移植においても、GVHD方向にミスマッチの抗原を臍帯血の母親が持っていれば、臍帯血は患者の不適合HLA抗原に寛容状態にあるのではないかという仮説が提唱されているが、臨床例での検証や報告はない。

[対象と方法]

東海大学さい帯血バンクから臍帯血を提供して移植が実施され、移植後の経過の詳細が報告されている79例について、患者、臍帯血、臍帯血の母親の3者のHLAを血清学的ならびにDNAレベルでタイピングを行った。

臨床的なデータとしては、患者の年齢、体重、疾患、移植前処置、GVHD、生着の有無と速度、最終転帰などについて検討した。

[結果]

1. NIMA相補性の頻度

79例中6例において、患者と臍帯血の母親とがNIMA相補性の関係にあった。いずれも血清学的HLA抗原レベルであった。

2. 移植結果との関連

- ①6例の年齢、体重、疾患、移植細胞数、移植前処置などは、全体の分布と特別な差を認めなかった。
- ②生着は6例中3例で認められたが、そのうち1例は自己回復のために拒絶された。1例で不生着、2例で早期死亡のために評価不能であった。生着した3例での好中球生着速度は全体と差は認められなかった。
- ③評価可能3例における急性GVHDは0度、1度、III度がそれぞれ1例ずつであった。
- ④最終転帰は無病生存が1例、有病生存が1例、移植関連死亡が3例、再移植が1例であった。

[結論]

今回の検討ではNIMA相補性非血縁者間臍帯血移植の有利性を示す結果はえられなかったが、少数例での解析であることから今後症例数を増加させて詳細な検討を行う必要があると思われる。

11. 臍帯血と患者間のHLAのミスマッチが臍帯血移植に及ぼす影響

臍帯血と患者の間のHLAのミスマッチが臍帯血移植に及ぼす影響

東海臍帯血バンク
 矢崎 俊、加藤剛二、加藤 道、石川伸子、
 伊藤智子、柴山真貴子、小河ひろみ

背景

- 臍帯血移植では、HLAが2抗原ミスマッチの臍帯血を用いても、GVHDの頻度は低くかつ重症度も低い。
- しかし臍帯血移植でもGVHDは起きている。
- 再発はHLA一致の非血縁者間骨髄移植とほぼ同じの臨床結果から、GVL効果があるように思える。
- 拒絶は、HLA一致の非血縁者間骨髄移植よりやや多い。
- HLAが2抗原ミスマッチ臍帯血を用いた移植が可能な状況で、複数のHLA2抗原ミスマッチ臍帯血から、最も良い移植成績が得られる臍帯血を選択するためには、HLA抗原ミスマッチの臍帯血移植に及ぼす影響をHLA毎に検討する必要がある。

方法

- 1) 臍帯血移植に用いたCBを移植患者の白血病細胞で刺激することにより、白血病細胞や患者由来の細胞を特異的に破壊するCTLが誘導できるか検討する。
- 2) 移植患者の移植後のGVHD、再発の有無、拒絶と移植患者と臍帯血のHLAのミスマッチとの間に相関があるか検討する。

Method for generation of CTL

- 1st Stimulation
 A bulk CTL was established by stimulating 1×10^5 naive CB lymphocytes with 1×10^6 of 35 Gy irradiated patient's leukemic cells using 96-well round-bottomed microtiter plate in RPMI 1640 plus 15% pooled human AB serum and 10 mM HEPES.
- 2nd Stimulation
 On day 6, 1×10^5 viable cells were restimulated with 1×10^6 irradiated leukemic cells or patient's PBL, and 2% highly purified IL-2 in 24-well flat-bottomed culture plate.

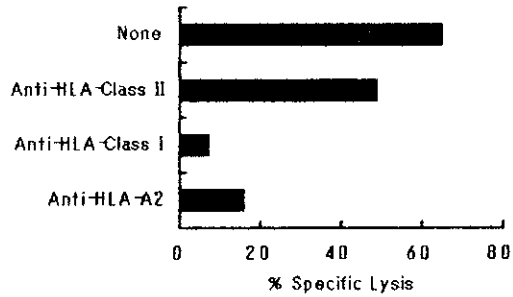
- **Generation of HLA-A2 subtype specific cytotoxic T lymphocytes from cord blood stem cell transplantation.**

Yazaki M. et al.
Bone Marrow Transplant 2000 26,451-453

HLA of Patient and CB

	HLA-A	HLA-B	HLA-C	HLA-DR
CB	A2/A28 A*0201/A*2601	B35/B61 B*4002	Cw8/Cw10	DR9/DR11
Patient	A2/A28 A*0206/A*2601	B35/B61 B*4002	Cw9/Cw10	DR9/DR4

Anti-HLA-A2 mAb blocking of cytotoxicity against patient's EBV-LCL by CB CTL



Cytotoxicity of CB against LCL

	Sex	Allele of HLA-A2	HLA			% Specific lysis (E:T ratio)	
			A	B	C	20	10
Patient's LCL	M	A*0206	A2 A26	B35 B61	Cw9 Cw10	59	47
CB LCL	F	A*0201	A2 A26	B35 B61	Cw9 Cw10	7	1
MY LCL	M	A*0206	A2 A11	B51 B61	Cw3	54	25
FY LCL	M	A*0206	A*0201	A2 A2	B51 B61 Cw3	70	36
SH LCL	M	A*0206	A2 A26	B35 B7	Cw3 Cw7	59	54
NM LCL	F	A*0206	A2 A11	B39 B51	Cw7	32	17
KTI7 LCL	F	A*0206	A2 A11	B35 B62	Cw4 Cw9	42	35
KK LCL	M	A*0201	A2 A24	B52 B62	Cw2	1	0
KOSE LCL	F	A*0201	A2	B25		0	0
YK LCL	F	A*0201	A2	B36		0	0
YMS LCL	F	A*0204	A2	B35	Cw4	8	1
SN LCL	F	A*0207	A2 A31	B35 B16	Cw3 Cw7	0	0

Anchors of peptide eluted from HLA-A2 subtypes

Subtype	Residue 9	P2	P9
A*0201	F	L	VL
A*0206	Y	VQ	VL
A*0207	F	L	L

Sudo T et al. J Immunol 1995 155: 4749-4756

- Human leukocyte antigen-Cw-specific cytotoxic T lymphocytes generated from naïve cord blood used for cord blood stem cell transplantation.

Yazaki M. et al.

British Journal of Haematology 2002 117, 893-898

Table II. Cytotoxicity of CTL derived from patient 1 against various Cw-positive cell lines

Target cells	HLA				% Specific Lysis	
	A	B	C	DR	E:T=4	E:T=2
Patient's LCL	24, 26	54, 61	3 (5), 1	4	76	63
CB LCL	24, 26	54, 61	1, 9	4, 9	5	3
MY	2, 11	51, 61	3 (9), 14	4, 9	56	19
KTI7	2, 11	35, 62	3 (9), 4	4	69	55
MT14B	21	60	3 (10)	6	34	23
OLGA	21	62	3 (10), 1	8	50	40
SPL	21	62	1	8	2	1
DEU	21	35	4	4	2	1
WT47	32	44	5	13	2	2
KAS-011	1	37	6	2	0	0
BT14	3	7	7	4	0	0
BT17	31	51	8	4	0	0

5×10^5 ⁵¹Cr-labelled target cells were incubated with CB CTL at different effector to target (E:T) ratios for 4 h.

Table III. Cytotoxicity of CB CTL derived from patient 2 against various Cw-positive cell lines

Target cells	HLA			% Specific Lysis	
	A	B	C	E:T=20	E:T=10
TNF- α pretreated patient's LC line ^a	11, 24	39, 62	1, 7	70	58
CB LCL	11, 24	52, 62	1	0	0
SPL	31	62	1	0	51
KAK	24, 26	54, 61	1, 3	36	40
BM11	3	7	3	61	63
KS	2	7, 35	3, 7	33	25
NM	2, 11	39, 61	7	36	26
KK	2	39, 61	3, 7	25	21
MT14B	31	60	3	24	18
DEU	31	35	4	16	1
WT47	32	44	4	18	7
KAS-011	1	37	6	1	0
BT14	31	51	8	0	0

5×10^5 ⁵¹Cr-labelled target cells were incubated with CB CTL at different effector to target (E:T) ratios for 4 h.

^aLC line=leukemic cell line established from the patient

HLA-A*0201と*0206のミスマッチの影響

- 対象: 2002年3月までに東海臍帯血バンクから提供された臍帯血を用いて臍帯血幹細胞移植を行った107例中から、下記の不適格症例を除いた80例。

除外例
 生着不全18例
 HLA-A2のアリルが未検査5例
 GVHDの記載の無い4例

HLA-A*0201と*0206のミスマッチのGVHDへの影響

急性GVHD 1度以上		
0201vs0206有り	0201vs0206無し	全症例
10/10(100%)	47/70(67%)	57/80(71.25%)
急性GVHD 2度以上		
0201vs0206有り	0201vs0206無し	全症例
8/10(80%)	31/70(44%)	39/80(48.75%)

HLA-Cwのミスマッチの影響

- 対象は、生着不全18例とGVHDの記載のない4例を除いた85例。
- GVHD/GVL方向にHLA-Cwのミスマッチがある症例は、37例(43.5%)。

HLA-CwのミスマッチのGVHDに与える影響

		Grade of GVHD				
		0	I	II	III	IV
Cw1	5/6 (83%)	1	1	3	0	1
Cw3	13/19(68%)	6	4	5	2	2
Cw4	4/5 (60%)	2	1	1	1	0
Cw7	2/3 (67%)	1	1	1	0	0
Cw8	4/5 (80%)	1	2	0	2	0
Cw14	3/4 (75%)	1	0	1	1	1

HLA-CwのミスマッチのGVLの影響

- 対象: 白血病28例。

	再発なし	再発あり
Cw1	1/4 (25%)	3/4 (75%)
Cw3	8/15 (53%)	7/15 (47%)
Cw4	2/4 (50%)	2/4 (50%)
Cw7	0/2 (0%)	2/2 (100%)
Cw8	2/3 (67%)	1/3 (33%)
Cw14	3/4 (75%)	1/4 (25%)

- 臍帯血中には、患者と臍帯血間のミスマッチのHLA-A2のアリルやHLA-Cwを認識できるCTLに分化できるT細胞が存在する。
- このCTLは、患者の白血病細胞、PHA blasts、LCLを認識して破壊できる。すなわち、GVHD、GVL、Rejectionに関与している可能性がある。
- 移植症例でHLA-A2のアリルやHLA-Cwのミスマッチの影響を検討したところ、HLA-A2のアリルのミスマッチがあるとGVHDの頻度が増加する傾向があると考えられた。

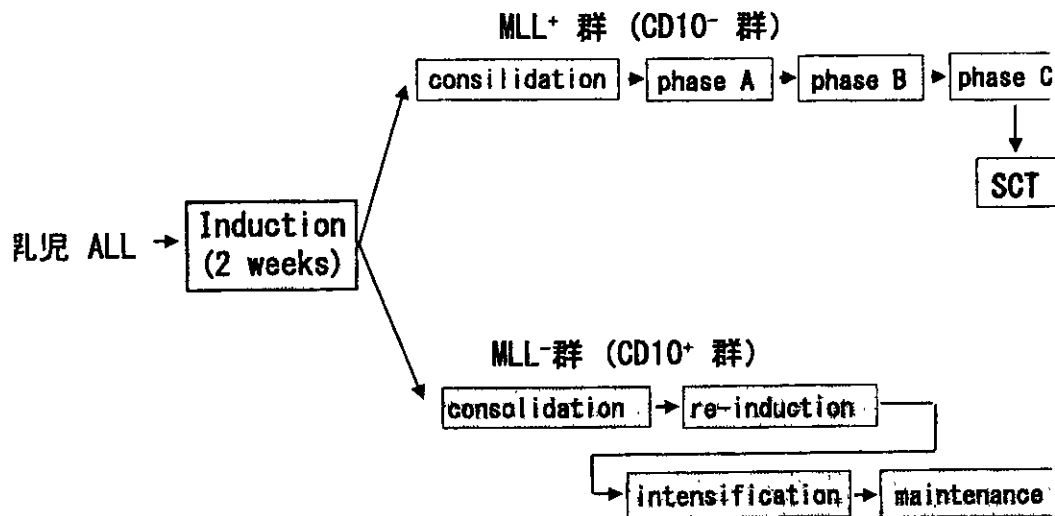
12. 乳児 ALL に対する臍帯血移植療法の成績と問題点

石井榮一、磯山恵一、加藤剛二、小阪嘉之
乳児白血病共同研究会

乳児 ALL の予後因子

1. 11q23/MLL 再構成 (p<0.03)
2. Age : <6mo (p=0.04)
3. Sex : female (p=0.09)
4. WBC : >50,000/ μ l (p=0.04)

MLL98 study における乳児 ALL の治療戦略



幹細胞移植の前処置 (MLL98 study)

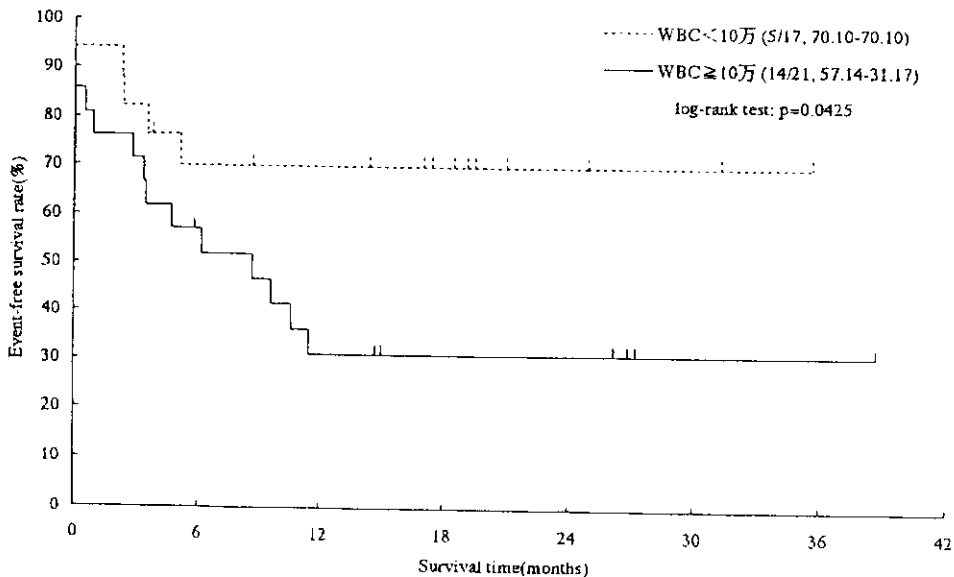
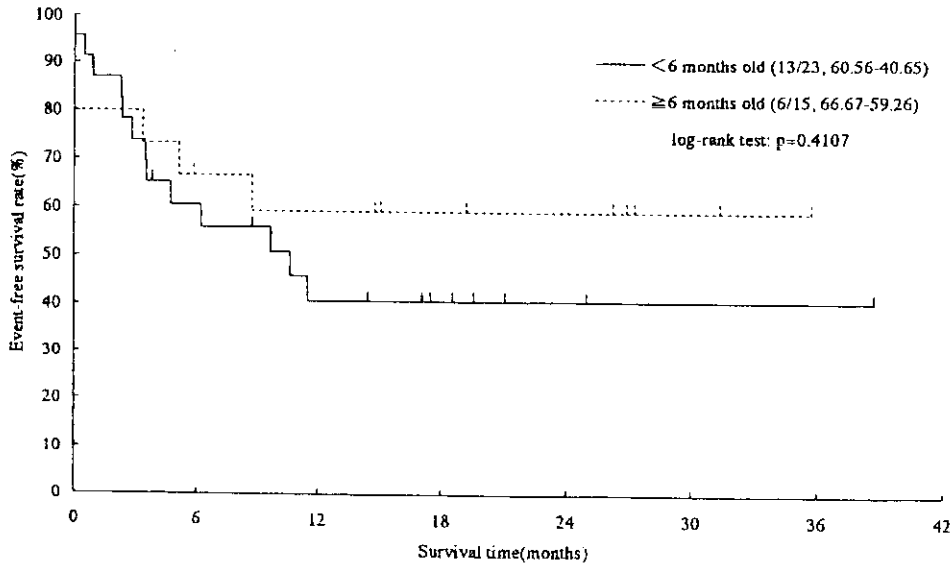
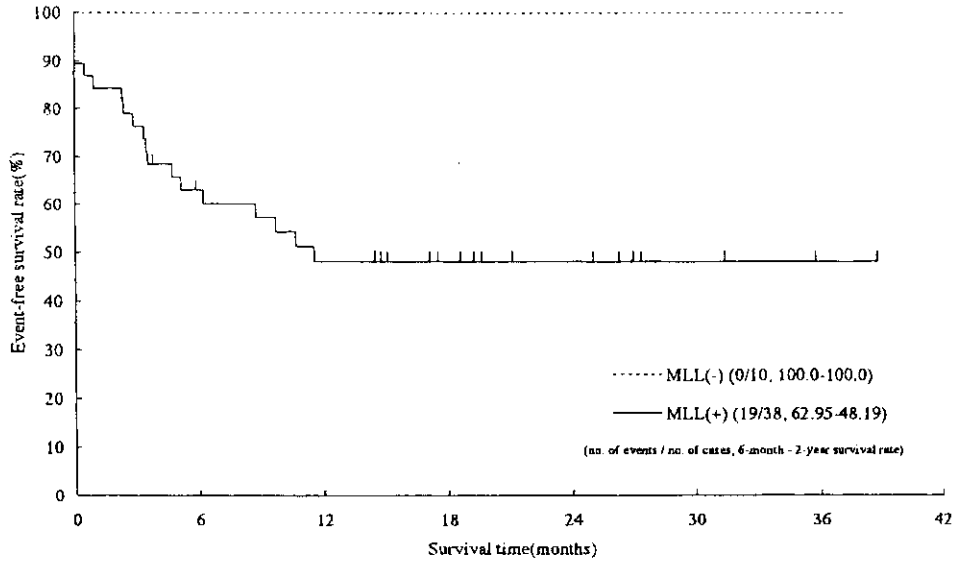
		non-TBI regimen								
day		-8	-7	-6	-5	-4	-3	-2	-1	SCT
BU (150 mg/m ²)		●	●	●	●					↓
VP16 (60 mg/kg)						●				
CY (60 mg/kg)							●	●		
		TBI regimen								
day		-8	-7	-6	-5	-4	-3	-2	-1	SCT
TBI (12 Gy)			●	●	●					↓
VP16 (60 mg/kg)						●				
CY (60 mg/kg)							●	●		

LL+ ALL 症例の転帰 (MLL98 study)

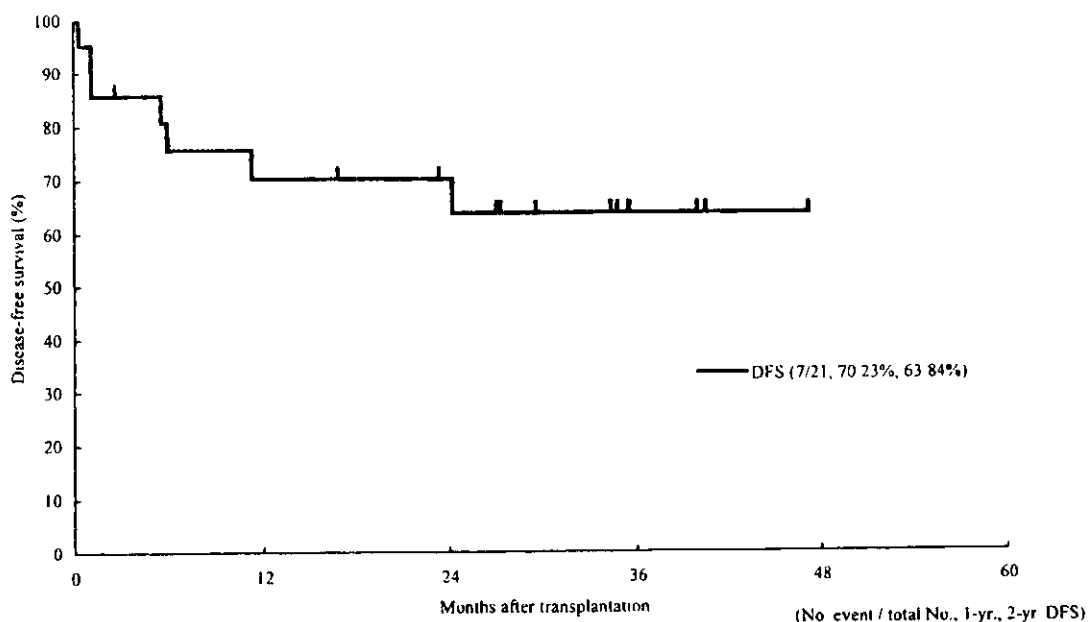
症例数	45
no CR	2
感染死 (導入中)	2
CR	41 (91.1%)
治療拒否	1
移植前再発	10 (24.4%)
移植	30 (73.2%)

SCT	症例数	CR	再発	死亡
UCBT	21	14	3	4 *
alloSCT	5	3	2	0
UBMT	3	3	0	0
CD34	1	1	0	0

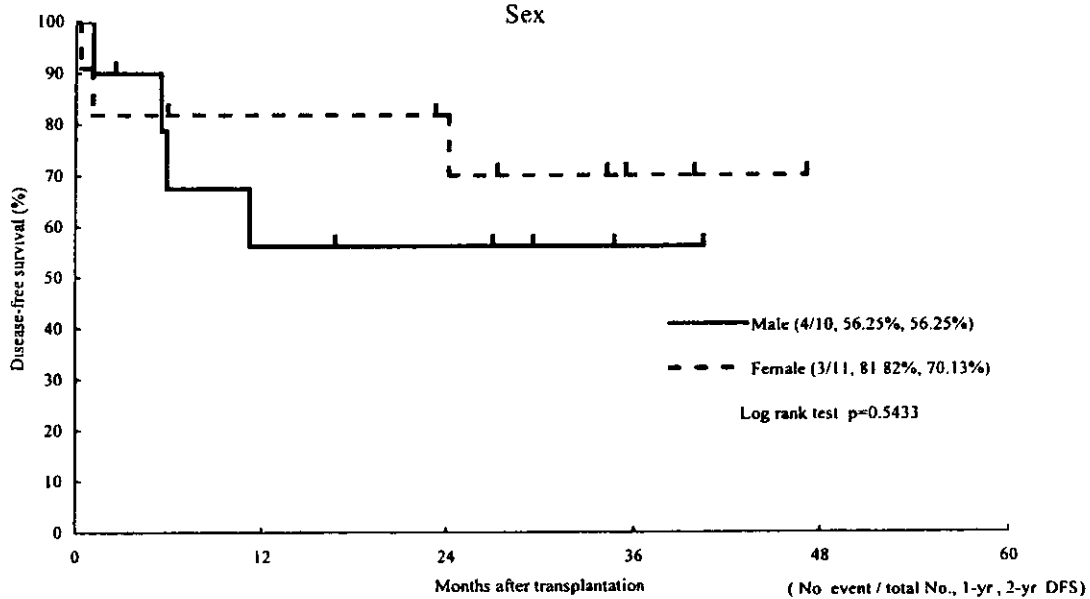
* 4例の内訳: 感染死1、拒絶・MOF1、VOD・TMA 1
GVHD 1



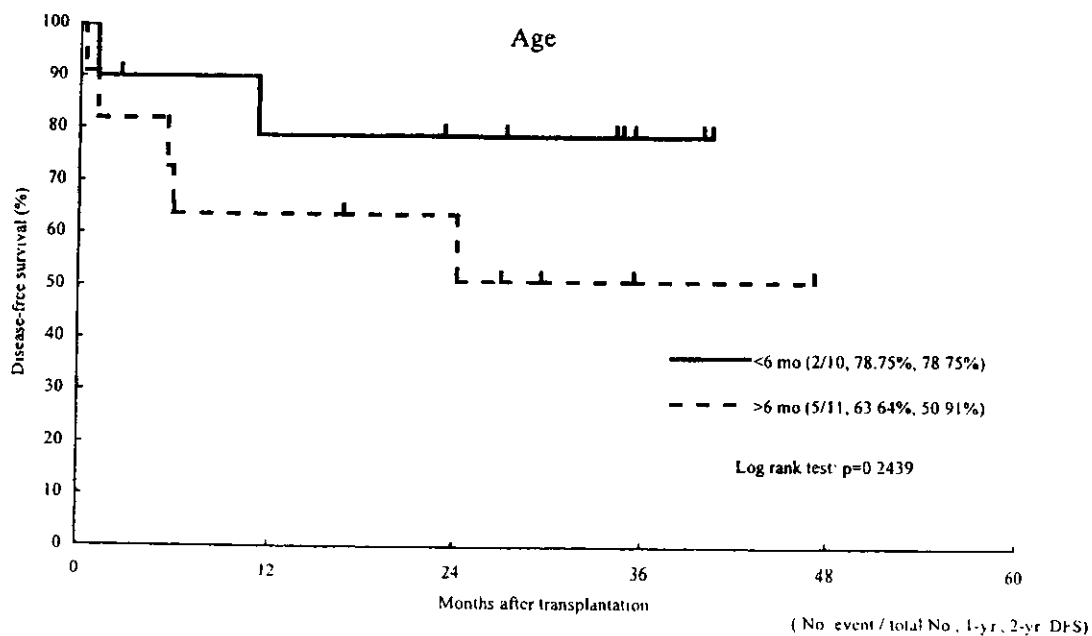
全体

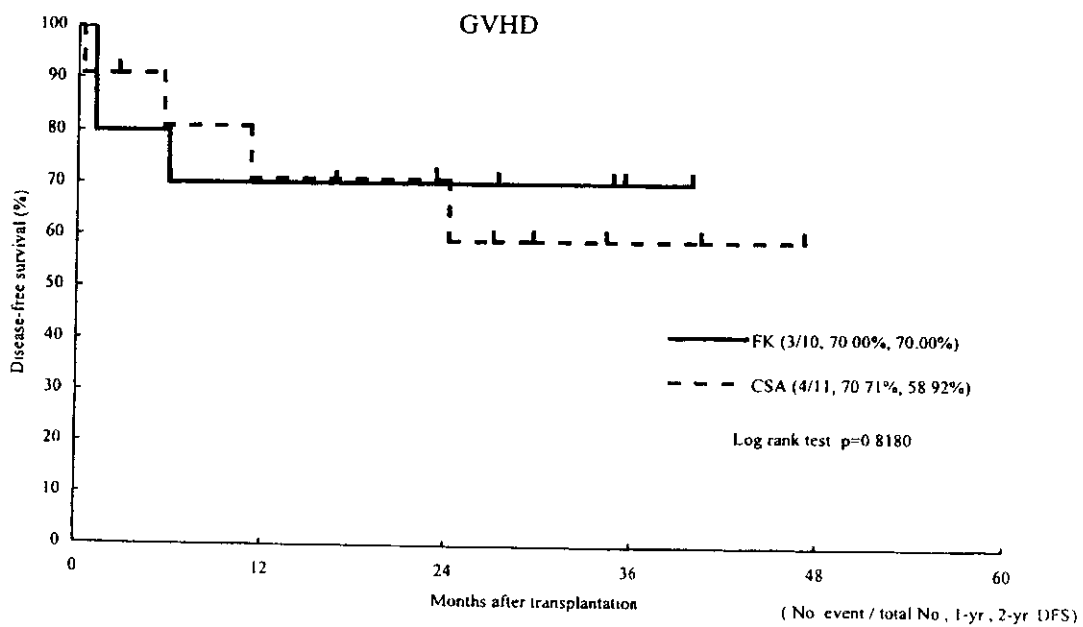
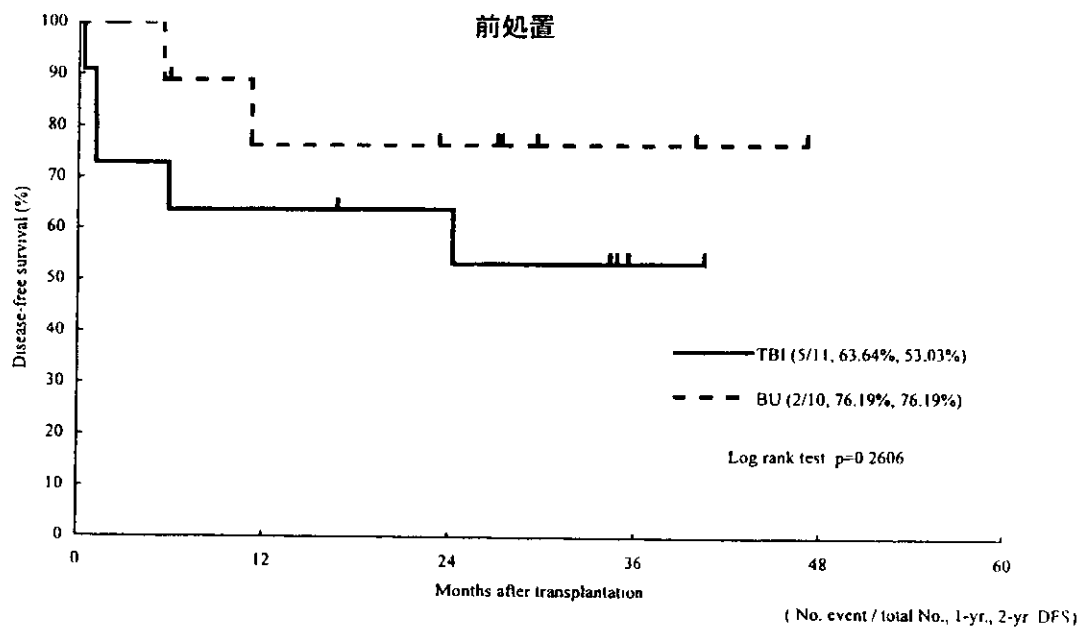
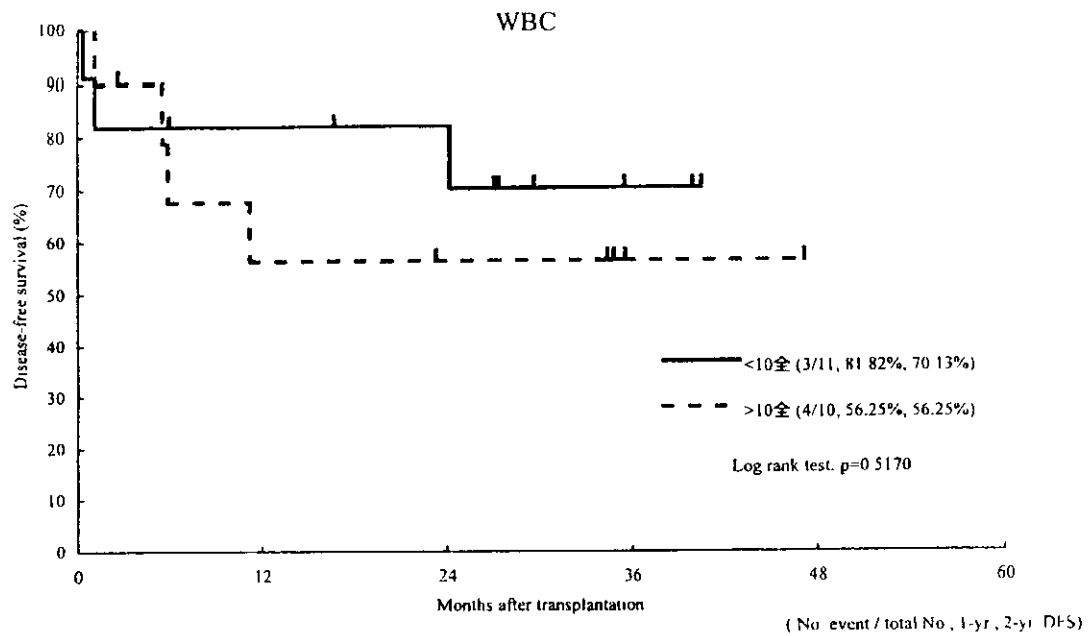


Sex



Age

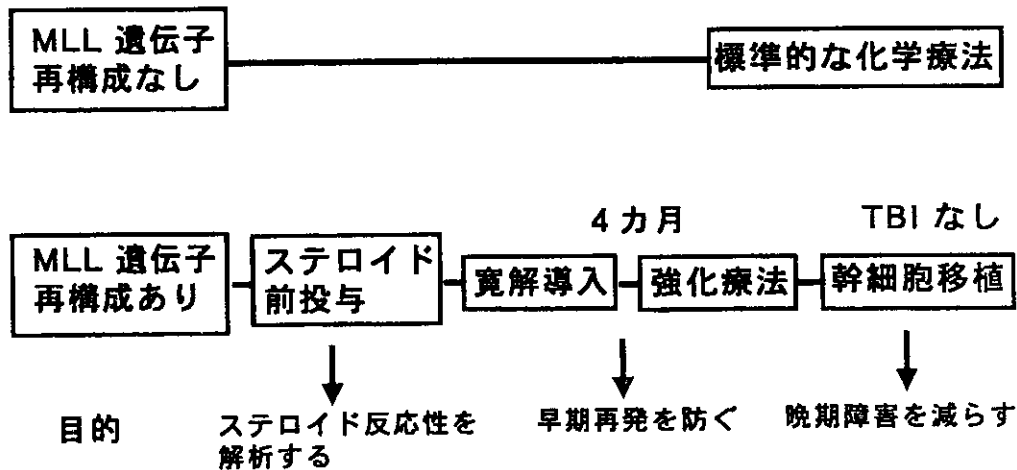




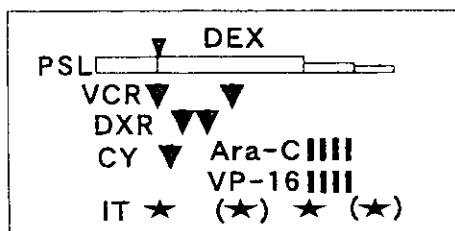
MLL98 study: まとめと今後の課題

1. MLL98 study では MLL+ ALL に対して早期の造血幹細胞移植を導入した。その結果 MLL96 study では 33% であった EFS は 48% と改善された。しかし発症年齢 6 カ月未満の EFS は 40% とさらに改善の余地があると考えられた
2. 寛解導入率は 91% と良好であったが、移植前の再発を 25% 認めた。移植のさらなる早期実施が必要と考えられる。
3. 第一寛解期に幹細胞移植を行った症例は 30 例で、そのうち 21 例が非血縁臍帯血移植であった。その 2 年 EFS は 64% と良好であったが、合併症死を 4 例認めた。
4. Risk factor の解析では男児と WBC 10 万以上の症例が予後不良の傾向があった。また前処置では BU 群で、GVHD 予防では FK506 群で予後良好の傾向があったが、有意差はなかった。
5. 今後は臍帯血移植の早期実施、合併症の予防、副作用の少ない前処置の開発、などが必要と考えられた。

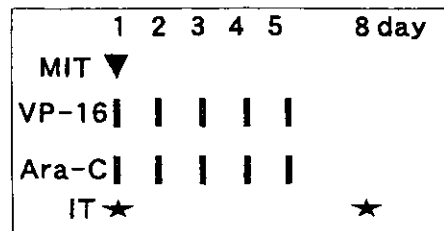
乳児 ALL の治療方針 (MLL03 study)



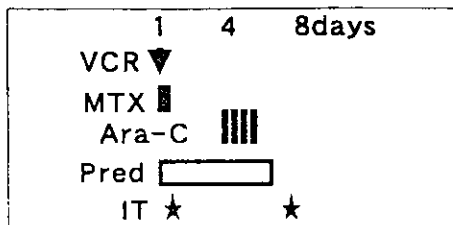
MLL03 プロトコルの概要



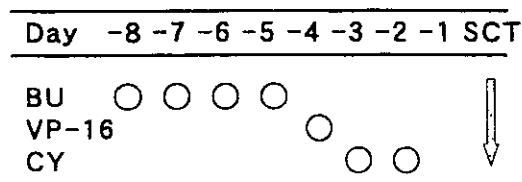
寛解導入



強化療法 1



強化療法 2



移植前処置

厚生科学研究ヒトゲノム・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 班会議(2003.3.1)

13. 小児および成人造血器悪性腫瘍に対するさい帯血移植成績の比較検討：兵庫さい帯血バンクから提供した移植例の解析

兵庫医科大学 甲斐俊朗、三澤真人、山口雅生、陳 明修、田畑雅彦、原 宏

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%)
ABC		
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)

Cell dose (Before Freezing)

	16y >	16yr ≤
NCC(x10e7/kg)	4.94 (1.69-19.93)	2.58 (1.92-4.57)
CFU-GM(x10e4/kg)	3.48 (0.25-21.42)	1.365 (0.25-8.46)
CD34(x10e5/kg)	2.08 (0.295-3.83)	0.974 (0.234-2.915)

(Hyogo CBB, as of 2003.1.31)

Influence of cryo-preserved CD34+ cell-dose(A) and NCC(B) on engraftment

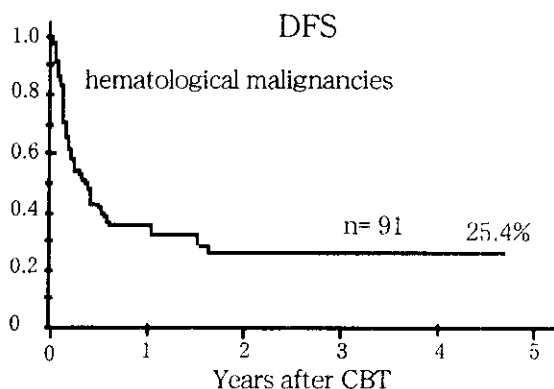
		CD34+ cell dose(x10 ⁵ /kg)		total
		1.7>	1.7≤	
ED/GF	16yr<	12 (32%)	3 (19%)	15 (27%)
	16yr>	7	3	10
Engraftment	16yr<	27	4	31
	16yr>	14	21	35
		60	31	91

		NCC (x10 ⁷ /kg)		total
		3.0>	3.0≤	
ED/GF	16yr<	11 (32%)	4 (23%)	15 (27%)
	16yr>	4	6	10
Engraftment	16yr<	27	4	31
	16yr>	5	30	35
		47	44	91

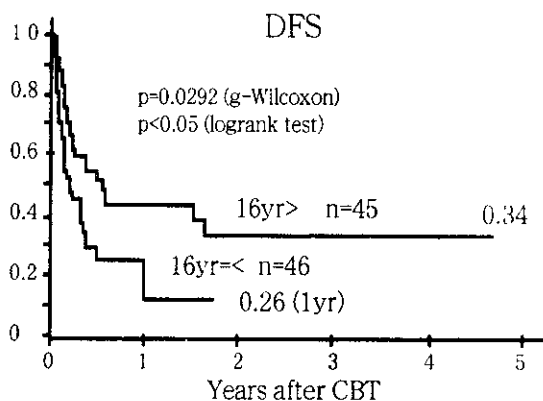
Clinical Results.

	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
TRM	22.6%(1yr)	61%(1yr)	p<0.01
DFS	33.7% (4yr)	25.7%(1yr)	p<0.05

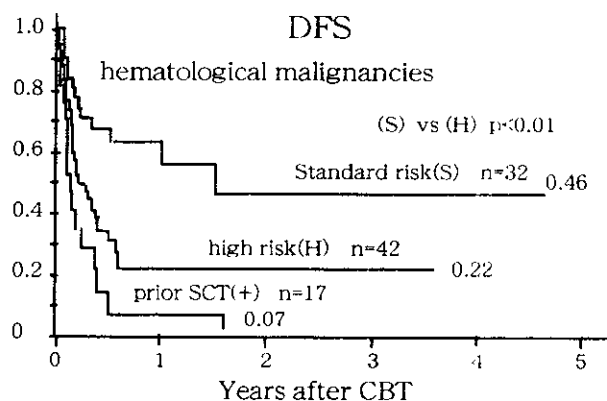
* death within 28 days after CBT # Including 2 pts who had neutrophil engraftment



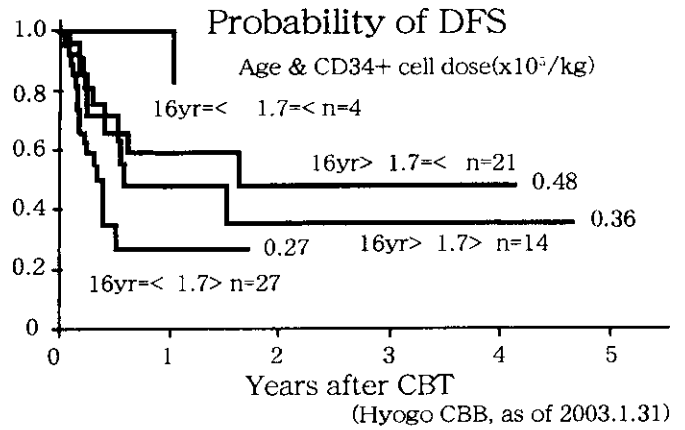
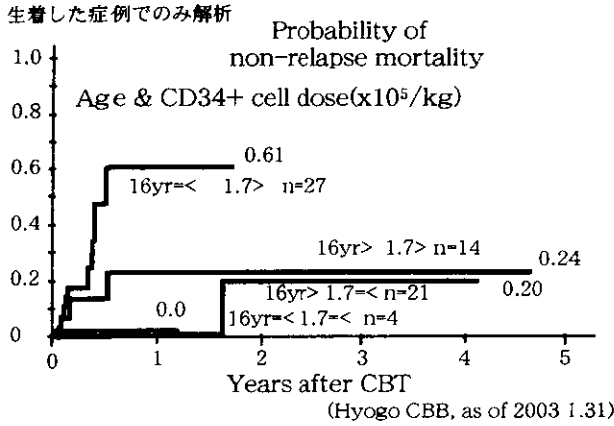
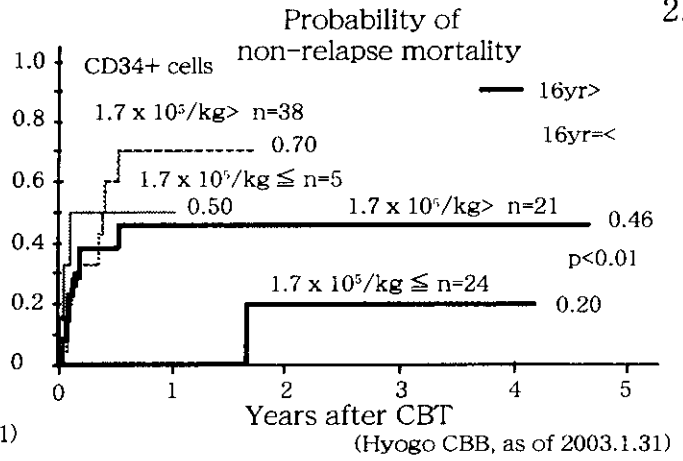
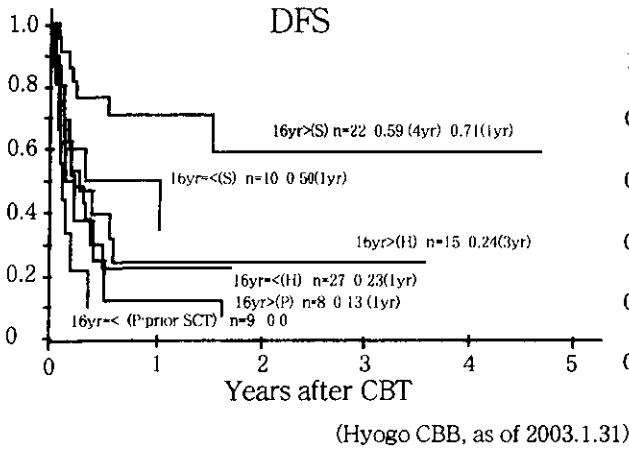
(Hyogo CBB, as of 2003.1.31)



(Hyogo CBB, as of 2003.1.31)



(Hyogo CBB, as of 2003.1.31)



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

まとめ

- 1) 早期死亡・生着不全の頻度は成人移植例で33%(15/46)小児移植例で22%(10/45)であり、小児・成人とも移植有核細胞数、CD34+細胞数が少ないほど頻度が高い傾向にある。
- 2) 好中球、血小板生着の速度、また急性および慢性GVHD発症頻度は両群間で有意差を認めなかった。
- 3) 成人移植例では小児に比較して移植後1年における非再発死亡率が高く(p<0.01)、無病生存率(DFS)は有意に低かった(p<0.05)。
- 4) 全体のDFSは25.4%(4年)であり、移植有核細胞数、CD34陽性細胞数、年齢、移植病期がDFSに有意な影響を及ぼしていた。
- 5) 成人standard risk移植10例中生着不全が4例に認められた(2例が再移植後生存、1例が自己造血回復生存)。
- 6) high risk群では、成人と小児間でDFSに差を認めなかった(22.8% vs 24%; 1年)。その要因は、小児では再発死、成人では非再発死の頻度が高いためであった。
- 7) 成人で移植CD34陽性細胞数が少ない症例では、生着症例でも、非再発死亡率が61%、DFSが27%(移植後1年)と、良好な成績が得られていない。

平成14年度厚生労働省科学研究「臍帯血を用いた移植・再生医療に関する研究」班、「造血細胞の増幅とその臨床応用に関する研究」班合同会議

平成15年3月1日

14 非血縁臍帯血移植の治療成績と Risk factors

西平浩一^{1,2}、磯山恵一²、生田孝一郎³、豊田恭徳⁴

1. 神奈川県厚木保健所、2. 昭和大学藤が丘病院小児科、3. 横浜市立大学小児科、4. 神奈川県立こども医療センター腫瘍科

目的：本邦における非血縁臍帯血移植実施数は約800例を越えているが、移植成績や成績に影響する危険因子は未だ十分明らかにされたとは言いがたい。我々は、神奈川県臍帯血バンクの成績を中心に移植成績と危険因子を明らかにすることを目的とした。方法および対象：[対象] 1997年2月から2002年8月までに神奈川県臍帯血バンクが提供し移植が実施された血液腫瘍性疾患45例の後方視的解析を実施。血球回復、生存率、再発率、急性GVHD発生率を評価項目とし、移植細胞数、HLA一致度、放射線照射、急性GVHD grade、GVHD予防法を分析因子として解析した。[統計処理] 生存率、発生率はKaplan-Meier法により解析しLog-rank testを使用して有意差を検定した。多変量解析は単変量解析により $P \leq 0.1$ を示した因子を選択しCox's proportional hazard modelにより解析した。Fisher's exact testにより各因子間の差の有無を比較した。

結果：観察期間中央値は34ヶ月(3-62ヶ月)であった。血液腫瘍性疾患の特徴は表に示した。[好中球回復] 好中球数 $500/\mu\text{L}$ 以上への回復は84.4%(移植後60日)で、回復日数中央値は28日であった。移植細胞数 $<3.7 \times 10^7/\text{kg}$ 、CMV抗体陽性者、high risk患者で有意($P < 0.05$)に好中球回復が遅延した。多変量解析ではhigh riskであることが独立した遅延因子となった。[血小板回復] 血小板数 $20,000/\mu\text{L}$ 以上への回復は、57.8%(移植後100日)、中央値は75日であった。血小板回復においてもCMV抗体陽性者、high risk患者で有意に回復が遅延していたが、多変量解析では独立した遅延因子は得られなかった。[急性GVHD発生率] 移植100日での急性GVHD発生率は62.5%であった。HLA-DPB1不一致移植の場合に急性GVHD発生が高かった。single drugによるGVHD予防は、急性GVHDの発生が高い傾向を示した。Grade II以上の急性GVHDの発生の有無と生存率、再発率に差は認められなかった。[生存率] 移植後57ヶ月時点のOverall survival(OAS)、Event-free survival(EFS)は、53.9%、43.1%であった。High riskであること、single drugによるGVHD予防は生存率(OAS、EFS)を低下させる独立した因子となった。[再発率] 再発率は35.4%であった。High riskであること、single drugによるGVHD予防は再発率を増加させる独立した因子となった。

結論：これまでの報告と同様に、血球回復は他の移植細胞(BMT, PBSCT)に比較し遅延する。移植時の疾患の状態がhigh riskである場合か、single drugによるGVHD予防が、生存率、再発率に影響を与える因子であり、両者への対策が重要な課題であると考えられる。

厚生労働科学研究費補助金
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」
平成14年度 総括・分担研究報告書

発行 平成15年3月

発行者 齋藤 英彦（主任研究者）

事務局 〒460-0001 名古屋市中区三の丸4-1-1
国立名古屋病院 TEL:052-951-1111

印刷所 サカイ印刷株式会社