

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

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

平成 15 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 原田実根

平成 16 (2004) 3 月

## 目 次

### I. 総括研究報告

固形癌に対する骨髄非破壊的移植前治療を用いた同種末梢血幹細胞移植療法の標準的治療の確立に関する研究.....	1
原田実根	

### II. 分担研究報告

1. 固形癌に対する骨髄非破壊的移植前治療を用いた同種末梢血幹細胞移植療法の標準的治療の確立に関する研究.....	7
原田実根	
2. 固形がんに対する骨髄非破壊的移植前治療を用いた同種末梢血幹細胞移植療法の試み.....	12
中野修治	
3. 進行膵癌に対する骨髄非破壊的同種末梢幹細胞移植.....	15
牟田耕一郎	
4. 固形がんに対する骨髄非破壊的移植前治療を用いた同種末梢血幹細胞移植療法の確立に関する研究.....	17
豊嶋崇徳	
5. 進行期腎細胞癌に対する骨髄非破壊的同種さい帯血移植.....	20
中尾眞二	

III. 研究成果の刊行に関する一覧表.....	25
--------------------------	----

### IV. 研究成果の刊行物・別冊（添付）

# I. 総括研究報告書

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）  
総括研究報告書

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

主任研究者 原田 実根

九州大学大学院医学研究院・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

標準的治療抵抗性の固形腫瘍患者に対する効果的治療法の確立を目指し、骨髄非破壊的治療を移植前治療とする同種末梢血幹細胞移植を第 1 相臨床試験として施行し、その安全性と有効性を検討した。対象症例は全 9 例（膵癌 6 例、胃癌、大腸癌、腎癌各 1 例）である。8 例において完全キメラとなり、100 日以内の移植関連死亡はなかった。膵癌の 3 例に CR と PR を認めた。Grade III までの急性 GVHD は 4 例に認め、うち 3 例は慢性 GVHD も認めた。100 日以内の腫瘍死は 2 例、100 日以降が 3 例であった。以上より本療法は固形腫瘍患者に対しても安全に施行することが可能と考えられた。極めて予後不良である進行膵癌において、本療法では 6 例中 2 例に PR 以上の腫瘍縮小効果、2 例の増殖抑制効果という有望な成績が得られたことから、今後さらに症例数を増し安全性の確立と、どのような病態で同種末梢血幹細胞移植療法が有効であるかの解析を継続する予定である。また HLA 一致同胞のいない難治性腎癌症例に対して臍帯血造血幹細胞移植を実施した。Grade II までの GVHD を認めたものの腫瘍の増殖抑制効果を認め、新たな固形癌治療法の可能性が示唆された。一方、マウスを用いた同種移植における GVHD の発症機構の基礎研究により、胸腺での CD4 陽性 T 細胞に対する同種抗原提示が、GVHD 発症に重要であることが示された。

分担研究者氏名・所属機関名及び所属機関  
における職名

中野修治  
九州大学大学院医学研究院病態修復内科学・助教授  
牟田耕一郎  
九州大学医学部附属病院第三内科・講師  
豊嶋崇徳  
岡山大学医学部附属病院第二内科・助手  
中尾眞二  
金沢大学大学院医学系研究科細胞移植学・教授

A. 研究目的

標準的治療法に抵抗性の悪性固形腫瘍の治療成績は未だ十分ではなく、新たな効果的治療技術の確立は、国民福祉増進の見地からも重要である。

白血病の治療法として確立されている同種骨髄移植や同種末梢血幹細胞移植（peripheral blood stem cell transplantation, PBSCT）の効果発現機構は、ドナー由来免疫担当細胞による移植片対宿主病（graft-versus-host disease,

GVHD）に伴う抗白血病効果（graft-versus-leukemia, GVL）に依存しているという事実は、同種移植の応用拡大を示唆するものであった。また同種 PBSCT 後の血液細胞の生着と GVL 発現には、免疫抑制療法を主体とする骨髄非破壊的治療を移植前治療とする幹細胞移植（non-myeloablative stem cell transplantation; NST）が有用であり、その毒性、治療関連死が少ないことが明らかとなったことから、高齢者や臓器障害のある患者にも移植が可能となった。上記の知見を踏まえ、近年転移性乳癌、腎癌など固形腫瘍に対して同種造血幹細胞移植が実施され、GVL 効果と同様の移植片対腫瘍（graft-versus-tumor, GVT）効果が観察された。本研究では、標準的治療に抵抗性の固形腫瘍に対し GVT 効果を期待した NST を施行し、本邦における安全性と有効性を検討した。また HLA 一致同胞がいない転移性腎癌患者に対して、探索的臨床試験として臍帯血移植を行った。さらに同種移植による固形腫瘍治療効果の増強を目的に、GVT 効果および GVHD 発現の分子機構を解析する基礎研究も行った。

## B. 研究方法

標準的な化学療法および放射線療法に治療抵抗性である進行あるいは再発の胃癌、大腸癌、膵癌、腎癌等の固形腫瘍患者であり、主に組織診あるいは細胞診により確診が得られた症例で文書による同意を得た患者のみを対象とした。また同意を得た同胞の HLA タイピングを行い、ドナーを選択した。レシピエントは 65 歳以下で十分な主要臓器機能を有し (ECOG performance status 0~2、肝機能 T. Bil  $\leq$  1.5mg/dl、AST, ALT  $\leq$  正常上限の 2 倍、腎機能 Creat.  $\leq$  1.5mg/dl、肺機能 PaO<sub>2</sub>  $\geq$  60Torr、心機能 EF  $\geq$  60%)、測定可能あるいは評価可能病変を持ち、かつ HLA の一致する同胞からの末梢血幹細胞採取可能な症例を選択した。ただし症状を有する脳転移例、間質性肺炎、重篤な心疾患、コントロール不良な糖尿病、重篤な感染症、その他主治医が不適と判断した症例は除外した。HLA 一致同胞に G-CSF (10 $\cdot$ g/kg) を 5 日間皮下投与して PBSC を動員し、4、5 日目にアフエレーシスによって PBSC を採取し凍結保存した。一方、患者に対する移植前の骨髄非破壊的治療として (1) cyclophosphamide と fludarabine、(2) fludarabine と Busifan、(3) fludarabine と TBI、のいずれかを前処置とし、day0 に PBSC を経静脈的に輸注した。移植目標は CD34 陽性細胞 2x10<sup>6</sup>/kg (レシピエント体重) とした。GVHD 予防には、標準的な methotrexate と cyclosporine の併用投与、または MMF と cyclosporine 併用投与を行った。支持療法や感染症予防は同種骨髄移植に準じて実施した。生着およびキメラ状態の解析には造血回復 (好中球 500/ $\cdot$ 1、血小板 20,000/ $\cdot$ 1) の他に、FISH 法による性染色体、PCR 法によるマイクロサテライト・マーカ (VNTR, STR) を利用した。GVT の評価は測定可能病変における腫瘍縮小率を指標とした。

HLA 一致同胞のいない転移性腎癌患者 (69 歳男性) に対し、十分なインフォームドコンセントの上、cyclophosphamide, fludarabine, TBI を前処置として、日本さい帯血バンクネットワークより入手した臍帯血を用いた移植を、探索的臨床試験として実施した。

一方、固形腫瘍に対する同種移植の臨床効果増強を目的として、GVHD および GVT 効果の発現機構を、CD4 陽性 T 細胞依存性のマウス骨髄移植モデルを用いて検討した。

### (倫理面への配慮)

患者本人およびドナーに対して、1) 本研究の目的と方法、2) 骨髄非破壊的前治療

を併用した同種末梢血幹細胞移植、3) 予想される効果と副作用、4) 他の治療法との比較、5) 同意撤回、などについて担当医師が説明文書を用いて十分に説明し、同意を得ることを前提とした。本研究は九州大学医学部倫理委員会の審査を受け、実施に関する承認を受けた。臍帯血移植については金沢大学医学部内倫理委員会での審査を受け承認の上、同大附属病院にて実施された。

## C. 研究結果

HLA 一致同胞からの末梢血造血幹細胞移植による治療を行った症例は計 9 例 (膵癌 6 例、胃癌、大腸癌、腎癌各 1 例) である。PD による早期死亡例 1 例を除く全 8 例において完全キメラの達成を確認した。100 日以内の移植関連死亡は認められなかった。客観的抗腫瘍効果としては、膵癌の 1 例では移植 37 日目の CT 検査上腫瘍が消失し CR に入ったことを認めた。しかし腫瘍消失に伴うステント挿入部の脆弱化が原因と思われる総胆管破裂を起こし 57 日目に死亡した。剖検にて膵頭部腫瘍のほぼ完全な消失を認めた。他の膵癌症例では、PR 1 例、NC 2 例、PD 2 例であった。胃癌症例は NC であったが、移植前イレウスにより IVH 管理下であったのが、移植後イレウス症状は消失し経口摂取可能となり移植後 45 日目に退院した。146 日目に PD にて死亡した。大腸癌症例は PR となり 263 日目に慢性 GVHD にて死亡。腎癌症例は PD であるが腫瘍増殖が緩慢となり移植後 504 日現在生存中である。全体で Grade III までの急性 GVHD は 4 例、そのうち 3 例は慢性 GVHD を認めた。100 日以内の腫瘍死は 2 例、100 日以降は 3 例、慢性 GVHD による死亡が 2 例であった。以上より本療法は固形腫瘍患者に対しても安全に施行可能と考えられ、さらに有効性も示唆された。

臍帯血移植症例においては、患者とバンクより提供された臍帯血の血液型はそれぞれ B (RhD+)  $\cdot$  A (RhD+)、HLA は表現型  $\cdot$  DNA 型ともに完全一致であった。移植 CD34 陽性細胞数  $\cdot$  CFU-GM 数はそれぞれ、2.9 x 10<sup>4</sup>  $\cdot$  1.6 x 10<sup>3</sup> (患者体重 kg 毎)。移植後の好中球回復は速やかで、移植後 27 日目のドナー細胞の割合は T 細胞、顆粒球とも 100% と生着良好であった。経過中、皮膚と腸管に II 度の急性 GVHD を発症したが、プレドニゾンおよびシクロスポリンにより軽快した。移植後転移巣は増大せず、SD が維持された。移植 114 日後にカリニ肺炎、多剤耐性緑膿菌による肺炎を併発し、移植 146 日目に死亡した。

CD4 陽性 T 細胞依存性マウス骨髄移植モデルにおいて、胸腺抗原提示細胞上の MHC class II 分子を欠損させると、胸腺での Negative selection 機構が欠損し、自己応答性 T 細胞の増加、GVHD 増強が認められたが、胸腺除去により GVHD は抑制された。また同モデルで胸腺上皮に同種抗原を発現させた場合には、移植後胸腺で分化するドナー由来 T 細胞中、同種反応性 T 細胞は除去され GVHD は発症しないが、胸腺抗原提示細胞の MHC class II 分子を欠損させると GVHD は増強した。これらは移植後の GVHD 発症に胸腺抗原提示細胞が強く関与していることを示唆するものである。

#### D. 考察

骨髄非破壊的前処置を用いた同種末梢血幹細胞移植は、固形癌に対して国外でも積極的に臨床試験が行われており、腎細胞癌では比較的良好な成績が報告されているが、他臓器由来の固形癌を含めその効果は未だ確立されていない。進行膀胱癌は従来の治療法では極めて予後不良であるが、本療法施行 6 症例の内 2 例が PR 以上、2 例で NC と有望な成績が得られた。また胃癌症例は NC であり、イレウス症状の明らかな改善により退院可能となった点、大腸癌、腎癌では長期生存を得た点で本療法の有効性が示唆された。今後更に症例数を増やし、どの病態で NST を用いた同種末梢血幹細胞移植が有効であるかその因子を解析する予定である。

これまでの本療法施行症例において移植後 100 日以内の腫瘍死が 3 例認められたことは、GVT が出現するまでの移植後 1-2 か月間の腫瘍増殖制御の必要性を示唆するものと考えられる。今後、(1) 癌種別の治療対象症例選択、(2) 移植前治療法の選択による完全キメラ状態への早期導入、(3) キメラ状態と GVT の相関、(4) 移植前後での既存の抗癌剤の併用、(5) 移植後のイフェクター細胞移入などによる補助的治療の追加、などの点が本研究を通じ検討すべき項目と考えられる。

一方本療法後、腫瘍増殖が抑制されて生存期間が延長した患者群においては、慢性 GVHD の管理が長期予後改善に重要となることが明らかとなり、今後の治療を進める上で重要な情報となった。

本療法を推進する上でドナーの確保は常に重要な問題であり、HLA 一致同胞からの末梢血幹細胞が得られない場合、臍帯血移植も有望な治療法の候補としてあげられる。本研究において 69 歳の転移性腎癌患者に

対して実施された臍帯血移植では、生着、GVHD コントロールとも良好であり、治療経過中腫瘍は SD を維持し得た。本症例の経験より、今後新たな臨床研究の枠組みを確立し、臍帯血移植による悪性固形腫瘍治療の可能性を模索する意義が強く示唆された。

同種造血幹細胞移植での GVHD、GVT 発現における宿主胸腺の意義はこれまで明らかではなかったが、今回 T 細胞除去ドナー骨髄からも GVHD が発症し、その際胸腺が一定の役割を演じていることが示唆された。これらの情報は、GVT 効果を高め本療法の有効性を増強する方策を検討する上で極めて有用であると考えられる。

#### E. 結論

標準的治療に抵抗性の固形腫瘍患者に対して、骨髄非破壊的治療を用いた同種末梢血幹細胞移植を安全に施行し得た。膀胱癌を含む複数の癌種において有効症例を認め、本療法の有効性が示唆された。今後も症例を増やし、本療法の安全性の確立と有効性の検討を引き続き行う。また転移性腎癌に対する臍帯血移植も安全に実施された。胸腺 MHC class II 欠損マウスによる骨髄移植研究においては GVHD 発症機構の重要な知見が得られた。

#### F. 健康危険情報 なし

#### 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. 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
3. 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
4. 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
  5. 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
  6. 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
  7. 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<sup>+</sup> 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
  8. 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
  9. 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
  10. 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
  11. 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
  12. Sezaki N, Ishimaru F, Tabayashi

- T, Kataoka I, Nakase K, Fujii K, Kozuka T, Nakayama H, Harada M, Tanimoto M: The Type I CD10/neutral endopeptidase 24.11 promotor: functional characterization of the 5' -untranslated region: Br J Haematol 123:177-183, 2003
13. 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
  14. 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
  15. 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
2. 学会発表
1. 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
  2. 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
  3. 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
  4. Otsuka T., Iino T., Maeda M., Henzan 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
  5. 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

6. 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
7. 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
8. Harada M.: Hematopoietic stem cell transplantation for treatment of cancer and autoimmune disease  
Symposium : Translational research

in autoimmune disease and cancer  
2003 annual meeting of the Japanese Society for Immunology  
December 10, 2003, Fukuoka, Japan.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

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

## Ⅱ. 分担研究報告書

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)  
分担研究報告書

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

主任研究者 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

標準的治療抵抗性固形腫瘍の患者に対する効果的な治療法の確立を目指し、骨髄非破壊的治療を移植前治療とする同種末梢血幹細胞移植を第 I 相臨床試験として施行し、その安全性と有効性を検討した。対象症例は全 9 例 (膀胱癌 6 例、胃癌、大腸癌、腎癌各 1 例) である。8 例において完全キメラとなり、100 日以内の移植関連死亡はなかった。膀胱癌の 3 例に CR と PR を認めた。Grade III までの急性 GVHD は 4 例に認め、うち 3 例は慢性 GVHD を認めた。100 日以内の腫瘍死は 2 例、100 日以降が 3 例であった。以上より本療法は固形腫瘍患者に対しても安全に施行することが可能と考えられた。極めて予後不良である進行膀胱癌において、本療法では 6 例中 2 例に PR 以上の腫瘍縮小効果、2 例の増殖抑制効果という有望な成績が得られたことから、今後さらに症例数を増し安全性の確立と、どのような病態で同種末梢血幹細胞移植療法が有効であるかの解析を継続する予定である。また患者・ドナーのマイナー組織適合抗原 (mHA) のタイピングを実施し、移植後患者における、両者間で不一致の mHA に特異的な CD8 陽性 T リンパ球の解析を行っている。

A. 研究目的

白血病の治療的治療法として確立されている同種骨髄移植や同種末梢血幹細胞移植 (peripheral blood stem cell transplantation, PBSCT) の効果発現機構は、移植前の骨髄破壊的治療による抗白血病効果よりも、ドナー由来免疫担当細胞による移植片対宿主病 (graft-versus-host disease, GVHD) に伴う抗白血病効果 (graft-versus-leukemia, GVL) により依存していると考えられている。加えて同種 PBSCT 後の血液細胞の生着と GVL 発現には、移植前の骨髄破壊的治療は必須ではなく、免疫抑制療法を主体とする骨髄非破壊的治療を移植前治療とする幹細胞移植 (non-myeloablative stem cell transplantation; NST) が有用であり、毒性、治療関連死が少ないことが明らかとなった。近年、転移性乳癌や腎細胞癌など固形腫瘍に対して施行された同種骨髄移植や同種 PBSCT においても、GVL 効果と同様の移植片対腫瘍 (graft-versus-tumor, GVT) 効果が観察されている。従って本研究では、標準的治療に抵抗性の固形腫瘍に対し GVT 効果を期待した NST を施行し、本邦における安全性と有効性を検討すると共に、GVT 効果の分子機構を解析することを目的とする。

B. 研究方法

標準的な化学療法および放射線療法に治療抵抗性である進行あるいは再発の胃癌、大腸癌、膀胱癌、腎癌等の固形腫瘍患者であり、主に組織診あるいは細胞診により確診が得られた症例で文書による同意を得た患者のみを対象とした。また同意を得た同胞の HLA タイピングを行い、ドナーを選択した。レシピエントは 65 歳以下で十分な主要臓器機能を有し (ECOG performance status 0~2、肝機能 T.Bil  $\leq$  1.5mg/dl、AST, ALT  $\leq$  正常上限の 2 倍、腎機能 Creat.  $\leq$  1.5mg/dl、肺機能 PaO<sub>2</sub>  $\geq$  60Torr、心機能 EF  $\geq$  60%)、測定可能あるいは評価可能病変を持ち、かつ HLA の一致する同胞からの末梢血幹細胞採取可能な症例を選択した。ただし症状を有する脳転移例、間質性肺炎、重篤な心疾患、コントロール不良な糖尿病、重篤な感染症、その他主治医が不適と判断した症例は除外した。HLA 一致同胞に G-CSF (10・g/kg) を 5 日間皮下投与して PBSC を動員し、4、5 日目にアフエレーシスによって PBSC を採取し凍結保存した。一方、患者に対する移植前の骨髄非破壊的治療として (1) cyclophosphamide と fludarabine、(2) fludarabine と Buslfan、(3) fludarabine と TBI、のいずれかを前処置とし、day0 に PBSC を経静脈的に輸注した。移植目標は

CD34 陽性細胞  $2 \times 10^6/\text{kg}$  (レシピエント体重) とした。GVHD 予防には、標準的な methotrexate と cyclosporine の併用投与、または MMF と cyclosporine 併用投与を行った。支持療法や感染症予防は同種骨髄移植に準じて実施した。生着およびキメラ状態の解析には造血回復 (好中球  $500/\cdot 1$ 、血小板  $20,000/\cdot 1$ ) の他に、FISH 法による性染色体、PCR 法によるマイクロサテライト・マーカー (VNTR, STR) を利用した。GVT の評価は測定可能病変における腫瘍縮小率を指標とした。

(倫理面への配慮)

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

### C. 研究結果

本療法による治療を行った症例は計 9 例 (膵癌 6 例、胃癌、大腸癌、腎癌各 1 例) である。PD による早期死亡例 1 例を除く全 8 例において完全キメラの達成を確認した。100 日以内の移植関連死亡は認められなかった。客観的抗腫瘍効果としては、膵癌の 1 例では移植 37 日目の CT 検査上腫瘍が消失し CR に入ったことを認めた。しかし腫瘍消失に伴うステント挿入部の脆弱化が原因と思われる総胆管破裂を起こし 57 日目に死亡した。剖検にて膵頭部腫瘍のほぼ完全な消失を認めた。他の膵癌症例では、PR 1 例、NC 2 例、PD 2 例であった。胃癌症例は NC であったが、移植前イレウスにより IVH 管理下であったのが、移植後イレウス症状は消失し経口摂取可能となり移植後 45 日目に退院した。146 日目に PD にて死亡した。大腸癌症例は PR となり 263 日目に慢性 GVHD にて死亡。腎癌症例は PD であるが腫瘍増殖が緩慢となり移植後 504 日現在生存中である。全体で Grade III までの急性 GVHD は 4 例、そのうち 3 例は慢性 GVHD を認めた。100 日以内の腫瘍死は 2 例、100 日以降は 3 例、慢性 GVHD による死亡が 2 例であった。以上より本療法は固形腫瘍患者に対しても安全に施行可能と考えられ、さらに有効性も示唆された。

### D. 考察

本療法は固形癌に対して国外でも積極的

に臨床試験が行われており、腎細胞癌では比較的良好な成績が報告されているが、他臓器由来の固形癌を含めその効果は未だ確立されていない。進行膵癌は従来の治療法では極めて予後不良であるが、本療法施行 6 症例の内 2 例が PR 以上、2 例で NC と有望な成績が得られた。また胃癌症例は NC であり、イレウス症状の明らかな改善により退院可能となった点、大腸癌、腎癌では長期生存を得た点で本療法の有効性が示唆された。今後更に症例数を増やし、どの病態で NST を用いた同種末梢血幹細胞移植が有効であるかその因子を解析する予定である。

これまでの本療法施行症例において移植後 100 日以内の腫瘍死が 3 例認められたことは、GVT が出現するまでの移植後 1-2 か月間の腫瘍増殖抑制の必要性を示唆するものと考えられる。今後、(1) 癌種別の治療対象症例選択、(2) 移植前治療法の選択による完全キメラ状態への早期導入、(3) キメラ状態と GVT の相関、(4) 移植前後での既存の抗癌剤の併用、(5) 移植後のイフェクター細胞移入などによる補助的治療の追加、などの点が本研究を通じ検討すべき項目と考えられる。

一方本療法後、腫瘍増殖が抑制されて生存期間が延長した患者群においては、慢性 GVHD の管理が長期予後改善に重要となることが明らかとなり、今後の治療を進める上で重要な情報となった。

本療法によって誘導される GVT の増強を図るための基礎的研究も重要と考えられる。同種移植での GVT はマイナー組織適合性抗原 (mHA) を標的にした同種免疫反応によりもたらされる可能性が高い。この分子機構を明らかにするために、現在我々は GVT が認められた患者末梢血に存在する mHA 特異的細胞障害性リンパ球の検討を行っている。即ち各患者・ドナー間で複数の mHA のタイピング、mHA ペプチド反応性 CD8 陽性 T 細胞の頻度の経時的変化、mHA 特異的細胞障害性 T 細胞 (CTL) クローンの樹立とその免疫学的性状の評価を実施中である。これらの情報は、GVT 効果を高め本療法の有効性を増強する方策を検討する上で極めて有用であると考えられる。

### E. 結論

標準的治療に抵抗性の固形腫瘍患者に対して、骨髄非破壊的治療を用いた同種末梢血幹細胞移植を安全に施行し得た。膵癌を含む複数の癌種において有効症例を認め、本療法の有効性が示唆された。今後も症例を増やし、本療法の安全性の確立と有効性の

検討を引き続き行う。

F. 健康危険情報  
なし

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. 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
3. 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
4. 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
5. 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
6. 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
7. 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, Gondo H, Otsuka T, Harada M for Fukuoka Blood and Marrow Transplantation Group: Influence of transplanted dose of CD56<sup>+</sup> 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
8. 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
9. 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
10. 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
  11. 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
  12. 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 promotor: functional characterization of the 5' -untranslated region: *Br J Haematol* 123:177-183, 2003
  13. 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
  14. 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
  15. 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
2. 学会発表
1. 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
  2. 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
  3. 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
4. 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
  5. 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
  6. 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
  7. 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
  8. Harada M.: Hematopoietic stem cell transplantation for treatment of cancer and autoimmune disease  
Symposium: Translational research in autoimmune disease and cancer 2003 annual meeting of the Japanese Society for Immunology December 10, 2003, Fukuoka, Japan.
- H. 知的財産権の出願・登録状況  
なし

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

分担研究者 中野 修治 九州大学大学院・病態修復内科 助教授

研究要旨

治療抵抗性固形腫瘍の患者を対象に、骨髄非破壊的同種末梢血幹細胞移植を施行した。症例は計5名（膵癌2例、胃癌、大腸癌、腎癌各1例）で、全例において完全キメラの状態を確認した。GVHDは急性1例、慢性は3例に認められたが、移植前治療による治療関連毒性は軽微で移植後100日以内の移植関連死亡はなかった。客観的腫瘍効果は、膵癌と大腸癌のそれぞれ1例にPRを認めたが、慢性GVHDで死亡した。腎癌の症例はPDであるが腫瘍増殖速度は抑制され1年半後も生存中である。以上より、固形癌に対し非骨髄破壊的前治療による同種末梢血幹細胞移植は安全に施行可能であり、GVTに起因すると見られる抗腫瘍効果は見られたが、今後の生存率を上げるにはGVHD のコントロールが重要である。

A. 研究目的

同種骨髄移植は白血病に対する治癒的治療法として確立しているが、その治癒的治療効果は移植前の骨髄破壊的治療に使用する大量抗がん剤による直接的な抗白血病殺細胞効果だけでなく、ドナーリンパ球による抗腫瘍効果(Graft-versus-Tumor: GVT 効果)により起因することが指摘され、同種骨髄移植は白血病特異的免疫療法と考えられている。近年になって腎癌や乳癌などの固形腫瘍に対しても同種骨髄移植や同種末梢血幹細胞移植が試みられ、GVT 効果が観察されている。一方、同種骨髄幹細胞移植後のドナー細胞の生着には、フルダラピンを使用した免疫抑制療法を主体とする骨髄非破壊的治療で十分であり、毒性および移植

関連死が少ないことが明らかにされた。したがって本研究では抗がん剤の効果が乏しい固形腫瘍に対し、GVT 効果をねらった骨髄非破壊的幹細胞移植を施行し、本邦における安全性と有効性を検討する。

B. 研究方法

化学療法および放射線療法に抵抗性を示し、予後不良の固形腫瘍患者を対象に十分な説明と同意を得たうえで、HLA 一致同胞をドナーとする骨髄非破壊的同種末梢血幹細胞移植を施行し、移植関連毒性、移植後キメラ、GVHD、GVT 効果などを検討した。コンディショニングにはフルダラピン/エンドキサン、フルダラピン/ブスルファン のいずれかを前処置とし、シクロスポリン



／メソトレキサートによる GVHD 予防を行った。

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

### C. 研究結果

症例は5名（膵癌2例、胃癌、大腸癌、腎癌各1例）施行した。全例評価可能で、すべて完全キメラの状態を確認した。移植後100日以内の移植関連死亡は認められず、また100日以内の腫瘍死はなかった。GVHDは急性1例、慢性は3例に認められた。また移植前治療による治療関連毒性は、軽微だった。以上より本療法は固形腫瘍患者に対しても安全に施行することが可能であった。

膵癌の2症例は1例がPDで186日で腫瘍死、1名はPRを持続していたが189日目に慢性GVHDで死亡した。胃癌症例は移植後、イレウスの改善により一時的に経口摂取が可能となり退院できたが、PDで146日目に死亡した。大腸癌の症例はGVHDの増悪とともに肺の転移腫瘍はほぼ消失したが、最終的にはGVHDによる細気管支炎による呼吸不全が原因で死亡した。腎癌の症例はPDであるが腫瘍増殖速度は抑制され、1年半後も生存中である。

### D. 考察

本法は固形癌に対して国内外で積極的に臨床試験が行われており、腎癌では有効性が報告されているが、他の固形癌に対しての効果は不明のままである。進行膵癌は極めて予後が悪いが、今回2例中1例がPRという有望な成績が得られた。また大腸癌でもPRを得られた。今後は症例数を増やしどのような癌腫で同種末梢血幹細胞移植療法が有効なのかを探っていく。

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

### E. 結論

難治性固形癌に対し非骨髄破壊的前治療による同種末梢血幹細胞移植は安全に施行可能であり、腎癌には有効であることが確認された。また膵癌と大腸癌にPRが見られ、延命効果があった。GVHDの出現と抗腫瘍効

果に相関が見られたため GVT に起因する抗腫瘍効果と考えられるが、GVHD が死亡原因にもなった。今後生存率を上げるためには GVHD のコントロールが重要である。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Hisano C, Tanaka R, Fujishima H, Ariyama H, Masumoto N, Mitsugi K, Nakano S. v-Src inhibits detachment-induced apoptosis through constitutive activation of p125FAK in HAG-1 human epithelial cell line. *Cell Biol. Int.* 27: 415-421, 2003.
2. Boudny V, Nakano S. Src tyrosine kinase but not activated Ras augments sensitivity to taxanes through apoptosis in human adenocarcinoma cells. *Anticancer Research* 23:7-12, 2003.
3. Moriyama K, Hayashida K, Shimada M, Nakano S, Fukumaki Y. Antisense RNAs transcribed from the upstream region of the preC-C promoter of hepatitis B virus. *Journal of General Virology* 84: 1907-1913, 2003.
4. Fujishima H, Kikuchi I, Miyanaga O, Ueda A, Mitsugi K, Harada M and Nakano S. Phase I Study of CPT-11 and Bolus 5-FU/Leucovorin in Patients with Metastatic Colorectal Cancer. *Int. J. Clinical Oncology*, 2004, in press.

5. Mitsugi K, Nakamura T, Kashiwabara N, Ariyama H, Tanaka R, Baba E, Nakamura M, Harada M, Nakano S. Protection against methotrexate toxicity by a soybean protein- and omega-3 fatty acid-containing diet: Comparative study with a casein-containing diet. *Oncology Reports*, 2004, in press.

##### 2. 学会発表

1. Boudny V, Nakano S. Src tyrosine kinase but not activated Ras augments sensitivity to taxanes through apoptosis in human adenocarcinoma cells. 94<sup>th</sup> Annual Meeting of Amer. Assoc. Cancer Res. 2003 (Proc AACR 44: 2761, 2003)
2. Fujishima H, Kikuchi I, Miyanaga O, Ueda A, Mitsugi K, Harada M, Nakano S. Phase I study of irinotecan and bolus 5-FU and leucovorin in previously untreated patients with metastatic colorectal cancer. 39<sup>th</sup> Annual Meeting of Am. Soc. Clin. Oncol, Chicago, 2003 (Proc ASCO 22: 1424, 2003).
3. Boudny V、有山寛、中野修治. Src はタキソテールによる Bcl-2 のリン酸化を促進してアポトーシスを誘導する. 第 62 回日本癌学会総会 2003
4. 有山寛、中野修治ほか. EGF 受容体チロシンキナーゼ阻害剤 ZD1839 によるアポトーシス誘導機序の解析. 第 7 回日本分子標的研究会 2003

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

進行膵癌に対する骨髄非破壊的同種末梢幹細胞移植

分担研究者 牟田耕一郎 九州大学病院 第3内科 講師

研究要旨

切除不能膵癌に対して、骨髄非破壊的同種末梢血幹細胞移植が抗腫瘍効果を有することが明らかになった。GVHDの制御と至適前処置法の開発が、今後の課題であると考えられる。

A. 研究目的

癌全体の治療成績は著しく改善しているが、膵癌は例外であり、手術不能例における診断後の平均生存期間はわずか4.3ヶ月である。近年、Gemcitabinの登場により、抗がん剤による化学療法に関して言えば、一定の進歩が見られるとはいえ、治癒を得ることは現時点では困難である。本研究では、切除不能膵癌に対して骨髄非破壊的全処置を用いた同種末梢血幹細胞移植（nonmyeloablative allogeneic stem cell transplantation=NST）を行い、その安全性と有効性を評価することを目的とする。

B. 研究方法

4例の進行膵癌に対して、同胞ドナーから、G-CSFにより動員した末梢血幹細胞を用いたNSTを施行した。膵頭部癌2例、体部癌2例であり、HLAは、1例のみ1 locus mismatchであった。前処置はFludarabine(Flu) + low dose TBI (200cGy) が3例、Flu+Cyclophosphamide(Cy)が1例であった。T細胞のキメリズムは、PCR法を用いた

polymorphic short tandem repeat markerの解析により行った。NSTにおける抗腫瘍免疫機序を解明するため、治療経過中のTNF $\alpha$ の測定を行った。53%

（倫理面の配慮）

当院倫理委員会の承認に基づき、文書による同意を取得した上で治療を実施した。

C. 研究結果

治療成績を表に示す。全例がstage IVの症例であり、#1は、1locus mismatch、#4は、Flu+Cyを用いた前処置による移植を行った。100%のT細胞キメリズムを得られた2症例では、明らかな抗腫瘍効果が認められた。CRが得られた#1では、移植前約6cmであった腫瘍はほぼ消失し、ステントを挿入していたため、それに伴う総胆管破裂を引き起こし、腹膜炎のため死亡した。剖検組織所見では、腫瘍部分は繊維化しており、膵癌細胞は一部後ろ腹膜神経叢周囲に残存するのみであった。腫瘍を取り囲むリンパ

(表)

T cell chimerism outcome(survival)		
#1 44M	100%(day42)	CR(57d)
#2 62M	34%(day 14)	PD(28d)
#3 51F	100%(day 42)	SD(122)
#4 48M	45%(day 42)	PD(54)

球浸潤は、比較的軽度であった。

また、TNF $\alpha$ の検討では、抗腫瘍効果を認めた症例#1、#3で治療前治と比較して、TNF $\alpha$ レベルの上昇を認めた。

#### D. 考察

2000年にNIHのChildらが腎癌に対する高い奏効率(53%)を報告して以来、NSTは乳癌、肉腫、大腸癌など種々の腫瘍に対して試みられている。いずれも30-40%の奏効率が報告されているが、まったく効果を認めなかったとする報告もあり、確立した治療とはいえない。しかしながら、NSTの有効性は、血液悪性腫瘍において示されつつあり、固形腫瘍に関しても、今後症例が蓄積されることが望まれる。

固形腫瘍におけるNSTをより有効に行うためには、抗腫瘍免疫機序の解明が必須である。一般には、T細胞やナチュラルキラー細胞が主役を演じていると考えられているが、本研究では、治療効果を認めた症例でのみ、TNF $\alpha$ の上昇を認めた。これは、innate immunityの関与を示す所見であり、今後の更なる解析が待たれる。

移植の成績を左右するもうひとつの因子として、GVHDがあげられる。NSTでは、一般に宿主に対する侵襲が軽微であり、

GVHDは比較的軽微であることが当初期待された。しかしながら、通常の移植と同等かそれ以上のGVHDを合併することも多く、本研究においても、2症例において、GVHDに対するステロイド投与後の急速な腫瘍の増大を認め、不幸な転機をとった。NSTの有効性の改善のためには、GVHDを抑制した上で、抗腫瘍免疫を十分に誘導しえる至適な前処置と抑制レジメンの組み合わせの開発が必要であろう。

#### E. 結論

進行膵癌に対してNSTは有効な治療法である可能性がある。元来、膵癌はきわめて予後不良な疾患であり、抗腫瘍免疫機序の解明や、至的レジメンの開発による、NSTの治療成績の向上が待たれる。

#### F. 健康危険情

特になし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

進行膵癌に対する骨髄非破壊的同種末梢血幹細胞移植

伊藤鉄英、安部康信 他.

消化器科 37:321-326, 2003

#### H. 知的財産権の出願、登録状況

特になし。