

なっているため、これらの2群間の背景因子を検討したところ、IPA群において、レシピエントの年齢が低く、HVG方向の不一致抗原数が少ない傾向が認められた。

2) 急性GVHD

全例でドナー造血細胞の生着が確認され、急性GVHDは、35例中34例で評価可能であった。II度以上の急性GVHDは、19例(56%)に認められ、そのうち7例は治療抵抗性であった。一方、残りの15例(44%)においては、治療を必要とする急性GVHDが観察されなかった。表2には、III度以上急性GVHDに関与するリスク因子の解析結果を示す。単変量・多変量とも、GVHD方向の不一致HLA抗原数の影響は認められなかったが、母親がドナーである場合に、子供や同胞がドナーである場合よりも、有意に重症GVHDが出現しやすいという結果が得られた。

3) 移植後生存率

全35例を対象とした3年生存率は38%(95%CI, 17~60%)であり、最終観察時点(2004年2月29日)において、35例のうち15例が生存中であった。移植時病期別に見ると、寛解期・慢性期での実施では13例中7例、化学療法抵抗期での実施では22例のうち7例が無病生存中であった(生存例の観察期間; 中央値20ヶ月、範囲8~37ヶ月)。主な死因を移植関連死亡と疾患関連死亡に大別すると、移植後100日以内では、移植関連死亡が7例、疾患関連死亡が1例であったのに対し、移植後101日目以降では、移植関連死亡4例、疾患関連死亡8例であり、最も多い死亡原因は、原疾患の進行によるものであった。

D. 考察

従来から、HLAに2抗原以上の不一致が存在する血縁者間の造血幹細胞移植は、移植片

の拒絶と並び、致死的な重症GVHDの発症率がきわめて高いことが大きな問題とされ、一般的な治療法として選択することは不可能と考えられてきた。われわれは、母子間マイクロキリズムを非遺伝HLAに対する獲得免疫寛容の指標とした新たなHLA不一致ドナー選択法の安全性・有効性を、今回、代替治療法のない進行期白血病・悪性リンパ腫を対象に検討したが、一部の症例において難治性GVHDの出現が認められたという問題が残されているものの、多くの場合、移植関連毒性は許容範囲内であり、2年以上の長期生存者も得られることが明らかとなった。今後、このドナー選択方法の安全性を確立することができれば、血縁者間ドナープールは飛躍的に拡大することが期待される。

しかし、NIMA相補的血縁者を標準的な代替ドナーとして位置づけることを可能とするためには、いくつかの課題の解決が必要と考えられ、とりわけ重要な問題は、言うまでもなくGVHDの克服である。今回の研究では、レシピエント型のマイクロキリズムが検出されたドナーからの移植のみを対象とされているが、約2割の移植例において、治療抵抗性のGVHDが認められた。この結果は、母子間マイクロキリズムが安全なドナー選択のための絶対的な指標ではないことを示唆するものであり、今後、さらに新たな獲得免疫寛容の予測方法を確立することが強く求められている。この点から注目されるべき知見は、GVHDの発症リスクの解析において、NIMA相補的血縁者からの移植においては、GVHD方向の不一致抗原数よりも、免疫遺伝学的な不一致HLAハプロタイプの相違が、III度以上急性GVHDの発症率に影響を与えている可能性が示された点である。実際、III度以上急性GVHDの出現頻度を比較すると、IPAがGVHD標的となる母親ドナーからの移植では、6例中14例(43%)と

比較的高率であったのに対し、NIMAがGVHD標的となる子から母への移植やNIMA相補的同胞間の移植では、20例中2例(10%)にしか認められなかった。ただし、今回の検討は35例のheterogenousなGVHD予防方法を用いて移植が実施された症例を対象とした解析結果であるため、現時点ではこの傾向に関して早急な結論を得ることはできない。現在までに報告されているgeneticなGVHDリスク因子の検討なども含め、今後様々な立場からNIMA相補的血縁者間におけるIPAやNIMAに対する免疫応答のより詳細な解析が行われることが期待される。

E. 結論

HLA-A, B, DRが2抗原以上の不一致が存在する場合においても、FK506をGVHD予防に用いたNIMA相補的血縁者間移植は、重症GVHDの発症リスクが高い点に問題が残されているが、きわめて進行期の造血器腫瘍に対しても、一定の長期生存をもたらすことが示された。なお、本移植方法の安全性と有用性をさらに明らかにするため、分担研究者らは2002(平成14)年7月から、難治性白血病を対象として、単一のGVHD予防法を用いたNIMA相補的血縁者間移植の前向き臨床第I-II相試験を開始しており、現在6症例が登録されている。

F. 健康危険情報

難治性白血病を対象として実施中の前向き臨床試験において、HHV-6脳症によると考えられる意識障害から人工呼吸器による呼吸管理を必要とした事例が報告された。NIMA相補的血縁者間移植後における本ウイルス関連合併症の発生頻度は不明であり、本件に関しては、後遺症の発生が予測される重篤な合併症と判断されるため、試験参加施設に対して、緊急有害事象と

して文書による通知を行った(参考資料)。

G. 研究発表

1) 論文発表

Umeda K, Adachi S, Ishihara H, Higashi Y, Shiota M, Watanabe K, Hishizawa M, Ichinohe T, Kitoh T, Maruya E, Saji H, Uchiyama T, Nakahata T.: Successful T-cell-replete peripheral blood stem cell transplantation from HLA-haploidentical microchimeric mother to daughter with refractory acute lymphoblastic leukemia using reduced-intensity conditioning. Bone Marrow Transplant 2003;31:1061-1063.

Kitawaki T, Kadowaki N, Ishikawa T, Ichinohe T, Uchiyama T.: Compromised recovery of natural interferon- α/β -producing cells after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation complicated by acute graft-versus-host disease and glucocorticoid administration.

Bone Marrow Transplant 2003;32:187-194.

2) 学会発表

Ichinohe T, Uchiyama T, Shimazaki C, Tamaki S, Watanabe A, Hamaguchi M, Hino M, Adachi S, Endoh M, Uoshima N, Yoshihara T, Hatanaka K, Fujii H, Kawa K, Gondo H, Kawanishi K, Maruya E, Saji H, Kodera Y.: Outcome of non-T-cell-depleted hematopoietic stem cell transplantation between HLA-haploidentical non-inherited maternal antigen (NIMA)-mismatched family members linked with long-term feto-maternal microchimerism. The 45th

Annual Meeting of the American Society of Hematology. San Diego, CA, December 5-9, 2003.

3) 紀要

Ichinohe T, Maruya E, Tamaki S, Kodera Y, Uchiyama T, Saji H.: NIMA and NIPA in haploidentical related transplantation: The Kyoto Experience. In: Hansen JA, Dupont B, eds. HLA 2004-Immunobiology of the human MHC: Proceedings of the 13 th International Histocompatibility Workshop and Congress. Vol.2. Seattle: IHWG press: 2004:(in press).

Saji H, Maruya E, Ichinohe T, Tamaki S, Watanabe A, Ogawa H : Long-term fetomaternal microchimerism, an indicator of HLA haploidentical/mismatched donation. In: Hansen JA, Dupont B, eds. HLA 2004-Immunobiology of the human MHC: Proceedings of the 13 th International Histocompatibility Workshop and Congress. Vol.2. Seattle: IHWG press (in press).

H. 知的財産権の出願状況

特になし。

表1: 解析対象症例の背景

Characteristics	Type of donor			P
	Total	Mother	Offspring or sibling	
	N=35	N=15	N=20	
Median age of recipient at SCT, yr (range)	28 (2-58)	18 (3-33)	42 (2-58)	0.007
Sex combination (recipient/donor), n(%)				
Male/female	13 (37)	9 (60)	4 (20)	
Female/female	14 (40)	6 (40)	8 (40)	.03*
Male/male	3 (9)	--	3 (15)	
Female/male	5 (14)	--	5 (25)	
Diagnosis, n(%)				
AML	12 (34)	3 (20)	9 (45)	
ALL (including LBL)	12 (34)	7 (47)	5 (25)	NS
CML	7 (20)	3 (20)	4 (20)	
DLBCL	3 (9)	2 (13)	1 (5)	
ATL	1 (3)	0 (0)	1 (5)	
Disease status at SCT, n(%)				
In remission or chronic phase	13 (37)	4 (27)	9 (45)	NS
Chemorefractory	22 (63)	11 (73)	11 (55)	
Previous history of SCT, n(%)				
Yes (autologous)	2 (6)	0 (0)	2 (10)	
Yes (allogeneic)	5 (14)	3 (20)	2 (10)	NS
No	28 (80)	12 (80)	16 (80)	
Type of conditioning, n(%)				
Standard-intensity with TBI	21 (60)	9 (60)	12 (60)	
Standard-intensity without TBI	3 (9)	1 (7)	2 (10)	NS
Reduced-intensity with ATG	3 (9)	2 (13)	1 (5)	
Reduced-intensity without ATG	8 (23)	3 (20)	5 (25)	
Disparity of HLA-A, B, DR antigen, n(%)				
GVH direction				
2 Ag-mismatched	24 (69)	10 (67)	14 (70)	NS
3 Ag-mismatched	11 (31)	5 (33)	6 (30)	
HVG direction				
0 Ag-mismatched	2 (6)	2 (13)	0 (0)	
1 Ag-mismatched	3 (9)	2 (13)	1 (5)	.009
2 Ag-mismatched	16 (46)	9 (60)	7 (35)	
3 Ag-mismatched	14 (40)	2 (13)	12 (60)	
Stem-cell source, n(%)				
Peripheral blood	30 (86)	12 (80)	18 (90)	
Bone marrow	4 (11)	2 (13)	2 (10)	NS
Peripheral blood +bone marrow	1 (3)	1 (7)	0 (0)	
G-CSF after transplantation, n(%)				
Yes	28 (80)	12 (80)	16 (80)	NS
No	7 (20)	3 (20)	4 (20)	
GVHD prophylaxis, n(%)				
Tacrolimus alone	4 (11)	0 (0)	4 (20)	
Tacrolimus+MMF or corticosteroids	2 (6)	2 (13)	0 (0)	NS
Tacrolimus+MTX	23 (66)	10 (67)	13 (65)	
Tacrolimus+MTX+corticosteroids	6 (17)	3 (20)	3 (15)	

*Female donor/male recipient とそれ以外の組み合わせを比較

(P values were obtained by Mann-Whitney U test for age and extended Fisher's test for other categorical variables.)

表2:III 度以上急性GVHD発症に関するリスク因子の解析 (unconditional logistic regression model)

(A) 単変量モデル

Factor	Risk category	Odds ratio	95% CI	P
No. of mismatched HLA Ag (GVH direction)	3 Ag	2.71	0.53-13.92	.23
No. of mismatched HLA Ag (HVG direction)	1 Ag increase	0.69	0.28-1.72	.43
Type of GVH target (IPA vs NIMA)*	IPA	6.75	1.11-41.0	.04
Recipient age	20 or more	0.88	0.17-4.57	.88
Donor-recipient sex pairs†	Female to male	1.04	0.20-5.26	.96
Disease status	Chemorefractory	0.63	0.13-3.08	.56
Type of conditioning-1	Standard-intensity	1.59	0.26-9.54	.61
Type of conditioning-2	TBI-containing	1.04	0.20-5.34	.96
GVHD prophylaxis	Use of corticosteroids	1.40	0.21-9.12	.73

(B) 多変量モデル

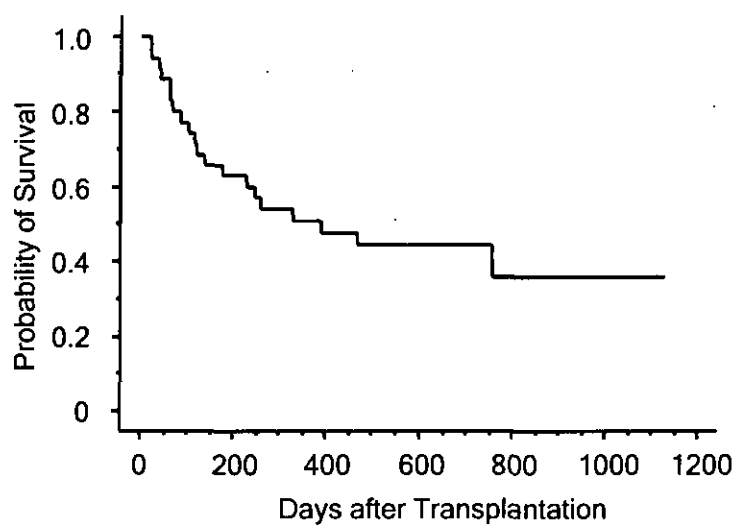
Factor	Risk category	Odds ratio	95% CI	P
No. of mismatched HLA Ag (GVH direction)	3 Ag	2.97	0.48-18.5	.24
Type of GVH target (IPA vs NIMA)*	IPA	9.88	1.22-79.7	.03
Recipient age	20 or more	2.33	0.30-17.9	.42

*母からの移植群 (GVH 標的=IPA) と子から母あるいは NIMA 相補的同胞間移植 (GVH 標的=NIMA) の比較

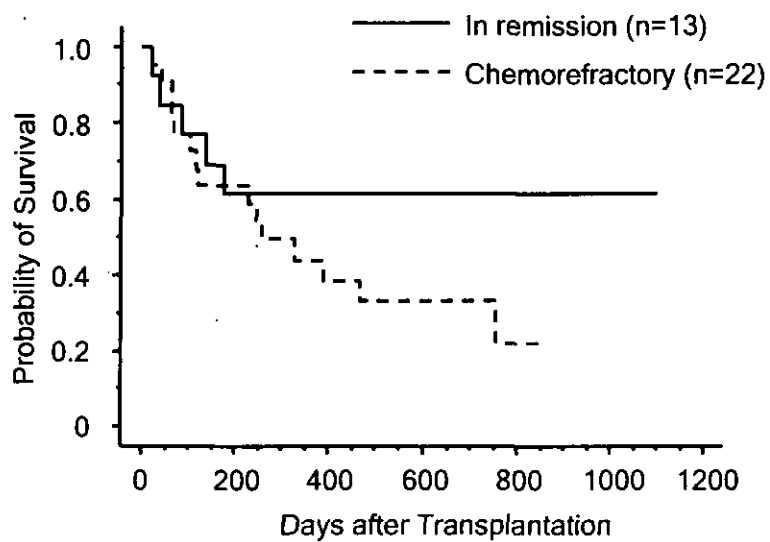
図1: Kaplan-Meier 法による予測生存率

A: 全 35 症例 B: 移植時病期別

A.



B.



(参考資料)

FK506 を用いた NIMA 相補的血縁者間移植
有害事象(事務局整理番号 003)

有害事象の内容：

003-1 自力活動が不可能となるような精神神経障害 (試験実施計画書 11-1-3a)

003-2 人工呼吸器による呼吸管理が必要な呼吸不全 (試験実施計画書 11-1-3b)

登録症例：35 歳・男性

原疾患・登録時病期：急性骨髄性白血病・第一再発後非寛解

ドナー：NIMA 相補的同胞 (32 歳・女性)。レシピエントとは GVH・HVG 両方向とも HLA-A, B, DR 3 抗原不一致。

有害事象の概要：シクロホスファミド 60 mg/kg x 2 日間および全身放射線照射 12 Gy (6 分割) を前処置として、末梢血幹細胞移植を実施 (CD34 陽性細胞数：レシピエント体重 1 kg あたり 1.94×10^6)。移植後 3 日目より、38 度・39 度の発熱が持続。Day 3 に実施した血液培養から、表皮ブドウ球菌を検出。その後、徐々に解熱傾向を認めていたが、day 11 より 38 度台の稽留熱が再び出現のため、メチルプレドニゾン 125 mg/day の投与を開始。Day 14 には白血球数 600/ μ l (好中球数 231/ μ l) と造血機能回復傾向となり、プレドニゾン 60 mg/日へとステロイド剤の減量を行ったが、再び悪寒戦慄を伴った発熱が出現。Day 15 に実施の血液培養からは多剤耐性緑膿菌を検出。

Day 16 から、一過性に見当識障害、眼球偏位などの精神神経症状が出現。Day 17 には、さらに記憶喪失、四肢の振戦・けいれんなどの症候出現し、意識消失に至る。頭部単純 CT にては明らかな異常を認めず。その後、上記症状は一時的に改善を見ていたが、同日午後より再び混迷状態となり、不規則呼吸・PaO₂ 90 mmHg と CO₂ ナルコーシスに至ったため、人工換気開始。一時的に FK506 の投与を中止。臨床的に HHV-6 脳炎を疑い、day 18 より FK506 を再開するとともに、ガンシクロピルの投与を開始。Day 19 に採取した末梢血および脳脊髄液からは HHV-6 DNA が、それぞれ 1×10^3 copy/ml、 8×10^4 copy/ml 検出された。Day 25 には、呼吸機能の回復を認め、抜管に至ったが、同日より、1 日 2 リットル以上の下痢が出現。また、day 20 頃から、手掌に出現した皮疹が、その後四肢・体幹部のほとんどに拡大を見ていることから、現在、急性 GVHD の発症を疑い、精査を実施中である。

厚生科学研究ヒトゲノム・再生医療等研究事業
『骨髄等を利用した効率的な造血幹細胞移植の運用・登録と臨床試験体制の確立に
関する研究(主任研究者:小寺良尚班長)』

平成15年度分担研究報告書

分担研究課題:HLA不適合造血幹細胞移植の臨床試験体制の確立と適正運用—成分移植—
分担研究者 谷口 修一 国家公務員共済組合連合会 虎の門病院 血液科 部長

研究要旨:HLA2、3座不適合血縁者間同種造血幹細胞移植に関する研究を行った。重篤な移植片宿主病を軽減する目的にて、CD34陽性細胞純化法を用いたHLA2、3座不適合血縁者ドナーからの同種末梢血幹細胞移植法の安全性及び有効性を検討する臨床第1/2相多施設共同試験を開始した。CD34細胞純化法としては、その簡便性と高いCD34陽性細胞純化効率で認知されているCliniMACSを採用し、その医療機器としての同種造血幹細胞移植領域への承認申請も併せて目的とした。

A. 研究目的

同種造血幹細胞移植はその強力な骨髄破壊の前処置と移植片対腫瘍効果により多くの難治性造血器悪性腫瘍症例を救命してきた。ただし、この治療法はあくまでもHLA一致ドナーの存在あつて成立する治療法であり、血縁者間でドナーが見つかる可能性は1/3とされる。血縁ドナー不在の症例は、骨髄バンクや臍帯血バンクに依存してきたがこれもすべての移植を必要とする症例に移植医療の提供を可能とするものではない。血縁者にHLA2、3座不適合ドナーを見つけることは困難ではなく、仮にこのHLA2、3座不適合血縁者間同種造血幹細胞移植法が標準療法となれば、より多くの症例の移植医療を可能とする。

通常、特に処理を行わずこの移植を行った場合は移植片拒絶や重篤な免疫反応(移植片宿主病:GVHD)により、長期生存を得ることは困難とされる。この研究においては、移植片から免疫を担当するリンパ球を除去する目的にてCD34陽性細胞(=造血幹細胞)をpositive selectionにより純化し、それを移植細胞源とすることにより、これらの免疫反応を回避し、標準治療法として確立することを目的とする。

B. 研究方法

同種造血幹細胞移植以外に救命する手段がないとされる急性白血病の非寛解例、慢性骨髄性白血病の急性増悪期、急性転化期で、HLA一致した適切なドナーが存在しない症例を対象とした。ドナーは健康なHLA2、3座不一致の血縁者とした。ドナーからは通常の方法で末梢血幹細胞を採取し、CliniMACSにてCD34陽性細胞を純化し、移植日まで凍結、保存する。この際、 4.0×10^8 個/kg・患者体重以上得られた症例を本登録可能とする。移植前処置は、Fludarabine ($30\text{mg}/\text{m}^2$, day -6~-2)、Thiotepa ($5\text{mg}/\text{m}^2$ x2/day day 5)、Thymoglobulin ($2.5\text{mg}/\text{kg}$ day-4~day-1)、Total Body Irradiation 12 Gy (4ないし6分割)とし、GVHD予防はCyclosporine単剤とした。

Primary endpointは移植後35日以内の生着率とし、GVHDや感染症、生存率等はsecondary endpointとした。目標症例数は19例である。

本臨床試験におけるデータ管理は厳正に行い、我が国の移植領域における臨床試験体制の基盤を確立する。データマネージメント業務は、日本臨床研究支援ユニット・血液データセンター(J-CRSUデータセンター)で行い、改正GCPを遵守した高い質管理を行うことにより、より信頼性の高いデータを得るとともに、本試験で品質保証されたデータに基づいて適応承認申請を行う。なお、CliniMACSによる細胞純化のプロセスは麒麟麦酒株式会社の臨床治験として行い、同種移植領域での医療機器としての承認を目指す。

C. 研究結果

2003年8月から症例登録を開始し、現在、1例が登録されている。IRB通過施設が現在増加中であり、今後症例登録が増加するものと考ええる。

またこの臨床試験を開始するにあたり、全国レベルでのCD34陽性細胞移植とHLA2、3座不適合移植の現況を調査した。この臨床試験を考える上での本邦における状況を把握する必要があつたためである。特にCD34陽性細胞移植は、高度危険群で長期生存率21.4%(n=19)、標準危険群で50%(n=2)であつた。合併症の調査において、移植後早期の細菌・真菌感染症が21例中15例という高率に見られ、4例が死因となつた。また臓器障害の合併症の頻度も高く、腫瘍の状況がかなり進行しており、繰り返す化学療法に伴う感染症の合併や臓器障害を伴った症例が多く存在したことを示唆する。特に2回目の移植症例での長期生存例は見られなかつた(n=5)。これらの成績から、本臨床試験においては、感染症併発例、臓器障害例、また特に2回目の移植症例は対象症例から除外した。

D. 考察

血縁者にHLA一致ドナーが得られず、適切なバンクドナーも得られない場合の代替法として、血縁

HLA2、3 座不適合移植は開発されてきた。最近では母子間免疫学的寛容を背景にした HLA 不適合ドナーの選択や移植後の免疫抑制療法を強化することにより HLA 不適合移植を可能とすることも報告されている。より高い可能性で移植を可能とする臍帯血移植も成人例において急速に症例が増加し、その良好な成績も報告されつつある。将来的にはこれら複数の移植法の有効性を比較する臨床試験が必須であるが、すべての症例に同様にドナー候補が存在するわけではないため、これらの移植法の特徴をふまえた上でのドナーの選択が必要となる。

当臨床試験においては CD34 陽性細胞移植における生着を評価し、一つの移植手段として確立し、同種造血幹細胞移植領域における CliniMACS の承認を目的とする。その後、他の移植法との有効性の比較検討を行う必要がある。

E. 結論

血縁 HLA2、3 座不一致ドナーからの CD34 陽性細胞移植の安全性と有効性を評価する。厳正なデータ管理を行い、CD34 陽性細胞の純化に用いる CliniMACS の医療機器としての承認申請資料とする。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Miyakoshi S, Yuji K, Kami M, Kusumi E, Kishi Y, Kobayashi K, Murashige N, Hamaki T, Kim SW, Ueyama J, Mori S, Morinaga S, Muto Y, Masuo S, Kanemaru M, Hayashi T, Takaue Y, and Taniguchi S. Successful engraftment following reduced-intensity umbilical cord blood transplantation (RI-UCBT) for adult patients with advance hematological diseases. Clin Can Res 2004 in press
2. Kusumi E, Kami M, Yuji K, Hamaki T, Murashige N, Hori A, Kojima R, Kishi Y, Kim SW, Ueyama J, Miyakoshi S, Tanosaki R, Morinaga S, Mori S, Heike Y, Muto Y, Masuo S, Taniguchi S, Takaue Y. Feasibility of reduced intensity hematopoietic stem cell transplantation from an HLA-matched unrelated donor. Bone Marrow Transplant. 2004 in press
3. Hori A, Kami M, Kim SW, Chizuka A, Kojima R, Imataki O, Sakiyama M, Hamaki T, Onishi Y, Usubuchi N, Kishi Y, Murashige N, Tajima K,

Miyakoshi S, Heike Y, Masuo S, Taniguchi S, Takaue Y. Development of early neutropenic fever, with or without bacterial infection, is still a significant complication after reduced-intensity stem cell transplantation. Biol Blood Marrow Transplant 10: 65-72, 2003.

4. Yamamoto R, Kusumi E, Kami M, Yuji K, Hamaki T, Saito A, Murashige N, Hori A, Kim SW, Makimoto A, Ueyama J, Tanosaki R, Miyakoshi S, Mori S, Morinaga S, Heike Y, Taniguchi S, Masuo S, Takaue Y, Mutou Y. Late hemorrhagic cystitis after reduced-intensity hematopoietic stem cell transplantation (RIST). Bone Marrow Transplant 32: 1089-95, 2003.

5. Kami M, Hamaki T, Miyakoshi S, Murashige N, Kanda Y, Tanosaki R, Takaue Y, Taniguchi S, Hirai H, Ozawa K, Kasai M. Allogeneic haematopoietic stem cell transplantation for the treatment of adult T-cell leukaemia/lymphoma. Br J Haematol 120: 304-9, 2003

6. Kusumi E, Miyakoshi S, Murashige N, Katayama Y, Kim SW, Yuji K, Taniguchi S. Successful reduced-intensity stem cell transplantation (RIST) with mismatched cord blood in a 70-year-old patient with severe aplastic anemia (SAA). Bone Marrow Transplant 32: 1111-2, 2003.

7. 久住英二、谷口修一。リンパ増殖性疾患に対するミニ移植。日本臨床 61:1579-84、2003。

8. Tanimoto TE, Kusumi E, Hamaki T, Yuji K, Ueyama J, Miyakoshi S, Taniguchi S. High complete response rate after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with reduced-intensity conditioning regimens in advanced malignant lymphoma. Bone Marrow Transplant 32:131-7, 2003.

9. Hamaki T, Kami M, Igarashi M, Kusumi E, Arase Y, Ishibashi T, Taniguchi S. Non-myeloablative hematopoietic stem cell transplantation for the treatment of adult T-cell lymphoma in a patient with advanced hepatic impairment. Leuk Lymphoma 44:703-8, 2003.

10. Kami M, Hamaki T, Murashige N, Kishi Y, Kusumi E, Yuji K, Taniguchi S. Safety of rituximab in lymphoma patients with hepatitis B or hepatitis C virus infection. Hematol J 4:159-62, 2003.

11. Yamasaki S, Ohno Y, Taniguchi S, Yoshida T, Hayashi S, Ogawa H, Shimazaki C, Takahashi S, Kasai M, Wake A, Nishimura M, Tokunaga K, Gondo H, Takaye T, Harada M, Mineishi S. Allogeneic peripheral blood stem cell transplantation from two-or three -loci-mismatched related donors in adult Japanese patients with high-risk hematologic malignancies. *Bone Marrow Transplant* 33:279-289, 2004.

学会発表

1. Taniguchi S, Ohno Y, Mineishi S, Kamimura T, Yamasaki S, Gondo H, Takaue Y, Harada M. Haploidentical CD34 positive cell transplantation in patients with hematological malignancies. The 2003 Tandem BMT Meetings, Keystone CO, USA, Jan 30-Feb 3, 2003.

2. Katayama Y, Kami M, Kusumi E, Katoh D, Yuji K, Miyakoshi M, Uchida N, Kamituji Y, Ohnishi Y, Murashige N, Kim S, Mori S, Taniguchi S, Takaue Y. The Central Nerve System (CNS) Complications in the Early Course of Reduced-Intensity Stem Cell Transplantation (RIST). ASH annual meeting, San Diego, USA, Dec 2003.

3. Yuji K, Miyakoshi S, Kato D, Kusumi E, Ueyama J, Morinaga S, Muto Y, Taniguchi S. Comparison of Outcomes of Unrelated Bone Marrow and Umbilical Cord Blood Transplants with Reduced-Intensity Conditioning in Adults with Hematological Diseases: Results of a Matched-Pair Analysis. ASH annual meeting, San Diego, USA, Dec 2003

4. Miyakoshi S, Kami M, Yuji K, Murashige N, Kusumi E, Hamaki T, Kim S, Heike Y, Ueyama J, Mori S, Morinaga S, Muto Y, Takaue Y, Taniguchi S. Rapid Engraftment and Achievement of Complete Donor Chimerism in Adult Patients with Hematological Disease Following Unrelated Umbilical Cord Blood Transplantation Using a Reduced-Intensity Conditioning (RI-UCBT). ASH annual meeting, San Diego, USA, Dec 2003.

5. Hamaki T, Kami M, Kusumi E, Kojima R, Yuji K, Kishi Y, Kobayashi K, Murashige N, Kim S, Miyakoshi S, Tanosaki R, Muto Y, Mori S, Taniguchi S, Takaue Y. Matched Unrelated Bone Marrow Transplantation (BMT) Is Feasible with a Reduced-Intensity Regimen (RIST) in Patients with Myelodysplastic Syndrome (MDS) and Acute

Myeloid Leukemia (AML). ASH annual meeting, San Diego, USA, Dec 2003.

6. Kusumi E, Eto T, Tanimoto, Kami M, Hamaki T, Kim S, Mori T, Etoh T, Tamaki T, Taniguchi S, Yoichi Takaue. Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation (HSCT) with a Reduced-Intensity Regimen (RIST) for Non-Hodgkin Lymphoma (NHL): A Retrospective Survey of 112 Adults Patients in Japan. ASH annual meeting, San Diego, USA, Dec 2003.

7. Kojima R, Kami M, Tanaka Y, Kusumi E, Kanda Y, Mori S, Yoshioka S, Tajima K, Fujisawa S, Kanamori H, Morishima S, Sao H, Kasai M, Kasai M, Taniguchi S, Sakamaki H, Hirai H, Harada M, Takaue Y.

Comparison of the Outcomes Following Conventional Hematopoietic Stem Cell Transplantation (HSCT) vs. Reduced-Intensity Stem Cell Transplantation (RIST) in Older Patients with Hematologic Malignancies. ASH annual meeting, San Diego, USA, Dec 2003.

8. Kobayashi K, Kami M, Mori S, Kusumi K, Yuji K, Kishi Y, Miyakoshi S, Hamaki T, Murashige N, Kim S-W, Heike Y, Masuo S, Taniguchi S, Takaue Y. Outcome after Relapse Following Reduced-Intensity Stem-Cell Transplantation (RIST) from a Matched Related Donor for Hematologic Malignancy. ASH annual meeting, San Diego, USA, Dec 2003.

9. Hamaki T, Nishida T, Tajima K, Kami M, Kusumi E, Mori S, Yuji K, Ueyama J, Miyakoshi S, Ueyama S, Takaue Y, Taniguchi S, Muto Y. Comparison of Distinct Cytomegalovirus (CMV) Antigenemia Assays between Distinct Laboratories: Reliability and Stability. ASH annual meeting, San Diego, USA, Dec 2003.

10. Kojima R, Kami M, Nannya Y, Kusumi E, Sakai M, Tanaka Y, Kanda Y, Miyakoshi S, Tateishi U, Kusumoto M, Mori S, Kato K, Mori T, Okamoto S, Taniguchi S, Takaue Y.

Evaluation of Late Occurring Invasive Pulmonary Aspergillosis (IPA) after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation (allo-HSCT) by High-Resolution Computed Tomography (HR-CT). ASH annual meeting, San Diego, USA, Dec 2003.

11. Yuji K, Miyakoshi S, Kato D, Kusumi E,

Kami M, Ueyama J, Morinaga S, Muto Y, Taniguchi S. Infectious Complications in Patients Undergoing Reduced Intensity Stem Cell Transplantation (RIST) from Unrelated Umbilical Cord Blood (RI-UCBT). ASH annual meeting, San Diego, USA, Dec 2003.

12. Yuji K, Miyakoshi S, Kato D, Kusumi E, Ueyama J, Morinaga S, Muto Y, Taniguchi S. Reduced Intensity Stem Cell Transplantation (RIST) from Unrelated Umbilical Cord Blood (RI-UCBT) for the Treatment of Adult T-Cell Leukemia/Lymphoma (ATL): A Feasibility Study with Six Patients. ASH annual meeting, San Diego, USA, Dec 2003.

13. Kusumi E, Miyakoshi S, Yuji K, Ueyama J, Morinaga S, Kami M, Hamaki T, Tanosaki R, Mineishi S, Taniguchi S, Muto Y. Feasibility of reduced-intensity stem cell transplantation for patients older than 60 years with advanced hematological malignancies. American Society of Clinical Oncology, 2003 annual meeting, Chicago, USA. Citation : Proc Am Soc Clin Oncol 22: page 833, 2003 (abstr 3348)

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

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）

分担研究報告書

各種造血幹細胞移植の患者及、ドナーの登録システムの一元化と
その運用方法に関する研究

遺伝子型研究における匿名化の分類

分担研究者 浜島信之

名古屋大学大学院医学系研究科予防医学/医学推計・判断学 教授

研究要旨 文部科学省・厚生労働省・経済産業3省による「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」（平成13年3月29日）にはデータおよび検体の匿名化の方法として連結可能匿名化と連結不可能匿名化が規定されている。しかしながら、その内容は多様である。ここでは、遺伝子型に関する情報を匿名化するための方法を 1)参加者リストを作成しない登録時の連結不可能匿名化、2)参加者リストのある遺伝子型検査前連結不可能匿名化、3)遺伝子型検査前連結可能匿名化、4)外部への連結不可能匿名化および連結可能匿名化に区分しその内容を定義した。また、5)参加者がコードを保持した連結不可能匿名化も可能であることを示した。匿名化の方法を議論する場合にはその内容が明確になっていなければならない、ここで用いた定義は匿名化の内容理解に役立つものである。

分担研究者 浜島信之

名古屋大学大学院医学系研究科
予防医学/医学推計・判断学
教授

A. 研究目的

匿名化には連結可能匿名化と連結不可能匿名化があるが、その内容は必ずしも一義的ではない。ここでは、遺伝子型情報に関しての匿名化を、実際の研究現場に即して分類し、定義することを目的とした。

研究協力者 山本一仁

名古屋大学大学院医学系研究科
予防医学/医学推計・判断学
助手

B. 研究方法

遺伝子型検査を含む研究には、横断研究および追跡研究がある。両研究デザインを想定しながら、匿名化の方法について、登録時、検査実施前、それ以後の時点について匿名化の方法を検討した。

熱田由子

名古屋大学大学院医学系研究科
予防医学/医学推計・判断学
大学院生

C. 研究結果

次のように匿名化を分類した。

- 1)参加者リストを作成しない登録時の連結不可能匿名化: 遺伝子型研究において、はじめから氏名などの個人を特定するための情報を参加者から集めない。もしくは集めてもリストを作成しない。遺伝子型検査の検体と参加者の属性(性年齢等)や生活歴情報などを結合する符号を用いる。参加者リストが作成されないため、重複参加の有無をデータから確認することができないという欠点がある。
- 2)参加者リストのある遺伝子型検査前連結不可能匿名化: 個人を特定するための情報を含む参加者リストを作成する。そのリストと連結できない符号を遺伝子型検査の検体と参加者の属性(性年齢等)や生活歴情報などを結合するために付す。この匿名化を遺伝子型検査前に実施する。
- 3)遺伝子型検査前連結可能匿名化: 個人を特定するための情報を含む参加者リストを作成する。そのリストと連結できる符号を遺伝子型検査の検体と参加者の属性(性年齢等)や生活歴情報などを結合するために付す。この匿名化を遺伝子型検査前に実施する。追跡調査により得られた情報も参加者リストにある連結用の符号を用いて、遺伝子型情報と連結できる。
- 4)外部への連結不可能匿名化および連結可能匿名化: 研究担当部局内には、個人を特定するための情報と遺伝子型情報を匿名化されていない状態で保管している。外部に遺伝子型情報を提供する段階で連結不可能匿名化および連結可能匿名化を実施する。担当部局内には匿名化あされていない遺伝子型情報が存在するために、その情報が漏出する危険が内在する。
- 5)参加者がコードを保持した連結不可能匿名化: 上記の匿名化の方法について、参加者にコードを渡すことにより、電話もしくはインターネットによる匿名のままにおいて情報を自らの遺伝子型情報を得る方法が可能である。

D. 考察

研究目的で収集される遺伝子型情報が漏洩しないよう研究者は十分な対策を取る必要がある。匿名化はそのために有用な方法であるが、その内容は一義的ではない。文部科学省・厚生労働省・経済産業3省による「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」(平成13年3月29日)の14 用語の定義(6)匿名化には「ある人の個人情報」が法令、本指針又は研究計

画に反して外部に漏洩しないように、その個人情報から個人を識別する情報の全部又は一部を取り除き、代わりにその人と関わりのない符号又は番号を付すことをいう」となっており、内部の担当者に対する匿名化は規定していない。研究担当者においても可能であれば、匿名化することが望ましく、本稿でいう「参加者リストを作成しない登録時の連結不可能匿名化」または「参加者リストのある遺伝子型検査前連結不可能匿名化」の研究システムは更に安全なシステムとすることができる。実際、連結不可能匿名化とは両匿名化の意味で用いられることも多く、そのことをはっきりさせずに議論していると議論のすれ違いが起こりうる。

E. 結論

匿名化の内容を定義することにより、各研究での匿名化のレベルの記述が可能となった。匿名化の議論を行う場合に、同じ理解のもとで討議を行うのに有用である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Hamajima N, et al. Precise definition of anonymization in genetic polymorphism studies. Asian Pac J Cancer Prev (in press).

2. 学会発表

熱田由子、浜島信之、他. Multiple PCR-CTPP の検診への応用. 第62回日本癌学会総会. 名古屋, 2003.

西尾和子、浜島信之、他. 名大病院検診受診者における遺伝子多型検査結果通知希望者の割合. 第14回日本疫学会. 山形, 2004.

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

難治性自己免疫疾患に対する造血幹細胞移植療法に関する研究

小池 隆夫（北海道大学大学院医学研究科分子病態制御学・第二内科・教授）
天崎 吉晴（北海道大学医学部附属病院第二内科・助手）

研究要旨

既存の治療に抵抗を示す難治性自己免疫疾患、特に全身性硬化症（強皮症）患者を対象として、磁気細胞分離システムにより純化した自家末梢血 CD34 陽性細胞移植を超大量免疫抑制療法について行うことで、従来の治療法に抵抗性の症例に対する本治療法の有効性ならびに安全性を検討し、本邦におけるその標準的方法を確立することを目的とした。同時に免疫学的な解析を行うことにより、難治性自己免疫疾患の病態への本治療法の作用機序を解析した。現在までに全身性強皮症患者 5 例に対して自家末梢血純化 CD34 陽性細胞移植併用超大量免疫抑制療法を施行し、うち 3 例は移植後約 3 年まで経過を観察中である。移植後比較的早期より皮膚硬化は改善し、この効果は上記 3 例で観察期間中持続性であった。血清学的検査所見、末梢血リンパ球亜分画およびサイトカイン遺伝子発現レベルの変動は皮膚症状の改善と平行せず、本療法は単純な免疫系のリセットिंगではない、より複雑な病態修飾作用を有すると推測された。また、移植に伴う病態の改善前後における末梢血単核細胞の解析により、病態修飾に伴う各種の免疫関連分子の遺伝子発現の変化が示され、こうした観察が強皮症の病態の解明へのアプローチとなる可能性が示唆された。今後症例の蓄積による治療の標準化が望まれるとともに、本治療法の病態への作用機序の更なる解析と、より長期の予後の評価が必要である。

1. 研究目的

自己免疫疾患は、自己組織に反応してこれを傷害する自己反応性リンパ球クローンや自己抗体によって発症する疾患と考えられ、その臨床像は多彩であり、現時点において根治的治療法は確立されていない。これまでのところ副腎皮質ステロイド剤や免疫抑制剤による免疫抑制療法が治療の主体となっており予後の改善が認められている。しかしながら、これらの治療法に抵抗を示す難治性症例も少なからず存在し、このような例は生命予後ならびに社会的予後が極めて不良である。

こうした難治性症例の病態改善のため、自

己反応性リンパ球クローンの除去が有効であると考えられ、かつ自己免疫疾患を合併した造血器悪性腫瘍における幹細胞移植療法における併存自己免疫疾患の病態改善から、臨床的にもその意義が示唆された。こうした臨床的観察および理論に基づき、造血幹細胞移植併用超大量免疫抑制療法について、近年欧米の一部の施設でその有効性が評価されつつある。しかしながらその作用機序や標準的実施法は未確立であり、また本邦における系統的な研究はなされていない。そこで本研究では、難治性自己免疫疾患に対する自家末梢血純化 CD34 陽性細胞移植併用超大量免疫抑制療法の治療法確立のため、その有効性、

安全性を検討するとともに、免疫学的解析を行うことにより難治性自己免疫疾患への本治療法の作用機序の解明を行い、さらに臨床試験の実施に資することを目的とした。

2. 研究方法

1. 対象症例

副腎皮質ステロイド剤、免疫抑制剤を含む既存の治療法に抵抗性の自己免疫疾患患者、特に全身性強皮症を対象として本治療法を実施した。適応判定に際しては60歳以上、高度の心不全、不整脈、腎障害等を有する症例等は除外した。また事前に十分なインフォームドコンセントを行い同意が得られ、かつ当院倫理委員会及び適応判定委員会の承認した症例を対象とした。

当科で適応となった症例は現在まで5例である。いずれも治療開始時点で発症3年以内で高度の皮膚硬化を認め、ステロイド、d-ペニシラミンを含む種々の治療歴を有していた。

2. 治療法

Granulocyte colony stimulating factor (G-CSF) 単独もしくは、Cyclophosphamide (CPA) $2 \text{ g/m}^2 \times 2$ 日間投与後、G-CSF を併用し末梢血中へ血液幹細胞を動員 (mobilization)、採取を行った。採取した末梢血幹細胞を磁気細胞分離システムを用いて CD34 positive selection を行い純化し凍結保存する。同時に CD34 純化を行わない末梢血幹細胞を back up 用として凍結保存した。CPA 200 mg/kg を4日間に分けて投与し移植前処置を行った。前処置後、純化凍結保存しておいた自家末梢血 CD34 陽性細胞を輸注し、その後、G-CSF 投与を行い造血能の回復を促した。

3. 免疫学的検討

治療過程における各種自己抗体価の変動を測定するとともに、末梢血リンパ球サブセットおよびサイトカイン産生能の変化を FACS により解析した。また末梢血単核細胞を材料に cDNAarray 法および Real-time RT-PCR 法による解析を行い、治療過程における免

疫・炎症関連分子の変動を観察した。

B. 研究結果

1. 臨床症状

平成14年までに3症例につき移植療法を実施し、また平成15年から本年にかけさらに2例に本治療法を実施した。皮膚所見については、初期の3症例はともに modified Rodnan total thickness skin score (mRodnan TSS) で25%以上の改善を認め、modified Health Assessment Questionnaire (mHAQ) についても一時的に全身状態の悪化した症例3を除いて著明な改善を認めた。さらに最長36ヶ月間 (平均32ヶ月) の経過観察でも皮膚症状の改善は持続している。症例4は観察期間が短いものの同様に改善傾向を示している。これらの症例については、呼吸機能、腎機能は移植後一過性に低下し、いずれも移植後約12ヶ月の時点で移植前値に回復した。臨床病態の改善の一方で、抗核抗体および抗 Scl-70 抗体の変動については陰性化した例はなく、症例間に一定の傾向は認められなかった。皮膚所見の改善と血清学的変化は必ずしも平行しないことが示唆された。

2. 安全性に関する検討

前述のプロトコールで mobilization を施行し、全5症例とも十分量の CD34 陽性細胞が採取され、移植後の造血能回復は速やかであった。移植後、全症例でサイトメガロウイルス抗原血症を認め、ガンシクロビルによる加療を行った。症例2については、移植後に血球貪食症候群の合併を認め、移植後7ヶ月後には自己免疫機序によると考えられる血小板減少を来した。症例3については、移植後、貧血を伴う出血性膀胱炎、心膜炎、心嚢液貯留による心機能低下、骨髄抑制を認め、最終的に自家末梢血幹細胞非選択移植を必要とし、長期入院による経過観察を要した。症例4, 5についてはサイトメガロウイルス抗原血症のみで同感染症を含む合併症を見ずに造血能は快復し退院に至った。現在はいずれの症例も外来通院中であり、定期的全身

精査で重篤な異常を認めていない。

3. 免疫学的検討

造血器疾患に対して自家末梢血純化 CD34 陽性細胞移植を施行した際は、一般にリンパ球数の回復が遅延することが知られている。当科症例における、末梢血単核球分画の推移についてフローサイトメトリーを用いて検討した。CD4/CD8 比は、移植後一過性に高値を示したが、移植後1年以上にわたり CD4/CD8<1 が持続している。一方、CD56⁺、CD19⁺、CD4⁺CD45RO⁻分画は、移植後、比較的速やかに回復した。同時に、末梢血単核球における炎症、免疫関連遺伝子の発現変動について cDNAarray 法を用いて観察した。移植前後で PBMC において発現レベルの増強がみられた遺伝子を TOYOBO 社の human cDNA immunology filter を用いて検索したところ、Interleukin 1 beta (IL-1 β), macrophage inflammatory protein 3 alpha (MIP-3 α), and monocyte chemoattractant protein 3 (MCP-3)、IL-12p35、IL-13、IL-15、TACE 等、種々のサイトカインの mRNA レベルでの発現量の変動を認めた。そこでこれらの遺伝子につき、さらに Real time RT-PCR 法を用いて健常者と強皮症患者間で定量的解析を行ったところ、IL-1 β 、MIP-3 α 、MCP-3、TACE については強皮症患者で有意な増加を認めた。現在これらの再現性や病態との関連を解析中である。

C. 考察

膠原病をはじめとした自己免疫疾患に対する根治的治療は現時点では存在せず、副腎皮質ステロイド剤、免疫抑制剤等による治療に抵抗し生命的、社会的予後が不良な症例も多く存在する。近年このような難治性自己免疫疾患に対して造血幹細胞移植併用超大量免疫抑制療法が有効であることが報告されている。これまで、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、強皮症、成人発症スティル病、筋炎等への治療成績が報告されており、

程度の差は array 病態の改善が得られたとする報告が多い。

強皮症に対する適応症例は 1997 年の Tyndall A, et al による報告が最初であり、2000 年の EBMT/EULAR (European League Against Rheumatism and European Group for Blood and Marrow Transplantation) の報告によれば、約 70% の症例で skin score で 25% 以上の改善が認められている。強皮症の治療法においては、従来使用されてきた d-ペニシラミンの有効性が近年否定的となり、これに代わり有効性が確立された免疫抑制療法も現状では存在しない。この点は全身性エリテマトーデス等の他の膠原病と異なり、また本症は放置した場合、症例により高度の身体機能障害、臓器病変を呈し QOL や生命予後を著しくおびやかす。このため EBMT/EULAR においても本症は自己免疫疾患における末梢血幹細胞移植療法の比較的良い対象として検討が続けられている。

皮膚病変への効果に比して臓器合併症への効果は評価が確立していない。また、強皮症においては治療関連死が 17% だったとする早期の報告があり、安全かつ有効な実施のための適応基準と移植前処置等はさらに十分な検討が必要である。

本治療法が自己免疫疾患の病態改善をもたらす機序は当初、超大量免疫抑制療法による免疫システム破壊と再構築と推測されていた。しかし当科強皮症症例における自己抗体価の変動、FACS、cDNAarray 法を用いた今回の評価では、著明な臨床病態改善が得られているにも拘らず、上記の検査所見は正常化に至っておらず、自己反応性リンパ球クローンの除去は病態改善には必須ではないと考えられた。本治療法はリンパ球活性化の背景となる抗原提示細胞や皮膚局所における線維芽細胞の機能等にも直接影響する可能性があり、より複雑な作用機構が推測された。

また、従来強皮症においては治療による病態の大きな改善を得ることが困難で、かつ患者は通常病変がある程度進行してから医療

機関を訪れるため、同一症例における罹病時と非罹病時の経時的比較検討はしばしば困難であった。その点、末梢血幹細胞移植療法では比較的短い期間に顕著な皮膚病変の改善が達成され、疾患の活動期と非活動期における比較が可能になりうる。今回の検討ではこの条件で cDNA array 法による PBMC を対象に疾患関連遺伝子の探索を行い、疾患活動性との関連が示唆される候補分子が示唆された。この方法で絞り込まれた候補分子をさらに患者 対照群比較にフィードバックし、mRNA あるいは蛋白分子レベルでの定量的検討を重ねることで、強皮症の発症と進展に関与する分子の同定の有益なアプローチとなることが期待され、末梢血幹細胞移植療法に伴う強皮症の病態変化は臨床・基礎医学両面からさらに解析を加えることが望ましいと思われた。

自己免疫疾患に対する本治療法の現在の問題点として以下の点が挙げられる。すなわち、(1) 治療関連死が約 10%存在すること。(2) 全症例に有効であるわけではないこと。(3) 有効と判断された症例においてもその長期予後および長期的合併症が不明なこと。(4) 日本人における至適薬剤の投与方法、投与量は確立していないこと。(5) 移植前後における免疫システムの変化および免疫システムの変化が臨床症状に与える影響が不明なこと、等である。今回の5症例ではいずれも安全に治療を実施し得ているが、より治療が最適化・標準化されることが、本治療法の更なる評価とともに望ましい。以上のことを踏まえ、自己免疫疾患の病態解明を進めるとともに、本治療法の有効性ならびに安全性を検討していくことが重要と考える。

D. 結論

全身性強皮症 5 症例に自家末梢血純化 CD34 陽性細胞移植併用超大量免疫抑制療法を施行した。いずれの例でも短期的に皮膚所見の改善を認め、うち 3 症例は皮膚所見改善の約

3 年に及ぶ持続を認めている。一方で各種治療合併症も存在し、臓器合併症への効果や長期予後がまだ明らかでないため、本療法の適用は引き続き慎重に検討されるべきである。今後症例の蓄積と適応除外基準、移植方法のさらなる適性化が必要であり、さらなる病態の解明と臨床試験を含む検討が望まれる。さらに本治療法の影響の解析が、単に強皮症の病態を改善するのみならず、本症の原因分子や真の病因の解明に寄与することが望まれる。

E. 健康危険情報

治療期間中、感染性と思われる発熱、ウイルス感染によると思われる出血性膀胱炎、血球貪食症候群、心膜炎、骨髄抑制等を認めた。抗生剤、抗ウイルス剤等の使用により加療可能であったが、1 症例で自家末梢血幹細胞非選択移植を必要とした。いずれの症状も造血能回復とともに軽快傾向を示した。

F. 研究発表

別紙添付のとおり。

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Li,N.,Nakamura,K.,Jiang,Y.,Tsurui,H.,Matsuoka,S.,Abe,M.,Ohtsuji,M.,Nishimura,H.,Kato,K.,Kawai,T.,Atsumi,T.,Koike,T.,Shirai,T.,Ueno,H.,Hirose,S.	Gain-of-function polymorphism in mouse and human Ltk:implications for the pathogenesis of lupus erythematosus.	Hum Mol Genet	13:2	171-179	2004
Endo,T.,Nakao,S.,Koizumi,K.,Nishio,M.,Fujimoto,K.,Sakai,T.,Kuwano,K.,Obara,M.,Koike,T.	Successful treatment with rituximab for autoimmune hemolytic anemia concomitant with proliferation of Epstein-Barr virus and monoclonalgammopathy in a post-nonmyeloblastic stem cell transplant patient.	Ann Hematol	83	114-116	2004
Nagasaka,K.,Harigai,M.,Tateishi,M.,Hara,m.,Yoshizawa,Y.,Koike,T.,Miyasaka,N.	Efficacy of combination treatment with cyclosporin A and corticosteroids for acute interstitial pneumonitis associated with dermatomyositis.	Mod Rheumatol	13	231-238	2003
Amengual O, Atsumi T, Koike T.	Specificities, properties, and clinical significance of antiprothrombin antibodies.	Arthritis Rheum	48:4	886-895	2003
Hashimoto S, Shiroshita K, Sakurai T, Takeda A, Kawata T, Koike T, Sato H, Ueda T.	Unilateral renal cortical necrosis with contralateral hydronephrosis after surgery for uterus carcinoma.	Clin Exp Nephrol	7:72		2003
Higuchi M, Ishizu A, Ikeda H, Hayase H, Fugo K, Tsuji M, Abe A, Sugaya T, Suzuki A, Takahashi T, Koike T, Yoshiki T.	Functional alteration of peripheral CD25(+)CD4(+)immunoregulatory T cells in a transgenic rat model of autoimmune diseases.	J Autoimmun	20:1	43-49	2003
Kawakubo K, Endo T, Koizumi K, Nishio M, Fujimoto K, Sakai T, Sawada K, Koike T.	Granular lymphocyte proliferative disorder after autologous peripheral blood stem cell transplantation for multiple myeloma.	Eur J Haematol	71	124-127	2003
Kobayashi K, Kishi M, Atsumi T, Bertolaccini ML, Makino H, Sakairi N, Yamamoto I, Yasuda T, Khamashta MA, Hughes GR, Koike T, Voelker DR, Matsuura E	Circulating oxidized LDL forms complexes with beta2-glycoprotein I: implication as an atherogenic autoantigen.	J Lipid Res	44:4	16-726	2003
Koizumi K, Nakao S, Haseyama Y, Kato H, Ohi M, Motohara T, Endo T, Sawada K, Koike T.	Severe aplastic anemia associated with thymic carcinoma and partial recovery of hematopoiesis after thymectomy.	Ann Hematol	82:6	367-370	2003
Oku K, Atsumi T, Furukawa S, Horita T, Sakai Y, Jodo S, Amasaki Y, Ichikawa K, Amengual O, Koike T.	Cerebral imaging by magnetic resonance imaging and single photon emission computed tomography in systemic lupus erythematosus with central nervous system involvement.	Rheumatology	42:6	73-777	2003
Sakai,Y.,Atsumi,T.,Itoh,T.,Koike,T	Uveitis,pancardotos,haemophagocytosis,and abdominal masses.	Lancet	361	834	2003
Shoenfeld Y, Krause I, Kvapil F, Sulkes J, Lev S, Landenberg P, Font J, Zaech J, Cervera R, Piette J, Boffa M, Khamashta M, Bertolaccini M, Hughes G, Youinou P, Meroni P, Pengo V, Alves J, Tincani A, Szegedi G, Lakos G, Sturfelt G, Jonsen A, Koike T, Sanmarcp M, Ruffatti A, Ulcova-gallova Z, Praprotnic S, Rozman B, Lorber M, Vriezman V.	Prevalence and Clinical Correlations of Antibodies Against Six β 2-Glycoprotein-I-Related Peptides in the Aintiphospholipid Syndrome.	J Clin Immunol	23:5	375	2003
Wu R, Shoenfeld Y, Sherer Y, Patnaik M, Matsuura E, Gilburd B, Koike T, Peter JB.	Anti-idiotypes to oxidized LDL antibodies in intravenous immunoglobulin preparations--possible immunomodulation of atherosclerosis.	Autoimmunity	36:2	91-97	2003

1. Li, N., Nakamura, K., Jiang, Y., Tsurui, H., Matsuoka, S., Abe, M., Ohtsuji, M., Nishimura, H., Kato, K., Kawai, T., Atsumi, T., Koike, T., Shirai, T., Ueno, H., Hirose, S. Gain-of-function polymorphism in mouse and human Ltk: implications for the pathogenesis of lupus erythematosus. *Hum Mol Genet* 13:2 171-179 2004
2. Endo, T., Nakao, S., Koizumi, K., Nishio, M., Fujimoto, K., Sakai, T., Kuwano, K., Obara, M., Koike, T. Successful treatment with rituximab for autoimmune hemolytic anemia concomitant with proliferation of Epstein-Barr virus and monoclonal gammopathy in a post-nonmyeloblastic stem cell transplant patient. *Ann Hematol.* 83:114-116. 2004
3. Amengual O, Atsumi T, Koike T. Specificities, properties, and clinical significance of antiprothrombin antibodies. *Arthritis Rheum* 48(4):886-895 2003
4. Hashimoto S, Shiroshita K, Sakurai T, Takeda A, Kawata T, Koike T, Sato H, Ueda T. Unilateral renal cortical necrosis with contralateral hydronephrosis after surgery for uterus carcinoma. *Clin Exp Nephrol* 2003;7 72
5. Higuchi M, Ishizu A, Ikeda H, Hayase H, Fugo K, Tsuji M, Abe A, Sugaya T, Suzuki A, Takahashi T, Koike T, Yoshiki T. Functional alteration of peripheral CD25(+)CD4(+) immunoregulatory T cells in a transgenic rat model of autoimmune diseases. *J Autoimmun* 20:1 43-49 2003
6. Kawakubo K, Endo T, Koizumi K, Nishio M, Fujimoto K, Sakai T, Sawada K, Koike T. Granular lymphocyte proliferative disorder after autologous peripheral blood stem cell transplantation for multiple myeloma. *Eur J Haematol* 71:124-127 2003
7. Kobayashi K, Kishi M, Atsumi T, Bertolaccini ML, Makino H, Sakairi N, Yamamoto I, Yasuda T, Khamashta MA, Hughes GR, Koike T, Voelker DR, Matsuura E. Circulating oxidized LDL forms complexes with beta2-glycoprotein I: implication as an atherogenic autoantigen. *J Lipid Res* 44(4):716-726 2003
8. Koizumi K, Nakao S, Haseyama Y, Kato H, Ohi M, Motohara T, Endo T, Sawada K, Koike T. Severe aplastic anemia associated with thymic carcinoma and partial recovery of hematopoiesis after thymectomy. *Ann Hematol* 82(6):367-370 2003
9. Oku K, Atsumi T, Furukawa S, Horita T, Sakai Y, Jodo S, Amasaki Y, Ichikawa K, Amengual O, Koike T. Cerebral imaging by magnetic resonance imaging and single photon emission computed tomography in systemic lupus erythematosus with central nervous system involvement. *Rheumatology* 2003;42(6) 773-777
10. Sakai, Y., Atsumi, T., Itoh, T., Koike, T. Uveitis, pancarditis, haemophagocytosis, and abdominal masses. *Lancet* 361:9360.834.2003.
11. Shoenfeld Y, Krause I, Kvapil F, Sulkes J, Lev S, Landenberg P, Font J, Zaech J, Cervera R, Piette J, Boffa M, Khamashta M, Bertolaccini M, Hughes G, Youinou P, Meroni P, Pengo V, Alves J, Tincani A, Szegedi G, Lakos G, Sturfelt G, Jansen A, Koike T, Sanmarco M, Ruffatti A, Ulcova-gallova Z, Praprotnic S, Rozman B, Lorber M, Vriezman V. Prevalence and Clinical Correlations of Antibodies Against Six β 2-Glycoprotein-I-Related Peptides in the Antiphospholipid Syndrome. *J Clin Immunol* 23(5):375 2003
12. Wu R, Shoenfeld Y, Sherer Y, Patnaik M, Matsuura E, Gilburd B, Koike T, Peter JB. Anti-idiotypes to oxidized LDL antibodies in intravenous immunoglobulin preparations--possible immunomodulation of atherosclerosis. *Autoimmunity* 2003;36:2 91-97

厚生労働科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療研究事業）

分担研究報告書

活性化 CD4 陽性リンパ球による DLI のための臨床試験体制の
確立と実施に関する研究

分担研究者：伊藤 仁也 先端医療センター再生医療研究部主任研究員

研究要旨

DLI の問題点を解決すべく、固相化 CD3 抗体と IL-2 を用いた活性化した CD4 陽性細胞を造血細胞移植後の白血病の再発および、移植後免疫不全での難治性ウイルス感染症に対し、輸注する臨床研究を行なってきた。

白血病に対する活性化ドナー CD4 輸注の成績は評価可能な 28 例を解析し、寛解導入率は AML で 36%, ALL 36%, CML (AP) 33% であった。また III 度以上の GVHD は 16% であった。活性化ドナー CD4 輸注療法の急性副作用としては、発熱、頭痛が 1 例ずつ認められた。血小板減少症は 13%, 顆粒減少症は 9% であった。重篤な副作用として腹水の貯留、心膜炎、TMA、BO がそれぞれ 1 例ずつ認められた。また移植後の難治性ウイルス感染症に対しては、CMV 感染症で 7/10, Adeno virus 感染症で 4/4 で有効であり、移植後に問題となる難治性ウイルス感染症の新しい治療として、臨床研究を行なう準備を開始した。臨床研究に先駆け、このような細胞治療の臨床試験体制を確立するためには、GMP に則った細胞の製造、品質管理体制を整え、東京医科歯科大学でわが国初の感染症に対しても cell processing 可能な細胞治療センターを完成させ、ISO 9001 を取得した。

研究協力者

森尾 友宏 東京医科歯科大学総合診療部

清水 則夫 東京医科歯科大学難治疾患研究所ウイルス感染学

加藤 剛二 名古屋第一赤十字病院

関根 暉彬 株式会社リンフォテック