

録があり、集積速度は増加中である。

D. 考察

同種 PBSCT は、2000 年 4 月の保険適用以来急速に普及し、1 ヶ月で 50-60 例、1 年で 600 例以上に実施され、2002 年 3 月までに 1,300 例以上に実施されるものと予想されている。一方、UD-BMT も既に 3,000 例以上に実施され、その成績も血縁ドナー BMT と遜色無いことが明らかにされており、白血病に対する有力な治癒的治療法と位置づけられている。このように、同種 BMT (1 年間 400-500 例) よりも同種 PBSCT がより多く実施されているが、同種 PBSCT が同種 BMT に比べて、有利な点、不利な点はまだ充分明らかにされていない。したがって、同種 BMT と同種 PBSCT の prospective randomized study は極めて重要な意義を有し、その成績は非血縁ドナー PBSCT を実行可能にするためにも不可欠な判断根拠となりうる。これまで欧米で行われた同種 BMT と同種 PBSCT の無作為化比較試験では、同種 PBSCT における速やかな生着については一致した結果が得られているが、急性及び慢性 GVHD の頻度や重症度については一致した成績は得られていない。欧米の成績を日本のケースに当てはめる場合、生着のスピードは遺伝的、生理学的に人種的差の影響を受けにくいと考えられ、このことを否定する報告はない。一方、同種免疫反応である GVHD の頻度や重症度には人種的差の影響があることは明白であり、欧米人で得られたデータの外挿可能性は低い。特に急性 GVHD の頻度については海外データにおいても結論が出たとは言えず、適切な対象を置き、よく管理された臨床試験がわが国においても必要である。また、移植片拒絶、移植細胞数の影響、造血能・免疫能の長期維持、小児患者における有用性、費用対効果など同種 PBSCT に関してはまだ充分明らかにされていない。

E. 結論

本研究は、造血幹細胞領域では本邦における最大規模の臨床試験のひとつであり、この領域における臨床研究体制の確立につながり、さらにアジア地域における幹細胞ソース選択のための科学的エビデンス作りとなる。そして、非血縁ドナーからの同種 PBSCT 実施に向けた基礎データが蓄積される。

F. 健康危険情報

同種末梢血幹細胞ドナーに関わる有害事象に

つき海外情報をも含めた文献学的検討を行った結果、海外において少なくとも 8 例の死亡事例が存在することが明らかになった。同種造血細胞移植ドナーは健常者でなければならないという原則を逸脱したものであった。わが国で行われた同種 PBSCT のためのドナー登録では、2000 年 4 月から 2002 年 12 月までの間に登録された 2000 人以上のドナーで、PBSC 採取約 1 年後に、急性骨髄性白血病を発症し死亡した 1 症例が報告された。PBSC 採取と急性骨髄性白血病発症の因果関係は現時点では明らかでない。今後 PBSC ドナーフォローアップを確実にし、重篤な合併症の有無を慎重に検討する。日本骨髄移植バンクを介する非血縁者間骨髄移植においては、全身麻酔下での骨髄採取を受けるボランティアドナーの安全性確保が十分考慮され、定期的な安全基準の見直しやドナーのフォローアップ体制が整備されている。同種末梢血幹細胞移植のための末梢血幹細胞の動員・採取を受ける健常人ドナーは比較的高用量の G-CSF 投与や大量の血液体外循環によるアフェレーシスが必要であり、安全確保のために日本造血細胞移植学会と日本輸血学会により示されているガイドラインを遵守する。ガイドラインは 2003 年中に改定され、よりドナー安全を重視したものとなる。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Yamadaki S, Iino T, Nakamura M, Henzan H, Ohshima K, Kikuchi M, Otsuka T, Harada M: Detection of human herpesvirus-8 in peripheral blood mononuclear cells from adult Japanese patients with multicentric Castlemans disease. *Br J Haematol* 120:471-477,2003
2. Ishikawa T, Mizunoe Y, Kawabata S, Takade A, Harada M, Wai SN, Yshida S: The iron-binding protein Dps confers hydrogen peroxide stress resistance to *Campylobacter jejuni*. *J Bacteriol* 185:1010-1017,2003
3. Shibakura M, Niiya K, Kiguchi T, Kitajima I, Niiya M, Asaumi N, Huh N, Nakata Y, Harada M, Tanimoto M: Induction of IL-8 and monocyte chemoattractant protein-1 by doxorubicin in human small cell lung carcinoma cells.

- Int J Cancer 103:380-386,2003
4. Takagi N, Fujiwara K, Ueoka H, Kiura K, Tabata M, Hiraki A, Shibayama T, Segawa Y, Kamei H, Kiraki S, Tanimoto M, Harada M: Fractionated administration of irinotecan and cisplatin for treatment of extensive-disease small-cell lung cancer: A phase II study. *Anticancer Res* 23:557-560,2003
 5. Sezaki N, Ishimaru F, Takata M, Tabayashi T, Nakase K, Kozuka T, Fujii K, Nakayama H, Teshima T, Harada M, Tanimoto M: Overexpression of the dominant-negative isoform of Ikaros confers resistance to dexamethasone-induced and anti-IgM-induced apoptosis. *Br J Haematol* 121:165-169,2003
 6. Fujii K, Ishimaru F, Nakase K, Tabayashi T, Kozuka T, Naoki K, Miyahara M, Toki H, Kitajima K, Harada M, Tanimoto M: Overexpression of short isoforms of Helios in patients with adult T-cell leukaemia/lymphoma. *Br J Haematol* 120:986-989,2003
 7. Kozuka T, Ishimaru F, Fujii K, Masuda K, Kaneda K, Imai T, Fujii N, Ishikura H, Kongo S, Watanabe T, Shinagawa K, Ikeda K, Niiya K, Harada M, Tanimoto M: Plasma stromal cell-derived factor-1 during granulocyte colony-stimulating factor-induced peripheral blood stem cell mobilization. *Bone Marrow Transplant* 31:651-654,2003
 8. Yamamoto K, Ishiai M, Matsushita N, Arakawa H, Lamerdin JE, Buerstedde JM, Tanimoto M, Harada M, Thompson LH, Takata M: Fanconi anemia FANCG protein in mitigating radiation-and enzyme-induced DNA double-strand breaks by homologous recombination in vertebrate cells. *Molecular and Cellular Biology* 23:5421-5430, 2003
 9. Yamasaki M, Henzan H, Ohno Y, Yamanaka T, Iino T, Ito Y, Kuroiwa M, Maeda M, Kawano N, Kinukawa N, Miyamoto T, Nagafuji K, Shimoda K, Inaga S, Hayashi S, Taniguchi S, Shibuya T, Gondo H, Otuska T, Harada M for Fukuoka Blood and Marrow Transplantation Group: Influence of transplanted dose of CD56⁺ cells on development of graft-versus-host disease in patients receiving G-CSF-mobilized peripheral blood progenitor cells from HLA-identical sibling donors. *Bone Marrow Transplant* 32:505-510,2003
 10. Makita M, Azuma T, Hamaguchi H, Miiya H, Kojima K, Fujita S, Tanimoto M, Harada M, Yasukawa M: Leukemia-associated fusion proteins, dek-can and bcr-able, represent immunogenic HLA-DR-restricted epitopes recognized by fusion peptide-restricted epitopes recognized by fusion peptide-specific CD34⁺ T lymphocytes. *Leukemia* 16:2400-2407,2003
 11. Kiura K, Ueoka H, Sagawa Y, Tabata M, Kamei H, Takigawa N, Hiraki S, Watanabe Y, Bessho A, Eguchi K, Okimoto N, Harita S, Takemoto M, Hiraki Y, Harada M, Tanimoto M, for the Okayama Lung Cancer Study Group: Phase I / II study of docetaxel and cisplatin with concurrent thoracic radiation therapy for locally advanced non-small-cell lung cancer. *British J Cancer* 89:795-802,2003
 12. Sagawa Y, Ueoka H, Kiura k, Tabata M, Takigawa N, Hiraki Y, Watanabe Y, Yonei Y, Moritaka T, Hiyama J, Hiraki S, Tanimoto M, Harada M for the Okayama Lung Cancer Study Group: Phase I / II study of altred schedule of cisplatin and etoposide administration and concurrent accelerated hyperfractionated thoracic radiotherapy for limited-stage small cell lung cancer. *Lung Cancer* 41:13-20,2003
 13. Fujii M, Tanimoto Y, Takata M, Takao K, Hamada N, Suwaki T, Kawata N, Takahashi K, Harada M, Tanimoto M: Association of IgG Fc receptor II with tyrosine kinases in the human basophilic

- leukemia cell line KU812F: *Allegology International* 52 :149-154,2003
14. Karube K, Ohshima K, Tsuchiya T, Yamaguchi T, Suefuji H, Suzumiya J, Harada M, Kikuchi M: Non-B, non-T neoplasms with lymphoblast morphology. Further clarification and classification. *Am J Surg Pathol* 27:1-9,2003
 15. Sezaki N, Ishimoru F, Tabayashi T, Kataoka I, Nakase K, Fujii K, Kozuka T, Nakayama H, Harada M, Tanimoto M: The Type 1 CD10/neutral endopeptidase 24.11 promoter: functional characterization of the 5'-untranslated region. *Br J Haematol* 123:177-183,2003
 16. Kato K, Kamesaki K, Shimoda K, Numata A, Haro T, Aoki K, Ishikawa F, Takase K, Ariyama H, Matsuda T, Miyamoto T, Nagafuji K, Gondo H, Nakayama K, Harada M: Intracellular signal transduction of interferon on the suppression of haematopoietic progenitor cell growth. *Br J Haematol* 123:528-535,2003
 17. Karube K, Oshima K, Tsuchiya T, Yamaguchi T, Suefuji H, Suzuyama J, Harada M, Kikuchi M: Non-B, non-T neoplasms with lymphoblast morphology. Further clarification and classification. *Am J Surg Pathol* 27:1366-1374,2003
 18. Kawano N, Gondo H, Kamimura T, Aoki K, Iino T, Ishikawa F, Miyamoto T, Nagafuji K, Shimoda K, Hayashi S, Otsuka T, Kazuyama Y, Harada M: Chronic graft-versus-host disease following varicella-zoster virus infection in allogeneic stem cell transplant recipients. *Int J Hematol* 78:370-373,2003
 19. Takao K, Tanimoto Y, Fujii M, Hamada N, Yoshida I, Ikeda K, Imajo K, Takahashi K, Harada M, Tanimoto M : In vitro expansion of human basophils by interleukin-3 from granulocyte colony-stimulation factor-mobilized peripheral blood stem cells : *Clin Exp Allergy* 33 : 1561-1567,2003
 20. Aoki K, Shimoda K, Oritani K, Matsuda T, Kamezaki K, Muromoto R, Numata A, Tamiya S, Haro T, Ishikawa F, Takase K, Yamamoto T, Yumioka T, Miyamoto T, Nagafuji K, Gondo H, Nagafuchi S, Nakayama KI, Harada M : Limitin, an interferon-like cytokine, transduces inhibitory signals on B-cell growth through activation of Tyk2, but not Stat1, followed by induction and nuclear translocation of Daxx : *Exp Hematol* 31 : 1317-1322,2003
 21. 齊藤崇、原雅道、品川克至、名和由一郎、中瀬浩一、竹内誠、宮田明、福田俊一、角南一貴、今城健二、矢野朋文、小島研介、豊嶋崇徳、藤井伸治、石丸文彦、池田和真、原田実根、谷本光音 : 好口球減少時の発熱に対するCefozopranの有効性に関する検討 : 癌と化学療法 31 : 61-65,2004
 22. Fujii K, Ishimaru F, Kozuka T, Matsuo K, Nakase K, Kataoka I, Tabayashi T, Shinagawa K, Ikeda K, Harada M, Tanimoto M : Elevation of serum hepatocyte growth factor during granulocyte colony-stimulating factor-induced peripheral blood stem cell mobilization: *Br J Haematol* 124 : 190-194,2004
 23. 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, Takaue Y, Harada M, Mineishi S, for Japanese group for blood and marrow transplantation: 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
 24. Tanaka K, Yamada M, Ono T, Noguchi Y, Uenaka A, Ota S, Hata H, Harada M, Tanimoto M, Nakayama E : Inhibition of RL male 1 tumor growth in BALB/c mice by introduction of the Rlakt gene coding for antigen recognized by cytotoxic T-lymphocytes and the GM-CSF gene by in

vivo electroporation : Cancer Sci 95 :
1-6,2004

学会発表

1. 医の立場から、第 92 回日本病理学会総会(市民フォーラム)、2003 年 4 月 25 日
2. 原田実根：教育講演「末梢血幹細胞移植の動員・採取ガイドライン」、第 51 回日本輸血学会総会、2003 年 5 月 29 日、北九州市
3. 原田実根：Allo-PBSCT vs Allo-BMT、PBSCT 研究会、2003 年 7 月 26 日、出雲市
4. 原田実根：Allo-BMT vs Allo-PBSCT について、幹細胞移植フォーラム、2003 年 7 月 31 日、東京都
5. 原田実根：末梢血幹細胞移植の現状と問題点、第一回ひがし東京血液疾患研究会特別講演、2003 年 9 月 6 日、東京都
6. 原田実根：自己免疫疾患に対する造血幹細胞移植、第 23 回日本アレルギ学会学術大会イブニングセミナー、2003 年 10 月 3 日、東京都
7. 原田実根：造血幹細胞移植をめぐる諸問題、愛媛大学医学部第一内科開講 30 周年記念講演会特別講演、2003 年 10 月 11 日、松山市
8. 原田実根：末梢血幹細胞移植の現況、第 9 回多摩血液懇話会、2003 年 11 月 8 日、東京都
9. 原田実根：造血幹細胞移植法の適応拡大—ミニ・トランスプランテーション、日本内科学会学術集会第 31 回内科学の展望「血液疾患および腎臓移植の診断と治療の進歩」、2003 年 11 月 9 日、大阪市
10. 原田実根：造血幹細胞移植とは、厚生労働科学研究費成果等普及啓発フォーラム「より良い白血病治療 in 福岡」2003 年 12 月 27 日、福岡市
11. 原田実根：造血幹細胞移植最近の話題、西日本がんセミナー、2004 年 2 月 13 日、京都市
12. 原田実根：アジア輸血シンポジウム「日本と韓国における造血幹細胞バンク及び移植の現状と将来」、第 51 回日本輸血学会総会、2003 年 5 月 29 日、北九州市
13. Harada M., Imajo K, Shinagawa K., Gondo H., Kawano F., Ogawa M., Takaku F.,: Randomized Phase Study of Maintenance Chemotherapy versus High-Dose Chemotherapy with Autologous Peripheral Blood Stem Cell Transplantation as Postremission Therapy of AML. 32nd Annual Scientific Meeting of the International Society for Experimental Hematology, Paris, France, July 5-8, 2003
14. Kusumi i Tanimoto T., Maruta A., Kasai M., kamimura T., Kami M., Takaue Y., Harada M.: Retrospective comparison of graft-versus-host disease (GVHD) and graft-versus-leukemia (GVL) effect following allogeneic bone marrow (BM) and peripheral blood (PB) transplantation for acute myelogenous leukemia (AML). 32nd Annual Scientific Meeting of the International Society for Experimental Hematology, Paris, France, July 5-8, 2003
15. Otsuka T., Iino T., Maeda M., Hengan H., Yamasaki S., Gondo H., Harada M.: CD25 positive T cells suppress mixed lymphocyte reaction in allogeneic peripheral blood stem cell transplantation. 32nd Annual Scientific Meeting of the International Society for Experimental Hematology, Paris, France, July 5-8, 2003
16. Hayashi S., Kamimura T., Miyamoto T., Nagafuji K., Taniguchi S., Gondo H., Harada H.: Autologous peripheral blood stem cell transplantation with granulocyte-colony stimulating factor combined preparative regimen for acute promyelocytic leukemia in first remission. 32nd Annual

Scientific Meeting of the
International Society for
Experimental Hematology, Paris,
France, July 5-8, 2003

17. Hamaki T., Tanimoto T., Ohno Y.,
Nishiwaki K., Tanaka J., Kobayashi T.,
Takaue Y., Harada M.: Retrospective
comparison of allogeneic
hematopoietic stem cell
transplantation (HSCT) with bone
marrow (BM) and granulocyte
colony-stimulating factor-mobilized
peripheral blood progenitor cells
(PBSCs) in Japanese Patients with
myelodysplastic syndromes (MDS). .
32nd Annual Scientific Meeting of the
International Society for
Experimental Hematology, Paris,
France, July 5-8, 2003
18. Miyamoto T., Imamura R., Harada M.,
Inaba S.: Mobilization of human B
lymphoid progenitors after treatment
with granulocyte colony-stimulating
factor. . 32nd Annual Scientific
Meeting of the International Society
for Experimental Hematology, Paris,
France, July 5-8, 2003

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

「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 又は分担）研究者 小寺良尚 名古屋第一赤十字病院第四内科部長

分担研究者 坂巻 壽

東京都立駒込病院 血液内科
部長

A. 研究目的

2000年4月の同種末梢血の保険収載以来、我が国での同種末梢血移植は、急速に増加している。同種末梢血採取では欧米で少なからぬドナーの死亡事故も報告されており、全身麻酔を行わない末梢血採取が必ずしも安全とは言えない。患者の成績とドナーの安全の面から最適な幹細胞採取量の基準が現時点では明確になっていない。そこで、同種末梢血幹細胞ドナーのデータを解析し、安全に移植できる必要最小量の末梢血幹細胞数を推定する。

B. 研究方法

上記の目的を達成するために1996年10月から2002年11月までに都立駒込病院で採取された同種末梢血ドナーからのCD34+細胞の採取効率の実態を後方視的に解析した。

（倫理面への配慮）

当院での幹細胞提供者については、倫理委員会の承認のもと、文書で同意を得て行っている。

C. 研究結果

CD34+細胞は $4.18 \pm 3.87 \times 10^6/\text{kg}$ （患者体重）と平均では十分採取できているが、個人差が

多く、 $2 \times 10^6/\text{kg}$ 以下のドナーは15例あった。しかし、 $2 \times 10^6/\text{kg}$ 未満とこれ以上の場合の移植後の患者の造血回復には有意差が認められなかった。

D. 考察

欧米の報告ではCD34+細胞数 $4 \sim 5 \times 10^6/\text{kg}$ を採取目標にしている場合が多い。もし高い目標値を設定すれば、ドナーに過剰の負担を与えることになる。今回 $2 \times 10^6/\text{kg}$ 未満のCD34+細胞でも十分造血は回復することが確認され、このことは、ドナーへの過重な負担を回避する結果につながるものと思われる。

E. 結論

今度さらに、生着が確保される幹細胞数の確認と、移植の成功率の観点を含めた調査が必要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

分担研究報告書

同種末梢血幹細胞移植の有用性に関する研究

分担研究者 谷本光音 岡山大学大学院医歯学総合研究科 教授

研究要旨 同種末梢血幹細胞移植(allo-PBSCT)の確立を目的として臨床的検討を行った。健常人ドナーに対する G-CSF 投与による PBSCT 採取は比較的高齢者まで安全に実施可能であるが、稀に心血管障害や脾臓破裂などの有害事象やアフェレーシスに伴う合併症などがあり、ドナー適格性と実施方法に関して条件設定が必要である。ドナー数の増加に伴い白血病など稀な疾患が発症する事象がみられており、現行の全例登録システムによる長期安全性の検討が必要である。Allo-PBSCT と同種骨髄移植との前方向的比較試験は、ドナーの観点からも将来非血縁者間 allo-PBSCT を具体化するために必須である。PBSCT を用いた骨髄非破壊的移植(RIST)は、移植前処置に伴う副作用が軽度であり、高齢者や臓器機能低下者での feasibility は確立された。造血器腫瘍に関しては、移植時に化学療法感受性であるなど病状が安定していることが良好な予後に関与することが示唆された。今後適切な施行病期、前処置と免疫抑制法、幹細胞ソース、また固形腫瘍に関しては疾患別の抗腫瘍効果を明らかにする必要がある。

A. 研究目的

同種骨髄移植(allogeneic-Bone Marrow Transplantation;allo-BMT)に代わる新しい造血幹細胞移植法として、同種末梢血幹細胞移植(allogeneic-Peripheral Blood Stem Cell Transplantation;allo-PBSCT)の確立を目的とする。本研究では、健常人同胞ドナーからの PBSCT の至適採取法および、PBSCT を用いる同種移植術式を確立する。さらに PBSCT を用いた骨髄非破壊的移植(Non myeloablative stem cell transplantation:NST or Reduced intensity stem cell transplantation:RIST)の臨床研究を行う。本年度の報告書では、①岡山大学血液・腫瘍内科における健常人ドナーからの PBSCT 採取の至適方法と安全性の検討、②岡山大学血液・腫瘍内科と九州大学第一内科の共同研究による RIST の成績、を報告する。①Allo-PBSCT は平成 12 年 4 月より保険診療が承認され、Granulocyte colony-stimulating factor(G-CSF)動員による末梢血幹細胞(PBSC)提供ドナーは、日本造血細胞移植学会(JSHCT)による全例登録システムが 2000 年 4 月されており、平成 16 年 3 月現在 2800 例以上が登録され、ドナーに関するデータが集積されつつあるが 5 年以上の長期観察のデータは出されていない。至適 PBSCT 採取法の確立のため岡山大学医学部血液・腫瘍内科でのドナー 70 例に関して、(1)55 歳以上の高齢者採取例、(2)PBSCT 採取不十分例の背景因子、(3)採取量予測因子としての末梢血中幼若顆粒球数の検討、(4)全ドナーに関する有害事象の種類と頻度、(5)採取後 5 年以上経過したドナーの予後、に関して検討した。②Allo-PBSCT では、allo-BMT に比し多量の造血幹細胞が得られることと、リンパ球輸注が実施しやすい利点から allo-PBSCT を用いた RIST の臨床研究が注目されている

が、我々の自験例を検討する。

B. 研究方法

①岡山大学医学部血液・腫瘍内科での、ドナー 71 例に関して、(1)55 歳以上のドナー 12 例での安全性の検討、(2)採取不十分例の背景因子の検討、(3)CD34 陽性細胞の採取量予測のための末梢血中の幼若顆粒球(Circulating Immature Cell;CIC)数の解析を行った。(4)全ドナーでの有害事象の種類と頻度、(5)JSHCT によるドナー登録システム開始以前に採取を行い、観察期間が 5 年以上のドナー 30 例の予後、に関して検討した。②骨髄非破壊的移植(NST or RIST)は、従来の同種移植における前処置での副作用の軽減と、Graft versus Tumor(GVT)効果を意図した新しい移植法であり、岡山大学医学部血液・腫瘍内科と九州大学医学部第一内科で実施した造血器腫瘍と固形癌、計 33 例を解析した。

C. 研究結果

①岡山大学医学部第二内科において経験された G-CSF 動員 PBSCT ドナーは 71 例である。(1)55 歳以上の高齢者ドナーは 12 例(計 13 回採取)である(最高齢 68 歳)。1 例は再移植の必要性から 2 度の採取を実施した。年齢は平均 60 歳、白血球最高値は平均 38,300/ μ l、血小板最低値は平均 98,000/ μ l であり、骨痛などの副作用も若年者と同様であった。採取された CD34+細胞数は、平均 3.72 (1.84-10.0) $\times 10^6$ /kg と良好であったが、血管脆弱性によるブラッドアクセスの不十分例が 1 例、高血圧の既往歴のあるドナーでアフェレーシス中の迷走神経反射出現が 1 例にみられた。G-CSF 投与による二度の動員採取を実施した例では、一度目と二度目の間隔は

6 か月であり、二度目の採取量及び副作用ともに初回と同様であった。(2) 採取不十分例に関して、G-CSF 投与中の day4 と day0 (投与前) の血液学的因子を解析した。採取不十分例では、末梢血中に出現する幼弱白血球数 (後骨髄球、骨髄球、前骨髄球の総計; CIC)、LDH、CRP に関して、day4/day0 比が低値であった。また G-CSF 投与前の末梢血中 CD34 陽性細胞数は有意に低値であったが、採取された CD34 陽性細胞数との相関は認められなかった。したがって採取不十分例を予測する有意な指標は見いだせなかった。(3) CIC の解析では、採取日(day4)における CIC 数と処理血液量 1L あたりの CD34+細胞数の間に有意な正の相関がみられた。また CIC 数 $1.7 \times 10^9/L$ を cut off 値とすると、処理血液量 1L あたり 20×10^6 以上の CD34+細胞が得られる事象の感度と特異性はそれぞれ 64.7%と 77.5%であった。(4) 71 例 (採取 72 回) 全例の有害事象に関しては、VVR が 3 例(4.2%)、過呼吸症候群が 1 例、カテーテル穿刺部血腫による貧血が 1 例、脾臓腫大による痛みが 1 例(1.3%)、帯状疱疹が 1 例、にみられた。VVR の 3 例中、血圧低下と徐脈が 1 例づつみられたが、対象療法により速やかに軽快した。脾臓痛は day4 の朝より出現し、脾腫は $10 \times$ から $13 \times$ へと増大していた。採取は day4 に 1 回行き無事終了し、脾腫も軽快した。(5) 採取後 5 年以上 (最長 8 年 11 ヶ月) を経たドナー 30 例に関して、うち 15 例は現時点で追跡中であるが、明らかな健康障害は認められていない。その他の 15 例では、ドナー本人および家族よりの健康障害に関する問い合わせはみられていない。

②岡山大学医学部血液・腫瘍内科および九州大学医学部第一内科において、1999 年 1 月～2003 年 2 月に実施した NST 33 例を解析した。年齢は 16-67 歳で中央値 53 歳、疾患状態は寛解期 5 例、非寛解期 28 例であり、再移植が 5 例含まれていた。疾患は AML 7 例(1 例は再移植)、ALL 1 例、MDS 4 例(RA, CMMOL, RAEB2 例)、NHL 8 例(1 例は再移植)、MM2 例、AA(VSAA)1 例、固型癌 9 例(腎癌 4 例、胃癌、胃カルチノイド、大腸癌、膵臓癌、神経鞘腫)であった。RIST を選択した理由は、再移植、高齢、腎障害、難治性感染症、進行癌などである。ドナーは血縁で HLA 一致が 22 例、不一致が 8 例、非血縁は 3 例。移植前処置法は、fludarabine (Flu) $25 \text{mg}/\text{m}^2/\text{day} \times 5$ 日間と cyclophosphamide (CY) $30 \text{mg}/\text{m}^2/\text{day} \times 2$ 日間を基本としたものが 24 例、Flu と BUS、MEL、Ara-C、Rituximab、ATG などの薬剤の組み合わせが 9 例、GVHD 予防は CSP/sMTX が 31 例その他 2 例、移植された CD34+細胞数は $3.9(1.6-10.8) \times 10^6/\text{kg}$ であった。移植後造血回復は好中球 $> 500/\mu\text{l}$ に 13(7-40) 日、血小板 $> 20000/\mu\text{l}$ 以上に 15(8-30) 日であった。再移植例の 1 例で VOD による早期死亡がみられたが、移植時の副作用は NCI-CTC の基準で 3 度以上は 17%(4/23 例)であり臨床的に管理は容易であった。急性 GVHD は grade III 以上が 22%(7/32 例)にみられ 2 例死亡した。

また慢性 GVHD は全例 extensive type で 42%(10/24 例)にみられ 1 例死亡した。移植後のキメリズム解析 (VNTR 法)では、day28 においてリンパ球(CD3)系または多核球系に関して、93%(30/32)の症例で 90%以上のドナー型が達成され、リンパ球(CD3)系の達成がより早かった。造血器腫瘍では評価可能 70%(21/15)に CR が得られ、移植後 2 年での予測 OS は 62%であった(観察期間中央値 17 ヶ月)。その他の non-CR 例は 5 ヶ月以内に全例死亡した。また移植前に化学療法感受性を有するかまたは寛解状態であった 9 例は 8 例寛解を維持し生存中であるが 1 例再発死亡した。非寛解期の症例では多く再発し OS は 22%であった(観察中央値 17 ヶ月)。固型癌では、実施の feasibility に関しては、全例 toxicity は grade 2 以下であり、臨床的に容易に管理可能であった。腎癌の 4 例中 1 例は PR、2 例は SD、1 例 PD であり移植後 71-585 日で全例生存中である。PR の 1 例は全身型の慢性 GVHD が続いており、ステロイドの投与を続けているが、抗腫瘍効果は約 12 ヶ月継続した。膵臓癌の 1 例は急性 GVHD を合併し、一時的に PR に至る抗腫瘍効果がみられたが、短期間に PD となり移植後 189 日で死亡した。胃癌、胃カルチノイド、大腸癌、神経鞘腫の 2 例は PD であった。全体では、grade III の急性 GVHD が 33%(3/9)、慢性 GVHD が 50%(4/8、全身型 3 例、局所型 1 例)であったが、PR が観察された上記の 2 例以外では、GVHD と抗腫瘍効果の関連は明らかでなかった。

D. 考察

Allo-PBSCT においてドナー側の解決すべき課題として、①PBSC 採取不十分例に対する対策の確立、②ドナーの安全性確保のため、ドナーの適格性に関するガイドラインの適切な改訂とその遵守、③ドナー登録システムによるドナー全例の短期的および長期的副作用の追跡調査を実施することが必要である。Allo-PBSCT ではドナーにとって全身麻酔や骨髄穿刺がない点に関してはより快適な造血幹細胞採取法と考えられ、骨髄バンクのドナーリクルート拡大が期待できる。しかしながら因果関係はあきらかでないものの採取後、白血病を発症したドナーが骨髄ドナーと PB ドナー双方にみられるなど、両者に関する長期の安全性の確保を前方向的に確認することがわが国の非血縁者間 allo-PBSCT の実現に向けて重要である。RIST では、前処置の副作用の軽減により、従来の同種造血幹細胞移植に比しより高齢者や臓器機能低下症例に実施可能であり、適応疾患が広がる可能性がある。自験例では、fludarabine を含む前処置により、Tリンパ球のキメリズムは、移植後 28 日以内に、顆粒球系またはリンパ球系に関して 90%以上のドナー型が達成されたが、従来の移植法と同様に GVHD 対策は重要であり予後に影響するため免疫抑制剤の減量法やドナーリンパ球輸注のタイミングなど解決すべき問題がある。また GVL 効果に

関しては、一部の化学療法抵抗性の AML(M5b)や Ph 陽性 ALL に対し完全寛解が得られたが、一般に移植前に化学療法感受性または寛解期であることが良好な予後に影響する重要な因子と考えられた。今後は疾患別また病期別に予後を検討する必要がある。固形癌の RIST は実施の feasibility は確立されつつあると考えられるが、腫瘍別の効果を phase II レベルで検証する必要があると考えられる。

E. 結論

Allo-PBSCT では、ドナーに関して、①G-CSF による PBSC 動員では、稀に有害事象が見られ、特に高血圧や動脈硬化素因に関して注意が必要である。②G-CSF 投与による PBSC 採取は 55 歳以上のドナーにおいても、若年者と同様に実施可能であったが、個々に異なる身体的特性に留意する必要がある。③採取不十分例の有意な背景因子は明らかでないが、関連傾向のある血液学的データを参考にし、アフエレーシスを行う必要がある、ことが明らかとなった。また、末梢血中の CIC 数の測定は採取臍子測にある程度有用である。④有害事象として、VVR は 4.2%、脾臓腫大による痛みは 1.3%と頻度は少ないが、アフエレーシス中の管理、G-CSF 投与中の注意深い経過観察が必要である。⑤JSHCT 登録システム以前のドナーで採取後 5 年以上(最長 8 年 11 ヶ月)を経た 30 例に関して現時点では明らかな健康障害は認められていないが、今後全例に関してアンケート調査などの必要性が考えられる。RIST では、fludarabine を含む前処置では、副作用は軽度で高齢者や臓器機能低下症例に実施可能であり、移植後の造血回復も従来の allo-PBSCT と同様に速やかであり、生着に関して、リンパ球のキメリズムは移植後早期にほぼドナー型が達成された。移植前に寛解期または化学療法感受性を有することが、良好な予後に関与すると考えられた。固形癌の RIST に関しては、腫瘍別の抗腫瘍効果を明らかにする必要がある。

F. 健康危険情報

特記すべきことはなし。

G. 研究発表

1. 論文発表

T Kozuka, F Ishimatu, K Fujii, K Masuda, K Kaneda, T Inai, N Fujii, H Ishikura, S Hongo, T Watanabe, K Shinagawa, K Ikeda, K Niiya, M Harada and M Tanimoto: Cytokines Plasma stromal cell-derived factor-1 during granulocyte colony-stimulating factor-induced peripheral blood stem cell mobilization. Bone Marrow Transplantation 31:651-654,2003

M Niiya, K Niiya, T Kiguchi, M Shibakura, N Asaumi, K Shinagawa, F Ishimaru, K Kiura, K Ikeda, H Ueoka and M Tanimoto: Induction of TNF- α , Upa, IL-8 and MCP-1 by doxorubicin in human lung carcinoma cells. Cancer Chemother Pharmacol 52:391-398,2003

K Kojima, K Kaneda, C Yoshida, H Danno, N Fujii, T Yano, K Shinagawa, M Yasukawa, S Fujita and M Tanimoto: A novel fusion variant of the MORF and CBP genes detected in therapy-related myelodysplastic syndrome with t(10;16)(q22;p13) British Journal of Haematology 120:271-273,2003

M Fujii, Y Tanimoto, T Kiguchi, H Takehara, Y Fujimori, T Teshima, A Kanehiro, K Shinagawa, S Tada, M Kataoka and M Tanimoto: Pulmonary infiltration with eosinophilia syndrome complicated with non-Hodgkin's lymphoma of B cell lineage. Allergology International 52:161-164,2003

2. 学会発表

佐古田幸美、品川克至、増田浩三、藤井伸治、豊嶋崇徳、石丸文彦、池田和真、谷本光音、宮本敏浩、長藤宏司、権藤久司、原田実根：前処置に Fludarabine を用いた RAST の成績—九州大学第一内科および岡山大学第二内科の共同研究—、第 65 回日本血液学会総会・第 45 回日本臨床血液学会総会共同開催、大阪、平成 15 年 8 月 29 日

H. 知的財産権の出願・発表状況 (予定を含む。)

1. 特許取得

特になし。

2. 実用新案登録

特になし。

3. その他

特になし

Ⅲ. テーマーⅢ

造血幹細胞移植と組織適合性抗原

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

非血縁者間移植における HLA-C 抗原適合の臨床的意義と
ドナースクリーニング検査への導入

分担研究者 森島泰雄 愛知県がんセンター

研究要旨:日本骨髄バンクを介した非血縁者間移植においてドナーと患者間の HLA-C 抗原の違いが移植成績に大きな影響を与えていることが本研究班での解析で明らかになってきた。GVHD 予防法としてシクロスポリン+メトトレキサート法を用いた 1471 症例につき解析した結果、HLA-C 不適合に他の HLA 抗原不適合が重なると重症 GVHD が生じ、生存率が低下していた。さらに、HLA-C の単独不適合症例では NK 細胞受容体である killer cell Ig-like receptor (KIR) の ligand 不適合 (GVHD 方向) で重症 GVHD が高頻度に生じ、生存が低下していた。これら結果はドナースクリーニング検査に HLA-C を導入することにより、非血縁者間移植成績の向上が得られることを示している。

A. 研究目的

HLA-C の不適合が移植免疫反応に関連し、生存に影響しているかを明確にする。

B. 研究方法

HLA-A, B, C, DR, DQ の DNA タイピングをドナーと患者の検体を用いて実施し、GVHD 予防法としてシクロスポリン (C) +メトトレキサート (M) : C+M 法が実施された 1471 症例を抽出し、その重症 GVHD ならびに生存への影響につき解析した。さらに、NK 細胞受容体である killer cell Ig-like receptor (KIR) の ligand 不適合を HLA-C 型から推測し、その影響につき検討した。

C. 研究結果

1) HLA 適合度 : HLA-A, B, DR 血清型適合移植において HLA-A B C DRB1 DQB1 の遺伝

子型適合症例が 44%、不適合症例が 56% 存在した。HLA1 座不適合は 7~15%に、2 座不適合は 3~7%に、3 座不適合は 4%に認められた (図 1)。

2) 重症急性 GVHD の頻度 (図 1) は HLA-DNA 型完全適合症例では 14.0%であったが、HLA-A/B の DNA 型の不適合では 27.6%と著しく増加していた。HLA-C の不適合は C 単独では 18.9%と A B ほどではないが有意に増加していた。さらに HLA-C には C の不適合に他の抗原の不適合、A/B か DR/DQ が加わるとそれぞれ 42.3%、30.8%と付加的に重症 GVHD の頻度が増加していた。HLA-DR/DQ の DNA 型の単独不適合では 14.1%と増加は全く見られなかった。HLA 3 抗原座以上の不適合では 41.1%と高率であった。

移植後の生存率 (図 2) は、HLA-A B の

DNA 型単独不適合例、HLA-C 不適合に他の不適合が加わると、HLA 適合症例に比べて明らかに移植後の生存率は低下している。この主な原因は高率な重症 GVHD による移植関連死の増加による。HLA-DRB1 の単独不適合は生存に有意な影響は及ぼしていなかった。

3) HLA-C 単独不適合症例における KIR 不適合の影響。

NK 細胞受容体の一つである KIR2DL1 は標的細胞の HLA-C の Group 1 エピトープ (Cw2,4,5,6 に共通) を認識し、この ligand 結合により NK 細胞の活性が抑制されることが判明している。同じく、KIR2DL2/3 は Group2 エピトープ (Cw1, 3, 7, 8 に共通) と結合する。非血縁者間移植では、ドナーと患者の HLA-C 型が異なる場合に、この ligand 結合が外れる症例がある。GVHD 方向 (ドナーのエフェクター細胞は活性化される組み合わせ) のみの不適合は 67 症例、拒絶方向のみの不適合は 85 症例、両方向の不適合は 7 症例であった。

HLA-C 単独不適合症例の中で、KIR ligand 不適合 (GVHD 方向) 症例では重症急性 GVHD の頻度が 40.0% と適合症例の 15.7% にくらべ有意に高率であった (図 3)。適合症例の 15.7% は HLA-A, B, C, DRB1, DQB1 遺伝子型適合症例の 14.2% と同じであった。このことから、HLA-C 単独不適合で高率に生じる GVHD は KIR 不適合に起因していることが判明した。

KIR ligand 不適合症例の 3 年生存率は 33.2% と適合例の 55.9% に比べ、優位に劣っていた (図 4)。

4) HLA と KIR の適合を考慮した許容できない不適合、許容できる不適合の組み合

わせにつき図 5 にまとめた。

D. 考察

GVHD 予防法として C+M 法を用いた多数症例の解析が可能になったことにより、非血縁移植における HLA のバリアーがより明確になった。とくに HLA-C の不適合が移植免疫反応と生存に大きく関与していた。従来、HLA-C 単独不適合は急性 GVHD の発症を高めるものの、生存には有意には関与しないという結果が出ていたが、今年度 NK 細胞受容体 (KIR) の ligand 適合度を HLA-C 型より推測することにより、GVHD 方向 KIR 不適合が重症 GVHD を生じさせ、生存を悪化させることが明らかになった。一方、KIR 適合 HLA-C 単独不適合は GVHD や生存に関与せず、許容できる不適合であることも明らかになった。以上の結果から、図 5 に示すように HLA 適合性に基づき移植成績を予測することが可能であり、ドナースクリーニング検査として HLA-C を導入することにより、移植成績が向上するであろうことが明らかになった。

E. 結論

HLA-C 型の不適合の臨床的な意義が明らかになった。できる限り早期に HLA-C をドナースクリーニング検査としての導入すべきである。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

Akatsuka Y, Morishima Y. Major and minor histocompatibility antigens in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Cur. Opin. Organ. Transplant.*, in press.

Izutsu K, Kanda Y, Ohno H, Sao H, Ogawa H, Miyazaki Y, Kawa K, Kodera Y, Kato S, Morishima Y, Hirai H. Unrelated bone marrow transplantation for non-Hodgkin's lymphoma: a study from the Japan Marrow Donor Program. *Blood*, 2004 103:1955-1960.

Karnan S, Tagawa H, Suzuki R, Suguro M, Yamaguchi M, Okamoto M, Morishima Y, Nakamura S, Seto M. Analysis of chromosomal imbalances in de novo CD5⁺

positive diffuse large-B-cell lymphoma detected by comparative genomic hybridization. *Genes Chromosomes Cancer*, 2004 39:77-81.

Hishida A, Matsuo K, Hamajima N, Ito H, Ogura M, Kagami Y, Taji H, Morishima Y, Emi N, Tajima K. Polymorphism in the hMSH2 gene (gIVS 12-6T->C) and risk of non-Hodgkin lymphoma in a Japanese population. *Cancer Genet Cytogenet.*, 2003 147:71-74.

Yanada M, Yamamoto K, Emi N, Naoe T, Suzuki R, Taji H, Lida H, Shimokawa T, Kohno A, Mizuta S, Maruyama F, Wakita A, Kitaori K, Yano K, Hamaguchi M, Hamajima N, Morishima Y, Kodera Y, Sao H, Morishita Y. Cytomegalovirus antigenemia and outcome of patients treated with pre-emptive ganciclovir: retrospective analysis of 241 consecutive patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.*, 2003 32:801-807.

Ogura M, Kagami Y, Taji H, Suzuki R, Miura K, Takeuchi T, Morishima Y. Pilot phase I/II study of new salvage therapy (CHASE) for refractory or relapsed malignant lymphoma. *Int J Hematol.*, 2003 77:503-511

Suzuki R, Murata M, Kami M, Ohtake S, Asou N, Kodera Y, Tomonaga M, Masaki

Y, Kusumoto S, Takeuchi J, Matsuda S, Hirai H, Yorimitsu S, Hamajima N, Seto M, Shimoyama M, Ohno R, Morishima Y, Nakamura S. Prognostic significance of CD7⁺CD56⁺ phenotype and chromosome 5 abnormalities for acute myeloid leukemia M0. *Int J Hematol.*, 2003 77:482-489.

Ichimura K, Kagami Y, Suzuki R, Kojima M, Yoshino T, Ohshima K, Koike K, Kondo E, Taji H, Ogura M, Morishima Y, Akagi T, Takahashi T, Nakamura S. Phenotypic analysis of peripheral T/NK cell lymphoma: study of 408 Japanese cases with special reference to their anatomical sites. *Pathol Int.*, 2003 53:333-344.

Takeyama K, Ogura M, Morishima Y, Kasai M, Kiyama Y, Ohnishi K, Mitsuya H, Kawano F, Masaki Y, Sasaki T, Chou T, Yokozawa T, Tobinai K; Lenograstim/Lymphoma Study Group. A dose-finding study of glycosylated G-CSF (Lenograstim) combined with CHOP therapy for stem cell mobilization in patients with non-Hodgkin's lymphoma. *Jpn J Clin Oncol.* 2003 33:78-85.

Oyama T, Ichimura K, Suzuki R, Suzumiya J, Ohshima K, Yatabe Y, Yokoi T, Kojima M, Kamiya Y, Taji H, Kagami Y, Ogura M, Saito H, Morishima Y, Nakamura S. Senile EBV⁺ B-cell lymphoproliferative disorders: a clinicopathologic study of 22 patients. *Am J Surg Pathol.* 2003 27:16-26.

2. 学会発表

1. Morishima Y, Yabe T, et al. The clinical significance of killer Ig-like receptor (KIR) on acute GVHD, rejection and leukemia relapse in patients transplanted non-T cell depleted marrow from unrelated donor: roles of inhibitory KIR epitope matching and activating KIR genotype. The 45th annual meeting of the American Society of Hematology. Dec. 2003, San Diego, USA.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

図 1

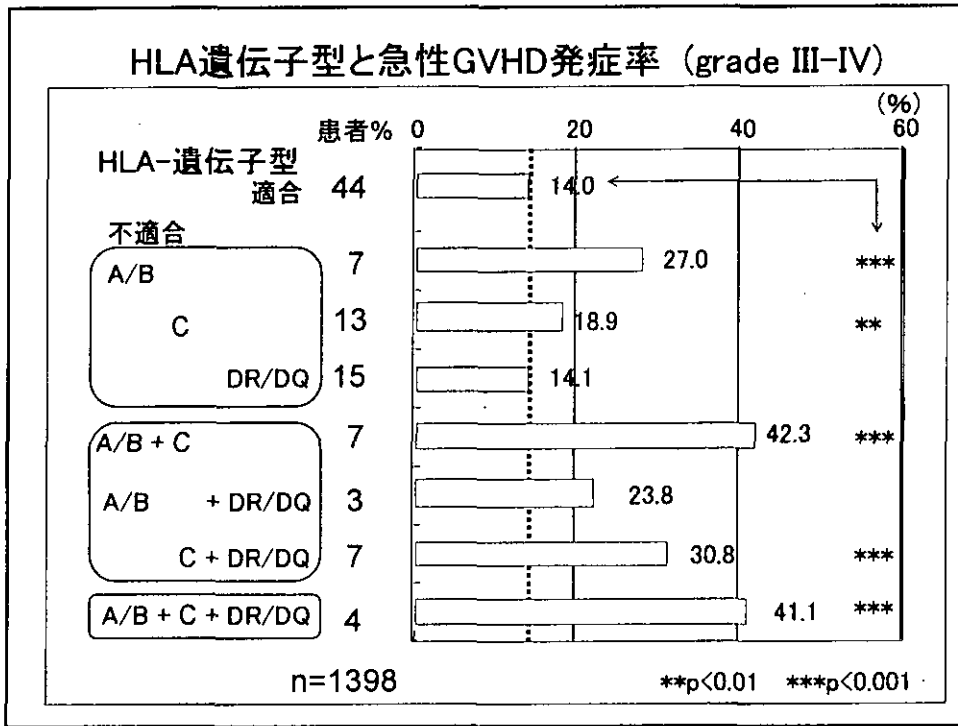


図 2

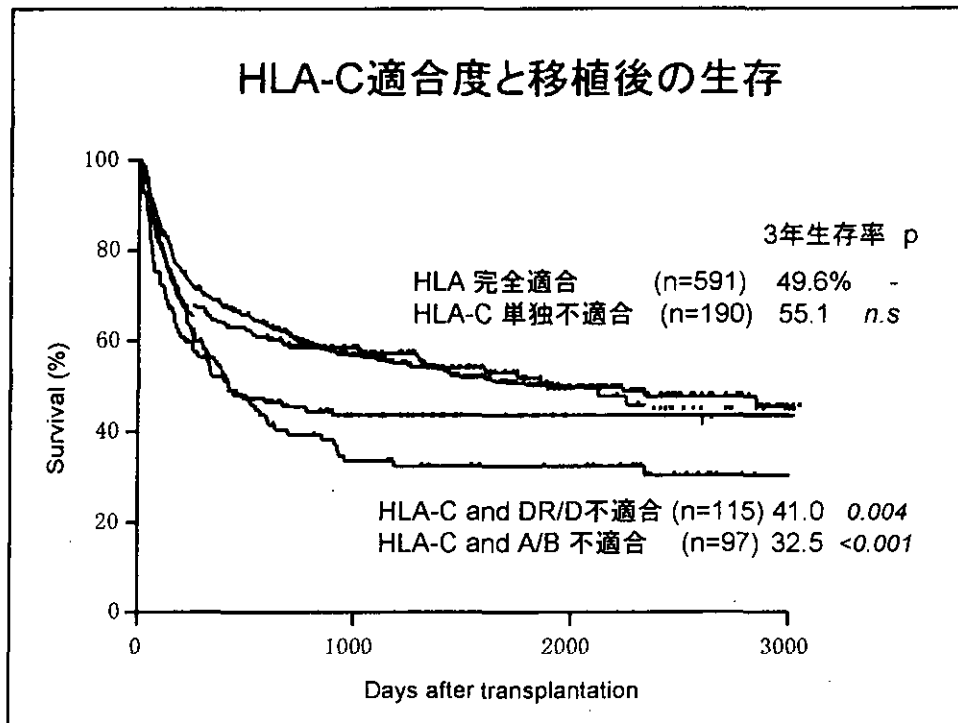


図 3

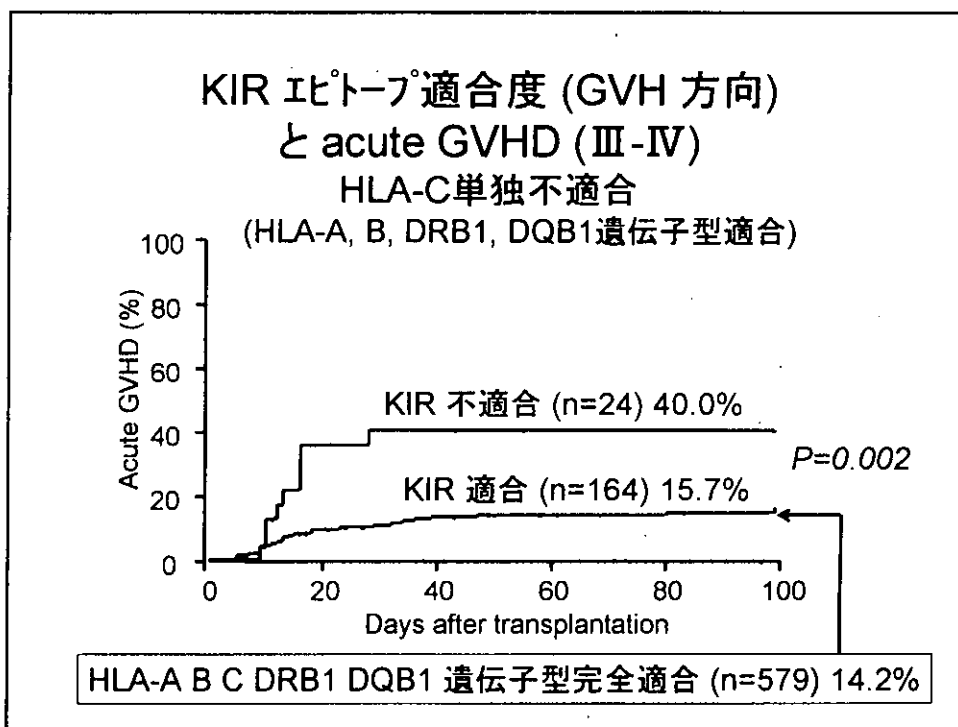


図 4

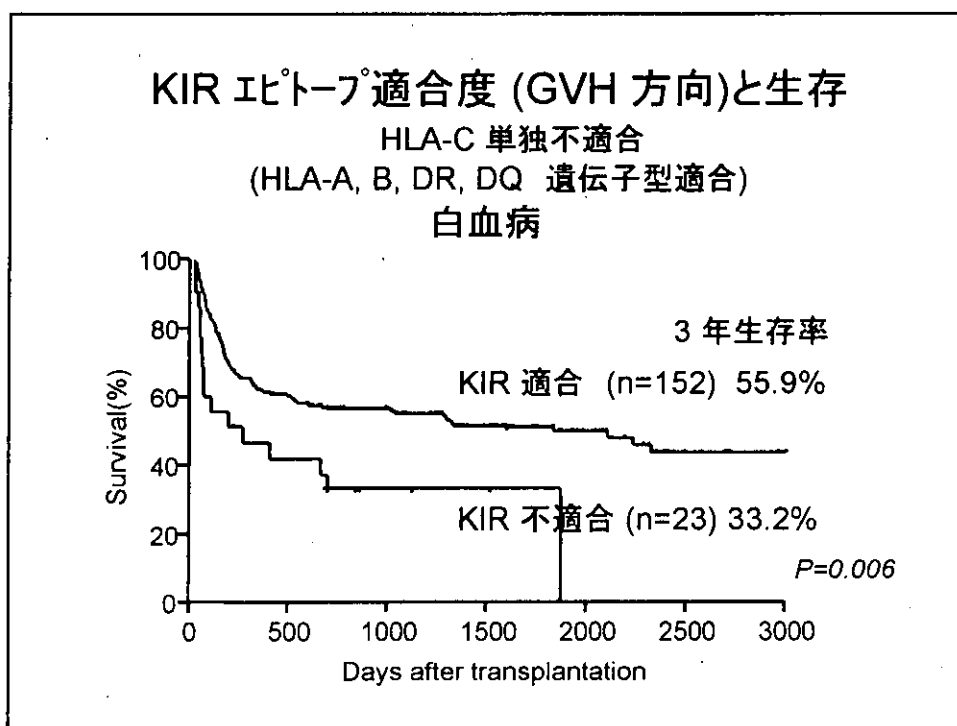


図 5

| HLA・KIR 適合と臨床成績のまとめ | | | | |
|---|---|--------------|----|---|
| 許容できない不適合(×)と許容できる不適合(○) | | | | |
| 不適合HLA座 | 患者 (%) | 重症 a-GVHD | 生存 | |
| HLA-A and/or B 不適合 | 7 | 27% | ↓ | × |
| HLA-C不適合 KIR I ^B ト- ^B 不適合 | 2 | 40% | ↓ | × |
| HLA-C不適合 KIR I ^B ト- ^B 適合 | 11 | 16% | → | ○ |
| HLA-DRB1 and/or DQB1 不適合 | 15 | 14% | → | ○ |
| HLA-C 不適合 + 他 HLA 不適合 | KIR I ^B ト- ^B 不適合 4 | 39% | ↓ | × |
| | KIR I ^B ト- ^B 適合 20 | 35% | ↓ | × |
| HLA-A B C DRB1 DQB1完全適合 | 44 | 14% | → | ○ |

厚生労働科学研究費補助金（厚生労働科学研究ヒトゲノム・再生医療研究事業）
分担研究報告書

HLA-DNA タイピングの意義

分担研究者 笹月 健彦 （国立国際医療センター研究所）
研究協力者 山本 健 （九州大学生体防御医学研究所）
絹川 直子 （九州大学病院）

研究要旨

骨髄移植の予後に対する HLA クラス II 遺伝子 (HLA-DRB1、DQB1、DPB1) の寄与を検討する目的で、これまでに DPB1 を除いて DNA タイピングが終了した移植例のうち、GvHD 予防法として MTX+CYA を投与された 790 症例について解析し以下の結果が得られた。1) HLA-A、B、C が DNA レベルでマッチした症例において、DQB1 ミスマッチは急性 GvHD 発症に関して有意差を示さなかったが、DRB1 ミスマッチは弱い有意差を示した (各々、 $P=0.2$ 、 0.03)。2) HLA-A、B、C が DNA レベルでマッチした症例において、DQB1 ミスマッチは生存に関して有意差を示さなかったが、DRB1 ミスマッチは弱い有意差を示した (各々、 $P=0.75$ 、 0.04)。よって、DRB1 のミスマッチが GvHD 発症と生存の危険因子となることが示唆された。今後、これらの結果を症例を増やして検討する。また、DPB1 については 633 検体を分担し DNA タイピングを行っている。

A. 研究目的

骨髄移植は、造血系の悪性腫瘍および遺伝性疾患の有効な治療法である。しかし、骨髄移植においては、しばしば致死性 GvHD を発症することから、GvHD を中心とした予後に対する HLA の寄与を詳細に把握することが最重要である。我々はこれまでに公的骨髄バンクを利用した非血縁者間骨髄移植が行われた、血清学的に HLA-A、B、DR がマッチした移植例 440 組に関して、HLA 型の DNA レベルでの解析を行い、死亡に関して HLA クラス I、特に HLA-A の DNA レベルでのミスマッチが重要な危険因子となることを明らかにした。これに対し、HLA-DRB1、DQB1 のミスマッチは有意差には到らなかったが、若干の差を認めた。DPB1 のミスマッチ

は危険因子として採択されなかったが、近年の欧米の報告では有意差を認めている。本研究では、DPB1 を含め HLA クラス II の DNA レベルでのミスマッチが生存および GvHD 発症におよぼす影響を、解析数を増やして検討することを目的とし、本年度は 633 例の DPB1 タイピングを分担している。また、これまでに DPB1 を除くタイピングが終了した症例のうち、GvHD 予防法として MTX+CYA を投与された 790 症例について DRB1、DQB1 マッチングの意義を検討した。

B. 研究方法

HLA タイピングは DPB1 を特異的プライマーにて PCR 増幅後ダイレクトシーケンスを行いアレルを決定している。アレル決定には、SeqScape を用

いている。これまでに HLA-A, B, C, DRB1 および DQB1 のタイピングが終了した移植例のうち、GvHD 予防法として MTX+CYA を投与された症例を解析対象とし、分担者は 633 検体のタイピングを分担している。また、DRB1、DQB1 のマッチングの意義について、本年度は GvHD 予防法として MTX+CYA を投与された 790 症例を解析対象とし、HLA-A、B、C ともに DNA レベルでマッチする症例について、DRB1、DQB1 ミスマッチが急性 GvHD 発症および生存に及ぼす影響を Kaplan-Meier 曲線によって検討した。

C. 研究結果

DPBI タイピングは現在進行中であり、平成 16 年 3 月 31 日を期限として終了予定である。

DRB1 マッチングについて、急性 GvHD を解析した症例のうち、DRB1 のタイピングが利用可能で HLA-A、B ともにマッチしていた症例は、計 648 例であった。このうち、DRB1 がマッチしていた症例が 535 例、ミスマッチ症例が 113 例であった。Kaplan-Meier 曲線による解析では、両者の間に統計学的有意差を認め ($P=0.01$)、急性 GvHD 発症に関して、HLA-A、B マッチ例における DRB1 マッチングの重要性が示された。DQB1 においては、HLA-A、B ともにマッチしていた 621 例中、マッチ症例が 458 例、ミスマッチ症例が 163 例であり、DRB1 とは異なり両者の間に統計学的有意差を認めなかった ($P=0.59$)。HLA-C のミスマッチは急性 GvHD の重要な危険因子となることが明らかとなっており、C のマッチングの影響を除くために、HLA-A、B、C がマッチした症例を対象として DRB1 マッチングの影響を検討した。DRB1 のタイピングが利用可能で HLA-A、B、C ともにマッチしていた症例は、計 495 例であった。このうち、DRB1 がマッチしていた症例が 423 例、ミスマッチ症例が 72 例であった。この 2 群間での急性 GvHD 発症は、 $P=0.03$ と弱いながら有意差を認めた。

さらに、生存に対する DRB1、DQB1 マッチングの影響を検討した。DRB1 のタイピングが利用可能で HLA-A、B ともにマッチしていた症例は、計 647 例であった。このうち、DRB1 がマッチしていた症例が 528 例、ミスマッチ症例が 119 例であった。Kaplan-Meier 曲線による解析では、両者の間に統計学的有意差を認め ($P=0.008$)、生存に関して、HLA-A、B マッチ例における DRB1 マッチングの重要性が示された。DQB1 においては、HLA-A、B ともにマッチしていた 621 例中、マッチ症例が 421 例、ミスマッチ症例が 200 例であり、DRB1 とは異なり両者の間に統計学的有意差を認めなかった ($P=0.65$)。HLA-C のマッチングの影響を除くために、HLA-A、B、C がマッチした症例を対象として DRB1 マッチングの影響を検討した。DRB1 のタイピングが利用可能で HLA-A、B、C ともにマッチしていた症例は、計 473 例であった。このうち、DRB1 がマッチしていた症例が 403 例、ミスマッチ症例が 70 例であった。この 2 群間での急性 GvHD 発症は、 $P=0.04$ と弱いながら有意差を認めた。

D. 考察

これまでに、生存および GvHD 発症に HLA クラス I の DNA レベルでのミスマッチが危険因子となることが示されている。これにより、骨髄バンクにおいても HLA-A、B の DNA レベルでのタイピングが始まり、より適合度の高い移植が行われている。欧米でのこれまでの研究では、むしろクラス II マッチングの重要性が指摘され、また、本研究班でのこれまでの解析でも、クラス II の影響も弱いながら認められたため、今回、クラス II のマッチングが生存および GvHD 発症に及ぼす影響を、GvHD 予防法として MTX+CYA を投与された症例に統一し解析した。HLA-A、B、C マッチ症例における解析により、DRB1 の DNA レベルでのミスマッチが GvHD 発症と生存に関する危険因子となることが示唆された。

しかしながら、その差は欧米からの報告に較べて弱く、依然、日本人の非血縁者間骨髄移植ではクラス I のマッチングが重要であることが示された。今回の解析は GvHD 予防法として MTX+CYA を投与された 790 症例を対象にしたが、これは、本研究班において集積された症例の一部であり、利用可能な症例を加え、また、DPB1 の解析結果も含めて、クラス II マッチングの意義を引き続き検討する必要がある。

E. 結論

非血縁者間骨髄移植における HLA クラス II マッチングの影響を GvHD 予防法として MTX+CYA を投与された 790 症例を対象として解析し、HLA-A, B, C が DNA レベルでマッチした症例において、DRB1 ミスマッチは GvHD および生存において弱いながら危険因子となることが示唆された。DPB1 マッチングの影響を含め、症例数を増やして再検討する必要がある。

F. 研究発表

論文発表

Qi X, Tang J, Pramanik R, Schultz RM, Shirasawa S, Sasazuki T, Han J, Chen G. p38 MAPK activation selectively induces cell death in K-ras mutated human colon cancer cells through regulation of vitamin D receptor. *J Biol Chem*. 2004 in press

Furugaki K, Shirasawa S, Ishikawa N, Ito K, Ito K, Kubota S, Kuma K, Tamai H, Akamizu T, Hiratani H, Tanaka M, Sasazuki T. Association of the T-cell regulatory gene CTLA4 with Graves' disease and autoimmune thyroid disease in the Japanese. *J Hum Genet*. 2004 in press

Kunisaki Y, Masuko S, Noda M, Inayoshi A, Sanui T, Harada M, Sasazuki T, Fukui Y. Defective fetal liver erythropoiesis and T-lymphopoiesis in mice lacking phosphatidylserine receptor. *Blood*. 2004 in press

Inokuchi J, Komiya M, Baba I, Naito S, Sasazuki T, Shirasawa S. Deregulated expression of KRAP, a novel gene encoding actin-interacting protein, in human colon cancer cells. *J Hum Genet*. 2004; 49 (1): 46-52.

Kato N, Nabika T, Liang YQ, Mashimo T, Inomata H, Watanabe T, Yanai K, Yamori Y, Yazaki Y, Sasazuki T. Isolation of a chromosome 1 region affecting blood pressure and vascular disease traits in the stroke-prone rat model. *Hypertension*. 2003 Dec; 42 (6): 1191-7.

Yamamoto K, Sonoda M, Inokuchi J, Shirasawa S, Sasazuki T. Polycomb group suppressor of zeste 12 links heterochromatin protein 1alpha and enhancer of zeste 2. *J Biol Chem*. 2004 Jan 2; 279 (1): 401-6.

Klampfer L, Huang J, Sasazuki T, Shirasawa S, Augenlicht L. Inhibition of interferon gamma signaling by the short chain fatty acid butyrate. *Mol Cancer Res*. 2003 Sep; 1 (11): 855-62.

Klampfer L, Huang J, Comer G, Mariadason J, Arango D, Sasazuki T, Shirasawa S, Augenlicht L. Oncogenic Ki-ras inhibits the expression of interferon-responsive genes through inhibition of STAT1 and STAT2 expression. *J Biol Chem*. 2003 Nov 21; 278 (47): 46278-87.

Sanui T, Inayoshi A, Noda M, Iwata E, Oike M, Sasazuki T, Fukui Y. DOCK2 is essential for antigen-induced translocation of TCR and lipid rafts, but not PKC-theta and LFA-1, in T cells. *Immunity*. 2003 Jul; 19 (1): 119-29.

Sanui T, Inayoshi A, Noda M, Iwata E, Stein JV, Sasazuki T, Fukui Y. DOCK2 regulates Rac activation and cytoskeletal reorganization through interaction with ELMO1. *Blood*. 2003 Oct 15; 102 (8): 2948-50.

Muto M, Ohmura A, Hamamoto Y, Konishi Y, Shiozawa S, Youn JI, Tanifuji J, Furuya K, Sasazuki T, Ogawa H. Generalized pustular psoriasis: strategy for identification of psoriasis susceptibility gene. *Arch Dermatol Res.* 2003 Apr; 295 Suppl 1: S60-2.

Long IS, Han K, Li M, Shirasawa S, Sasazuki T, Johnston M, Tsao MS. Met receptor overexpression and oncogenic Ki-ras mutation cooperate to enhance tumorigenicity of colon cancer cells in vivo. *Mol Cancer Res.* 2003 Mar;1 (5): 393-401.

Kaburagi Y, Satoh S, Yamamoto-Honda R, Ito Y, Akanuma Y, Sekihara H, Yasuda K, Sasazuki T, Kadowaki T, Yazaki Y. Protection of insulin receptor substrate-3 from staurosporine-induced apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003 Jan 10; 300 (2): 371-7.