

20020519

1

厚生労働科学研究研究費補助金
効果的医療技術の確立推進臨床研究事業

固形がんに対する骨髄非破壊的移植前治療を用いた同種末梢
血幹細胞移植療法の標準的治療の確立に関する研究

平成14年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 原田実根

平成15(2003)年3月

目 次

I.	総括研究報告	
	固形癌に対する骨髄非破壊的移植前治療を用いた同種末梢血 幹細胞移植療法の標準的治療の確立に関する研究 -----	1
	原田実根	
II.	分担研究報告	
1.	固形癌に対する骨髄非破壊的移植前治療を用いた同種末梢血 幹細胞移植療法の標準的治療の確立に関する研究 -----	9
	—造血器悪性腫瘍に対する本療法の確立と、本研究のための基盤整備— 原田実根	
2.	固形がんに対する骨髄非破壊的移植前治療を用いた同種末梢 血幹細胞移植療法の試み -----	16
	中野修治	
3.	血清HIV抗体陰性の日本人でのHuman Herpesvirus-8 感染に関する検討-----	19
	大塚輝久	
4.	膵臓癌患者における移植後キメリズム形成の動態に関する研究-----	22
	牟田耕一郎	
III.	研究成果の刊行に関する一覧表 -----	27
IV.	研究成果の刊行物・別冊(添付)	

I. 総括研究報告書

固形癌に対する骨髄非破壊的移植前治療を用いた
同種末梢血幹細胞移植療法の標準的治療の確立に関する研究

主任研究者 原田 実根 九州大学大学院医学研究院・病態修復内科学 教授

研究要旨

治療抵抗性固形腫瘍の患者に対して骨髄非破壊的治療を移植前治療とする同種末梢血幹細胞移植を施行した。対象症例は全 8 例（膵癌 5 例、胃癌、大腸癌、腎癌各 1 例）である。7 例において完全キメラの状態を確認した。100 日以内の移植関連死亡は認められず、客観的腫瘍縮小効果として、膵癌の 2 例に CR と PR を認めた。Grade III までの急性 GVHD は 3 例に認め、うち 1 例は慢性 GVHD を認めた。100 日以内の腫瘍死は 3 例、100 日以降が 2 例であった。以上より本療法は固形腫瘍患者に対しても安全に施行することが可能と考えられた。極めて予後不良である進行膵癌において、本療法では 5 例中 2 例に PR 以上の腫瘍縮小効果という有望な成績が得られた。今後さらに症例数を増しどのような病態で同種末梢血幹細胞移植療法が有効であるかを解析し、またその因子の同定を行う予定である。一方、本療法における GVT 効果はマイナー組織適合抗原 (mHA) を標的にした同種免疫反応によりもたらされると考えられている。この分子機構を明らかにするために、現在我々は GVT 効果が確認された患者末梢血に存在する mHA 特異的細胞障害性リンパ球の解析を行っている。

分担研究者氏名・所属機関名及び所属機関
における職名

中野修治
九州大学大学院医学研究院病態修復内科学・助教授
大塚輝久
九州大学医学部付属病院腫瘍センター・助教授
牟田耕一郎
九州大学医学部付属病院第三内科・講師

関連死が少ないことが明らかとなった。近年、転移性乳癌や腎細胞癌など固形腫瘍に対して施行された同種骨髄移植や同種 PBSCT においても、GVL 効果と同様の移植片対腫瘍 (graft-versus-tumor, GVT) 効果が観察されている。従って本研究では、抗癌剤治療に抵抗性の固形腫瘍に対し GVT 効果を期待した NST を施行し、本邦における安全性と有効性を検討すると共に、GVT 効果の分子機構を解析することを目的とする。

B. 研究方法

標準的な化学療法および放射線療法に治療抵抗性を示す、進行あるいは再発の胃癌、大腸癌、膵癌、肺癌、乳癌、腎癌の固形腫瘍患者で組織診あるいは細胞診により確診が得られた症例を対象に、同意の上同胞の HLA タイピングを行い、ドナーを選択した。レシピエントは 65 歳以下で十分な主要臓器機能を有し (ECOG performance status 0~2、肝機能 T.Bil ≤ 1.5 mg/dl、AST, ALT \leq 正常上限の 2 倍、腎機能 Creat. ≤ 1.5 mg/dl、肺機能 PaO₂ ≥ 60 Torr、心機能 EF $\geq 60\%$)、測定可能病変あるいは評価可能病変を持ち、かつ HLA の一致する同胞からの末梢血幹細胞採取可能な症例を選択した。ただし症状を有する脳転移例、間質性肺炎、重篤な心疾患、コントロール

A. 研究目的

白血病の治癒的治療法として確立されている同種骨髄移植や同種末梢血幹細胞移植 (peripheral blood stem cell transplantation, PBSCT) の効果発現機構は、移植前の骨髄破壊的治療による抗白血病効果よりも、ドナー由来免疫担当細胞による移植片対宿主病 (graft-versus-host disease, GVHD) に伴う抗白血病効果 (graft-versus-leukemia, GVL) により依存していると考えられている。加えて同種 PBSCT 後の血液細胞の生着と GVL 発現には、移植前の骨髄破壊的治療は必須ではなく、免疫抑制療法を主体とする骨髄非破壊的治療を移植前治療とする幹細胞移植 (non-myeloablative stem cell transplantation; NST) が有用であり、毒性、治療

不良な糖尿病、重篤な感染症、その他主治医が不適と判断した症例は除外した。HLA 一致同胞に G-CSF (10 μ g/kg)を 5 日間皮下投与して PBSC を動員し、4、5 日目にアフエーシスによって PBSC を採取し凍結保存した。一方、患者に対する移植前の骨髄非破壊的治療として (1) cyclophosphamide と fludarabine、(2) fludarabine と Buslfan、(3) fludarabine と TBI、のいずれかを前処置とし、day0 に PBSC を経静脈的に輸注した。移植目標は CD34 陽性細胞 2x10⁶/kg (レシピエント体重)とした。GVHD 予防には、標準的な methotrexate と cyclosporine の併用投与を行った。支持療法や感染症予防は同種骨髄移植に準じて実施した。生着およびキメラ状態の解析には造血回復 (好中球 500/ μ l、血小板 20,000/ μ l)の他に、FISH 法による性染色体、PCR 法によるマイクロサテライト・マーカー (VNTR, STR)を利用した。GVT の評価は測定可能病変における腫瘍縮小率を指標とした。

(倫理面への配慮)

患者本人およびドナーに対して、1) 本研究の目的と方法、2) 骨髄非破壊的前治療を併用した同種末梢血幹細胞移植、3) 予想される効果と副作用、4) 他の治療法との比較、5) 同意撤回、などについて担当医師が説明文書を用いて十分に説明し、同意を得ることを前提とした。本研究は九州大学医学部倫理委員会の審査を受け、実施に関する承認を受けた。

C. 研究結果

本療法による治療を行った症例は計 8 例 (膀胱癌 5 例、胃癌、大腸癌、腎癌各 1 例)である。7 例において完全キメラの状態を確認した。100 日以内の移植関連死亡は認められなかった。客観的抗腫瘍効果としては、膀胱癌の 1 例では移植 37 日目の CT 検査上腫瘍が消失し CR に入ったことを認めた。しかし腫瘍消失に伴うステント挿入部の脆弱化が原因と思われる総胆管破裂を起こし 57 日目に死亡した。剖検にて膀胱頭部腫瘍のほぼ完全な消失を認めた。他の膀胱癌症例では、PR 1 例、NC 1 例、PD 2 例であった。胃癌症例は NC であったが、移植前イレウスにより IVH 管理下であったのが、移植後イレウス症状は消失し経口摂取可能となり移植後 45 日目に退院した。大腸癌および腎癌症例は現在未評価である。Grade III までの急性 GVHD は 3 例、そのうち 1 例は慢性 GVHD を認めた。100 日以内の腫瘍死は 3 例、100 日以降は 2 例、他の 3 例は移植後 119 日、78 日、48 日現在生存中である (平成 15 年 2 月 12 日現在)。以上より本療法は固形腫瘍患者に対しても安全に施行可能と考えられた。

D. 考察

本療法は固形癌に対して国外でも積極的に臨床試験が行われており、腎細胞癌では比較的良好な成績が報告されているが、他臓器由来の固形癌を含めその効果は未だ確立されていない。進行膀胱癌は従来の治療法では極めて予後不良であるが、本療法施行 5 症例の内 2 例が PR 以上と有望な成績が得られた。また胃癌症例は NC であり、イレウス症状の明らかな改善により退院可能となった点で本療法の有効性が示唆された。今後更に症例数を増やし、どの病態で NST を用いた同種末梢血幹細胞移植が有効であるかその因子を同定する予定である。

これまでの本療法施行症例において移植後 100 日以内の腫瘍死が 3 例認められたことは、GVT が出現するまでの移植後 2-3 か月間の腫瘍増殖制御の必要性を示唆するものと考えられる。今後、(1) 癌種別の治療対象症例選択、(2) 移植前治療法の選択による完全キメラ状態への早期導入、(3) キメラ状態と GVT の相関、(4) 移植前後での既存の抗癌剤の併用、などの点が本研究を通じ検討すべき課題と考えられた。

一方移入細胞の担う GVT の増強を図るための基礎的研究も重要である。本療法では GVT と GVHD の密接な関連を認めることから、この GVT はマイナー組織適合性抗原 (mHA) を標的にした同種免疫反応によりもたらされる可能性が高い。この分子機構を明らかにするために、現在我々は GVT が認められた患者末梢血に存在する mHA 特異的細胞障害性リンパ球の検討を行っている。即ち同症例における患者・ドナー間の mHA フェノタイプの差異の検出、mHA ペプチド結合 HLA テトラマーを用いた mHA 特異的 T 細胞レパートアの経時的変化の測定、mHA 特異的細胞障害性 T 細胞 (CTL) クローンの免疫学的性状の評価を行っている。これらの情報は、GVT 効果を高め本療法の有効性を増強する方策を検討する上で極めて有用であると考えられる。

E. 結論

治療抵抗性固形腫瘍患者に対して、骨髄非破壊的治療を用いた同種末梢血幹細胞移植を安全に施行し得た。膀胱癌において有効症例を認め、本療法の有効性が示唆された。今後症例を増やし、本療法の安全性と有効性をさらに検討する。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Shimoda K, Tsutui H, Aoki K, Kato K, Matsuda T, Numata A, Takase K, Yamamoto T, Mukina H, Hoshino T, Asano Y, Gondo H, Okamura T, Okamura S, Nakayama K, Nakanishi K, Niho Y, Harada M: Partial impairment of IL-12 and IL-18 signaling in Tyk2-deficient mice. *Blood* 99:2094-2099, 2002
2. Kogawa K, Nagafuchi S, Katsuta H, Kudoh J, Tamiya S, Sakai Y, Shimizu N, Harada M: Expression of AIRE gene in peripheral monocyte /dendritic cell lineage. *Imunology Letters* 80:195-198, 2002
3. Kohara H, Tabata M, Kiura K, Ueoka H, Kawata K, Chikamori M, Aoe K, Chikamori K, Matsushita A, Harada M: Synergistic effects of topoisomerase I inhibitor, 7-ethyl-10-hydroxy-camptothecin, and irradiation in a Cisplatin-resistant human small cell lung cancer cell line. *Clin Cancer Res* 8:287-292, 2002
4. Nakase K, Ishimaru F, Fujii K, Tabayashi T, Kozuka T, Sezaki N, Matsuo Y, Harada M: Overexpression of novel short isoforms of Helios in a patient with T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Exp Hematol* 30:313-317, 2002
5. Yakushiji K, Gondo H, Kamezaki K, Shigematsu K, Hayashi S, Kuroiwa M, Taniguchii S, Ohono Y, Takase K, Numata A, Aoki K, Kato K, Nagafuji K, Shimod K, Okamura T, Kinukawa N, Kasuga N, Sata M, Harada M: Bone Marrow Transplant 29:599-606, 2002
6. Fujii N, Hiraki A, Ikeda K, Ohmura Y, Nozaki I, Shinagawa K, Ishimaru F, Kiura K, Shimizu N, Tanimoto M, Harada M: Expression of minor histocompatibility antigen, HA-1, in solid tumor cells. *Transplantation* 73:1137-1141, 2002
7. Ota S, Ono T, Morita A, Uenaka A, Harada M, Nakayama E: Cellular processing of a multibranch lysine core with tumor antigen peptides and presentation of peptide epitopes recognized by cytotoxic T lymphocytes on antigen-presenting cells. *Cancer Res* 62:1471-1476, 2002
8. Numata A, Simoda K, Gondo H, Kato K, Aoki K, Ito Y, Takase K, Asano Y, Okamura T, Niho Y, Harada M: Therapy-related chronic myelogenous leukaemia following autologous stem cell transplantation for Ewing's sarcoma. *Br J Haematol* 117:613-616, 2002
9. Kawai H, Kiura K, Tabata M, Yoshino T, Takata I, Hiraki A, Chikamori K, Ueoka H, Tanimoto M, Harada M: Characterization of non-small-cell lung cancer cell lines established before and after chemotherapy. *Lung Cancer* 35:305-314, 2002
10. Nakashima H, Miyake K, Inoue Y, Shimizu S, Akahoshi M, Tanaka Y, Otsuka T, Harada M: Association between IL-4 genotype and IL-4 production in the Japanese population. *Genes and Immunity* 3:107-109, 2002
11. Nagano S, Otsuka T, Niho H, Yamaoka K, Arinobu Y, Ogami E, Akahoshi M, Inoue Y, Miyake K, Nakashima H, Niho Y, Harada M: Molecular mechanisms of LPS-induced COX-2 expression in human neutrophils. Involvement of MAPK pathway and regulation by anti-inflammatory cytokines. *Int Immunol* 14:733-740, 2002
12. Fujii N, Ikeda T, Ikeda K, Hiraki A, Kawakami K, Masuda K, Maeda Y, Hatake K, Motoyoshi K, Harada M, Tanimoto M: Differentiation of monoblastic cell line UG3 into leukemic dendritic cells. *Int Oncol* 21:617-620, 2002
13. Makita M, Hiraki A, Azuma T, Tsuboi A, Oka Y, Sugiyama H, Fujita S, Tanimoto M, Harada M, Yasukawa M: Antitumor effect of WT1-specific cytotoxic T lymphocytes. *Clin Cancer Res* 8:2626-2631, 2002
14. Yoshino T, Nakamura S, Suzumiya J, Niitsu N, Oshima K, Tsuchiyama J, Shinagawa K, Tanimoto M, Sadahira Y, Harada M, Kikuchi M, Akagi T: Expression of cutaneous lymphocyte antigen is associated with a poor outcome of nasal-type natural killer-cell lymphoma. *Br J Haematol* 118:482-487, 2002
15. Kodani T, Ueoka H, Kiura K, Tabata M, Takigawa N, Segawa Y, Moritaka T, Hiraki S, Harada M, Tanimoto M: A phase III randomized trial comparing vindesine and cisplatin with or without ifosfamide in patients with advanced non-small cell lung cancer: long-term follow-up results and analysis of

- prognostic factors. *Lung Cancer* 36:313-319, 2002
16. Shibakura M, Niiya K, Kiguchi T, Shinagawa K, Isimaru F, Ikeda K, Namba M, Nakata Y, Harada M: Simultaneous induction of matrix metalloproteinase-9 and interleukin 8 by all-trans-retinoic acid in human PL-21 and NB4 myeloid leukaemia cells. *Br J Haematol* 118:419-425, 2002
 17. Shimoda K, Kamesaki K, Numata A, Aoki K, Matsuda T, Oritani K, Tamiya S, Kato K, Imamura R, Yamamoto T, Miyamoto T, Nagafuji K, Gondo H, Nagafuji S, Nakayama K, Harada M: TyK2 is required for the induction and nuclear translocation of Daxx which regulates IFN- α -induced suppression of B lymphocyte formation. *J Immunol* 169:4707-4711, 2002
 18. Kozuka T, Ikeda K, Teshima T, Kojima K, Matsuo K, Bessho A, Sunami K, Hiramatsu Y, Maeda Y, Noguchi T, Yamamoto K, Fujii N, Imai T, Takenaka K, Shinagawa K, Ishimaru F, Niiyak, Koide N, Tanimoto M, Harada M: Predictive value of circulating immature cell counts in peripheral blood for timing of peripheral blood progenitor cell collection after G-CSF plus chemotherapy-induced mobilization. *Transfusion* 42:1514-1522, 2002
 19. Sakugawa T, Yoshino T, Mannami T, Munemasa M, Ichimura K, Okada H, Mizuno M, Tanimoto M, Harada M, Akagi T: Correlation between histological evaluation and PCR-based clonality analysis of gastric MALT lymphomas treated by eradication of *Helicobacter pylori*. *J Clin Exp Hematopathology* 42:61-66, 2002
 20. Fujii N, Ikeda K, Takahashi N, Kojima K, Kobayashi Y, Ashiba A, Takenaka K, Fukuda S, Shinagawa K, Ishimaru F, Niiya K, Miura I, Tanimoto M, Harada M: Multilineage involvement in hypereosinophilic syndrome terminating in granulocytic sarcoma and leukaemic transformation with trisomy 8. *Br J Haematol* 119:716-719, 2002
2. 学会発表
 1. 有山 寛、瀧井 康、田中吏佐、馬場英司、三ツ木健二、中村 稔、原田実根、中野修二: EGF 受容体チロシナーゼ阻害剤 ZD1839 によるアポトーシス誘導機序の解析、第 61 回日本癌学会総会、2002 年 10 月 2 日、東京都
 2. 田中志幸、山田正治、小野俊朗、野口雄司、上中明子、太田誠介、幡 英典、原田実根、谷本光音、中山睿一: EGF 受容体チロシナーゼ阻害剤 ZD1839 によるアポトーシス誘導機序の解析、第 61 回日本癌学会総会、2002 年 10 月 2 日、東京都
 3. 山本和彦、石合正道、谷本光音、原田実根、高田穰: ワークショップ「DNA 修復(1)」、第 61 回日本癌学会総会、2002 年 10 月 2 日、東京都
 4. 原田実根: 先端医療としての造血幹細胞移植、シンポジウム「がん治療開発の課題とその克服: 臨床現場からの提言」、第 40 回日本癌治療学会総会、2002 年 10 月 16 日、東京都
 5. 上岡 博、木浦勝行、田端雅弘、谷本光音、笠原寿郎、福原資朗、片上信之、有田健一、原 信之、原田実根: 限局型小細胞肺癌 (LD-SCLC) に対する自己末梢血幹細胞移植 (PBSCT) を併用した大量化学療法 (HDCT) の第 2 相試験、ワークショップ「小細胞肺癌に対する最近の治療戦略」、第 40 回日本癌治療学会総会、2002 年 10 月 17 日、東京都
 6. 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、高上陽一: 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—バリアを超えて—、2002 年 10 月 24-25 日、大阪
 7. 水谷朋恵、吉田 喬、山崎 聡、大野裕樹、谷口修一、小川啓恭、林 真、高上洋一、原田実根、峯石 真: 血縁者間 HLA 遺伝子型 GVH 方向 2 座以上不一致同種造血幹細胞移植の有効性に関する検討、第 25 回日本造血細胞移植学会総会—バリアを超えて—、2002 年 10 月 24-25 日、大阪
 8. 谷本哲也、斉藤明子、田中祐次、亀崎健

- 次郎、鳥野隆博、岸 健二、森嶋聡子、森慎一郎、高上洋一、原田実根：末梢血幹細胞(PBSCT)と骨髄移植(BMT)の後方視的比較研究：急性および慢性移植片対宿主病(GVHD)の臨床像、第 25 回日本造血細胞移植学会総会—バリアを超えて—、2002 年 10 月 24-25 日、大阪
9. 飯野忠史、長藤宏司、権藤久司、宮元敏浩、加藤光次、下田和哉、原田実根：2 度目の K 色をミニ移植で行った症例、第 25 回日本造血細胞移植学会総会—バリアを超えて—、2002 年 10 月 24-25 日、大阪
 10. 長藤宏司、加藤光次、飯野忠史、平安山英穂、青木健一、宮本敏浩、権藤久司、原田実根：cidofovir による adenovirus 出血性膀胱炎の治療、第 25 回日本造血細胞移植学会総会—バリアを超えて—、2002 年 10 月 24-25 日、大阪
 11. 森 毅彦、森慎一郎、神田善伸、葉師寺和昭、権藤久司、原田実根、田野崎隆二、峯石 真、岡本信一郎：同種造血幹細胞移植後の cytomegalovirus(CMV)胃腸炎発症例における CM vantageemia の推移、第 25 回日本造血細胞移植学会総会—バリアを超えて—、2002 年 10 月 24-25 日、大阪
 12. 河野徳明、権藤久司、飯野忠史、青木健一、上村智彦、宮本敏浩、長藤宏司、林真、大塚輝久、原田実根：ウイルス感染症を契機に慢性 GVHD が発症した 3 症例、第 25 回日本造血細胞移植学会総会—バリアを超えて—、2002 年 10 月 24-25 日、大阪
 13. Shimoda K, Kamesaki K, Numata A, Aoki K, Matsuda T, Oritani K, Kato K, Takase K, Imamura R, Miyamoto T, Nagafuji H, Gondo H, Nakayama K, Harada M: Tyk2 Is required for the Induction and nuclear translocation of daxx which regulates Interferon- α -Induced suppression of B lymphocyte formation. American Society of Hematology, November 24-25, 2002, Philadelphia, U.S.A.
 14. T Tanimoto M, Saito A, Tanaka Y, Numata A, Kasai M, Mori T, Kasai M, Yamasaki S, Sakai M, Miyazaki Y, Uike N, Yamashita T, Mori S, Takaue Y, Harada M: Comparison of chronic graft-versus-host disease (GVHD) following allogeneic bone marrow (BMT) vs peripheral blood stem cell transplantation (PBSCT) in Japanese patients. American Society of Hematology, November 24-25, 2002, Philadelphia, U.S.A.
 15. Kamimura T, Nagafuji K, Gondo H, Hayashi S, Taniguchi S, Takamatsu Y, Matsuishi E, Fujisaki T, Miyamoto T, Harada M: Autologous peripheral blood stem cell transplantation with granulocyte-colony stimulating factor combined preparative regimen for acute promyelocytic leukemia in first remission. American Society of Hematology, November 24-25, 2002, Philadelphia, U.S.A.
 16. 石川文彦、小川真紀夫、原田実根：新しいヒト幹細胞アッセイを用いた造血幹細胞由来肝細胞の証明、第 64 回日本血液学会、2002 年 9 月 12-15 日、横浜
 17. 上村智彦、林 真、長藤宏司、権藤久司、谷口修一、高松 泰、藤崎智明、大野裕樹、宮本敏浩、原田実根：急性前骨髄球形白血病 (APL) に対する自己末梢血幹細胞移植 (auto-PBSCT) の治療成績、第 64 回日本血液学会、2002 年 9 月 12-15 日、横浜
 18. 沼田晃彦、下田和哉、亀崎健次郎、青木健一、加藤光次、高瀬 謙、波呂 卓、宮本敏浩、長藤宏司、権藤久司、岡村 孝、原田実根：SHP1 の CML 急性転化での変化とその役割、第 64 回日本血液学会、2002 年 9 月 12-15 日、横浜
 19. 加留部謙之輔、大島孝一、土屋健史、山口隆広、原田実根、菊池昌弘：NK リンパ芽球性リンパ腫、Myeloid/NK 未熟リンパ腫、CD7⁺ 幹細胞リンパ腫の臨床病理的検討、第 64 回日本血液学会、2002 年 9 月 12-15 日、横浜

20. 樋口雅一、Downing James R、原田実根：1-MTG8(ETO)発現誘導マウスにおける顆粒球系腫瘍、第64回日本血液学会、2002年9月12-15日、横浜
21. 加藤光次、下田和哉、織谷健司、青木健一、沼田晃彦、亀崎健次郎、加藤謙、石川文彦、長藤宏司、宮本敏浩、権藤久司、岡村孝、原田実根：IFN- α による造血抑制作用におけるTyk2の機能解析、第64回日本血液学会、2002年9月12-15日、横浜
22. 藤井敬子、石丸文彦、子塚輝彦、本多宗次、小島研介、品川克至、池田和真、新谷憲治、谷本光音、原田実根：G-CSFによる末梢血幹細胞動員に伴う血清中HGF値の上昇、第64回日本血液学会、2002年9月12-15日、横浜
23. 高瀬 謙、岡村 孝、波呂 卓、亀先健次郎、石川文彦、沼田晃彦、青木健一、今村理恵、加藤光次、宮本敏浩、長藤宏司、下田和哉、権藤久司、嘉村 巧、江口春彦、白幡 聡、原田実根：凝固第XIII因子A subunit欠損症の遺伝子解析、第64回日本血液学会、2002年9月12-15日、横浜
24. 長藤宏司、飯野忠史、加藤光次、宮本敏浩、権藤久司、原田実根：当科における骨髄非破壊的前治療による同種末梢血幹細胞移植の成績、第64回日本血液学会、2002年9月12-15日、横浜
25. 松石英城、原田実根：成人T細胞性白血病/リンパ腫に対する同種造血幹細胞移植、第64回日本血液学会、2002年9月12-15日、横浜
26. 岡村 孝、薬師寺和昭、橋口道俊、関 律子、加藤光次、長藤宏司、高瀬 謙、土持典子、吉本幸治、緒方秀章、宮本敏浩、下田和哉、権藤久司、原田実根、佐田通夫：T細胞受容体 δ 鎖遺伝子再構成を示したmulcyineage acute leukemiaの2例、第44回日本臨床血液学会、2002年9月12-15日、横浜
27. 河野徳明、上村智彦、重松宏和、林 真、下田和哉、権藤久司、大塚輝久、原田実根：インターフェロンが奏功したフィラデルフィア染色体陰性(TEL/ABLによる)慢性骨髄性白血病の1例第44回日本臨床血液学会、2002年9月12-15日、横浜
28. 筒井俊英、加藤光次、下田和哉、森 泰雄、飯野忠史、宮本敏浩、長藤宏司、権藤久司、原田実根：肺蛋白症を合併した骨髄異型性症候群の一例、第44回日本臨床血液学会、2002年9月12-15日、横浜
29. 吉原達也、加藤光次、長藤宏司、飯野忠史、宮本敏浩、下田和哉、権藤久司、原田実根：急性移植片対宿主病に対するミコフェノール酸モフェチル(MMF)の使用経験、第44回日本臨床血液学会、2002年9月12-15日、横浜
30. 山本和彦、原田実根、谷本光音：Fanconi貧血原因遺伝子FANCGは相同組換えによるDNA修復遺伝子である、第64回日本血液学会、2002年9月12-15日、横浜
31. 今村理恵、宮本敏浩、平安山英穂、飯野忠史、加藤光次、長藤宏司、権藤久司、原田実根、稲葉頌一、G-CSFにより動員される造血前駆細胞の解析、第64回日本血液学会、2002年9月12-15日、横浜
32. 亀崎健次郎、下田和哉、波呂 卓、沼田晃彦、石川文彦、高瀬 謙、青木健一、宮本敏浩、長藤宏司、権藤久司、原田実根：サイトカイン依存性細胞株におけるアポトーシスの検討、第64回日本血液学会、2002年9月12-15日、横浜
33. 山崎 聡、平安山英穂、大野裕樹、飯野忠史、黒岩美佳、河野徳明、宮本敏浩、長藤宏司、下田和哉、林 真、谷口修一、権藤久司、大塚輝久、原田実根：同胞間HLA完全一致G-CSF動員同種末梢血幹細胞移植片中細胞分布の解析と慢性GVHDに対する影響、第44回日本臨床血液学会、2002年9月12-15日、横浜
34. 土持典子、加藤光次、長藤宏司、今村理恵、宮本敏浩、飯野忠史、下田和哉、権藤久司、原田実根： auto —

allo(non-myeloablative)で肝中心静脈閉塞症(VOD)を発症した治療抵抗性悪性リンパ腫、第44回日本臨床血液学会、2002年9月12-15日、横浜

35. 吉本五一、飯野忠史、長藤宏司、下田和哉、宮本敏浩、権藤久司、原田実根、谷本一樹:乾癬罹患患者に発症した急性骨髄性白血病に対し同種 HLA 不適合移植を施行した一例、第44回日本臨床血液学会、2002年9月12-15日、横浜
36. 飯野忠史、長藤宏司、宮本敏浩、吉本五一、下田和哉、権藤久司、谷本一樹、原田実根:臍帯血移植後再発した急性骨髄性白血病に対し母親から HLA 不適合ミニ移植を施行した一例、第44回日本臨床血液学会、2002年9月12-15日、横浜
37. 波呂 卓、大野裕樹、原田実根:人工呼吸管理下の APL 患者に Nasal-Gastric tube にて ATRA を投与し完全寛解に至った症例、第44回日本臨床血液学会、2002年9月12-15日、横浜
38. 薬師寺和昭、関 律子、大坪維範、今村理恵、橋口道俊、吉本幸治、緒方秀章、南野隆一、岡村 孝、佐田通夫:Imatinib 短期投与にて著明な骨髄低形成と Ph1 陰性化が得られた骨髄線維症合併慢性白血病の一例、第44回日本臨床血液学会、2002年9月12-15日、横浜
39. 青木健一、平安山英穂、横山俊宏、久保田 晃、岡村精一、竹下盛重:Blastic NK リンパ腫に対して自己末梢血幹細胞移植を施行した一例、第44回日本臨床血液学会、2002年9月12-15日、横浜
40. Harada M, Matsuo K, Hamajima N, Morishima Y: Risk factors for early post-transplant mortality In UR-BMT Japan: The analyses of data from Japan Marrow Donor Program. 29th World Congress of the International Society of Hematology, August 24-28,2002, Seoul, Korea

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

Ⅱ. 分担研究報告書

固形癌に対する骨髄非破壊的移植前治療を用いた

同種末梢血幹細胞移植療法の標準的治療の確立に関する研究

— 造血器悪性腫瘍に対する本療法の確立と、本研究のための基盤整備 —

主任研究者 原田 実根 九州大学大学院医学研究院・病態修復内科学 教授

研究要旨

造血器腫瘍治療における同種末梢血幹細胞移植の経験より、治療抵抗性固形腫瘍の患者に対しても骨髄非破壊的治療を移植前治療とした同種末梢血幹細胞移植 (non-myeloablative stem cell transplantation; NST) の奏功が期待されている。固形腫瘍に対する同療法の安全性と効果検討を目的とする本研究計画を実施するに当たり、既に当施設において同種末梢血幹細胞移植の経験を蓄積してきた造血器悪性腫瘍を対象として、NST を施行した。対象症例は全 12 例 (予後不良の AML 4 例、NHL 4 例、MDS 3 例、ALL 1 例) である。11 例において移植後 46 日までにドナータイプ 85% 以上の状態を確認したが、1 例ではそれ以前に腫瘍細胞が増殖した。ドナーリンパ球輸注は 3 例に行われた。Grade II の急性 GVHD は 1 例、Grade III は 3 例であり、1 例を除き制御可能であった。観察期間中央値 129 日 (41-4430 日) において、5 例が CR、3 例は原病の悪化で死亡 (移植後 150, 107, 60 日)、1 例は急性 GVHD と感染により死亡 (54 日)、3 例は原病の治療中である。本療法における宿主対白血病または宿主対腫瘍 (GVL または GVT) 効果はマイナー組織適合抗原 (mHA) を標的にした同種免疫反応によるとされており、固形癌での GVT 効果には腫瘍組織での mHA の発現が必要と考えられたため、複数の固形腫瘍における mHA の mRNA 検出を試みた。その結果これまで血液細胞に選択的に発現するとされていた mHA HA-1 の mRNA は、小細胞肺癌 (3/6 株)、非小細胞肺癌 (9/13 株)、他の固形腫瘍 (5/13 株) において検出された。以上より造血器腫瘍に対する NST の安全性と、固形腫瘍における mHA の発現が確認されたことから、本研究計画を九州大学医学部倫理委員会に提出し承諾を得、本学での研究体制を整備した。

A. 研究目的

同種末梢血幹細胞移植 (peripheral blood stem cell transplantation, PBSCT) は白血病の治療的治療法の一つであり、同種免疫細胞による移植片対白血病 (graft-versus-leukemia, GVL) 効果が腫瘍細胞除去に重要な役割を果たしている。特に免疫抑制療法を主体とする骨髄非破壊的治療を移植前治療とする幹細胞移植 (non-myeloablative stem cell transplantation; NST) では、細胞生着と GVL 発現は良好であり、治療関連毒性が少ないことが明らかとなった。従って高齢者や臓器障害を持つ造血器腫瘍患者においても、本療法は安全に施行しうる治療法として試みられ報告されてきた。

近年の固形腫瘍に対する同種 PBSCT においても移植片対腫瘍 (graft-versus-tumor, GVT) 効果の報告がなされたことを踏まえ、固形腫瘍に対する同療法の安全性と効果検討を目的とする本研究 (「固形癌に対する骨髄非破壊的移植前治療を用いた同種末梢血幹細胞移植療法の標準的治療の確立に関する研究」代表・

原田) が計画された。本研究計画を実施するに当たり、既に当施設において同種 PBSCT の経験を蓄積してきた造血器悪性腫瘍を対象として、NST の安全性と有効性を検討することとした。さらに GVT 効果発現の理論的根拠と考えられている、同種免疫細胞が認識するマイナー組織適合抗原 (minor histocompatibility antigen; mHA) の腫瘍細胞における発現を検討した。これらの結果をもとに本研究計画の実施に向け、研究体制の整備を行った。

B. 研究方法

1. 造血器腫瘍患者に対する NST:

対象は高リスクで予後不良の AML 4 例、NHL 4 例、MDS 3 例、ALL 1 例の計 12 例であり、年齢中央値は 58 歳、背景は高齢 6 例、高齢かつ自家移植後 2 例、同種移植後 1 例、臓器障害 3 例であった。同意を得た同胞の HLA タイピングを行ってドナーを選択し、G-CSF (10 μ g/kg) の 5 日間皮下投与して PBSC を動員し、4、5 日目にアフエレーシスによって PBSC を採取し凍結保存した。移植前に fludarabine

25mg/m²/day を 5 日間、cyclophosphamide 30mg/kg を 2 日間投与し、day0 に PBSC を経静脈的に輸注した。移植前治療として、ALL 不応 1 例、AML 再発 1 例に buslfan を、マントルリンパ腫不応 1 例に Rituximab を追加し、AML 再発 1 例には FLAG/IDA 療法を用いた。GVHD 予防には、標準的な methotrexate と cyclosporine の併用投与を行った。生着およびキメラ状態の解析には造血回復（好中球 500/ μ l、血小板 20,000/ μ l）および、FISH 法による性染色体、PCR 法によるマイクロサテライト・マーカー（VNTR, STR）を利用した。

（倫理面への配慮）

患者本人およびドナーに対して、1) 本研究の目的と方法、2) 骨髄非破壊的前治療を併用した同種末梢血幹細胞移植、3) 予想される効果と副作用、4) 他の治療法との比較、5) 同意撤回、などについて担当医師が説明文書を用いて十分に説明し、同意を得ることを前提とした。

2. 固形腫瘍における mHA 発現の検討:

主に血液細胞に発現するとされてきた mHA HA-1 の mRNA を、健康人ボランティアの末梢血単核球、白血病細胞株、腫瘍細胞株および非小細胞肺癌、肝細胞癌切除組織において、標準的 RT-PCR 法およびリアルタイム定量的 RT-PCR 法を用いて測定した。末梢血および手術組織の採取に際しては、本人への十分な説明を行い、同意を得た上で施行した。

C. 研究結果

1. 造血器腫瘍患者に対する NST:

本療法の対象とした 12 例に対し、移植した CD34 および CD3 陽性細胞数の中央値は、それぞれ 4.0 (1.8-4.9) $\times 10^6$ /kg、4.0 (1.3-6.0) $\times 10^8$ /kg であった。好中球、血小板数回復までの日数の中央値は 14 (7-18)、10 (8-30) 日であった。キメリズム解析では、11 例において移植後 46 日までに (7, 28, 46 日各 1 例、14 日 8 例) ドナータイプ 85% 以上の状態を確認したが、1 例ではそれ以前に腫瘍細胞が増殖した。ドナーリンパ球輸注は生着促進、再発予防、再発治療を目的に各 1 例に行われた。移植関連副作用として幹細胞輸注時の血圧上昇 (grade 3)、抗真菌剤による肝障害 (grade 3) が各 1 例出現した。Grade II の急性 GVHD は 1 例、Grade III は 3 例であり、1 例を除き制御可能であった。観察期間中央値 129 日 (41-4430 日) において、5 例が CR (移植後 394, 317, 256, 188, 77 日)、3 例は原病の悪化で死亡 (150, 107, 60 日)、1 例は急性 GVHD と感染により死亡 (54 日)、3 例は原病の治療中である。

2. 固形腫瘍における mHA 発現の検討:

測定した全ての末梢血単核球、白血病・リンパ腫細胞株における HA-1 mRNA は、基準とした HA-1 発現 B 細胞株 Raji と同等かより多く認められた。通常の RT-PCR 法では、小細胞肺癌 (3/6 株)、非小細胞肺癌 (9/13 株)、他の固形腫瘍 (5/13 株) において HA-1 mRNA が検出され、これら 32 細胞株の内 7 株では定量的 RT-PCR にて Raji の 50% 以上の発現量であった。11 例の患者癌組織 (非小細胞肺癌 5 例、肝細胞癌 6 例) において、全例で血液細胞とほぼ同等量の HA-1 mRNA 発現を認めた。

3. 本学での研究体制整備

以上の結果を踏まえ、平成 13 年 6 月 11 日に本研究計画の審査を九州大学医学部倫理委員会に申請し、受理された。また本研究報告書の他稿に示す分担研究者の協力を得て、研究体制の整備を行った。

D. 考察

「固形癌に対する骨髄非破壊的移植前治療を用いた同種末梢血幹細胞移植療法の標準的治療の確立に関する研究」計画を実施するにあたり、これまで症例を蓄積してきた造血器腫瘍への同種末梢血幹細胞移植において、高リスク患者を対象とした NST の安全性と有効性を検討した。その結果、NST は高齢、臓器障害を持つ症例でも安全に施行することが示された。ほとんどの症例で完全キメラへの導入が確認され、既治療不応や再発の症例において 5 例の完全寛解を得た。

一方、本療法では GVL/GVT 効果と GVHD の密接な関連を認めることから、この GVT 効果は mHA を標的にした同種免疫反応によりもたらされると考えられている。従って固形腫瘍に対する NST を施行した際に GVT 効果を期待するためには、腫瘍組織における mHA の発現が必要と予想された。本研究では既存の腫瘍細胞株および患者固形腫瘍組織に、これまで血液系細胞にのみ発現するとされていた HA-1 の mRNA を検出した。即ち既知または未知の mHA が固形腫瘍組織にも存在し、GVT の標的となる可能性が示唆されたことから、本研究成果は固形腫瘍に対する NST の有効性の理論的裏付けの一つと位置づけられる。

E. 結論

高リスク造血器腫瘍患者に対して、骨髄非破壊的治療を用いた同種末梢血幹細胞移植を安全に施行し得た。また固形腫瘍でのマイナー組織適合抗原の発現を確認した。以上より固形腫瘍に対する同療法の安全性、有効性

が期待された。

F. 健康危険情報
なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Shimoda K, Tsutui H, Aoki K, Kato K, Matsuda T, Numata A, Takase K, Yamamoto T, Mukina H, Hoshino T, Asano Y, Gondo H, Okamura T, Okamura S, Nakayama K, Nakanishi K, Niho Y, Harada M: Partial impairment of IL-12 and IL-18 signaling in Tyk2-deficient mice. *Blood* 99:2094-2099, 2002
2. Kogawa K, Nagafuchi S, Katsuta H, Kudoh J, Tamiya S, Sakai Y, Shimizu N, Harada M: Expression of AIRE gene in peripheral monocyte /dendritic cell lineage. *Immunology Letters* 80:195-198, 2002
3. Kohara H, Tabata M, Kiura K, Ueoka H, Kawata K, Chikamori M, Aoe K, Chikamori K, Matsushita A, Harada M: Synergistic effects of topoisomerase I inhibitor, 7-ethyl-10-hydroxy-camptothecin, and irradiation in a Cisplatin-resistant human small cell lung cancer cell line. *Clin Cancer Res* 8:287-292, 2002
4. Nakase K, Ishimaru F, Fujii K, Tabayashi T, Kozuka T, Sezaki N, Matsuo Y, Harada M: Overexpression of novel short isoforms of Helios in a patient with T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Exp Hematol* 30:313-317, 2002
5. Yakushiji K, Gondo H, Kamezaki K, Shigematsu K, Hayashi S, Kuroiwa M, Taniguchii S, Ohono Y, Takase K, Numata A, Aoki K, Kato K, Nagafuji K, Shimod K, Okamura T, Kinukawa N, Kasuga N, Sata M, Harada M: Bone Marrow Transplant 29:599-606, 2002
6. Fujii N, Hiraki A, Ikeda K, Ohmura Y, Nozaki I, Shinagawa K, Ishimaru F, Kiura K, Shimizu N, Tanimoto M, Harada M: Expression of minor histocompatibility antigen, HA-1, in solid tumor cells. *Transplantation* 73:1137-1141, 2002
7. Ota S, Ono T, Morita A, Uenaka A, Harada M, Nakayama E: Cellular processing of a multibranch lysine core with tumor antigen peptides and presentation of peptide epitopes recognized by cytotoxic T lymphocytes on antigen-presenting cells. *Cancer Res* 62:1471-1476, 2002
8. Numata A, Simoda K, Gondo H, Kato K, Aoki K, Ito Y, Takase K, Asano Y, Okamura T, Niho Y, Harada M: Therapy-related chronic myelogenous leukaemia following autologous stem cell transplantation for Ewing's sarcoma. *Br J Haematol* 117:613-616, 2002
9. Kawai H, Kiura K, Tabata M, Yoshino T, Takata I, Hiraki A, Chikamori K, Ueoka H, Tanimoto M, Harada M: Characterization of non-small-cell lung cancer cell lines established before and after chemotherapy. *Lung Cancer* 35:305-314, 2002
10. Nakashima H, Miyake K, Inoue Y, Shimizu S, Akahoshi M, Tanaka Y, Otsuka T, Harada M: Association between IL-4 genotype and IL-4 production in the Japanese population. *Genes and Immunity* 3:107-109, 2002
11. Nagano S, Otsuka T, Niuro H, Yamaoka K, Arinobu Y, Ogami E, Akahoshi M, Inoue Y, Miyake K, Nakashima H, Niho Y, Harada M: Molecular mechanisms of LPS-induced COX-2 expression in human neutrophils. Involvement of MAPK pathway and regulation by anti-inflammatory cytokines. *Int Immunol* 14:733-740, 2002
12. Fujii N, Ikeda T, Ikeda K, Hiraki A, Kawakami K, Masuda K, Maeda Y, Hatake K, Motoyoshi K, Harada M, Tanimoto M: Differentiation of monoblastic cell line UG3 into leukemic dendritic cells. *Int Oncol* 21:617-620, 2002
13. Makita M, Hiraki A, Azuma T, Tsuboi A, Oka Y, Sugiyama H, Fujita S, Tanimoto M, Harada M, Yasukawa M: Antitumor cancer effect of WT1-specific cytotoxic T lymphocytes. *Clin Cancer Res* 8:2626-2631, 2002
14. Yoshino T, Nakamura S, Suzumiya J, Niitsu N, Oshima K, Tsuchiyama J, Shinagawa K, Tanimoto M, Sadahira Y, Harada M, Kikuchi M, Akagi T: Expression of cutaneous lymphocyte antigen is associated with a poor outcome of nasal-type natural killer-cell lymphoma. *Br J Haematol* 118:482-487, 2002
15. Kodani T, Ueoka H, Kiura K, Tabata M, Takigawa N, Segawa Y, Moritaka T,

- Hiraki S, Harada M, Tanimoto M : A phase III randomized trial comparing vindesine and cisplatin with or without ifosfamide in patients with advanced non-small cell lung cancer: long-term follow-up results and analysis of prognostic factors. *Lung Cancer* 36:313-319, 2002
16. Shibakura M, Niiya K, Kiguchi T, Shinagawa K, Isimaru F, Ikeda K, Namba M, Nakata Y, Harada M: Simultaneous induction of matrix metalloproteinase-9 and interleukin 8 by all-trans-retinoic acid in human PL-21 and NB4 myeloid leukaemia cells. *Br J Haematol* 118:419-425, 2002
 17. Shimoda K, Kamesaki K, Numata A, Aoki K, Matsuda T, Oritani K, Tamiya S, Kato K, Imamura R, Yamamoto T, Miyamoto T, Nagafuji K, Gondo H, Nagafuji S, Nakayama K, Harada M: TyK2 is required for the induction and nuclear translocation of Daxx which regulates IFN- α -induced suppression of B lymphocyte formation. *J Immunol* 169:4707-4711, 2002
 18. Kozuka T, Ikeda K, Teshima T, Kojima K, Matsuo K, Bessho A, Sunami K, Hiramatsu Y, Maeda Y, Noguchi T, Yamamoto K, Fujii N, Imai T, Takenaka K, Shinagawa K, Ishimaru F, Niiyak, Koide N, Tanimoto M, Harada M: Predictive value of circulating immature cell counts in peripheral blood for timing of peripheral blood progenitor cell collection after G-CSF plus chemotherapy-induced mobilization. *Transfusion* 42:1514-1522, 2002
 19. Sakugawa T, Yoshino T, Mannami T, Munemasa M, Ichimura K, Okada H, Mizuno M, Tanimoto M, Harada M, Akagi T: Correlation between histological evaluation and PCR-based clonality analysis of gastric MALT lymphomas treated by eradication of *Helicobacter pylori*. *J Clin Exp Hematopathology* 42:61-66, 2002
 20. Fujii N, Ikeda K, Takahashi N, Kojima K, Kobayashi Y, Ashiba A, Takenaka K, Fukuda S, Shinagawa K, Ishimaru F, Niiya K, Miura I, Tanimoto M, Harada M: Multilineage involvement in hypereosinophilic syndrome terminating in granulocytic sarcoma and leukaemic transformation with trisomy 8. *Br J Haematol* 119:716-719, 2002
2. 学会発表
 1. 有山 寛、瀧井 康、田中 支佐、馬場 英司、三ツ木 健二、中村 稔、原田 実根、中野 修二: EGF 受容体チロシキナーゼ阻害剤 ZD1839 によるアポトーシス誘導機序の解析、第 61 回日本癌学会総会、2002 年 10 月 2 日、東京都
 2. 田中 志幸、山田 正治、小野 俊朗、野口 雄司、上中 明子、太田 誠介、幡 英典、原田 実根、谷本 光音、中山 睿一: EGF 受容体チロシキナーゼ阻害剤 ZD1839 によるアポトーシス誘導機序の解析、第 61 回日本癌学会総会、2002 年 10 月 2 日、東京都
 3. 山本 和彦、石合 正道、谷本 光音、原田 実根、高田 穰: ワークショップ「DNA 修復 (I)」、第 61 回日本癌学会総会、2002 年 10 月 2 日、東京都
 4. 原田 実根: 先端医療としての造血幹細胞移植、シンポジウム「がん治療開発の課題とその克服: 臨床現場からの提言」、第 40 回日本癌治療学会総会、2002 年 10 月 16 日、東京都
 5. 上岡 博、木浦 勝行、田端 雅弘、谷本 光音、笠原 寿郎、福原 資朗、片上 信之、有田 健一、原 信之、原田 実根: 限局型小細胞肺癌 (LD-SCLC) に対する自己末梢血幹細胞移植 (PBSCT) を併用した大量化学療法 (HDCT) の第 2 相試験、ワークショップ「小細胞肺癌に対する最近の治療戦略」、第 40 回日本癌治療学会総会、2002 年 10 月 17 日、東京都
 6. 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 陽一: 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—バリアを超えて—、2002 年 10 月 24—25 日、大阪
 7. 水谷 朋恵、吉田 喬、山崎 聡、大野 裕樹、谷口 修一、小川 啓恭、林 真、高上

- 洋一、原田実根、峯石 真:血縁者間 HLA 遺伝子型 GVH 方向 2 座以上不一致同種造血幹細胞移植の有効性に関する検討、第 25 回日本造血細胞移植学会総会—バリアを超えて—、2002 年 10 月 24-25 日、大阪
8. 谷本哲也、斉藤明子、田中祐次、亀崎健次郎、鳥野隆博、岸 健二、森嶋聡子、森慎一郎、高上洋一、原田実根:末梢血幹細胞(PBSCT)と骨髄移植(BMT)の後方視的比較研究:急性および慢性移植片対宿主病(GVHD)の臨床像、第 25 回日本造血細胞移植学会総会—バリアを超えて—、2002 年 10 月 24-25 日、大阪
 9. 飯野忠史、長藤宏司、権藤久司、宮本敏浩、加藤光次、下田和哉、原田実根:2 度目の K 色をミニ移植で行った症例、第 25 回日本造血細胞移植学会総会—バリアを超えて—、2002 年 10 月 24-25 日、大阪
 10. 長藤宏司、加藤光次、飯野忠史、平安山英穂、青木健一、宮本敏浩、権藤久司、原田実根:cidofovir による adenovirus 出血性膀胱炎の治療、第 25 回日本造血細胞移植学会総会—バリアを超えて—、2002 年 10 月 24-25 日、大阪
 11. 森 毅彦、森慎一郎、神田善伸、薬師寺和昭、権藤久司、原田実根、田野崎隆二、峯石 真、岡本信一郎:同種造血幹細胞移植後の cytomegalovirus(CMV)胃腸炎発症例における CM vantageemia の推移、第 25 回日本造血細胞移植学会総会—バリアを超えて—、2002 年 10 月 24-25 日、大阪
 12. 河野徳明、権藤久司、飯野忠史、青木健一、上村智彦、宮本敏浩、長藤宏司、林真、大塚輝久、原田実根:ウイルス感染症を契機に慢性 GVHD が発症した 3 症例、第 25 回日本造血細胞移植学会総会—バリアを超えて—、2002 年 10 月 24-25 日、大阪
 13. Shimoda K, Kamesaki K, Numata A, Aoki K, Matsuda T, Oritani K, Kato K, Takase K, Imamura R, Miyamoto T, Nagafuji H, Gondo H, Nakayama K, Harada M:Tyk2 Is required for the Induction and nuclear translocation of daxx which regulates Interferon- α -Induced suppression of B lymphocyte formation. American Society of Hematology, November 24-25,2002,Philadelphia, U.S.A.
 14. T Tanimoto M, Saito A, Tanaka Y, Numata A, Kasai M, Mori T, Kasai M, Yamasaki S, Sakai M, Miyazaki Y, Uike N, Yamashita T, Mori S, Takaue Y, Harada M: Comparison of chronic graft-versus-host disease (GVHD) following allogeneic bone marrow (BMT)vs peripheral blood stem cell transplantation (PBSCT)In Japanese patients. American Society of Hematology, November 24-25,2002, Philadelphia, U.S.A.
 15. Kamimura T, Nagafuji K, Gondo H, Hayashi S, Taniguchi S, Takamatsu Y, Matsuishi E, Fujisaki T, Miyamoto T, Harada M: Autologous peripheral blood stem cell transplantation with granulocyte-colony stimulating factor combined preparative regimen for acute promyelocytic leukemia in first remission. American Society of Hematology, November 24-25,2002, Philadelphia, U.S.A.
 16. 石川文彦、小川真紀夫、原田実根:新しいヒト幹細胞アッセイを用いた造血幹細胞由来肝細胞の証明、第 64 回日本血液学会、2002 年 9 月 12-15 日、横浜
 17. 上村智彦、林 真、長藤宏司、権藤久司、谷口修一、高松 泰、藤崎智明、大野裕樹、宮本敏浩、原田実根:急性前骨髄球性白血病(APL)に対する自己末梢血幹細胞移植(auto—PBSCT)の治療成績、第 64 回日本血液学会、2002 年 9 月 12-15 日、横浜
 18. 沼田晃彦、下田和哉、亀崎健次郎、青木健一、加藤光次、高瀬 謙、波呂 卓、宮本敏浩、長藤宏司、権藤久司、岡村 孝、原田実根:SHPI の CML 急性転化での変

- 化とその役割、第 64 回日本血液学会、2002 年 9 月 12-15 日、横浜
19. 加留部謙之輔、大島孝一、土屋健史、山口隆広、原田実根、菊池昌弘: NK リンパ芽球性リンパ腫、Myeloid/NK 未熟リンパ腫、CD7⁺ 幹細胞リンパ腫の臨床病理的検討、第 64 回日本血液学会、2002 年 9 月 12-15 日、横浜
 20. 樋口雅一、Downing James R、原田実根: 1-MTG8(ETO)発現誘導マウスにおける顆粒球系腫瘍、第 64 回日本血液学会、2002 年 9 月 12-15 日、横浜
 21. 加藤光次、下田和哉、織谷健司、青木健一、沼田晃彦、亀崎健次郎、加藤謙、石川文彦、長藤宏司、宮本敏浩、権藤久司、岡村孝、原田実根: IFN- α による造血抑制作用における Tyk2 の機能解析、第 64 回日本血液学会、2002 年 9 月 12-15 日、横浜
 22. 藤井敬子、石丸文彦、子塚輝彦、本多宗次、小島研介、品川克至、池田和真、新谷憲治、谷本光音、原田実根: G-CSF による末梢血幹細胞動員に伴う血清中 HGF 値の上昇、第 64 回日本血液学会、2002 年 9 月 12-15 日、横浜
 23. 高瀬 謙、岡村 孝、波呂 卓、亀先健次郎、石川文彦、沼田晃彦、青木健一、今村理恵、加藤光次、宮本敏浩、長藤宏司、下田和哉、権藤久司、嘉村 巧、江口春彦、白幡 聡、原田実根: 凝固第 X Ⅲ因子 A subunit 欠損症の遺伝子解析、第 64 回日本血液学会、2002 年 9 月 12-15 日、横浜
 24. 長藤宏司、飯野忠史、加藤光次、宮本敏浩、権藤久司、原田実根: 当科における骨髄非破壊的前治療による同種末梢血幹細胞移植の成績、第 64 回日本血液学会、2002 年 9 月 12-15 日、横浜
 25. 松石英城、原田実根: 成人 T 細胞性白血病/リンパ腫に対する同種造血幹細胞移植、第 64 回日本血液学会、2002 年 9 月 12-15 日、横浜
 26. 岡村 孝、薬師寺和昭、橋口道俊、関律子、加藤光次、長藤宏司、高瀬 謙、土持典子、吉本幸治、緒方秀章、宮本敏浩、下田和哉、権藤久司、原田実根、佐田通夫: T 細胞受容体 δ 鎖遺伝子再構成を示した mulcyineage acute leukemia の 2 例、第 44 回日本臨床血液学会、2002 年 9 月 12-15 日、横浜
 27. 河野徳明、上村智彦、重松宏和、林 真、下田和哉、権藤久司、大塚輝久、原田実根: インターフェロンが奏功したフィラデルフィア染色体陰性(TEL/ABL による)慢性骨髄性白血病の 1 例第 44 回日本臨床血液学会、2002 年 9 月 12-15 日、横浜
 28. 筒井俊英、加藤光次、下田和哉、森 泰雄、飯野忠史、宮本敏浩、長藤宏司、権藤久司、原田実根: 肺胞蛋白症を合併した骨髄異型性症候群の一例、第 44 回日本臨床血液学会、2002 年 9 月 12-15 日、横浜
 29. 吉原達也、加藤光次、長藤宏司、飯野忠史、宮本敏浩、下田和哉、権藤久司、原田実根: 急性移植片対宿主病に対するミコフェノール酸モフェチル(MMF)の使用経験、第 44 回日本臨床血液学会、2002 年 9 月 12-15 日、横浜
 30. 山本和彦、原田実根、谷本光音: Fanconi 貧血原因遺伝子 FANCG は相同組換えによる DNA 修復遺伝子である、第 64 回日本血液学会、2002 年 9 月 12-15 日、横浜
 31. 今村理恵、宮本敏浩、平安山英穂、飯野忠史、加藤光次、長藤宏司、権藤久司、原田実根、稲葉頌一、G-CSF により動員される造血前駆細胞の解析、第 64 回日本血液学会、2002 年 9 月 12-15 日、横浜
 32. 亀崎健次郎、下田和哉、波呂 卓、沼田晃彦、石川文彦、高瀬 謙、青木健一、宮本敏浩、長藤宏司、権藤久司、原田実根: サイトカイン依存性細胞株におけるアポトーシスの検討、第 64 回日本血液学会、2002 年 9 月 12-15 日、横浜
 33. 山崎 聡、平安山英穂、大野裕樹、飯野

忠史、黒岩美佳、河野徳明、宮本敏浩、長藤宏司、下田和哉、林 真、谷口修一、権藤久司、大塚輝久、原田実根：同胞間HLA完全一致G-CSF動員同種末梢血幹細胞移植片中細胞分布の解析と慢性GVHDに対する影響、第44回日本臨床血液学会、2002年9月12-15日、横浜

34. 土持典子、加藤光次、長藤宏司、今村理恵、宮本敏浩、飯野忠史、下田和哉、権藤久司、原田実根： auto — allo(non-myeloablative)で肝中心静脈閉塞症(VOD)を発症した治療抵抗性悪性リンパ腫、第44回日本臨床血液学会、2002年9月12-15日、横浜
35. 吉本五一、飯野忠史、長藤宏司、下田和哉、宮本敏浩、権藤久司、原田実根、谷本一樹：乾癬罹患患者に発症した急性骨髄性白血病に対し同種HLA不適合移植を施行した一例、第44回日本臨床血液学会、2002年9月12-15日、横浜
36. 飯野忠史、長藤宏司、宮本敏浩、吉本五一、下田和哉、権藤久司、谷本一樹、原田実根：臍帯血移植後再発した急性骨髄性白血病に対し母親からHLA不適合ミニ移植を施行した一例、第44回日本臨床血液学会、2002年9月12-15日、横浜
37. 波呂 卓、大野裕樹、原田実根：人工呼吸管理下のAPL患者にNasal-Gastric tubeにてATRAを投与し完全寛解に至った症例、第44回日本臨床血液学会、2002年9月12-15日、横浜
38. 薬師寺和昭、関 律子、大坪維範、今村理恵、橋口道俊、吉本幸治、緒方秀章、南野隆一、岡村 孝、佐田通夫：Imatinib短期投与にて著明な骨髄低形成とPh1陰性化が得られた骨髄線維症合併慢性白血病の一例、第44回日本臨床血液学会、2002年9月12-15日、横浜
39. 青木健一、平安山英穂、横山俊宏、久保田 晃、岡村精一、竹下盛重：Blastic NKリンパ腫に対して自己末梢血幹細胞移植を施行した一例、第44回日本臨床血液学会、2002年9月12-15日、横浜

Harada M, Matsuo K, Hamajima N, Morishima

Y: Risk factors for early post-transplant mortality in UR-BMT Japan: The analyses of data from Japan Marrow Donor Program. 29th World Congress of the International Society of Hematology, August 24-28, 2002, Seoul, Korea

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

固形がんに対する骨髄非破壊的移植前治療を用いた同種末梢血幹細胞移植療法の試み

分担研究者 中野 修治 九州大学大学院医学研究院・病態修復内科学 助教授

研究要旨

治療抵抗性固形腫瘍の患者を対象に、骨髄非破壊的同種末梢血幹細胞移植を施行した。症例は計 4 名（膵癌、胃癌、大腸癌、腎癌各 1 例）である。評価可能 3 例において完全キメラの状態を確認した。GVHD は急性 1 例、慢性は 2 例中 1 例に認められたが、移植後 100 日以内の移植関連死亡は認められず、また 100 日以内の腫瘍死はなく 100 日以降が 1 例であった。客観的腫瘍効果は、膵癌の 1 例に PR を認めた。以上より本療法は固形腫瘍患者に対しても安全に施行することが可能であった。今後、症例数を増やしどのような病態で同種末梢血幹細胞移植療法が有効なのか、それに関わる免疫学的因子の同定を行う予定である。

A. 研究目的

同種骨髄移植は白血病に対する治癒的治療法として確立しているが、その治癒的治療効果は移植前の骨髄破壊的治療に使用する大量抗がん剤による直接的な抗白血病殺細胞効果だけでなく、ドナーリンパ球による抗腫瘍効果(Graft-versus-Tumor: GVT 効果)により起因することが指摘され、同種骨髄移植は白血病特異的免疫療法と考えられている。近年になって腎癌や乳癌などの固形腫瘍に対しても同種骨髄移植や同種末梢血幹細胞移植が試みられ、GVT 効果が観察されている。一方、同種骨髄幹細胞移植後のドナー細胞の生着には、フルダラビンを使用した免疫抑制療法を主体とする骨髄非

破壊的治療で十分であり、毒性および移植関連死が少ないことが明らかにされた。したがって本研究では抗がん剤の効果が乏しい固形腫瘍に対し、GVT 効果をねらった骨髄非破壊的幹細胞移植を施行し、本邦における安全性と有効性を検討するとともに、GVT 効果の分子機序を解析することを目的とする。

B. 研究方法

化学療法および放射線療法に抵抗性を示し、予後不良の固形腫瘍患者を対象に十分な説明と同意を得たうえで、HLA 一致同胞をドナーとする骨髄非破壊的同種末梢血幹細胞移植を施行し、移植関連毒性、移植後

キメラ、GVHD、GVT 効果などを検討した。コンディショニングにはフルダラビン/エンドキサン、フルダラビン/ブスルファン、フルダラビン/ブスルファンのいずれかを前処置とし、シクロスポリン/メソトレキサートによる GVHD 予防を行った。

倫理面においては、患者本人およびドナーに対して配慮し、1) 本研究の目的と方法、2) 骨髄非破壊的前治療を併用した同種末梢血幹細胞移植、3) 予想される効果と副作用、4) 他の治療法との比較、5) 同意撤回、などについて十分担当医師より文書で説明し、同意を文書で得ることを前提とする。尚、本研究は九州大学医学部倫理委員会の審査を受け、実施に関する承認を受けている。

C. 研究結果

症例は計 4 名（膵癌、胃癌、大腸癌、腎癌各 1 例）である。評価 3 例において完全キメラの状態を確認した。移植後 100 日以内の移植関連死亡は認められず、また 100 日以内の腫瘍死はなく 100 日以降が 1 例であった。客観的腫瘍効果は、膵癌の 1 例に PR を認めた。胃癌の 1 例は NC であったが、移植前の PS が 3 でイレウス症状で経口摂取できず IVH 管理であったが、移植後イレウス症状は消失し経口摂取可能となり 45 日目に退院できた。しかし Day 96 で原病悪化のため再入院し、Day 146 に腫瘍死した。GVHD は急性 1 例、慢性は 2 例中 1 例に認められた。以上より本療法は固形腫瘍患者に対しても安全に施行することが可能であっ

た。

D. 考察

本法は固形癌に対して国内外で積極的に臨床試験が行われており、腎癌ではある程度の有効性が報告されているが、他の固形癌に対しての効果は不明のままである。進行期膵癌は極めて予後が悪く、今回 1 例が PR という有望な成績が得られた。今後は症例数を増やしどのような病態で同種末梢血幹細胞移植療法が有効なのかその因子を同定する予定である。

一方、本療法においては GVHD と抗腫瘍効果 (GVT 効果) の密接な関係を認めることから、この GVT 効果は腫瘍特異抗原よりマイナー組織適合抗原 (mHA) を標的にした同種免疫反応によりもたらされる可能性が高いと推測されている。この分子機構を明らかにするために、現在我々は GVT 効果が確認された患者末梢血に存在する mHA 特異的細胞障害性リンパ球の検討を行っている。即ち同症例における患者・ドナー間の mHA フェノタイプの差異の検出、mHA ペプチド結合 HLA テトラマーを用いた mHA 特異的 T 細胞レパートアの経時的変化の測定、mHA 特異的細胞障害性 T 細胞 (CTL) クローンの樹立である。CTL クローンの免疫学的性状の評価として、ペプチドパルスした樹状細胞に対する INF- γ 産生測定 (ELISPOT 法) およびペプチドパルスした EBV トランスフォーム B 細胞に対する細胞障害活性測定を行っている。

E. 結論