

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

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

分担研究者： 澤田 賢一 秋田大学医学部第三内科 教授

研究要旨：骨髄異形成症候群（myelodysplastic syndrome: MDS）は中高年齢層に多く発生するが、骨髄破壊的前処置が適応となる年齢層にも稀ではない疾患である。我々は、本年度において、造血幹細胞移植が適応となる MDS の 3 例を経験し、骨髄非破壊的前処置を用いた同種末梢血幹細胞移植を行ったのでその安全性と効果について報告する。

A. 研究目的

年齢 50 才以上の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 HLA 一致同胞からの同種末梢血幹細胞移植療法の安全性と効果について明らかにする。

B. 研究方法

輸血依存性であるかまたはハイリスクの骨髄異形成症候群で、同種造血幹細胞移植の適応があると判断された年齢 50 才以上の症例 3 例を対象とした。骨髄非破壊的前処置としてフルダラビンおよびブスルファンを、急性 GVHD 予防としてシクロスポリンおよびメソトレキセートを用いた。HLA6/6 マッチの同胞より G-CSF で動員した末梢血幹細胞を採取し、簡易法にて冷凍保存した移植片を移植当日解凍輸注した。移植前日より好中球数 >500 間で移植病室にて管理した。

C. 研究成果

症例 1、60 才男性。輸血依存性の refractory anemia with multilineage dysplasia で、染色体異常は 46, XY, del(3)。並存合併症として左前下行枝主幹部に 90~99% の狭窄をともなう冠動脈疾患があった。心駆出率は 0.75 と正常。ドナーは 53 才女性、輸注 CD34+細胞数は 4.0×10^6 /kg。好中球数 >500 は day 13、キメリズム解析の結果、異性間移植 FISH にて骨髄・末梢血ともに移植後 2 ヶ月時点において 98% 以上ドナータイプであった。急性 GVHD grade 0、移植後 5 ヶ月めに特発性間質性肺炎を併発したが、副腎皮質ステロイドに反応

良好であった。慢性 GVHD は limited type。現在移植 9 ヶ月経過、移植前処置開始より現在に至るまで胸痛発作はみられていない。

症例 2、55 才男性。低形成 AML の診断のもと多剤併用化学療法にて一旦完全寛解を得たが、再発。再寛解導入療法を行った後、輸血依存性の汎血球減少症が持続、骨髄は低形成で軽度の異形成を認めたが、芽球の増加なく、MDS 様の造血状態と判断。染色体異常は 46, XY, del(20)。輸注 CD34+細胞数は 4.8×10^6 /kg。好中球数 >500 は day 15、キメリズム解析の結果、STR 法にて移植後 6 週めで 100% ドナータイプであった。急性 GVHD grade 0、間質性肺炎なし。現在移植後 5 ヶ月経過し、慢性 GVHD はみられていない。

症例 3、50 才女性の RAEB。多剤併用化学療法による寛解導入療法にて血液学的寛解を得たが、アスペルギルス肺炎を合併。抗真菌剤による治療後、refractory anemia の状態で移植を行った。現在移植 14 日めで造血回復を待っているところである。

D. 考察

3 例においてフルダラビンおよびブスルファンによる移植前処置の毒性は軽度の消化器症状のみで、tolerable であった。症例 1 においては移植にともなう虚血性心疾患の悪化が懸念されたが、狭心発作および不整脈・心不全症状はみられずに経過した。造血回復は速やかで、キメリズム解析を行った 2 例では速やかに完全キメラを形成した。

E. 結論

フルダラビンおよびブスルファン前処置による HLA 一致同胞からの同種造血幹細胞移植は、50 才以上の症例において安全に施行可能であった。ドナーリンパ球輸注を行わずに完全キメラを得ることができた。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. H Saitoh, M Hirokawa, N Fujishima, Y Ichikawa, Y Kawabata, I Miura, AB Miura, T Matsutani, R Suzuki and K Sawada: The presence and longevity of peripherally expanded donor-derived TCR $\alpha\beta\gamma$ mature T lymphocyte clones after allogeneic bone marrow transplantation for adult myeloid leukemias. *Leukemia* 17: 1626-1635, 2003
2. Hirokawa M, Kawabata Y, Sawada K: T-cell repertoire regeneration after human allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: current concept and future direction. *Recent Research Development in Immunology*, 151-157, Research Signpost, Kerala, 2003

2. 学会発表

特になし

H. 知的財産権の出現・登録状況

該当事項なし。

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

移植前治療大量ブスルファンの体内動態に関する研究

分担研究者 森下 剛久 愛知県厚生連昭和病院 内科・血液化学療法科部長

研究要旨:同種造血幹細胞移植の移植前治療を構成する主要薬剤であるブスルファン大量療法後の体内動態を明らかにすることにより、血中濃度時間曲線下面積 area under curve (AUC) を有効性・安全性のパラメーターとして用い、個々の患者への至適投与量を調節することを試みた。前方向視的臨床試験 15 例の結果、経口ブスルファン (BU) の血中濃度は個人差が大きく効果安全域と考えられる AUC を示したのは少数例であり、投与量を補正する targeted therapy の有用性につき多数例での検討が必要と結論した。

A. 研究目的

造血幹細胞移植のブスルファン大量療法を含む移植前治療において、日本人におけるブスルファン大量投与時のブスルファンの体内動態を明らかにし、必要最少回の採血で AUC を予測できる limited sampling method (LSM) を確立する。これに引き続き、初回の AUC に基づいてブスルファン総投与量が効果安全域となるよう補正する、いわゆる targeted dose adjustment 法を導入検討することを目的とする。

B. 研究方法

ブスルファン体内動態に関する試験の対象症例は BU を含む移植前治療による造血幹細胞移植（同種・自家を問わない）が施行される造血器悪性腫瘍症例で PS 0-2 (ECOG)、主要臓器機能が十分保持されていることなどを適格条件とした。BU (マブリン散) の内服は食事の影響を避けるため空腹時とし併用薬剤も限定した。AUC 測定のため、第 1 回目の投与時に計 11 回採血し、個体内変動、薬剤の蓄積性検討のため、第 13 回目の投与時に計 7 回採血し、凍結後搬送した。BU の測定は共同研究者の北里大学薬学部臨床薬学研究センター中毒部門においてガスクロマトグラフィー・マススペクトロメトリー (GC/MS) を用いて行った。LSM は 0.5、1、2、6 時間値を用いて台形公式と消失速度定数を用いた一時衰退を組み合わせて構築した。骨髓系造血器悪性腫瘍 6 症例を対象に非照射前処置法の標準的

治療法であるブスルファンとエンドキサン (BUCY) を用いて行われた予備的臨床研究においては、前研究により導かれた計算ソフトを用いてコンピューター上で求められた LSM 推定 AUC により補正投与量が算出され移植実施施設に指示される。

(倫理面への配慮)

本治療研究においては BU 血中濃度を目標内に保つことにより大量 BU 後の薬物有害反応は軽減されることが予想されているものの、多数回の採血を要する点、日本人における効果安全域が示されていない点などにつき参加各施設の倫理審査委員会の諮問し、承認を得た上で、本試験に際し、適格症例に対し説明文書に従って説明し、試験参加について患者本人より文書で自由意志による同意を得た。説明後、質問をする機会と試験に参加するか否かを判断するのに十分な時間を与え、患者が内容を十分に理解したことを確認した上で、添付同意文書に署名、捺印することで文書による同意を得た。

C. 研究結果

経口 BU 1mg/kg 投与後の AUC は 2409-12077 (μ g/L) hr, C_{ss} は 402-2013 μ g/L (n=9) とやはり大きな個人差がみられたが、各投与間の較差は少なく、繰り返し投与後の明らかな薬物の蓄積は認められなかった。初回投与時および 13 回目投与時の平均 C_{ss} が BU の効果安

全域といわれる 650-1000 $\mu\text{g/L}$ の範囲にある症例は 3 例のみで、仮に C_{ss} 700-900 $\mu\text{g/L}$ に target する場合 3 例に増量、5 例に減量が必要と判定された。AUC が高値を示した 2 例に移植関連死亡 (TRM) が、低値を示した 1 例が早期に原病の再発をきたした。

経口マブリン散の PK を用いて投与中の 4-5 ポイントの採血から得られた血中濃度から AUC を推定できる limited sampling model (LSM) を開発した。クリアランスの遅い症例が 2 例あり、近似式を 2 種用意することにより対応した。すなわち内服 2 時間値 (C2) と 6 時間値 (C6) の比により調整した。

初回投与時の体内動態の結果を基に第 7 回目以降の用量を調整して投与する targeted dose adjustment 法の結果は 6 例中 4 例が減量補正が必要であり、補正後、総投与量換算の C_{ss} が 679-812 $\mu\text{g/L}$ となり目標値に近似できた。

D. 考察

骨髄破壊的同種移植前治療はその高い抗腫瘍効果の一方で強い毒性が懸念され、前治療法の至適化が重要な課題である。標準的前治療薬の一つであるブスルファンは経口剤であるがゆえに体内動態に大きな個人差が存在する。ブスルファンの生物活性は AUC に依存し、効果安全域が 950-1500 $\mu\text{M}\cdot\text{min}$ (C_{ss} 換算にて 650-1000 $\mu\text{g/L}$) の範囲にあるとされている。すなわち AUC が低い場合は生着不全、再発頻度が上昇し、AUC が高い場合は肝 VOD、中枢神経毒性、不可逆的脱毛などの有害事象が増加する。今回の研究において目標値として設定された AUC はそのことに基づいている。一方海外ではすでに使用されている静注剤においては 0.8mg/kg の投与量にて多くの症例 (約 90%) が補正することなくその範囲の AUC が得られると報告されている。今後は設定した目標値や補正方法の妥当性を多数例で検証し、経口ブスルファンを含む前治療による成績向上と静注剤登場時の基礎データとして寄与することを目的とした前方向視的臨床試験を計画実施する。

E. 結論

今回の研究により日本人においても経口ブスル

ファンの体内動態に吸収・代謝の個人差が大きく存在していることが確認され、効果安全域と考えられる AUC に近似させるための targeted dose adjustment 法の有用性を検討するべきものとする。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

準備中

2. 学会発表

(1) 福本真理子、森下剛久、河野彰夫、成松宏人、尾関和貴、澤正史、水田秀一、鈴木一心、杉浦勇、寺倉精太郎、工藤寿子、鶴田陽和、小嶋晃：造血幹細胞移植前治療における経口大量 busulfan の体内動態の解析：Limited Sampling Model の構築。第 45 回日本臨床血液学会総会、平成 15 年 8 月 31 日。大阪国際会議場。

(2) 河野彰夫、福本真理子、成松宏人、尾関和貴、澤正史、水田秀一、鈴木一心、杉浦勇、寺倉精太郎、工藤寿子、森下剛久：造血幹細胞移植前治療における経口大量 busulfan の体内動態の解析：Targeted dose adjustment の提案。第 45 回日本臨床血液学会総会、平成 15 年 8 月 31 日。大阪国際会議場。

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

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

分担研究者 小川啓恭 大阪大学大学院医学系研究科 分子病態内科学講座 助教授

研究要旨：WT1 遺伝子発現は、panleukemic MRD marker として認識されている。WT1 遺伝子を高発現する 72 人の急性型白血病において、同種造血幹細胞移植後の骨髄における WT1 発現量を RT-PCR 法により、経時的に測定した。その結果、移植後の WT1 値を測定するにより、再発確率を正確に予測できること、また、再発患者においては、WT1 の doubling time は免疫賦活療法の効果を予測することなどを明らかにした。再発に関係する因子を分析した多変量解析では、非寛解期症例においては、生着時の WT1 低値 ($P=0.012$) と前処置の強度 ($P=0.012$) が、有意に移植後の再発を下げた。また、寛解期症例においては、移植前の WT1 値のみ ($P=0.047$) が、有意に再発を下げる因子として、抽出された。

A. 研究目的

ミニ移植は、前処置の強度を緩和しているため、50 歳以上の高齢者に対しても、施行可能と考えられる。しかし、aggressive な血液腫瘍に対しては、移植後の再発が多くなる可能性が指摘されている。

一方、我々は、通常、癌抑制遺伝子として認識されている Wilms tumor 遺伝子 (WT1) が、ほとんど全ての白血病で高発現していること、また、その発現を定量的な reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) を用いることにより、測定することにより、微小残存腫瘍 (minimal residual disease=MRD) を定量できることを明らかにしてきた。この WT1 assay は、多くの臨床検体の測定結果より、末梢血では 10 万個に 1 個、骨髄では 1000 個に 1 個の白血病細胞を検出できることが判明している。そこで、この assay system を用いて、前処置の強さが、どのように同種移植の再発結果に影響を及ぼすかを検討した。

B. 研究方法

1992 年 7 月から 2001 年 11 月までに、当科で同種造血幹細胞移植を受けた患者の中で、診断時に、 1×10^{-2} 以上 (K562 における WT1 の発現レベルを 1.0 と定義) の WT1 高発現を示した急性型白血病 (急性骨髄性白血病 (AML)、急性リンパ性白血病 (ALL)、慢性骨髄性白血病 (CML) の移行期、急性転化期を含む) 72 症例を対象

とした。72 例の内訳は AML 50 例、ALL 15 例、CML 7 例であった。急性白血病患者における、移植時の病期は、寛解期移植 29 例に対して、非寛解期移植 36 例であった。また、CML は、移行期 3 例、急性転化期 4 例であった。ドナーと患者との関係は、HLA 半合致血縁ドナー 28 例、血縁適合ドナー 27 例、非血縁骨髄ドナー 16 例、臍帯血 1 例であった。前処置の強さは、ミニ移植 14 例で、残りは通常の前処置であった。これらの移植において、移植前、および移植後、定期的に骨髄検体を採取し、WT1 遺伝子の発現レベルを経時的に測定した。また、キメラ遺伝子を発現している患者においては、同時に、その発現レベルを定量的 RT-PCR を用いて、測定した。同時に、ドナーから同意を得て、骨髄採取時、ドナー骨髄検体における WT1 の発現レベルをコントロールとして、測定した。

造血幹細胞移植の内、HLA 不適合移植のプロトコルは、大阪大学医学部医学倫理委員会で承認を受けた。また、全ての移植について、患者とその家族から、書面による informed consent を得た後、実施された。また、その結果の一部は論文などの形で公表されたが、患者が特定されない様、匿名の形で行われた。

C. 研究結果

キメラ遺伝子の発現レベルが、 1×10^{-5} 以下のものを、MRD 陰性とする時、MRD 陰性検体における WT1 発現

レベルは 4.0×10^{-4} 以下となり、ドナーと比較して、1オーダーWT1の発現レベルが、低下することが判った。移植後のWT1値と再発率との関係の解析では、 4.0×10^{-3} 以上で 1.0×10^{-2} 未満のWT1値を示す症例(Level C)では、9例中4例(44.4%)が40日以内に再発を来したのに対し、 4.0×10^{-1} 以上で 4.0×10^{-3} 未満のWT1値を示す症例(Level D)では、78例中8例(10.2%)のみが、その期間に再発した。また、最終的な再発率は、Level Cが77.8%であったのに対して、Level Dのそれは29.7%と低かった。したがって、Level CはWT1における分子再発レベルと考えられた。移植後再発を来した患者におけるWT1動態の解析では、WT1の増加スピードと免疫賦活療法の効果との間には、相関があり、WT1のdoubling timeが13日以内の患者で、免疫賦活療法が奏功した患者はいなかった。

次に、多変量解析を行うことにより、移植後再発に影響を及ぼす因子を分析した。非寛解期症例においては、生着時のWT1低値($P=0.012$)と前処置の強度($P=0.012$)が、有意に移植後の再発を下げた。寛解期症例においては、移植前のWT1値のみ($P=0.047$)が、有意に再発を下げる因子として、抽出された。

D. 考察

診断時に、WT1の高発現を示す症例では、骨髄におけるWT1値をモニタリングすることにより、再発確率を予測できること、また、再発に至った患者においては、そのdoubling timeを測定することによって、DLLなどの免疫賦活療法の効果を予測できることを明らかにした。さらに、再発の多変量解析による分析では、非寛期症例においては、骨髄破壊的前処置を必要とするが、寛期症例では、骨髄非破壊的前処置で十分であるという結果を得た。しかし、これらの解析結果は、急性型白血病(AML、ALLとCMLの移行期、急性転化期)を対象としたものであり、indolentな血液腫瘍においては、非寛期であっても、骨髄非破壊的前処置でも、十分、奏功する可能性はある。

E. 結論

WT1高発現腫瘍においては、WT1 assayにより、再発を早期に予測することが可能である。急性型白血病

では、非寛解期症例においては、骨髄破壊的前処置を必要とするが、寛解期症例では、骨髄非破壊的前処置を使用しても、有意に再発率の増加をもたらさない。

F. 健康危険情報

特記すべきものなし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Ogawa H, Tamaki H, Ikegame K, Soma T, Kawakami M, Tsuboi A, Kim EH, Hosen N, Murakami M, Fujioka T, Masuda T, Taniguchi Y, Nishida S, Oji Y, Oka Y and Sugiyama H.: The usefulness of monitoring WT1 gene transcripts for the prediction and management of relapse following allogeneic stem cell transplantation in acute type leukemia. *Blood*. 2003; 101: 1698-1704.
2. Tamaki H, Ikegame K, Kawakami M, Fujioka T, Tsuboi A, Oji Y, Oka Y, Sugiyama H, Kawase I, and Ogawa H. Successful engraftment of HLA-haploidentical related transplants using nonmyeloablative conditioning with fludarabine, busulfan and anti-T-lymphocyte globulin. *Leukemia*. 2003; 17: 2052-2054.
3. Tamaki H, Mishima M, Kawakami M, Tsuboi A, Kim EH, Hosen N, Ikegame K, Murakami M, Fujioka T, Masuda T, Taniguchi Y, Nishida S, Osumi K, Soma T, Oji Y, Oka Y, Kawase I, Sugiyama H, and Ogawa H. Monitoring minimal residual disease in leukemia using real-time quantitative polymerase chain reaction for Wilms' tumor gene (WT1). *International Journal of Hematology*. 2003; 78: 349-356.
4. Ogawa H, Ikegame K, Kawakami M, Taniguchi Y, Oka Y, and Kawase I. Allogeneic bone marrow transplantation with non-T-cell-depleted marrow from two HLA-antigen-mismatched related donors. *Haematologica*. 2004; 89: 373-375.
5. Yoshihara S, Kato R, Inoue T, Miyagawa H, Sashihara J, Kawakami M, Ikegame K, Oka Y, Sugiyama H, Kawase I, and Ogawa H. Successful treatment of life-threatening human herpesvirus-6 encephalitis with donor lymphocyte infusion in a patient who had

undergone HLA-haploidentical nonmyeloablative stem cell transplantation. Transplantation, in press.

6. Ogawa H, Ikegame K, Kawakami M, and Tamaki H. WT1 gene transcript assay for relapse in acute leukemia after transplantation. Leukemia and Lymphoma, in press.

7. Ogawa H, Ikegame K, Soma T, Kawakami M, Tsuboi A, Kim EH, Hosen N, Murakami M, Fujioka T, Masuda T, Taniguchi Y, Yoshihara S, Tatekawa T, Oji Y, Oka Y, and Kawase I. Powerful graft-versus-leukemia effects exerted by HLA-haploidentical grafts engrafted with a reduced-intensity regimen for relapse following myeloablative HLA-matched transplantation. Transplantation, in press.

2. 学会発表

1. 池亀和博、川上学、坪井昭博、村上雅樹、藤岡龍哉、升田知機、谷口裕紀、西田純幸、高松漂太、吉原哲、金義浩、白方俊章、保仙直毅、玉置広哉、相馬俊裕、尾路祐介、岡芳弘、杉山治夫、小川啓恭。T細胞除去を行わない HLA-haploidentical minitransplantation。第26回日本造血細胞移植学会。

2. 川上学、池亀和博、吉原哲、谷口裕紀、白方俊章、西田純幸、金義浩、升田知機、村上正樹、藤岡達哉、高松漂太、保仙直毅、坪井昭博、玉置広哉、相馬俊裕、尾路祐介、岡芳弘、杉山治夫、小川啓恭。HLA2-3抗原不適合血縁ドナーからの骨髄破壊的造血幹細胞移植。第26回日本造血細胞移植学会。

H. 知的財産権の出願。登録状況

特記すべきものなし。

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

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

分担研究者 原 雅道 愛媛県立中央病院血液内科 部長

研究要旨：骨髄非破壊的前処置を用いた非血縁者間同種骨髄移植を施行し、臨床的検討を行った。対象は通常の骨髄破壊的前処置が施行不可能と診断された急性骨髄性白血病(AML)再発期1例、慢性骨髄性白血病(CML)移行期1例、成人T細胞性白血病(ATL)3例（第1寛解期2例、寛解導入不能例1例）、非ホジキンリンパ腫(NHL)3例（第2寛解期2例、寛解導入不能例1例）、重症再生不良性貧血(SAA)4例、ウイルス関連血球貪食症候群(VAHS)1例、慢性活動性EBウイルス感染症(CAEBV)1例、計14例である。移植前処置はFludarabine(F)+Busulfan(B)+TBI7例、F+Melphalan(M)1例、F+M+Ara-C1例、F+M+TBI1例、F+Cyclophosphamide(C)+ATG4例である。移植の結果14例中12例に生着が得られ、骨髄非破壊的前処置による非血縁者間同種骨髄移植は施行可能な治療法と考えられた。

A. 研究目的

骨髄破壊的前処置を用いた通常の同種骨髄移植を行うことが困難な高齢者や臓器障害、感染症などの合併症を有する症例に対して、骨髄非破壊的前処置を用いた同種骨髄移植を行うことにより、移植の適応を拡大することを目的とした。

B. 研究方法

対象は2001年10月～2004年2月の間に当科で骨髄非破壊的前処置を用いて非血縁者間同種骨髄移植を施行した14例で、病型別では急性骨髄性白血病(AML)再発期1例、慢性骨髄性白血病(CML)移行期1例、成人T細胞性白血病(ATL)3例（第1寛解期2例、寛解導入不能例1例）、非ホジキンリンパ腫(NHL)3例（第2寛解期2例、寛解導入不能例1例）、重症再生不良性貧血(SAA)4例、ウイルス関連血球貪食症候群(VAHS)1例、慢性活動性EBウイルス感染症(CAEBV)1例である。全例通常の移植が困難と判断した症例で、年齢は17～59歳（中央値36歳）、男女比は7：7である。ドナーとレシピエントのHLAは遺伝子型一致8例、遺伝子型不一致5例、血清型1座不一致1例である。移植前処置はFludarabine(F)+Busulfan(B)+TBI7例、F+Melphalan(M)1例、F+M+Ara-C1例、F+M+TBI1例、F+Cyclo-phosphamide(C)+ATG4例で、

原則として造血器腫瘍にはF+B+TBIを、SAAにはF+C+TBIを施行した。

GVHD予防にはHLA一致例にはCyclo-sporin+MT

中 4 例に発症し、Limited type 2 例、Extensive type 2 例であった。おもな合併症としては血栓性微少血管病変 (TMA) 2 例、脳出血 2 例、びまん性肺胞出血 (DAH) 1 例であり、これらは死亡原因となった。

観察期間は短いが、14 例中 9 例が生存中であり、5 例が合併症のため死亡した。全生存率を図 1 に示す。

D. 考察

骨髄非破壊的前処置を用いた造血幹細胞移植は近年急速に普及しつつある。本領法が有効な治療法であるか否かは、綿密にデザインされた臨床研究として行われる必要があり、50 歳以上の白血病、MDS、悪性リンパ腫を対象とした厚生労働科学研究「高上班」の研究が進行中である。50 歳未満を対象とした同じ目的の本研究班の臨床研究の一環としてわれわれは、骨髄非破壊的造血幹細胞移植において、移植する造血幹細胞は骨髄でも可能か否かを非血縁ドナーからの骨髄移植で検討したわけであるが、その結果、生着は全体で 14 例中 12 例に得られた。骨髄非破壊的前処置において、免疫抑制を十分行えば、非血縁ドナーの骨髄を用いた造血幹細胞移植で十分生着は可能であることが示された。ただ SAA に対する FC+ATG による前処置は血縁間で、あるいは末梢血幹細胞移植であれば有効な方法の一つと考えられるが、非血縁の骨髄移植では 4 例中 2 例が拒絶されたことから、この方法では不十分であり、今後 TBI を加えるなどの工夫が必要と思われる。

E. 結論

骨髄非破壊的な前処置を用いた非血縁者間骨髄移植を施行した結果、14 例中 12 例に生着が得られた。骨髄非破壊的造血幹細胞移植は非血縁の骨髄移植でも十分可能と考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

(1) 骨髄非破壊的前処置を用いて同種末梢血幹細胞移植を施行した重症再生不良性貧血の 2 例：谷本一史、名和由一郎、中瀬浩一、原 雅道

第 64 回日本血液学会第 44 回日本臨床血液学会合同総会 2002 年 9 月

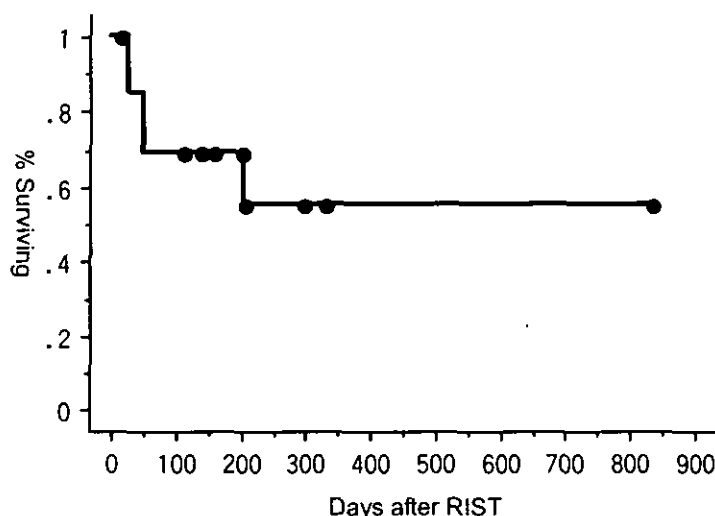
(2) 同種造血幹細胞移植患者における移植後合併症と凝固線溶系マーカーの検討：中瀬浩一、名和由一郎、谷本一史、前田嘉信、原 雅道

第 25 回日本造血細胞移植学会総会 2002 年 10 月

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

図 1 骨髄非破壊的前処置による非血縁者間同種骨髄移植症例の生存率



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

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

分担研究者 河野 文夫 国立熊本病院 臨床研究部長

研究要旨：骨髄非破壊的前処置による移植の有用性を、従来型骨髄破壊的前処置を用いた移植と比較し研究する。

A. 研究目的

骨髄非破壊的移植(RIST; reduced intensity stem cell transplantation)は高齢者や合併症を持つ患者を中心に施行され、安全性・有効性が確かめられつつある。これによると骨髄破壊的移植(CST; conventional stem cell transplantation)とくらべ効果は同等で安全性については同等もしくは優れている可能性がある。本研究では骨髄非破壊的移植が若年者においても有用であるかを検証する。

B. 研究方法

移植以外に有効な治療がないと考えられる骨髄球系血液悪性腫瘍の症例において、年齢・性別・疾患などのバックグラウンドをそろえ骨髄非破壊的移植と骨髄破壊的移植のランダム化試験をおこなう。

C. 研究結果

当院では2000年10月より2002年12月まで前処置にフルダラビンを加えたミニ末梢血幹細胞移植を19例、通常の前処置による末梢血幹細胞移植(CST)を32例施行した。NST群の年齢は40~65歳(平均年齢54.5歳)で疾患の内訳はAML2例、ALL2例、ATL2例、MDS4例、Myeloma4例、NHL5例、前処置としてはFlu/BUを10例、Flu/BU/ATG1例、Flu/CY4例、Flu/L-PAMを4例におこなった。一方CST群の年齢は16~62歳(平均年齢40.5歳)、AML13例、ALL4例、ATL3例、CML5例、MDS3例、Myeloma1例、NHL3例に対しTBIを含んだ前処置5例、BU/CYを27例に

施行した。100日以内の非再発死亡はNST群では評価可能症例14例中2名、CST群では28例中5名にみとめられた。一年生存はNST群、CST群それぞれ8例中4例、25例中12例、一年累積再発はNST群、CST群それぞれ6例中4例、20例中9例であった。両群を50歳以上にしぼって比較すると100日以内の非再発死亡はNST群では評価可能症例11例中2名、CST群では7例中2名であった。

D. 考察

当院では高齢者で比較的病勢進行の遅い症例を中心にRISTを施行した。移植関連合併死亡においては平均年齢の若いCST群と有意差を認めなかった。しかし無病生存RIST症例の多くが観察期間が短いため治療効果については今しばらく観察を要する。

E. 結論

RISTはCSTとくらべ治療効果は同等で、移植関連合併症は同等かそれ以下の可能性がある。

F. 健康危険情報

とくになし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) S.Imashuku, F.Kawano, et al: Treatment of Epstein-Barr Virus-Associated Hemophagocytic Lymphohistiocytosis (EBV-HLH) in Young Adults: A

Report From the HLH Study Center. Med Pediatr
Oncol 41: 103-109, 2003

2) F. Kawano, et al: Molecular Epidemiology of
Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus in a
Kumamoto Hospital in 2002. Jpn.J.Infect.Dis. 56:
129-132, 2003

2. 学会発表

1) J. Okamura, F. Kawano, et al: Nonmyeloablative
Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation
(NST) for Adult T-Cell Leukemia/Lymphoma (ATL)
Multicenter Phase I Clinical Trial. 45th ASH Annual
Meeting 2003.12.6-9 San Diego

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

GVHD と GVL 効果の相関についての検討に関する研究

分担研究者 豊嶋 崇徳 岡山大学医学部附属病院 助手

研究要旨：GVHD におけるホストの樹状細胞の関与が明らかになり、GVHD 予防の標的細胞となりうる可能性が示された。

A. 研究目的

骨髄非破壊の前処置を用いた移植法においても、依然として GVHD が生命予後に関する危険因子であることが明らかにされつつあり、その克服が急務である。GVHD の病態生理の理解を深めるとともに、その有効な予防法、および治療法の開発が本研究の目的である。

B. 研究方法

マウス骨髄移植(BMT)モデルにおいてホストの抗原提示細胞がアロ抗原を発現しないために GVHD が発症しない系においてアロ抗原を発現した樹状細胞あるいは B 細胞を add-back し、in vivo での GVHD 誘導能を検討した。

C. 研究結果

CD4 依存性 GVHD モデルとして、bm12 ドナーと B6 レシピエント使用した。この場合、B6 MHC class II-KO マウスをレシピエントドナーとして使用すると、当然 GVHD は発症しない。この系に野生型 B6 より分離した CD11c+樹状細胞を add-back したところ、ドナー CD4+T 細胞の強い増殖と IFN- γ の産生反応がみられた。これに引き続く TNF- α の産生が亢進し、GVHD が発症した。一方、ドナー由来樹状細胞では GVHD は誘導されず、ホスト由来 B 細胞でも GVHD は誘導されなかった。LPS 刺激 B 細胞でも GVHD は誘導されなかった。CD8 依存性 GVHD モデルでも同様の現象が観察された。これらからホスト由来の樹状細胞が GVHD 誘導に最も重要な細胞であることが判明した。

(倫理面への配慮)

当大学動物実験施設ガイドラインを遵守した。

D. 考察

これまで、ホスト由来抗原提示細胞が GVHD 発症の鍵とされてきたが、今回の研究から、さらにそのうち樹状細胞が重要であることが明らかになった。さらには樹状細胞のみがアロ抗原を発現すれば GVHD が発症し、その GVHD は臨床的にも病理学的にも典型的な GVHD であった。したがって本細胞の選択的ターゲティングは有効な GVHD 予防法になりうる可能性が示された。

E. 結論

ホスト由来樹状細胞の選択的ターゲティングは有効な GVHD 予防法になりうる

F. 健康危険情報

該当事項なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Reddy P, Teshima T, et al: Pretreatment of donors with interleukin-18 attenuates acute graft-versus-host disease via STAT6 and preserves graft-versus-leukemia effects. Blood 2003; 101: 2877-2885.
- 2) Ferrara JLM, Teshima T: Reply to "Is alloantigen expression by host epithelium required for acute graft-versus-host disease?". Nature Med 2003; 9: 151

- 3) Sezaki N, Ishimaru F, Takata M, Tabayashi T, Nakase K, Kozuka T, Fujii K, Nakayama H, Teshima T, et al: Over-expression of the dominant-negative isoform of Ikaros confers resistance to dexamethasone-induced and anti-IgM induced apoptosis. *Br J Haematol* 2003; 121: 165-169.
- 4) Ichiba T, Teshima T, et al: Early changes in gene expression profiles of hepatic GVHD uncovered by oligonucleotide microarrays. *Blood* 2003; 102: 763-771.
- 5) Teshima T, Reddy P, et al: Impaired thymic negative selection causes autoimmune graft-versus-host disease. *Blood* 2003; 102: 429-435.
- 6) Duffner U, Lu B, Hildebrandt GC, Teshima T, et al: Role of CXCR3 induced donor T-cell migration in acute GVHD. *Exp Hematol* 2003; 31: 897-902.
- 7) Clouthier SG, Cooke KR, Teshima T, et al: Repifermin reduces the severity of graft-versus-host disease while preserving a graft-versus-leukemia effect. *Biol Blood Marrow Transplant* 2003; 9: 592-603.
- 8) Ferrara JLM, Cooke KR, Teshima T: The pathophysiology of acute graft-versus-host disease. *International Journal of Hematology* 2003, 78: 181-187.
- 9) Teshima T, Ferrara JLM: Pathogenesis of acute and chronic graft-versus-host disease. *Clinical Bone Marrow and Blood Stem Cell Transplantation-Third Edition*, Edited by Atkinson K, Champlin R, Ritz J, Fibbe W, Ljungman P, Brenner M. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom pp 227-236; 2004.

2. 学会発表

- 1) Teshima T: Challenging the current paradigms of graft-versus-host disease. *Unzen International Workshop on Immunoregulation and Autoimmunity* 2003. Mar 14-16, 2003, Unzen, Japan
- 2) Hashimoto D, Asakura S, Miyake S, Yamamura T, Van Kaer L, Tanimoto M, Teshima T: Host NKT cells promote Th2 polarization of donor T cells and regulate acute GVHD after experimental BMT via a STAT6 dependent mechanism. 45th Annual Meeting of The

American Society of Hematology. Dec 6-9, 2003, San Diego, USA

- 3) Teshima T: Clinical management of GVHD in NST -Current art and issue in Japan. 1st International Workshop of Nonmyeloablative Stem Cell Transplantation. Feb 20-22 2004, Atami, Japan.
- 4) 豊嶋崇徳、谷本光音. GVHD 発症 3 原則の検討. 第 102 回岡山医学会総会. 2003 年 6 月 7 日. 岡山

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

Teshima T, Cooke K, Ferrara JLM: "Compositions and Methods Related to Graft-Versus-Host Disease" アメリカ合衆国特許申請中

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 造血細胞移植後の性腺機能

分担研究者 武元 良整 慈愛会今村病院分院 細胞治療部 部長

研究要旨：造血細胞移植後の性腺機能

A. 研究目的

若年者に対する造血細胞移植後の生活の質のひとつとして性腺機能は重要である。従来、骨髄破壊的移植後は不妊になることを前提として治療説明がされている。ところが、実際に男女双方に実子が授かる症例が報告されている（文献1. Takemoto Y et al. Can bone marrow transplantation give the gift of a baby? Int J Hematol, 1999, 70: 294-295. 文献2. Ashida T et al. Delivery after bone marrow transplantation with total lymphoid irradiation for severe aplastic anemia. Int J Hematol 1996. 64: 279-281.）。造血細胞移植後の生殖機能を通常の移植とミニ移植とで比較検討する。

B. 研究方法

性腺機能検査を移植前から移植後 3-5 年間追跡調査する。対象は移植後 1 年以上 5 年まで評価可能な移植症例である。

倫理面への配慮

ヘルシンキ宣言に基づいておこなっている。

C. 研究結果

移植前からの性腺機能を移植後 5 年まで観察評価する。骨髄非破壊的（ミニ）移植が普及し、その安全性と有効性が評価されるときに QOL（生活の質）の評価はきわめて意義あるものと考えられる。現在、臨床成績を解析中。結果報告は 3 年後を予定。

D. 考察

長期生存例の QOL は今後の重要な課題となる。性

腺機能評価には極めて、長期間を要するため 3-5 年の観察期間が必要となる。

E. 結論

骨髄非破壊的方法による造血幹細胞移植は有望な治療法と考えられている。しかし、今回の研究により将来的には QOL の立場からも安全で有用な結果が期待される。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Obama K, Takemoto Y, Takatsuka Y, Utunomiya A. Successful reduced-intensity HLA-haploidentical stem cell transplantation based on the concept of fetomaternal tolerance for an elderly patient with myelodysplastic syndrome. Bone Marrow Transplantation 33: 253, 2004

2. 学会発表

武元良整 他 【造血幹細胞移植方法と CMV 感染頻度】第 77 回日本感染症学会 平成 15 年 4 月、東京

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。

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
Teshima T	Pathogenesis of acute and chronic graft-versus-host disease.	Atkinson K	Clinical Bone Marrow and Blood Stem Cell Transplantation-Third Edition	Cambridge University Press	United Kingdom	2004	227-236

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Yamasaki S, Taniguchi S, et al.	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
Kojima R, Taniguchi S, et al.	Late hemorrhagic cystitis after reduced-intensity hematopoietic stem cell transplantation (RIST)	Bone Marrow Transplant	32	1089-1095	2003
Kusumi E, Taniguchi S, et al.	Feasibility of reduced intensity hematopoietic stem cell transplantation from an HLA-matched unrelated donor	Bone Marrow Transplant	In press		2004
Hori A, Taniguchi S, et al.	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	2004
Ogawa H, Tamaki H et al	The usefulness of monitoring WT1 gene transcripts for the prediction and management of relapse following allogeneic stem cell transplantation in acute type leukemia.	Blood	101	1698-1704	2003

Tamaki H, Ogawa H et al	Successful engraftment of HLA-haploidentical related transplants using nonmyeloablative conditioning with fludarabine, busulfan and anti-T-lymphocyte globulin.	Leukemia	17	2052-2054	2003
Miura Y, Nakao S et al.	Enhancement of cyclosporin A-induced autologous graft-versus-host disease after peripheral blood stem cell transplantation by utilizing selected CD34 (+) cells.	Bone Marrow Transplant	32	785-790	2003
Ishiyama K, Nakao S et al.	Polyclonal hematopoiesis maintained in patients with bone marrow failure harboring a minor population of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria-type cells.	Blood	102	1211-1216	2003
Takami A, Nakao S et al.	Reduced-intensity allogeneic stem cell transplantation (RIST) for renal cell carcinoma: in vivo evidence of graft-versus-tumor effect.	Haematologica	89	372-374	2004
Kami M, Takaue Y et al.	Allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation for the treatment of adult T-cell leukemia/lymphoma.	Br J Haematol	120	304-309	2003
Mineishi S, Takaue Y et al.	Impact of GVHD in reduced-intensity stem cell transplantation for patients with hematological malignancies.	Br J Haematol	121	296-303	2003
Reddy P, Teshima T, et al.	Pretreatment of donors with interleukin-18 attenuates acute graft-versus-host disease via STAT6 and preserves graft-versus-leukemia effects.	Blood	101	2877-2885	2003
Ichiba T, Teshima T, et al	Early changes in gene expression profiles of hepatic GVHD uncovered by oligonucleotide microarrays.	Blood	102	763-771	2003
Sezaki N, Teshima T, et al.	Over-expression of the dominant-negative isoform of Ikaros confers resistance to dexamethasone-induced and anti-IgM induced apoptosis.	Br J Haematol	121	165-169	2003

Obama K, Takemoto T, et al.	Successful reduced-intensity HLA-haploidentical stem cell transplantation based on the concept of fetomaternal tolerance for an elderly patient with myelodysplastic syndrome.	Bone Marrow Transplantation	33	253	2004
Tanaka J, Imamura M, 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
Imamura M, Tsutsumi Y, et al.	Immune reconstitution and tolerance after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation.	Hematology	8	19-26	2003
Imamura M, Tanaka J, et al.	Immunoregulatory cells for transplantation tolerance and graft-versus-leukemia effect.	Int J Hematol	78	188-194	2003
Kawabata Y, Sawada K, et al.	Clinical application of CD34+ cell-selected peripheral blood stem cells.	Therapeutic Apheresis and Dialysis	7	298-304	2003
Saitoh H, Sawada K, et al.	The presence and longevity of peripherally expanded donor-derived TCR $\alpha\beta$ + mature T lymphocyte clones after allogeneic bone marrow transplantation for adult myeloid leukemias.	Leukemia	17	1626-1635	2003
Hirokawa M, Sawada K, et al.	T-cell repertoire regeneration after human allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: Current concept and future direction.	Recent Res. Devel. Immunology	5	151-157	2003

20030418

以降は雑誌/図書等に掲載された論文となりますので、
「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。

事務局：国家公務員共済組合連合会
虎の門病院 血液科 谷口部長室
〒105-8470
東京都港区虎ノ門2丁目2-2
TEL: 03-5114-5690
FAX: 03-5114-5691