

『分担研究課題名：転移性腎細胞癌を対象としたミニ移植の検討』
公文 裕巳 岡山大学大学院医歯学総合研究科/泌尿器病態学 教授

研究要旨 進行腎細胞癌の15例に対して、患者本人と同胞のHLA検査を行った。6例でHLAの一致が認められ、その内、1例に対して平成15年2月にミニ移植を行った。本年度はHLA一致同胞からのミニ移植はなかったが、1ミスマッチ同胞よりの移植を1例、骨髄バンクからの移植を1例に行った。いずれも安全性に問題なく、移植後2週前後で生着、その後完全キメラとなった。これら3例のうち、1例(平成15年2月移植症例)でPRが得られた。

A. 研究目的

インターフェロン α が無効である進行腎細胞癌症例に対して、HLA一致同胞をドナーとする骨髄非破壊的前治療併用同種末梢血幹細胞移植(ミニ移植)を行い、その有効性と安全性を検討する。

B. 研究方法

インターフェロン α が無効である進行腎細胞癌症例と同胞のHLA検査を行う。HLA一致同胞をドナーとして、ミニ移植を行う。「同種末梢血幹細胞移植」については、平成7年2月に岡山大学医学部倫理委員会で承認されており、さらに、「難治性固形癌に対する骨髄非破壊移植前治療を用いた同種末梢血幹細胞移植の有効性、安全性を検討する臨床研究」については、平成13年2月に岡山大学医学部附属病院治験審査委員会で承認されている。また、本研究に関しては平成15年12月に岡山大学医学部・歯学部附属病院治験審査委員会にて承認された。

<倫理面への配慮>

ミニ移植全般については平成7年岡山大学倫理委員会及び平成13年岡山大学治験審査委員会にて承認されている。本研究については平成15年に岡山大学治験審査委員会で承認された。ミニ移植については文書による同意を得ることとしている

C. 研究結果

進行腎細胞癌の15例に対して、患者本人と同胞のHLA検査を行った。6例でHLAの一致が確認された。その内、1例(64歳女性)に対して、妹(56歳)をドナーとして、平成15年2月にミニ移植を行った。本症例はPRとなり、現在も生存中である。本年度はHLA一致同胞からの移植はなかったが、1ミスマッチ同胞よりの移植を1例、骨髄バンクからの移植を1例に行った。いずれも安全性に問題なく、移植後2週前後で生着、その後完全キメラとなった。

ただし、本研究への登録症例はなかった。

D. 考察

転移を有する腎細胞癌に対しては、まず、手術療法が考慮される。単発の肺転移等では、摘出術後長期間の生存例が認められる。しかし、転移巣が多発している症例では、たとえ完全に摘出できたとしても、その後の再発率は高い。手術が不可能な転移に対しては、インターフェロン α などのサイトカイン療法が行われる。しかし、インターフェロン α の有効率は15%程度と報告されている。インターフェロン α が無効である進行腎細胞癌症例に対して、インターロイキンIIやインターフェロン γ が使用されるが、有効率は低く、これらの症例の予後は不良である。したがって、これら症例に対する新しい治療法が望まれている。

腎細胞癌に対するミニ移植は、従来の治療法に抵

抗性の症例に対して、高い有効率が欧米より報告されている。今回、本臨床研究で腎細胞癌に対する有効性と安全性が本邦の症例を対象に検討されることは、意義深い。

昨年度にミニ移植を行った1例においてPRが得られており、本年度に移植を行った症例の経過を観察し、ミニ移植の有効性と安全性を検討したい。

E. 結論

本年度は2例にミニ移植を行った。症例を追加してミニ移植の有効性と安全性を検討したい

F. 健康危機情報

2例に対してミニ移植を行ったが、重篤な有害事象を認めていない。

G. 研究発表

1. 論文発表

該当なし

2. 学会発表

白崎義範, 那須保友, 津島知靖, 公文裕巳: 腎細胞癌の臨床的検討. 第91回日本泌尿器科学会総会. 徳島市

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

『分担研究課題名：腎細胞癌に対するミニ移植の臨床研究』

並木 幹夫 金沢大学大学院医学系研究科／がん医科学専攻がん制御学講座集学的治療学 教授

研究要旨 これまでに5例の転移性進行性腎細胞癌に対してミニ移植を施行した。すべてに完全キメラが達成され、抗腫瘍効果はNC1例、PD4例であった

A. 研究目的

転移固形腫瘍を対象としたミニ移植の安全性と有効性の検討

B. 研究方法

5例の転移性進行性腎細胞癌に対してミニ移植を施行した。1例目は右腎摘除17年後の骨および肺転移再発症例、2例目は左腎原発巣切除不能および肝、副腎、胸膜転移症例、3例目は左腎摘除、骨転移巣切除半年後の骨、肺、副腎転移再発症例、4例目は右腎摘除5年後の肺、骨、副腎、脳転移症例、5例目は左腎摘除11カ月後の静脈内腫瘍塞栓、リンパ節、骨、肺転移症例である。前治療として1-3例目はCPA/FDRを投与し、移植後の免疫抑制にはCyAを用いた。4例目はBU/FDR/ATGを投与し、移植後の免疫抑制にはCyAを用いた。5例目はCPA/FDRの投与に加えTBIを併用し、移植後の免疫抑制にはCyA/MMFを用いた。1-4例目はHLA6マッチの同胞から末梢血幹細胞移植をおこなった。5例目にはHLA6マッチの臍帯血移植が施行された。

<倫理面への配慮>

金沢大学医学部医の倫理委員会へ申請し承認された。

C. 研究結果

完全キメラはそれぞれ94、40、52、13、27日で達成された。急性GVHDは症例2、3、5においてそれぞれ、52、36、26日に、慢性GVHDは症例1、3においてそれぞれ183日、7

5日に認められた。抗腫瘍効果に関しては移植直後より、腫瘍の増大傾向が認められたが、症例1および3においてそれぞれ212日、261日で一時的に腫瘍縮小効果が観察された。最終的な抗腫瘍効果は1-4例目はPD、第5例目はNCであった。予後については1-5例目はそれぞれ移植後531日(肺炎)、69日(癌死)、709日(肺炎)、262日(癌死)、145日(カリニ肺炎)で死亡した。また症例1、2の剖検所見ではミニ移植後の腫瘍組織内にTリンパ球の浸潤像が認められた。

D. 考察

これらの症例はいずれもIFN/IL-2抵抗性の進行例であり、現時点ではミニ移植以外に適切な治療法はないものと思われ、治療前の病勢を考慮すれば、症例1、3については腫瘍増殖に対してある程度の抑制効果が認められたと判断される。症例2、4においては完全キメラは達成されたものの、抗腫瘍効果は全く認められず、とくに第4例目ではGVHDの徴候もなく癌の進行が認められた。以上の結果より同療法の進行例に対する適応には十分慎重でなければならない。抗腫瘍効果の発現に細胞性免疫の関与を示唆する所見として、症例1、2の剖検において腫瘍組織内でのTリンパ球(cytotoxic Tcell)の浸潤像が得られた。一方、長期に渡り多彩な症状を呈する慢性GVHDは、時に摂食障害を来し、患者のQOLを保つうえで大きな課題となることが判明した。またGVHDの管理に必要な免疫抑制剤の投与は、腫瘍の増殖を促すことが観察され、抗腫瘍効果の持続を得るうえでもGVHDの管理が治療の成否を決める重要な鍵であることが判明した。従っ

て今後の課題はいかに GVHD の発症を最小限に止め、患者を免疫抑制状態から離脱させ抗腫瘍効果を得るかにある。これまで我々が行ってきた前治療および免疫抑制の方法は、Childs 法に準じてきたが、この点に再考の余地があると思われる。

E. 結論

進行性腎細胞癌に対するミニ移植の安全性は確認されたが、臨床的有効性はいまのところ不明である。GVHDの発症予防ならびにその管理が今後の課題である。

F. 健康危機情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 臨床研究の進歩 固形癌の治療 腎細胞癌、
日本臨床 60:1607-1612, 2003.
- 2) Reduced-intensity allogeneic stem cell transplantation (RIST) for renal cell carcinoma: in vivo evidence of graft-versus-tumor effect.
Haematologica 89(3): 372-374, 2004

2. 学会発表

- 1) 第 90 回日本泌尿器科学会総会 (東京 2002/4/20)
転移性腎細胞癌に対するミニトランスプラントの経験
- 2) 第 91 回日本泌尿器科学会総会 (徳島 2003/4/20)
腎細胞癌に対するミニトランスプラントの現と展望
- 3) 第 53 回日本泌尿器科学会中部総会
(金沢 2003/10/31)
日本における腎細胞癌に対するミニトランスプラントの現況

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

『分担研究課題名：転移性腎細胞癌を対象としたミニ移植の検討』

三木 恒治 京都府立医科大学大学院医学研究科/泌尿器機能再生外科学 教授

研究要旨 インターフェロンまたはインターロイキン-2 にて効果が認められなかった転移性腎癌症例に対してミニ移植を施行すべく当施設の IRB に申請し、最終的に平成 16 年 1 月 16 日に承認を得た。ミニ移植は抗腫瘍免疫を賦活することにより抗腫瘍効果を示すといわれているが、その際に TRAIL が関与していることが報告されているので、TRAIL の腎癌に対する抗腫瘍効果に関して検討した。

A. 研究目的

腎癌の約 10-15%に初診時に転移を認める。転移のない症例でもその約 20-30%は術後に転移をきたすといわれている。しかし、転移性腎細胞癌に対しては、インターフェロンやインターロイキン-2 を代表とする免疫療法、手術療法、化学療法を含めた集学的治療の時代に入っているが、その奏効率は約 15-20%程度である。したがって転移性腎癌における新しい治療法の開発が急務である。

白血病では同種骨髄移植が重要な治療法の一つである。そこでは骨髄を破壊するような強力な化学療法が行われるため、重篤な感染症も稀でなく、高齢者の同種骨髄移植の適応を阻んでいる。この点を克服するために、強力な免疫抑制効果を有しながら、その他の臓器毒性が少ないとされる fludarabine などのプリン誘導体を用いて行う「ミニ移植」が開発された。骨髄破壊的な薬剤を用いないことから、従来の骨髄移植前治療と比較して治療関連毒性の軽い移植が可能となった。この方法では新しく移植された骨髄から分化増殖するドナー由来のリンパ球が、患者の腫瘍細胞を異物として認識し攻撃する。すなわち、移植片対白血病 (graft-versus-leukemia) 効果が起き、白血病の予後をより改善する。移植片由来のリンパ球は、その他の担癌患者でも癌細胞の抗原を認識し攻撃するため、広く移植片対腫瘍 (graft-versus-tumor) 効果と呼ばれている。

現在までになされた腎癌のミニ移植に関する主な報告は Child らの発表である。彼らは、移植片対腫瘍効果を期待して転移性腎癌症例 19 例に対してミニ移植を行い、奏効率約 50%の良好な結果を得ている。固形癌で

は、骨髄破壊的な治療を行う必要はないため、骨髄非破壊的な前処置のミニ移植を行った場合、仮に移植片が生着しなくても患者の造血系が回復し、重篤な感染症には対応できる。この面から固形癌がミニ移植のよい適応となる。そこで本研究では、従来の免疫療法耐性の腎癌患者に対して、骨髄非破壊的な前処置療法を用いたミニ移植の効果、feasibility を検討する。

B. 研究方法

(1) ミニ移植の際の薬剤の投与方法：リン酸フルダラピンは 30mg/m²/day を、Day-8 から Day-3 までの 6 日間投与する。ブスルファンは 4mg/kg/day を、Day-6 から Day-5 までの 2 日間投与する。

ATG は 2.5mg/m²/day を、Day-2 から Day-1 までの 2 日間投与する。

(2) ミニ移植の際の幹細胞採取と輸注：末梢血幹細胞を動員する目的で、ドナーに対して G-CSF を投与する。血液成分分離装置を用いてアフエレーシスを行って幹細胞を採取する。その幹細胞を Day0 に輸注する。

(3) TRAIL の腎癌に対する抗腫瘍効果に関する検討：標的細胞として、Caki-1 腎癌株化細胞と 3 人の腎癌患者より手術時に採取した癌組織より作製した腎癌初期培養細胞を用いた。また、腎癌細胞の TRAIL、5-FU に対する感受性は 24 時間の MTT 試験にて検討した。アポトーシスは Hoechst 33258 染色にて検討した。

<倫理面への配慮>

本研究の方法、目的について患者に対し、十分な説明を行なった上で、同意を得る。

C. 研究結果

インターフェロン、インターロイキン-2にて効果が認められなかった転移性腎癌症例に対してミニ移植を施行すべく当施設の IRB に申請し、最終的に平成 16 年 1 月 16 日に承認を得た。

TRAIL は腎癌に対して抗腫瘍効果を示したが、その抗腫瘍効果は弱いものであった。そこで、TRAIL に抗癌剤、特に 5-FU を併用することにより、腎癌に対する抗腫瘍効果が増強されることが明かとなった。

D. 考察

ミニ移植に 5-FU を併用する可能性が示唆された。

E. 結論

ミニ移植を実施するにあたっては、症例の適格基準・除外基準を十分検討すべきである。

F. 健康危機情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

水谷陽一、中尾昌宏、野村憲一、谷脇雅史、岡上 武、三木恒治：ミニトランスプラントを施行した転移性腎癌の 1 例。「泌尿器がんフォーラム 2003」記録集、フォーライフメディカ、東京、pp. 5 - 6, 2003.

2. 学会発表

水谷陽一、中西弘之、李 永男、松原弘樹、中内博夫、白石 匠、野本剛史、浮村 理、河内明宏、藤戸 章、中尾昌弘、三木恒治：腎癌に対する 5-FU による TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) を介したアポトーシスの増強。第 91 回日本泌尿器科学会、徳島、平成 15 年 4 月 2-5 日。

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

研究要旨 NKT細胞はGVHD抑制的に作用することがマウスモデルにおいて明らかになった。NKTリガンド投与によりNKT細胞よりIL-4が産生され、ドナーT細胞のTh2シフトが誘導された。その結果、GVHDのエフェクターである炎症性サイトカイン産生が抑制され、GVHD死亡率が軽減された。本研究は、自然免疫系による抗原特異的免疫反応の機能修飾を利用した、新たなGVHD予防法開発の可能性を示すものである。

A. 研究目的

同種造血幹細胞移植は大量化学療法や全身放射線照射の前処置により患者由来の腫瘍細胞や造血幹細胞を可能な限り根絶し、ドナー由来の造血幹細胞で再構築することを治療の目的としていた。

しかしこれらの前処置では腫瘍細胞の根絶には限界があること、移植後に移植片対宿主病(graft-versus-host disease: GVHD)が発症すると原病の再発が減少すること、再発に対してドナーのリンパ球を輸注することで寛解導入が得られること、などから同種造血幹細胞移植では免疫学的な機序により抗腫瘍効果(graft-versus-tumor effect: GVT効果)が生じるとの認識が示されるようになった。これらの検証から腫瘍細胞の根絶を目的でなく一定の免疫抑制をかけることでドナーリンパ球の生着を目指した移植前処置を行い、移植したドナーリンパ球によりGVT効果を誘導するミニ移植が行われるに至っている。

ミニ移植の前処置は従来の造血幹細胞移植の前処置に比較して毒性が軽度である。このため前処置に伴う副作用・合併症のリスクの軽減が図られ、結果として同種移植の適応外とされていた高齢者や臓器障害のある患者にも同種移植が可能となってきた。このような適応の拡大を背景にミニ移植を免疫療法としてとらえ、固形腫瘍の治療に応用する試みが行われている。転移性腎癌に対するミニ移植はChildsらが50%を越す奏効率を報告して以来、多くの施設で検証が行われている。

我々はインターフェロンなど従来の免疫療法が

無効な転移性腎細胞癌の2例にミニ移植を施行しその安全性と有効性について検討した。

B. 研究方法

患者選定：レシピエントの選択基準は、①年齢20歳以上75歳以下、②Performance Statusは0または1、③原発巣は摘除され組織学的に腎細胞癌と同定、④測定可能な転移巣を有する、⑤INF α やIL-2などの免疫療法が無効、⑥3ヶ月以上の生存期間が見込まれる、⑦文書による本治療の同意、とした。除外基準として、①治療から1年以内の重複癌を持つ、②30日以内に腎細胞癌に対しての他の治療を受けている、③重篤な合併症を有する(糖尿病、心疾患、肝障害、腎障害、精神疾患など)、④脳転移を有する、⑤担当医が本治療に不相当と判断、とした。ドナーの選択基準は、①レシピエントの1親等以内でHLA typingが完全一致、②Performance Statusは0、③文書による本治療参加の同意、とした。除外基準として、①重篤な合併症を有する(糖尿病、心疾患、肝障害、腎障害、精神疾患など)、②心筋梗塞、脳梗塞の既往(G-CSFの禁忌)、③担当医が本治療に不相当と判断、とした。

前処置・免疫抑制プロトコール：前処置はフルダラビン: 30mg/m²を6日間、ブスルファン: 4mg/kgを2日間投与した。幹細胞移植後の免疫抑制はシクロスポリン: 3mg/kgで開始し、メソトレキセートを併用した。

<倫理面への配慮>

研究は本学の倫理委員会の承認を得ている。患者およびその家族に対して、現時点での病状（腎細胞癌の転移に対して既存の免疫療法が向こうで現時点では確立された有効な治療法がない状況）・今後予想される予後・ミニ移植により期待される効果（諸外国で報告された成績を具体的に提示し、奏効率のみならず、治療関連合併症や治療関連死の内容についても説明）・実際のミニ移植の施行内容（HLA完全一致ドナーの検索から実際の幹細胞採取～移植にいたる経過、移植後の免疫抑制の内容・入院期間など）について説明した。その上で患者の自由意志による治療の参加意思を確認し、さらに担当医師により倫理面の問題が無い事が確認された場合に最終的に文書による確認を行っている。

C. 研究結果

症例—1

53歳女性。46歳時、右腎腫瘍の診断で根治的右腎摘除術施行。病理診断は、淡明細胞癌, G2, pT1, N0, M0であった。術後定期経過観察となっていたが、51歳時に肺転移を認めインターフェロン α 300万単位週3回投与開始。1年後に肺転移巣の増大のためインターロイキン2の70万単位週3回投与開始。6ヶ月後より再び肺転移巣の増大を認め、53歳時の平成13年5月24日ミニ移植を目的に入院となった。入院後前述のレジメンに従ってミニ移植を施行した。移植前に肺転移巣に対してCTガイド下生検を施行し組織学的に腎細胞癌の転移と確認した。ドナーはHLA完全一致の弟でG-CSF製剤を用いて 4.7×10^6 個のCD34陽性細胞を含む単核球を採取し患者に移植した。前処置による副作用や移植後の重篤な急性GVHDは認めなかった。血小板や網状赤血球の回復も速やかで移植3週間後にはほぼ正常に復した。移植後2週間で完全キメラを達成し、7週間後よりシクロスポリンの漸減を開始した。しかし、この間に転移巣は徐々に増大、移植3ヶ月後に骨転移、皮膚転移を認めた。皮膚転移巣は外科的に切除、組織系は肉腫様癌で原発巣と異なる組織型を示した。また、シクロスポリンの漸減に伴い急性GVHDによる肝機能障害が出現したため一時的にシクロスポリンを増加したところ肝転移の出現を見た。このためシクロスポリンを休薬したところ転移巣の縮小を認めた。しかし、再び肝機能障害が悪化した

ためやむなくシクロスポリンを再投与した。これにより肝機能は改善したが、同時に脳転移を発症した。GVHDや脳転移に伴う脳浮腫に対してステロイドを使用するも逆に癌は進行し移植後220日で癌死した。

症例—2

43歳男性。42歳時、右腎腫瘍の診断で根治的右腎摘除術施行。病理診断は、淡明細胞癌, G2, pT3b, N0, M0であった。術後8ヶ月で肺転移を認めインターフェロン α 300万単位週3回投与開始。投与3ヶ月で肺転移巣の増大のためインターロイキン2の70万単位週3回投与に切り替えるも効果なく、43歳時の平成14年8月23日HLA完全一致の姉をドナーとしたミニ移植を目的に入院となった。ドナーより 5.0×10^6 個のCD34陽性細胞を含む単核球を採取し患者に移植した。症例—1と同様に移植前に肺転移巣に対してCTガイド下生検を施行し組織学的に腎細胞癌の転移と確認した。移植前後で重篤な副作用は認めず、移植後2週間で完全キメラを達成。移植後5週目よりシクロスポリンの漸減を開始した。25mg/dayまで減量した時点で肝機能障害のため減量を中止した。この間転移巣の評価はNCであった。その後GVHDによる口内炎の悪化のため経口摂取困難となり移植後120日よりシクロスポリンを200mg/dayまで増量。慢性GVHDの縦隔気腫を合併し190日よりステロイド投与を開始。ステロイド投与開始2週間後に脳転移を発症し移植後238日に癌死した。

症例—3

57歳男性。24歳時、右腎腫瘍の診断で根治的右腎摘除術施行。病理診断は、淡明細胞癌, G2, pT3b, N0, M0であった。術後よりインターフェロン α 300万単位週3回投与開始。投与8ヶ月後に肺転移を認めインターロイキン2の70万単位週3回投与に切り替えるも効果なく、平成16年1月30日HLA完全一致の弟をドナーとしたミニ移植を目的に入院となった。ドナーより 5.0×10^6 個のCD34陽性細胞を含む単核球を採取し患者に移植した移植前後で重篤な副作用は認めず、移植後2週間で完全キメラを達成。移植後5週目で退院。外来で免疫抑制剤の減量を行う予定である。

D. 考察

転移性腎細胞癌に対するミニ移植はChildsらの報告以来多施設で検証がなされている。Childsらは転

移行腎細胞癌に対するミニ移植の奏効率は約 50%で、組織学的には淡明細胞癌の奏効率が良好で、抗腫瘍効果発現の中央値は5ヶ月(1~9ヶ月)と述べている。また、GVHDの発症とGVT効果が直線的に相関したとしている。Riniらは12例の転移性腎細胞癌にミニ移植を施行し奏効率は33%(4例)であったと報告している。しかし、その後の他の施設の報告ではその奏効率は一定でなく、0~57%と奏効率にかなりのばらつきがある。本邦では上らが7例の転移性腎細胞癌に対するミニ移植の成績を報告している。1例(14.3%)がPR、3例(42.8%)がSDであったとしている。

このように報告者による奏効率のばらつきの一因としては、ミニ移植のレジメンの相違(特に前処置の相違)が考えられる。ミニ移植の前処置の目的は、ドナーリンパ球の生着(早期の完全キメラへの導入)と重篤な急性GVHDの予防にあると思われる。反面、転移性腎細胞癌に対するミニ移植においてはGVT効果とGVHDの発症に強い相関が見られることから、安全性のみを考慮した強い免疫抑制はかえって本来の目的である抗腫瘍効果を損ねる可能性がある。上らは奏効が14%であった要因としてGVHD予防としてATGを用いたことが関連するかもしれないと述べている。RiniらはGVT効果の見られた症例は全例に慢性GVHDを認めたとし、移植後に一過性の腫瘍増大を認めた例を報告している。上らはGVHDに対してステロイドを用いた症例で、ステロイド投与により腫瘍の増大、減量により腫瘍の縮小をみた症例を報告している。この事は移植後の維持免疫抑制においても、GVHDの予防や治療に伴う強い免疫抑制下では腫瘍の進展が助長されることを示していると考えられる。したがって、前処置も含めた免疫抑制療法の相違が奏効率のばらつきを生じていると考えられ、GVHDを調節しつつGVT効果を得ることを目的とした安全性と有効性を兼ね備えた最適なレジメンの開発が急務であると思われる。

一方で患者選定にも検討の余地がある。ひとつはミニ移植においてGVT効果が得られるまでに相当の期間が必要であるという点、さらに移植後早期の免疫抑制の期間に転移巣の増大が危惧されるという点である。この事は患者の生命予後や転移部位についての慎重な検討が必要であることを示している。当科ではperformance statusが0または1で3ヶ

月以上の予後が期待できる症例を対象とし、脳転移は除外した。さらに、rapid growth typeの症例や、椎骨に転移のある症例は慎重な検討を行うこととしている。組織型についてはChildsらは淡明細胞癌に有効と述べているが、これを支持する明確な根拠は無く現時点では結論つけ難いと思われる。

今回経験した2症例は残念ながら癌死の転帰となったが、2例とも移植早期に完全キメラを達成し、重篤な急性GVHDも認めなかった。安全性という面からは適切なレジメンと考えている。また、免疫抑制剤の増減に伴って転移巣の増大や縮小を認めた。2例ともこのような転移巣の変化の際にはGVHDの発症を伴っており、免疫学的機序によるGVT効果を確認することができたと考えている。加えて、2例ともステロイドの投与後より癌の急速な進行を認めており、これは転移性腎細胞癌に対するミニ移植において、GVHDの治療としてのステロイド使用はGVT効果に重大な影響を与える可能性を示し、移植後の免疫抑制療法に更なる検討の余地を残しているものと考えられた。

症例1では経過中に発生した皮膚転移の組織型が原発巣と異なる肉腫様癌であった。原因は不明であるが、患者選定を行う上で特に術後長期間経過からの転移例については可能であれば転移巣の組織型を確認する必要性を示唆するものを思われた。

E. 結論

転移性腎細胞癌に対するミニ移植は当初期待された奏効率を得られていないのが現状であるが、既存の治療が無効な症例に抗腫瘍効果が得られる治療であることも事実であり、今後安全性・有効性の更なる検討を行い、症例を積み重ねる事が治療の普及につながるものと思われる。

F. 健康危機情報

該当なし

G. 研究発表

上記内容は第40回日本がん治療学会

(2002年10月、東京)で発表した。

また、平成16年3月の日本泌尿器科学会誌に掲載の運びである。

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

『分担研究課題名：泌尿器癌に対する同種細胞免疫療法の研究』

岡島 英二郎 国立がんセンター中央病院/泌尿器科 医員

研究要旨 有効な治療法がない遠隔転移の有る腎細胞癌の新しい治療法として同種細胞免疫療法を安全に施行する方法を確立する。

A. 研究目的

腎細胞癌は手術での摘除以外に有効性が明らかな治療法が無い。転移の有る腎細胞癌では転移巣の存在様式によっては手術不可能であり、そのような症例を含め保存的治療を余儀なくされる場合には従来インターフェロンなどによる免疫療法が施行されてきたがその効果は奏効率で 20%を越えない。そしてこれらの治療が無効であった症例の 1 年生存率は 20%程度であるため、欧米では同趣免疫細胞移植による抗腫瘍効果を試みるようになった。これらの報告では奏効率が 30-50%を越えるものの治療死の危険性も低くない。近年、リン酸フルダラビンおよび抗ヒト胸腺細胞ウサギ免疫グロブリンを用いることにより安全性が改善されるとの報告があり、当院でもパイロットスタディとして施行してきて 19 例での非再発死亡症例はなかった。

インターフェロン等無効な転移性腎細胞癌に対してリン酸フルダラビン、抗ヒト胸腺細胞ウサギ免疫グロブリンを用いた同趣免疫細胞移植の安全性と有効性を検討することが本研究の目的である。

B. 研究方法

インターフェロンの無効な転移性腎細胞癌症例で、予後が少なくとも 100 日期待できる症例を抽出し、リン酸フルダラビンおよび抗ヒト胸腺細胞ウサギ免疫グロブリンを用いた同趣免疫細胞移植療法の安全性と効果を移植後 100 日で評価する。

C. 研究結果

1) 班会議への参加と研究実施詳細の打ち合わせ。
班会議にて各共同研究施設と情報交換をし、研究実施における詳細につき討議および確認を行った。

2) 遠隔転移の有る腎細胞癌症例の登録
他施設共同研究の一環として当科を受診した転移性腎細胞癌のうち、従来の免疫療法が無効な症例で予後が3ヶ月以上期待される症例を選別し、本研究への参加についての簡単なガイダンスを患者へ行った後、参加の意思が認められた症例を登録へと進めた。数例が登録され治療準備中である。

D. 考察 および E. 結論

腎細胞癌の治療では手術のみが有効性を認められており、手術の適応がない症例に対してはインターフェロン等の免疫療法が行われてきたがその奏効率は不良である。手術が選択できない症例に対する治療法の開発は腎細胞癌の治療において急務である。従来の同種細胞免疫療法が固形癌に対して効果を認めるものの治療による致死率も問題になっていたことから、安全な同種細胞免疫療法の標準化を目指す本研究は極めて重要な意味を持つと考えられる。本院でのパイロットスタディでは9例に同種細胞免疫療法を施行し、全例移植後100日での生存経過観察を得られたが、1例のstable disease以外はprogressive diseaseであり、本研究により安全性をまず確保したうえで奏効率を求める研究へと進めたい。

F. 健康危機情報

該当なし

G. 研究発表

現在、準備段階である

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

『分担研究課題名：同種造血幹細胞移植における移植片対宿主病予防法に関する研究』

豊嶋 崇徳 岡山大学医学部附属病院/血液・腫瘍・呼吸器内科 助手

研究要旨 NKT細胞はGVHD抑制的に作用することがマウスモデルにおいて明らかになった。NKTリガンド投与によりNKT細胞よりIL-4が産生され、ドナーT細胞のTh2シフトが誘導された。その結果、GVHDのエフェクターである炎症性サイトカイン産生が抑制され、GVHD死亡率が軽減された。本研究は、自然免疫系による抗原特異的免疫反応の機能修飾を利用した、新たなGVHD予防法開発の可能性を示すものである。

A. 研究目的

同種造血幹細胞移植術は、造血器悪性腫瘍、造血不全、先天性代謝性疾患などにおける標準的治療法のひとつとして位置づけられている。本治療法の適応はその高度の毒性のために、若年者に限られてきた。最近、移植前処置を軽減することにより、毒性を軽減したミニ移植法が導入され、その適応が高齢者へと拡大するとともに、固形がんなどに対しても実施されるようになってきた。同種造血幹細胞移植術における最大の合併症は移植片対宿主病（GVHD）である。ミニ移植法の導入以後も依然として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

骨髄移植マウスモデルを用いて研究を行った。レシピエントとしてB6(H-2^b)、ドナーとしてBalb/c(H-2^d)を用いた。両者は主要およびマイナー組織適合性抗原不適合で、強いGVHDが発症する。B6由来のCD1dノックアウトマウスは共同研究者のVan Kaer博士(米国Vanderbilt大学)より提供された。Balb/c由来のSTAT6ノックアウトマウスはJackson Laboratoriesより購入した。骨髄移植の前処置は11-13Gy(2分割)の全身放射線照射で行った。ドナーから骨髄(5 x 10⁶)と脾細胞(5 x 10⁶)を分離し、前処置を受けたレシピエントマウスに骨髄移植を行った。NKTリガンドとして α -galactosylceramide(α -GalCer：麒麟麦酒より供

与)あるいはOCH(共同研究者の山村隆博士より提供)を用い、100 μ g/kgを移植直後に腹腔内に単回投与した。移植後には血清中のサイトカインをELISA法にて測定し、脾臓、リンパ節から細胞を回収し、そのアロ応答性とサイトカイン産生を検討した。またGVHDの指標として、臨床スコア、病理スコア、生存率を検討した。病理スコアは共同研究者のLiu博士(米国Florida大学)により盲検的に判定された。

<倫理面への配慮>

岡山大学 自然生命科学研究支援センター動物資源部門のガイドラインを遵守した。

C. 研究結果

- 1) BMTのレシピエントとして、NKT欠損CD1dノックアウトマウスを用いた場合、野生型レシピエントに比べて、GVHDが重症化した。移植後のレシピエントの脾臓から分離したドナーT細胞のTh2分化が抑制されており、レシピエントのNKT細胞はドナーT細胞のTh2分化を誘導することにより、GVHD抑制的に作用する可能性が示された。
- 2) レシピエントのNKT細胞は放射線照射による移植前処置後にもNKTリガンドである α -GalCer刺激に対するIL-4産生能が48時間保持されることが明らかになった。このIL-4産生はCD1dノックアウトマウスではみられず、NKT細胞由来であることが確認された。

- 3) 骨髄移植直後のレシピエントにa-GarCerを投与するとドナーT細胞のTh2シフトが誘導され、その結果として、GVHDの重要なエフェクターである血清中IFN- γ 、TNF-aレベルの著明な低下がみられた。これらの結果、GVHDが抑制され、マウスのGVHD死亡率、臨床スコア、病理スコアは有意に減少した。
- 4) レシピエントとしてNKT欠損CD1dノックアウトマウスを使用した場合にはこの現象はみられず、レシピエントNKT細胞を介する効果であることが確認された。
- 5) ドナーとしてTh2応答性に欠陥のあるSTAT6ノックアウトマウスを使用した場合にはこの現象はみられず、ドナーのTh2応答性を介する効果であることが確認された。

D. 考察

免疫担当細胞のうち、T細胞はGVHD発症の中心的役割を果たし、NK細胞はGVHDよりむしろ抗腫瘍効果であるgraft-versus-leukemia (GVL)効果に関与するとされる。B細胞は慢性GVHDにおける自己抗体産生に関与する。一方、NKT細胞はその強力なIL-4産生能により、ドナーT細胞のTh2シフトを誘導し、GVHD抑制的に作用することが報告されている。このような“細胞療法”の臨床応用には、細胞分離し、培養増幅する必要があるが、設備、経費等、実施は困難と考えられる。本研究では、ドナーNKT細胞のみならず、ホストNKT細胞にもGVHD抑制効果があることが明らかとなった。このホストNKT細胞は移植前処置後もNKTリガンドに対するIL-4産生能が保たれており、本細胞をNKTリガンドで刺激することは合理的であると考えられた。これにより、ドナーT細胞機能の修飾が可能であり、GVHD死亡率の劇的な改善がえられた。このような、自然免疫系を利用した抗原特異的免疫系の機能修飾を目的とした、新たな第五世代の免疫抑制療法がGVHD予防にも適応可能であることが示され、今後の更なる改良を目指していく予定である。

E. 結論

NKT細胞を利用した新たなGVHD予防法の可能性が示唆された。

F. 健康危機情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Reddy P, **Teshima T**, Hildebrandt G, Williams DL, Liu C, Cooke KR, Ferrara JLM. 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.
- 2) Ferrara JLM, **Teshima T**. Reply to “Is alloantigen expression by host epithelium required for acute graft-versus-host disease?” *Nature Medicine*, 9:151(letter), 2003.
- 3) Sezaki N, Ishimaru F, Takata M, Tabayashi T, Nakase K, Kozuka T, Fujii K, Nakayama H, **Teshima T**, Harada M, Tanimoto M: 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.
- 4) Ichiba T, **Teshima T**, Kuick R, Misek DE, Liu C, Takada Y, Maeda Y, Reddy P, Williams D, Hanash SM, Ferrara JLM: Early changes in gene expression profiles of hepatic GVHD uncovered by oligonucleotide microarrays. *Blood*, 102:763-771, 2003.
- 5) **Teshima T**, Reddy P, Liu C, Williams D, Cooke KR, Ferrara JLM. Impaired thymic negative selection causes autoimmune graft-versus-host disease. *Blood*, 102:429-435. 2003.
- 6) Clouthier SG, Cooke KR, **Teshima T**, Lowler KP, Liu C, Connolly K, Ferrara JLM. Repifermin (Keratinocyte Growth Factor-2), reduces the severity of graft-versus-host disease while preserving a graft-versus-leukemia effect. *Biol Blood Marrow Transplant*, 9:592-603, 2003.
- 7) Duffner U, Lu B, Hildebrandt GC, **Teshima T**, Williams DL, Reddy P, Ordemann R, Clouthier SG, Lowler K, Liu C, Gerard C, Cook KR, Ferrara JLM. Role of CXCR3 induced donor T-cell migration in

acute GVHD. *Experimental Hematology*, 31:897-902, 2003.

- 8) Ferrara JLM, Cooke KR, **Teshima T**. The pathophysiology of acute graft-versus-host disease. *International Journal of Hematology*, 78:181-187, 2003.
- 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

該当なし

3. その他

該当なし

研究成果の刊行に関する一覧表

1. 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.
2. Nakai K, Takaue Y. *et al.* The feasibility of reduced-intensity allogeneic hematopoietic stem cell transplantation from a related donor with HLA one-antigen with or without one-allele mismatch. *Haematologica*, 88:115-117,2003.
3. Matsubara H, Takaue Y. *et al.* Successful treatment of meningoencephalitis caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with intrathecal vancomycin in an allogeneic peripheral blood stem cell transplant recipient. *Bone Marrow Transplant*, 31:65-67,2003.
4. Kato K, Takaue Y. *et al.* USA2-13, an antigen originally found on mouse NK-like T cells, is an early inducible cell surface antigen during lymphoid activation. *Cell Immunol*, 221:27-36,2003.
5. Asada-Mikami R, Takaue Y. *et al.* Increased expansion of Va24⁺ T cells derived from G-CSF-mobilized peripheral blood stem cells as compared to peripheral blood mononuclear cells following a-galactosylceramide stimulation. *Cancer Sci*, 94:383-388,2003.
6. Mineishi S, Takaue Y. *et al.* Impact of GVHD in reduced-intensity stem cell transplantation for patients with hematological malignancies. *Br J Hematol*, 121:296-303,2003.
7. Tanimoto T, Takaue Y. *et al.* High complete response rate after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with reduced-intensity conditioning regimens in advanced malignant lymphoma. *Bone Marrow Transplant*, 32:131-137,2003.
8. Saito T, Heike Y., Takaue Y. *et al.* Immune reconstitution following reduced-intensity transplantation with cladribine, busulfan, and anti-thymocyte globulin: serial comparison with conventional myeloablative transplantation. *Bone Marrow Transplant*, 32:601-608,2003.
9. Urahama N, Takaue Y. *et al.* Transfusion-related acute lung injury (TRALI) after the infusion of bone marrow cells in a patient with acute lymphoblastic leukemia. *Transfusion*, 43:1553-1557,2003.
10. Yamamoto R, Takaue Y. *et al.* Late hemorrhagic cystitis after reduced-intensity hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*, 32:1089-1095, 2003.
11. Nakai K, Heike Y., Takaue Y. *et al.* Anti-thymocyte globulin affects the occurrence of acute and chronic graft-versus-host disease after a reduced-intensity conditioning regimen by modulating mixed chimerism induction. *Transplantation*, 75:2135-2143, 2003.
12. Kim SW, Takaue Y. *et al.* 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.
13. Zheng Y, Takaue Y. *et al.* Ex vivo manipulation of umbilical cord blood-derived hematopoietic stem/progenitor cells with recombinant human stem cell factor can up-regulate levels of homing-essential molecules to increase their trans migratory potential. *Exp Hematol*, 31:1237-1246, 2003.
14. Hori A, Kunitoh H., Takaue Y. *et al.* Urgent need for a validated tumor response evaluation system for use in immunotherapy. *Bone Marrow Transplant*, 33:255-256, 2004.
15. Kawano Y, Takaue Y. *et al.* Cryopreservation of mobilized blood stem cells at a higher cell concentration without the use of a programmed freezer. *Ann Hematology* 83:50-54, 2004.
16. Yamasaki S, Takaue Y. *et al.* Allogeneic peripheral blood stem cell transplantation from 2- or 3-loci-mismatched related donors in adult Japanese patients with high-risk hematologic malignancies. *Bone Marrow Transplant*, 33:279-289, 2004.
17. Kamitsuji Y, Heike Y., Takaue Y. *et al.* Fatal deep vein thrombosis after allogeneic reduced-intensity hematopoietic stem-cell transplantation for the treatment of metastatic gastric cancer. *Ann Hematol* (2003 Dec 19 [E-pub ahead of print]).
18. Okamoto A, Takahashi T. *et al.* Kamisawa T, Egawa N, Funata N. Papillary carcinoma of the extrahepatic bile duct: characteristic features and implications in surgical treatment. *J Am Coll Surg*, 96:394-401, 2003.

19. Omuro Y, Takahashi T. *et al.* Case report :Regression of an unresectable pancreatic tumor following nonmyeloablative allogeneic peripheral stem cell transplantation. Bone marrow transplantation, 31:943-945, 2003.
20. Nakamori M, Yamaue H. *et al.* C Intensification of antitumor effect by T helper 1-dominant adoptive immunogene therapy for advanced orthotopic colon cancer. Clin Cancer Res, 9:2357-2365, 2003.
21. Shono Y, Yamaue H. *et al.* Specific T-cell immunity against Ki-ras peptides in patients with pancreatic and colorectal cancers. Br J Cancer, 88:530-536, 2003.
22. Yamaue H. *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.
23. 水谷陽一、三木恒治、他 : ミニトランスプラントを施行した転移性腎癌の 1 例. 「泌尿器がんフォーラム 2003」記録集. フォーライフメディカ 東京 pp.5-6, 2003.
24. 臨床研究の進歩 固形癌の治療 腎細胞癌、日本臨床 60: 1607-1612, 2003.
25. Reduced-intensity allogeneic stem cell transplantation (RIST) for renal cell carcinoma: in vivo evidence of graft-versus-tumor effect. Haematologica 89(3): 372-374, 2004
26. 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.
27. Ferrara JLM, Teshima T. Reply to "Is alloantigen expression by host epithelium required for acute graft-versus-host disease?" *Nature Medicine*, 9:151(letter), 2003.
28. 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.
29. Ichiba T, Teshima T. *et al.* Early changes in gene expression profiles of hepatic GVHD uncovered by oligonucleotide microarrays. Blood, 102:763-771, 2003.
30. Teshima T. *et al.* Impaired thymic negative selection causes autoimmune graft-versus-host disease. Blood, 102:429-435. 2003.
31. Clouthier SG, Teshima T. *et al.* Repifermin (Keratinocyte Growth Factor-2), reduces the severity of graft-versus-host disease while preserving a graft-versus-leukemia effect. Biol Blood Marrow Transplant, 9:592-603, 2003.
32. Duffner U, Teshima T. *et al.* Role of CXCR3 induced donor T-cell migration in acute GVHD. Experimental Hematology, 31:897-902, 2003.
33. Ferrara JLM, Teshima T. *et al.* The pathophysiology of acute graft-versus-host disease. International Journal of Hematology, 78:181-187, 2003.
34. Teshima T. *et al.* 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.

20030449

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。