

厚生労働科学研究費補助金  
効果的医療技術の確立推進臨床研究事業  
(がんの臨床研究)

若年者骨髄性造血器腫瘍を対象とした  
骨髄破壊的前処置と骨髄非破壊的前処置を用いた  
同種末梢血幹細胞移植の比較検討に関する研究

平成 15 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 谷 口 修 一

平成 16 (2004) 年 3 月

## 目 次

### I. 総括(分担)研究報告

若年者骨髄性造血器腫瘍を対象とした骨髄破壊的前処置と骨髄非破壊的前処置を用いた同種末梢血幹細胞移植の比較検討(第Ⅲ相ランダム化盲検比較試験)に関する研究	1
谷口 修一	

### II. 分担研究報告

1. 末梢血幹細胞を用いた通常移植とミニ移植の有用性の比較検討に関する研究	5
高上 洋一	
2. WT1 を指標とした予防的ドナーリンパ球輸注療法に関する研究	8
中尾 真二	
3. 非血縁者からのミニ移植の安全性と有効性の検討	11
原田 実根	
4. 同種造血細胞幹移植後のGVHDの制御に関する細胞の研究	16
今村 雅寛	
5. 通常移植とミニ移植後の感染症の比較検討に関する研究	18
山下 卓也	
6. 骨髄異形成症候群に対する骨髄非破壊的前処置を用いた同種末梢血幹細胞移植に関する研究	19
澤田 賢一	
7. 移植前治療大量ブスルファンの体内動態に関する研究	21
森下 剛久	
8. 通常移植とミニ移植後の微小残存病変の比較検討に関する研究	23
小川 啓恭	
9. 骨髄非破壊的前処置を用いた非血縁者間同種骨髄移植の臨床的検討に関する研究	26
原 雅道	
10. 若年者骨髄性造血器腫瘍を対象とした骨髄破壊的前処置と骨髄非破壊的前処理を用いた同種末梢血幹細胞移植の比較検討に関する研究	28
河野 文夫	
11. GVHD と GVL 効果の相関についての検討に関する研究	30
豊嶋 崇徳	
12. 造血細胞移植後の性腺機能	32
武元 良整	

III. 研究成果の刊行に関する一覧表	33
---------------------	----

IV. 研究成果の刊行物・別刷	36
-----------------	----

# 厚生労働科学研究費補助金効果的医療技術の確立推進臨床研究事業（がんの臨床研究）

## 総括・分担研究報告書

### 若年者骨髄性造血器腫瘍を対象とした骨髄破壊的前処置と骨髄非破壊的前処置を用いた同種末梢血幹細胞移植の比較検討に関する研究

主任研究者 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：本研究は同種移植療法において、従来の骨髄破壊的前処置と新規治療法である骨髄非破壊的前処置のどちらが優れるか検証する無作為比較試験をおこなうことを目的とし、本年度は後方視的研究により、プロトコール作成に必要な基礎的データの収集をおこなった。

#### A. 研究目的

本研究の目的は、20歳以上55歳以下の若年者において、骨髄非破壊的前処置を用いた同種造血幹細胞移植（ミニ移植が）、標準的同種移植方法となりうるか否かを検証することである。本研究により強力な前処置が不要であることを証明し、より安全な治療法が得られるようにする必要がある。

骨髄破壊的前処置を用いた同種造血幹細胞移植（フル移植）と比較して、ミニ移植は治療関連毒性が軽減されているため、ミニ移植が標準治療となった場合、同種移植の治療関連毒性を軽減することができ、同種移植の安全性を高めることができる。また、ミニ移植では輸血必要量・入院必要日数が減少するため、医療経済の面でも有利である。

本研究では、EQ-5D および SF-36、Time Trade Off 法を用いて QOL の調査を併せて行う。これまで移植領域では QOL 評価を目的とした試験は行われておらず、本試験により移植領域での Quality adjusted life-year (QALY) 法における原資料を作成する。

#### B. 研究方法

第一の試験では、20歳以上55歳以下の骨髄球性造血器悪性腫瘍（寛解期の急性骨髄性白血病、慢性期の慢性骨髄性白血病、骨髄異形成症候群の不応性貧血または芽球の増加を伴う不応性貧血）を対象とし、HLA一致の健常血縁ドナーから末梢血幹細胞移植を行う。患者は、骨髄破壊的前処置（フル移植）または骨髄非破壊的前処置（ミニ移植）に無作為に割り付けられる

（各群100例、計200例）。フル移植群では、全身放射線照射（12 Gy）とシクロホスファミド（60mg/kg × 2日）を投与する。ミニ移植群では、ブスルファン（4mg/kg × 2日）とフルダラビン（30mg/m<sup>2</sup> × 6日）を投与する。GVHD 予防は、両群ともシクロスポリンとメトトレキセートを併用する。本研究により、フル移植に対するミニ移植の非劣性を検証する。主要評価項目は3年時点での QALY である。副次的項目として GVHD の頻度および重症度、再発率、3年全生存率、3年無病生存率を評価する。

QOL の評価については、EQ-5D および SF-36 などの評価スケールを改変したものをを用いる。あらかじめ、本プロトコールに先行して feasibility study を行い、評価スケールの妥当性を確認した後に、本プロトコールでのランダム化比較試験を行う。

第二の試験では、非寛解の急性骨髄性白血病、加速期もしくは急性転化期の慢性骨髄性白血病を対象に、フル移植とミニ移植の randomized phase II 試験を行う。主要評価項目は、1年全生存率である。副次的評価項目として、GVHD の頻度および重症度、再発率、1年無病生存率、QALY を評価する。

参加施設は、血液腫瘍に対する同種移植の経験豊富な医療スタッフを有する施設のみに限定して行う。

データ管理は、NPO である日本臨床研究支援ユニット（JCRSU）で厳密に行う。

#### C. 結果と D. 考察

GVHD 予防法については、後方視的全国調査 (Kojima

et al, ASH 2003) では、高リスク群においては移植後早期の生存率はミニ移植群がフル移植群より優れ、治療関連死亡の減少が生存率の改善につながる事が示唆された。また、低リスク群では、ミニ移植群とフル移植群の生存率は同等であり、ミニ移植群では移植晚期に GVHD 関連死亡が多いことが示された。これらのデータから、本試験ではシクロスポリンに短期メソトレキセートを併用する GVHD 予防法を用いることとした。

移植前処置では、国立がんセンターでの後方視的検討で、高リスク白血病では抗胸腺細胞グロブリン (ATG) を用いることで再発が増加する (Hamaki et al, ASH 2003) ことが判明した。これは、ドナー由来の T 細胞が ATG によりレシピエント体内で除去 (*in vivo* T-cell depletion) されることで、移植片対白血病効果が減弱されることが原因と考えられた。そのため、ATG は移植前処置に含めない方針とした。

骨髄バンクドナーからの HLA 一致非血縁者骨髄を用いたミニ移植の開発については、国立がんセンターと虎の門病院での feasibility study が終了した (Bone Marrow Transplantation, in press)。フルダラビン、ブスルファンに ATG を加えた前処置では、移植後の感染症に基づく治療関連毒性が高いこと、ATG の代わりに 4Gy 全身放射線照射を加えた前処置では、非血縁ドナーの骨髄は生着可能であることが示された。現在、がん研究助成金 (主任研究者; 原田実根) により、国立がんセンター中央病院主導でクラドリビン、ブスルファン、4Gy 全身放射線照射の前処置を用いた phase II study が進行中である。この研究の結果を待って、骨髄バンクドナーを用いた非血縁者間骨髄移植についても、フル移植とミニ移植の比較試験を計画する予定である。

QOL の評価に関しては検討段階であるが、東京大学大学院大橋靖雄教授に協力を仰ぎ、EQ-5D や SF-36 などの QOL 評価スケールを移植後用に作り替える作業を開始している。まずはフル移植とミニ移植各群 10 例程度を対象に、feasibility study を開始する予定である。将来的には、造血幹細胞移植のみでなく腎臓移植などの臓器移植後の QOL を評価する計画があり、そのモデルとして本試験で QOL 評価スケールの適正化

を目指す予定である。

医療経済解析については、国立がんセンターのレセプトを元にした解析で、ミニ移植のコストがフル移植より低いことが示されている。しかしながら、移植の間接費用として、入院に伴う休業による逸失利益および家族の付き添いの交通費や肉体的負担などの細部については、検討されていない。本研究では、QOL の評価とともに移植医療のコスト比較を行う。これにより、フル移植とミニ移植のどちらが cost-effectiveness に優れるかがわかり、医療資源配分の適正化に資することが可能となる。

## E. 結論

本試験を行うための予備的調査では、ミニ移植後の生存率はフル移植より優れるもしくは同等である。生存率が同等であった場合にも、移植後の QOL で調整すれば、治療関連毒性の低いミニ移植群の生存率が優れることが予想されている。今後、プロトコルの完成を急ぎ、早期に本プロトコルを開始できるよう、作業を進める必要がある。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

論文

1. Kusumi E, Miyakoshi S, Murashige N, Katayama Y, Kim SW, Yuji K, et al. 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 2003; 32 (11): 1111-2.
2. Yamamoto R, Kusumi E, Kami M, Yuji K, Hamaki T, Saito A, et al. Late hemorrhagic cystitis after reduced-intensity hematopoietic stem cell transplantation (RIST). Bone Marrow Transplant 2003; 32 (11): 1089-95.
3. Kusumi E, Taniguchi S. [Reduced-intensity stem cell transplantation (RIST) for lymphoproliferative diseases]. Nippon Rinsho 2003; 61 (9): 1579-84.
4. Tanimoto TE, Kusumi E, Hamaki T, Yuji K, Ueyama J,

- Miyakoshi S, et al. High complete response rate after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with reduced-intensity conditioning regimens in advanced malignant lymphoma. *Bone Marrow Transplant* 2003; 32 (2): 131-7.
5. Hamaki T, Kami M, Igarashi M, Kusumi E, Arase Y, Ishibashi T, et al. Non-myeloablative hematopoietic stem cell transplantation for the treatment of adult T-cell lymphoma in a patient with advanced hepatic impairment. *Leuk Lymphoma* 2003; 44 (4): 703-8.
  6. Kami M, Hamaki T, Murashige N, Kishi Y, Kusumi E, Yuji K, et al. Safety of rituximab in lymphoma patients with hepatitis B or hepatitis C virus infection. *Hematol J* 2003; 4 (2): 159-62.
  7. 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, Kamitani 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, December 6-9, 2003 (abstr #2628).
  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, December 6-9 2003 (abstr # 1746)
  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, December 6-9, 2003 (abstr #1749).
  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, December 6-9 2003 (#5640).
  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, December 6-9 2003 (abstr#2696).
  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, December 6-9 2003

- (abstr #2707).
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, December 6-9 2003 (abstr #5569).
  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, December 6-9 2003 (abstr #5542).
  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, December 6-9 2003 (abstr #3629).
  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, December 6-9 2003 (Abstr #5537).
  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, December 6-9 2003 (anstr# 5649).
  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)
- 久住英二、谷口修一ほか. Reduced-intensity conditioning regimen を用いた臍帯血移植 (RICBT) 後における生着前免疫反応の検討. 第 26 回造血細胞移植学会、平成 15 年 12 月、横浜
- 久住英二、谷口修一ほか. Reduced-intensity stem cell transplantation (RIST) 後の中枢神経合併症の臨床的検討. 第 26 回造血細胞移植学会、平成 15 年 12 月、横浜
- 久住英二、谷口修一ほか. 非ホジキンリンパ腫 (NHL) に対するミニ移植：全国アンケート調査による 112 例の後方視的検討. 第 26 回造血細胞移植学会、平成 15 年 12 月、横浜
- 久住英二、谷口修一ほか:Reduced-intensity conditioning regimen (ミニ移植) を用いた非血縁者骨髄移植：21 例の解析. 第 26 回造血細胞移植学会、平成 15 年 12 月、横浜
- H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得  
該当なし
  2. 実用新案登録  
該当なし
  3. その他  
該当なし

# 厚生労働科学研究費補助金効果的医療技術の確立推進臨床研究事業（がんの臨床研究）

## 分担研究報告書

### 末梢血幹細胞を用いた通常移植とミニ移植の有用性の比較検討

分担研究者 高上 洋一 国立がんセンター中央病院 薬物療法部／幹細胞移植療法室 医長

研究要旨：従来は同種造血幹細胞移植の対象となりえなかった患者に対する根治療法として、リン酸フルダラビンとブスルファンを併用した骨髄非破壊の前処置療法を用いた末梢血幹細胞ミニ移植を開発した。その安全性と有効性を評価するために、国立がんセンター中央病院で高齢の各種疾患患者に対するミニ移植の第Ⅰ相臨床試験を行い、得られた知見を、本班研究で企画する若年層を対象とした多施設共同無作為比較第Ⅱ相臨床試験に反映させる。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ためにデータ管理は厳正に行う。同時に、ミニ移植に伴う合併症に対する有効な治療開発も試みる。

#### A. 研究目的

移植前処置の抗がん剤を減量し、免疫抑制力の強い薬剤を組み合わせることによって、副作用を抑えつつドナー造血幹細胞・リンパ球の生着を図り、抗腫瘍効果は主として同種免疫効果に期待するという考えに基づいて開発された移植法がミニ移植である。これまで高齢者白血病を対象とした臨床試験においては、治療の安全性を保ちつつ、難治性白血病の根治をもたらす可能性が強く示唆されている。これに基づき本班研究では、若年層の白血病患者におけるミニ移植の安全性と有効性を、厳正な多施設共同無作為比較第Ⅱ相臨床試験を行って検証する。このためには、班研究試験の企画と運用に役立つことのできる、質の高い具体的なエビデンスを収集する必要がある。このため、本分担研究を行うものである。当院における第Ⅰ相臨床試験を継続し、ミニ移植臨床試験の問題点などを班研究に提議する。現在までの研究結果から、ミニ移植にも多くの治療関連合併症が発生することが明らかとなってきた。これを克服するために、重症感染症や移植片宿主病(graft-versus-host disease: GVHD)に対する有効な治療開発も試みる。

#### B. 研究方法

新たなプリン誘導体であるクラドリピンあるいはフルダラビンとブスルファンを併用するミニ移植を開

発し、国立がんセンター中央病院において倫理審査委員会の承認を得た後に第Ⅰ相臨床試験を行った。対象となったのは造血器腫瘍患者のうち、他の治療では治療や長期生存を期待できないような疾患や病状であるにもかかわらず、年齢制限（55歳）や各種の臓器機能障害があるために通常の血縁/非血縁者間同種造血幹細胞移植を行うことができない患者である。ドナーはHLA一致あるいは一座不一致の血縁ドナーとし、G-CSF 5 $\mu$ g/kgを1日2回連日皮下注射し、4日目からCD34陽性細胞として3 $\times$ 10<sup>6</sup>個/kgの採取を目標にしてアフエレーシスを行って末梢血幹細胞を採取し、移植支持療法は通常どおりに行った。移植後の造血回復過程を解析するとともに、治療の安全性を高めるために免疫機能の評価や各種の合併症の発生についても検討した。また同時に、臨床試験に関する院内教育も実施し、データセンターの整備も試みた。

#### <倫理面への配慮>

対象患者については、いずれも患者本人に説明同意文書の内容を極力分かり易い言葉で説明し、説明同意文書2部を作製して本人に渡したうえで文書による同意を得る。説明同意文書に本人の自由意志で同意の署名がなされた後に、この文書の1部を本人に提供することで倫理性も確保する。本研究は、施設倫理審査委員会の承認を受けて実施する。

## C. 研究結果

国立がんセンター中央病院における第 I 相臨床試験は、2003 年 12 月末の時点で合計 220 名の造血器腫瘍患者を登録した。高リスク患者が対象となったにもかかわらず、HLA 一致血縁者間移植の場合には移植後 1 年以内の移植関連死亡の発生は 5% 以内に留まり、ミニ移植の安全性が高いことが示された。しかしながら、急性 GVHD、間質性肺炎を始めとする晩期合併症の発症率は通常移植と同程度であったことから、その改善のために、GVHD 予防を強化した試験計画を立案する必要があることを示した。同時に、若手研修医や clinical research coordinator を対象とした臨床試験に関する院内教育も実施し、データセンターの整備も行った。

## D. 考察

最近に至り、同種造血幹細胞移植の治療効果は大量化学療法や放射線照射だけでなく、むしろ同種免疫効果、すなわちドナー由来のリンパ球が抗腫瘍効果を発揮することに由来することが判明した。そこで、移植前処置の抗がん剤を減量し、副作用を抑えつつドナー造血幹細胞の生着を図り、抗腫瘍効果は主として同種免疫効果に期待するというミニ移植の概念が提案された。本班研究では、ミニ移植を若年者に施行することで、白血病の再発を抑えつつ、移植関連合併症を減少させることが可能か否かを検証する。その前提となる国立がんセンター中央病院における第 I 相臨床試験において、高齢者においてもミニ移植の安全性が高いことが示されたことは、今後、班研究を進めて若年者への適応拡大を検討するうえで貴重な知見になると考える。この試験を遂行するうで行った臨床研究教育とデータセンター、データベースのインフラ整備は、今後行われる各種疾患に対する移植領域における臨床試験にも大きく寄与する。

## E. 結論

高齢者においても、末梢血幹細胞ミニ移植後の短期合併症は、通常の移植と比較して軽微であるため、若年者を対象として実施した場合の患者利益が高まる可能性が示された。今後、移植領域における臨床試験基盤を整備して、これを検証するための多施設第 II 相臨

床試験を進めることが重要と提議できる。同時に、治療法のさらなる改善を目指して、合併症を克服するための臨床研究を継続する必要がある。このためには、移植領域においても臨床試験遂行基盤を構築することが重要である。

## F. 健康危険情報

該当なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Kami M, Hamaki T, Miyakoshi S, Murashige N, Kanda Y, Tanosaki R, Takaue Y, Taniguchi S, Hirai S, Ozawa K, Kasai M: Allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation for the treatment of adult T-cell leukemia/lymphoma. *Br J Haematol*, 120:304-309, 2003.
- 2) Mineishi S, Kanda Y, Saito T, Nakai K, Makimoto A, Masahiro Kami M, Tanosaki R, Wakasugi H, Tobinai K, Takaue Y: Impact of GVHD in reduced-intensity stem cell transplantation for patients with hematological malignancies. *Br J Hematol*, 121:296-303, 2003.
- 3) Kim SW, Kami M, Kobayashi K, Takaue Y, Honda O: Effects of selective decontamination of digestive tract on mortality and acquisition of resistant bacteria in intensive care: a randomized controlled trial. *Lancet*, 362:2118-2120, 2003.
- 4) Harashima N, Kurihara K, Utunomiya A, Tanosaki R, Hanabuchi S, Masuda M, Ohashi T, Fukui F, Hasegawa A, Masuda T, Takaue Y, Okamura J, Kannagi M: Graft-versus-human T-cell leukemia virus type-1 response in adult T-cell leukemia patients following non-myeloablative hematopoietic stem cell transplantation. *Cancer Res*, 64:391-399, 2004.

### 2. 学会発表

- 1) Hori A, Kanda Y, Goyama S, Ohnishi Y, Komeno Y, Mitani K, Kishi Y, Ogawa S, Imataki O, Chiba S, Kojima R, Hamaki T, Sakiyama M, Kami M, Makimoto A, Tanosaki R, Takaue Y, Hirai H: Pravastatin for the

treatment of refractory chronic GVHD: Prospective clinical and immunological evaluation from the Japan Hematology Oncology Clinical Study Group (J-HOCS). 45th American Society of Hematology Annual Meeting, San Diego, December 6-9, 2003 (abstr #2664).

2) 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, 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. 45th American Society of Hematology Annual Meeting, San Diego, December 6-9, 2003 (abstr #2707).

3) Sakiyama M, Kim SW, Kami M, Mori S, Makimoto A, Mineishi S, Takaue Y, Tanosaki R: Feasibility of collecting granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF)-mobilized peripheral blood stem cells (PBSC) from donors aged over 50 years. 45th American Society of Hematology Annual Meeting, San Diego, December 6-9, 2003 (abstr #3569).

4) 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). 45th American Society of Hematology Annual Meeting, San Diego, December 6-9, 2003 (abstr #3629).

5) Kusumi E, Tanimoto TE, Kami M, Hamaki T, Kim SW, Mori T, Etoh T, Tamaki T, Taniguchi S, Takaue Y: Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with a reduced-intensity regime for non-Hodgkin lymphoma: A retrospective survey of 112 adult patients in Japan. 45th American Society of Hematology Annual Meeting, San Diego, December 6-9, 2003 (abstr #2696).

6) Katayama Y, Kami M, Kusumi E, Katoh D, Yuji K, Miyakoshi S, Uchida N, Kamitani Y, Ohnishi Y,

Murashige N, Kim SW, Mori S, Taniguchi S, Takaue Y: The central nerve system complications in the early course of reduced-intensity stem cell transplantation. 45th American Society of Hematology Annual Meeting, San Diego, December 6-9, 2003 (abstr #2628).

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

該当なし

##### 2. 実用新案登録

該当なし

##### 3. その他

該当なし

# 厚生労働科学研究費補助金効果的医療技術の確立推進臨床研究事業（がんの臨床研究）

## 分担研究報告書

### WT1 を指標とした予防的ドナーリンパ球輸注療法

分担研究者 中尾 眞二 金沢大学大学院医学系研究科細胞移植学教授

研究要旨：予後不良の AML は、強力な移植前処置後に同種造血幹細胞移植を行ったとしても、再発率が高いため、必ずしも予後が改善されるわけではない。最近 Ogawa らは、骨髄の WT1 mRNA 発現量が移植後の再発と非常によく相関することを報告した。そこで、非寛解期に移植した 2 例の AML に対し、骨髄の WT1 を経時的に測定し、一定量（1500 コピー/ $\mu$ gRNA）以上にコピー数が増えた場合に免疫抑制剤の減量・中止や予防的 DLI を試みた。今回の検討から、AML であっても、腫瘍細胞がごく少数しか存在しない時期に DLI を行えば、再発を防げる可能性が示唆された。

#### A. 研究目的

同種造血幹細胞移植は急性白血病に対する最も強力な治療法である。しかし、ハイリスクの急性白血病では、たとえ寛解期に同種造血幹細胞移植を行っても、必ずしも化学療法より優れた成績が得られるわけではない。また、移植前処置開始時に非寛解状態であった急性白血病患者では、移植後の再発が克服すべき最大の問題である。

移植後再発に対するドナーリンパ球輸注（donor lymphocyte infusion, DLI）は、慢性骨髄性白血病（chronic myelogenous leukemia, CML）の慢性期再発に対しては有効性が確立されている。しかし、急性白血病の再発に対しては、いずれの報告でも寛解導入率は低い。最近、大阪大学の Ogawa らは、骨髄の WT1 mRNA 発現量が移植後の白血病再発と非常によく相関することを報告した（Blood 2003, 101: 1698-1704）。そこで、非寛解期に移植した急性骨髄性白血病（AML）症例に対し、骨髄の WT1 mRNA レベルを指標とした免疫抑制剤（シクロスポリンまたはタクロリムス）の早期減量・中止と予防的 DLI を行い、その安全性（GVHD に関連した死亡の有無）と有効性（WT1 レベルの低下と再発予防効果の有無）を検討した。

#### B. 研究方法

以下の臨床試験を計画した。

1) 移植後 day 14 より原則的に 2 週間おきに骨髄穿刺

を行い、骨髄中の WT1 mRNA の発現量を測定する。

2) WT1 mRNA が 1500 コピー/ $\mu$ gRNA を超えた時点で分子再発と診断し、直ちに免疫抑制剤（シクロスポリンまたはタクロリムス）を減量・中止する。

3) 移植片対宿主病（graft-versus-host disease, GVHD）の徴候を認めず、2 週間後の再検査で WT1 mRNA の低下が認められなかった場合、患者の体重あたり  $1 \times 10^7$ /kg の CD3 陽性細胞を含むパッフィーコートを輸注する。

4) この間、grade II 以上の急性 GVHD を発症した場合は、直ちにステロイド剤（メチルプレドニゾン 2 mg/kg）を開始する。

#### C. 研究結果

パイロット研究として 2 例の AML 患者に対し、このプロトコールにしたがって免疫抑制剤の減量・中止と予防的 DLI を行った。

【症例 1】40 才、男性。AML-M2(再発、非寛解)に対し、HLA2 座不一致の母親から PBSCT を実施。Day 57 に骨髄の WT1 が 1700 コピー/ $\mu$ gRNA まで増加したため、免疫抑制剤を中止したところ、grade II の急性 GVHD を発症。WT1 は 230 コピー/ $\mu$ gRNA まで減少した。

【症例 2】48 才、男性。AML-M6(非寛解)に対し、HLA2 座不一致の兄から PBSCT を実施。Day 62 に WT1 が 8600 コピー/ $\mu$ gRNA まで増加し、染色体異常も再出現

したため、day 64に同一ドナーより  $1 \times 10^7/\text{kg}$  の DLI を施行したところ、grade II の急性 GVHD を発症し、WT1 も 220 コピー/ $\mu\text{gRNA}$  まで減少した。

#### D. 考察

GVHD と移植後再発率との関係を検討した Horowitz らの報告によれば、同種造血幹細胞移植後の GVHD が急性白血病に対して再発予防効果を持つことは明らかである。しかし、移植後に急性白血病がひとたび再発すると、たとえ DLI を行っても永続的な効果はほとんど期待できない。急性白血病に対する DLI の効果が乏しいのは、GVL 効果が全く誘導されないからではなく、GVL 効果を担う T 細胞が十分に増える前に白血病細胞が圧倒的に増えてしまうことが主な原因と考えられる。したがって、白血病細胞がごく少数しか存在しない分子再発を早期に診断し、grade II までの急性 GVHD を誘導できる程度の DLI を行えば、急性白血病であっても再発を防げる可能性があると考えられる。これまでに報告されている DLI の成績は再発例を対象としたものがほとんどであり、予防的 DLI の有効性についてはその実施時期や投与量も含めてほとんど検討されていない。

今回の検討から、骨髄の WT1 mRNA 発現量を経時的に測定し、一定量 (1500 コピー/ $\mu\text{gRNA}$ ) 以上にコピー数が増えた場合に免疫抑制剤の早期減量・中止や少量の DLI を行うことにより、AML の再発を予防できる可能性が示唆された。

#### E. 結論

WT1 mRNA を指標とした予防的 DLI は、予後不良 AML に対する移植後療法として有用な可能性がある。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Miura Y, Ueda M, Takami A, Shiobara S, Nakao S, Hess AD. Enhancement of cyclosporin A-induced autologous graft-versus-host disease after peripheral

blood stem cell transplantation by utilizing selected CD34(+) cells. *Bone Marrow Transplant.* 2003 Oct; 32(8): 785-90.

2. Ishiyama K, Chuhjo T, Wang H, Yachie A, Omine M, Nakao S. Polyclonal hematopoiesis maintained in patients with bone marrow failure harboring a minor population of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria-type cells. *Blood.* 2003 Aug 15; 102(4): 1211-6
3. Chuhjo T, Yachie A, Kanegane H, Kimura H, Shiobara S, Nakao S. Epstein-Barr virus (EBV)-associated post-transplantation lymphoproliferative disorder simultaneously affecting both B and T cells after allogeneic bone marrow transplantation. *Am J Hematol.* 2003 Apr; 72(4): 255-8.
4. Zhu J, Okumura H, Ohtake S, Nakamura S, Nakao S. The molecular mechanism of arsenic trioxide-induced apoptosis and oncosis in leukemia/lymphoma cell lines. *Acta Haematol.* 2003; 110(1): 1-10.
5. Takami A, Namiki M, Koshida K, Asakura H, Nakao S. Reduced-intensity allogeneic stem cell transplantation (RIST) for renal cell carcinoma: in vivo evidence of graft-versus-tumor effect. *Haematologica.* 2004 Mar; 89(3): 372-4.

##### 2. 学会発表

1. Akiyoshi Takami, Chiharu Sugimori, Xingmin Feng, Honbo Wang, Yoshiki Akatsuka, Kiyotaka Kuzushima, Shintaro Shiobara, Shinji Nakao: Identification of HLA-A\*2402-Restricted Polymorphic Peptides Derived from CD62L that May Mediate Graft-Versus-Leukemia Effect. The American Society of Hematology 45th Annual Meeting and Exposition. December 6-9, 2003. San Diego, California
2. Tatsuya Chuhjo, Wang Hongbo, Ken Ishiyama, Shinji Nakao: Genomic Instability Is Less Accelerated in Bone Marrow Failure Patients with a Minor Population of Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria (PNH)-Type Blood Cells Than in Those without Such PNH-Type Cells. The American Society of Hematology 45th Annual Meeting and Exposition. December 6-9, 2003.

San Diego, California

3. Chiharu Sugimori, Tatsuya Chuhjo, Honbo Wang, Xingmin Feng, Shinji Nakao: Roles of HLA-DR15 Alleles in the Immune Mechanisms of Acquired Aplastic Anemia: Methods of Contribution Differ Between DRB1\*1501 and DRB1\*1502. The American Society of Hematology 45th Annual Meeting and Exposition. December 6-9, 2003. San Diego, California
4. Xingmin Feng, Tatsuya Chuhjo, Takeharu Kotani, Hiroyuki Takamatsu, Chiharu Sugimori, Akiyoshi Takami, Hirohito Yamazaki, Shinji Nakao: Diazepam-Binding Inhibitor Related Sequence-1 (DRS-1): A Candidate Autoantigen in Acquired Aplastic Anemia. The American Society of Hematology 45th Annual Meeting and Exposition. December 6-9, 2003. San Diego, California

#### 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          なし

# 厚生労働科学研究費補助金効果的医療技術の確立推進臨床研究事業（がんの臨床研究）

## 分担研究報告書

### 非血縁者からのミニ移植の安全性と有効性の検討

分担研究者 原田 実根

九州大学大学院医学研究院・臓器機能医学部門内科学講座・病態修復内科学分野 教授

研究要旨：他に有効な治療法を持たない難治性造血器疾患を有するにもかかわらず、根治療法としての通常の骨髄破壊的移植術が適応とはならない患者を対象とする。HLA 血清型完全一致非血縁ドナーから採取された骨髄幹細胞を使用し、従来の前処置療法と比較して治療強度を軽減した同種造血幹細胞移植（reduced-intensity stem cell transplantation; RIST）いわゆるミニ移植術を行い、その有効性と安全性を評価する。

#### 分担研究者

原田実根

九州大学大学院医学研究院病態修復内科

長藤宏司

助手

福田隆浩

助手

宮本敏浩

助手

された骨髄幹細胞を使用し、従来の前処置療法と比較して治療強度を軽減した同種造血幹細胞移植（reduced-intensity stem cell transplantation; RIST）いわゆるミニ移植術を行い、その有効性と安全性を評価する。

#### A. 研究目的

本研究では、他に有効な治療法を持たない難治性造血器疾患を有するにもかかわらず、根治療法としての通常の骨髄破壊的移植術が適応とはならない患者を対象とする。HLA 血清型完全一致非血縁ドナーから採取された骨髄幹細胞を使用し、従来の前処置療法と比較して治療強度を軽減した同種造血幹細胞移植（reduced-intensity stem cell transplantation; RIST）いわゆるミニ移植術を行い、その有効性と安全性を評価する。

本研究の特徴は、ミニ移植術で一般に用いられる HLA 一致血縁ドナー由来の末梢血幹細胞を用いず、HLA 一致非血縁ドナーの骨髄幹細胞を用いた場合の成績を検討することである。

#### B. 研究方法

本研究では、他に有効な治療法を持たない難治性造血器疾患を有するにもかかわらず、根治療法としての通常の骨髄破壊的移植術が適応とはならない患者を対象とする。HLA 血清型完全一致非血縁ドナーから採取

#### 主要評価項目（primary endpoint）

- (1) 移植後 28 日時点での生着
- (2) 造血回復までの期間、完全キメラ達成までの期間および割合（移植後 day 90±5 でドナー由来細胞が 90%以上）

#### 副次的評価項目（secondary endpoint）

- (1) 移植後 100 日時点の全生存率および無増悪生存率
- (2) 移植後 1 年の全生存率および無増悪生存率
- (3) 前処置・急性移植片対宿主病（graft-versus-host disease; GVHD）予防薬の毒性
- (4) GVHD の頻度・重症度
- (5) 感染症発症率

#### 対象

難治性造血器疾患に罹患し、他の治療では治癒や長期生存が期待できないような病気や病状であるにもかかわらず、年齢制限（50 歳以上）や臓器機能障害、大量化学（放射線）療法の既往があるために通常の血縁/非血縁者間同種造血幹細胞移植の適応にならない患者を本研究の対象とする。血清検査において、HLA の

A/B/DR 座の全てが適合した 6/6 完全一致または 5/6 一致の血縁ドナーを有さず、HLA 完全一致血縁ドナーが存在し骨髄提供の同意を得ることができた患者において、説明同意書を用いて同意を得た者について行う。

### C. 研究結果

血縁者間のミニ移植において早期の完全キメラ達成が確認されるようになり、複数のグループが非血縁者間におけるミニ移植の実行可能性について評価している。いずれも、通常、HLA 一致血縁者間で用いている前処置に加えて、なんらかの免疫抑制性の治療を追加している。ドイツおよびイスラエルのグループは、HLA 一致同胞間ミニ移植で用いるリン酸フルダラビンとブスルファンによる前処置にそれぞれウサギ ATG 2.5 mg/kg/day あるいはウマ ATG 10 mg/kg/day 投与を 4 日間加え、42 症例の HLA 一致非血縁者間移植を行った。ドイツのグループでは、1 次生着不全 1 例、2 次生着不全 8 例を認めた (21%)。イスラエルのグループは 10 歳から 27 歳 (中央値 15 歳) の 16 例に HLA 一致非血縁移植を施行し中 15 例に生着を認めている。うち 4 例が死亡している (血小板減少と重篤な出血性膀胱炎 1、中枢神経毒性 1、grade IV の GVHD 1、再発 1)。

日本では非血縁者間造血幹細胞移植は骨髄移植に限定されており、allo-PBSCT は認められていない。これは、健常人への G-CSF の長期的な影響が不明であるためである。このため、本研究ではすべての患者が骨髄移植を受けている。また、2002 年 10 月現在、JMDP は、再発、移植後リンパ増殖性疾患以外の理由での DLI、及び非血縁ボランティアドナーから採取した骨髄の部分的な凍結保存を認めていない。このため、非血縁者ドナーからのミニ移植は生着不全のリスクが高くなる可能性があると考えなければならない。

このため、TBI 2 Gy alone のような一時的に混合キメラになる可能性が高い前処置ではなく、myeloablative な性質が強いレジメンを選択した。プリンアナログと busulfan の併用は、完全キメラの誘導が速やかで、かつ前処置関連毒性が少ないため、この目的に好都合である。TBI はレシピエント由来細胞を抑制するが、ドナー由来細胞に影響を与えず、生着促

進方向のみに働くと考えられる。TBI の線量については、シアトルにおける血縁者間のミニ移植の成績により TBI 200cGy 単独で生着には十分と考えられるが、混合キメラの頻度が高く DLI をしばしば必要としている。このためシアトルのグループにおいても非血縁者間移植の際には TBI にフルダラビンを加えるプロトコルを用いている。一方、Deeg らは再生不良性貧血における非血縁者間ミニ移植において TBI をエンドキサン/ATG に併用する試験を行った際に、TBI 600cGy 以上を併用した群では肺障害が増えることを示している。このため当院では確実に生着を誘導しかつ合併症を避けるために TBI の線量を 400cGy とした。

### D. 考察

同種骨髄移植施行直前に行う大量抗癌剤療法や全身放射線照射の他の意義としては、ドナー由来の造血細胞が定着するための骨髄内の空間 (niche) 作りと免疫抑制にあると長い間考えられていた。しかし最近のいくつかの実験や臨床経験では、生着を起こさせるためには骨髄中に niche を作ることは必須ではなく、むしろ大量の造血幹細胞を移植するか、または十分な免疫抑制を行うだけで良いとの基礎データが多く示されて、骨髄移植時の治療関連毒性の主原因である強力術前療法や極量の全身放射線照射を避け得る方法が示唆されるに至った。この結果、臨床的には強力な免疫抑制効果を有するものの、その他の臓器毒性が少ないリン酸フルダラビンやクラドリピン (2-chlorodeoxyadenosine: 2-CdA) などのプリン誘導体を用いることで、従来の術前療法と比較しレジメン関連毒性を軽減した、reduced-intensity stem cell transplantation (RIST)、いわゆるミニ移植が登場した。臓器毒性が少ないことから、通常骨髄破壊的同種造血幹細胞移植術が適応とならない、もしくはリスクが非常に高い患者も積極的に対象に含められるようになった。50 歳以上の高齢者や、心臓・肝臓などの重要臓器障害のある患者、2 回目以降の移植患者がミニ移植の対象と考えられている。

### E. 結論

難治性造血器疾患に対する同種造血幹細胞移植の

有用性は確立している。その適応は、ミニ移植の出現により、より高齢の患者および合併症のある患者にも拡大されつつある。しかし、非血縁ドナーからの骨髄非破壊的前処置による骨髄移植は、本邦で未だ未確立の分野である。本研究が、この分野における初めての前向き臨床試験であり、その研究結果がもたす影響は大きい。

## 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. Hiraki A, Ueoka H, Bessho A, Segawa Y, Takigawa N, Kiura K, Eguchi K, Yoneda T, Tanimoto M, Harada M: Parathyroid hormone-related protein measured at the time of first visit is an indicator of bone metastases and survival in lung carcinoma patients with hypercalcemia. *Cancer* 95: 1706-1713, 2002
7. 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
8. 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
9. 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
10. Yamasaki M, Henzan H, Ohno Y, Yamanaka T, Iino T, Itou Y, Kuroiwa M, Maeda M, Kawano N, Kinukawa N, Miyamoto T, Nagafuji K, Shimoda K, Inaga S, Hayashi S, Taniguchi S, Shibuya T, Condo H, Otsuka 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
11. 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
12. 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
13. 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 altered 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
14. 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.
15. 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
16. 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
17. 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
18. 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
19. 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
20. 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-stimulating factor-mobilized peripheral blood stem cells : *Clin Exp Allergy* 33: 1561-1567, 2003
21. 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

#### 1. 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 回日本アフェレシス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., Hanzan 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

# 厚生労働科学研究費補助金効果的医療技術の確立推進臨床研究事業（がんの臨床研究）

## 分担研究報告書

### 同種造血細胞幹移植後の GVHD の制御に関する細胞の研究

分担研究者 今村 雅寛 北海道大学大学院医学研究科 血液内科学教授

研究協力者 東梅 友美、三浦 洋子、田中 淳司 北海道大学大学院医学研究科 血液内科学

研究要旨：抑制性 NK 細胞受容体を有する細胞が移植後の末梢血に増加し、GVHD の制御に重要な役割を果たしている。抑制性 NK 細胞受容体陽性細胞は抗 CD3 抗体と、IL-15、CD14 陽性単球存在下で効率よく *in vitro* 増幅がなされ、アロ抗原刺激に対する増殖反応を抑制した。したがって、この細胞は GVHD の制御のための細胞療法へと応用できるものと考えられた。

#### A. 研究目的

同種造血幹細胞移植後の移植片対宿主病 (GVHD) 抑制作用を有する細胞を同定し、その臨床応用を目指す。本研究では、抑制性 NK 細胞受容体を有する細胞が移植後の末梢血に増加し、GVHD の制御に重要な役割を果たしていることが明らかとなっているため、その機能解析を行うことを目的とした。

#### B. 研究方法

血縁者間同種末梢血幹細胞移植のドナーより同意を得て末梢血を採取し、 $10^6$  個の T 細胞を抗 CD3 モノクローナル抗体 ( $1 \mu\text{g/ml}$ )、IL-15 ( $5\text{ng/ml}$ ) 存在下において 24 穴プレート中で 7 日間培養し *in vitro* 増幅を図った。CD94, NKG2A 陽性細胞は該当するモノクローナル抗体を用いてフローサイトメトリーで解析した。 $5 \times 10^4$  個の CD94 陽性 T 細胞あるいは CD94 陽性細胞を除去した T 細胞を反応細胞とし、同数の X 線照射同種リンパ球を刺激細胞として 96 穴プレートで 3 日間リンパ球混合培養を行い、増殖反応を検討した。なお、当該研究は北海道大学医学研究科の倫理委員会の審査を経て承認されたものであり、研究目的とその意義を説明した上で、いつでも同意の撤回が出来ること、1 回の採血量も 10–20ml と常識的な範囲のものであることなどを理解して頂いた後に進めた。

#### C. 研究結果

G-CSF 投与前及び投与後の末梢血では抑制性 NK 細胞

受容体のひとつである CD94 あるいは NKG2A 陽性細胞数は低値を示していたが、*in vitro* で抗 CD3 モノクローナル抗体刺激するといずれの陽性細胞数も増加した。特に、G-CSF 投与後の末梢血では刺激しない場合に比べて、CD94 で約 5 倍、NKG2A で約 5–10 倍に増加した。IL-15 を加えると、各々約 10 倍、約 10–30 倍に増加した。*in vitro* で抗 CD3 モノクローナル抗体と IL-15 を添加する際に、 $3 \times 10^5$  個の CD14 陽性単球が存在すると、CD94, NKG2A 陽性細胞数は増加したが、それを除去あるいは膜を介して、T リンパ球との直接的接触を阻害すると、これらの陽性細胞数は低下した。CD94 陽性細胞の除去で 3H-thymidine の取り込みは増加したが、それを戻すと増殖反応はふたたび低下した。

#### D. 考察

ヒト同種造血幹細胞移植後に出現する抑制性 NK 細胞受容体陽性 NK あるいは T 細胞は GVHD の制御に重要な役割を果たしていることが示唆されているが、今回の検討から、リンパ球混合培養でのアロ抗原に対する増殖反応を抑制することが明らかとなった。抑制性 NK 細胞受容体陽性細胞の誘導には抗 CD3 モノクローナル抗体と IL-15、さらには CD14 の存在が重要であることより、これらを用いて抑制性 NK 細胞受容体陽性細胞の *in vitro* 増幅を図ることで、GVHD の制御における細胞療法への応用が可能になるものと期待される。

## E. 結論

抑制性 NK 細胞受容体陽性細胞の in vitro 増幅は抗 CD3 モノクローナル抗体と、IL-15、CD14 陽性単球で効率よくなされ、アロ抗原刺激に対する増殖反応を抑制した。この細胞は GVHD の制御に有用である。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Tanaka J, et al: Expression of HLA class I-specific natural killer cell receptors on peripheral blood mononuclear cells during graft-versus-host disease after allogeneic bone marrow transplantation. *Transplant Proc* 35: 497-498, 2003

### 2. 学会発表

1. Tanaka J, et al: Expression of inhibitory natural killer cell receptor CD94/NKG2A-expressing CD8<sup>+</sup> T cells from various sources of blood mononuclear cells. 32nd Annual Meeting of International Society of Hematology, Paris, 2003

2. Tanaka J, et al: Immunoregulatory role of inhibitory NK cell receptors (CD94/NKG2A) - expressing cells expanded from granulocyte colony-stimulating factor-mobilized peripheral blood mononuclear cells. 45th Annual Meeting of American Society of Hematology, San Diego, 2003

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

該当なし

### 2. 実用新案登録

該当なし

### 3. その他

該当なし

# 厚生労働科学研究費補助金効果的医療技術の確立推進臨床研究事業（がんの臨床研究）

## 分担研究報告書

### 通常移植とミニ移植後の感染症の比較検討に関する研究

分担研究者 山下 卓也 東京都立駒込病院 血液内科 医員

研究要旨：駒込病院で行った通常移植の成績を後方視的にまとめ、プロトコール作成に資することを目的に研究を行った。

#### A. 研究目的

20歳から50歳の若年者骨髄性造血器腫瘍の患者を対象として、骨髄非破壊的前処置を用いた同種末梢血幹細胞移植が、骨髄破壊的前処置を用いた同種末梢血幹細胞移植に匹敵する治療法であることを明らかにすること。

#### B. 研究方法

上記の目的を達成するための臨床研究を計画し、そのプロトコールの検討を行った。併せて、当院における骨髄非破壊的前処置を用いた同種末梢血幹細胞移植症例を後方視的に検討し、本治療法の特徴を明らかにしようと試みた。

#### （倫理面への配慮）

当該臨床研究プロトコールを作成するにあたっては、倫理面への配慮を重視した。後方視的な検討を行うにあたっては、倫理面を考慮した研究を行った。

#### C. 研究結果

当該臨床研究のプロトコール検討会に参加し、プロトコールの作成に関与した。当院における骨髄非破壊的前処置を用いた同種末梢血幹細胞移植症例の後方視的研究を基にして、日常臨床において、数例の骨髄非破壊的前処置を用いた同種末梢血幹細胞移植を実施した。

#### D. 考察

当該臨床研究プロトコール作成にあたっては、対象

疾患、主要評価項目等についての詳細な検討が必須であると考えられた。日常臨床においては、骨髄非破壊的前処置を用いた同種末梢血幹細胞移植は、従来の同種移植に匹敵する治療法であると感じられた。

#### E. 結論

骨髄破壊的前処置と骨髄非破壊的前処置を用いた同種末梢血幹細胞移植の比較検討のための臨床研究は、骨髄非破壊的前処置を用いた同種末梢血幹細胞移植療法の開発のために必須である。

#### 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