

厚生科学研究補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）

骨髄等を利用した効率的な造血幹細胞移植の運用・登録と臨床試験体制の確立に関する研究  
平成 16 年度分担研究報告書

分担研究者	一戸辰夫	京都大学大学院医学研究科	血液・腫瘍内科学
研究協力者	内山 卓	京都大学大学院医学研究科	血液・腫瘍内科学
	玉木茂久	山田赤十字病院	内科
	松岡賢市	岡山大学医学部	血液腫瘍呼吸器内科
	豊嶋崇徳	九州大学医学部附属病院	遺伝子細胞治療部
	丸屋悦子	NPO	HLA 研究所
	佐治博夫	NPO	HLA 研究所

研究要旨：母子間マイクロキメリズムを免疫学的低応答性の指標とした非遺伝母 HLA 抗原 (non-inherited maternal HLA antigens, NIMA) 相補的血縁者間造血幹細胞移植の安全性と有用性をプロスペクティブに評価するために、難治性白血病及び成人 T 細胞白血病・リンパ腫を対象として移植後 100 日以内死亡を主評価項目とする臨床試験を実施した。2005 年 1 月まで目標登録数 10 例の移植が完了し、そのうち 9 例で移植後 100 日目までの成績の評価が終了した。ドナー・レシピエント間における GVH 方向/HVG 方向の HLA-A, -B, -DR の不一致抗原数は、2/2 抗原が 6 例、2/3 抗原が 1 例、3/2 抗原が 2 例、3/3 抗原が 1 例であった。移植後の重症感染症のため早期死亡に至った 1 例を除いた全例に生着が確認され、急性 GVHD の重症度は、0-I 度が 4 例、II 度が 1 例、III 度が 4 例であった。III 度急性 GVHD 発症例ではいずれも高用量のステロイド剤、ミコフェノール酸モフェチルなどによる二次治療を必要とし、経過中に重篤な感染症を併発した事例も見られた。最終観察日 (2005 年 3 月 15 日) において、10 例中 6 例が Karnofsky score 80-100% で寛解生存中であり、生存期間の中央値 (範囲) は 300 日 (60~642 日) に到達している。移植後 100 日目までの死亡は 2 例に観察され、その原因は重症感染症が 1 例、原疾患の再発+肺合併症が 1 例であった。今回の結果から、NIMA 相補的 HLA ハプロアイデンティカル血縁者間移植は、重症急性 GVHD 発症のリスクを無視できないものの、進行期造血器腫瘍に対する救済治療として今後さらにその有用性を検討されていくべき移植法であると考えられた。

A・研究の背景と目的

移植前処置方法や移植後支持療法の改良に伴い、難治性造血器疾患に対する根治的治療として同種造血幹細胞移植が実施される機会が近年ますます増加しつつある。しかし、同種造血幹細胞移植の成績は、レシピエントとドナーの間における組織適合性に大きく依存

するため、移植適応の決定に当たっては、適切なドナーを得ることができると併び、どのようドナーを選択するのが妥当であるかを判断することがきわめて重要な課題となっている。最近では HLA の不一致に対する許容度が高い上に迅速な利用が可能であるという理由か

ら、小児科領域のみならず、成人に対する代替幹細胞ソースとしても臍帯血が用いられる機会が急速に増加している。しかし、成人への臍帯血移植では、依然として生着不全の頻度が高いことが報告されており、進行病期例への成績がきわめて不良であることも大きな課題とされている。

われわれは、HLA 特異的な nested PCR-SSP を用いて、60-70%以上の成人末梢血から非遺伝母 HLA 抗原 (non-inherited maternal HLA antigens, NIMA)あるいは男性配偶者由来 HLA 抗原 (inherited paternal HLA antigens, IPA) を増幅することが可能であることを示し、このような母由来あるいは児由来有核細胞のマイクロキメリズムを非自己 HLA への免疫学的低応答性の指標として、母から子・子から母・父親由来ハプロタイプを共有する同胞など、いわゆる NIMA 相補的な血縁者の中で移植を実施した場合には、HLA-A, -B, DR に 2 抗原以上の不一致が存在する場合にも重症急性 GVHD が出現しにくい可能性を報告してきた。昨年まで本研究班で実施されていた NIMA 相補的血縁者間移植の全国調査から抽出された 35 例の追跡調査の結果では、評価可能 34 例中 8 例 (24%) に III 度以上急性 GVHD を認めたものの、移植時に化学療法抵抗性の症例 22 例中 5 例 (23%) が長期生存を得ており、急性 GVHD のリスクは無視し得ないものの、通常のドナーを得ることができない進行期造血器腫瘍に対しては本移植方法が一定の役割を果たす可能性が示された。

本年度の研究では、上記の結果をふまえ、NIMA 相補的 HLA ハプロアイデンティカル血縁者間における T 細胞除去を用いない移植の安全性と有用性を前向き臨床試験によって検証することを目的とした。

## B. 研究方法

### 1) 対象疾患

本試験は以下に示す基準を満たす、進行病期の造血器悪性腫瘍を対象として実施された。

①急性骨髄性白血病 (ICD-O 9861-3) : 2 コース以上の初回寛解導入治療または初回再発後の治療で完全寛解に導入できないか、第 2 回目の再発期以降の症例。

②急性リンパ性白血病・リンパ芽球性リンパ腫 (ICD-O 9835/3, 9728/3, 9729/3) : 2 コース以上の初回寛解導入治療で完全寛解に導入できないか、初回再発期以降の症例。

③慢性骨髄性白血病 (ICD-O 9875/3) : Imatinib mesilate を含んだ治療で血液学的寛解が得られない第二慢性期・加速期以降の症例 (急性転化例を含む)。

④成人 T 細胞白血病・リンパ腫 (ICD-O 9827/3) : 初回化学療法によって部分寛解以上の治療効果を得ることができないか、再発期以降の急性型・リンパ腫型の症例。

### 2) 適格条件

本試験参加の適格条件は 1) に示した進行病期の造血器腫瘍を有し、以下の①から④の条件を満たすこととした。

①登録時の年齢が 10 歳以上 55 歳以下。

②本試験への参加について、文書による本人、(本人が未成年者の場合には、本人および代諾者) の同意が得られていること。

③HLA-A, -B, -DR 血清型一致または GVH 方向に 1 抗原以内不一致の血縁ドナーが見出されていないこと。

④骨髄バンクにおいて、血清型で HLA-A, -B が一致しており、遺伝子型で HLA-A, -B, DRB1 の不一致が 1 座以内の非血縁ドナーが見出されていないか、迅速なコーディネートの成立が困難と考えられること。

⑤骨髄または末梢血幹細胞のドナーとして健康状態に問題を有さないHLA-A, -B, -DR血清型2抗原以上不一致かつ10歳から65歳以上のNIMA相補的血縁者が見出され、当該血縁者の末梢血単核球分画中にレシピエント型HLAを有する細胞のマイクロキメリズムが検出されること。

⑥⑤の当該血縁者が、本試験にドナーとして参加することに関して、文書による本人（ドナー候補者が未成年者の場合には、本人および代諾者）の同意が得られており、全身麻酔下の骨髄採取あるいはG-CSF投与による末梢血幹細胞採取の支障となるような健康上の障害を有さないこと。

なお、以下のいずれかの項目に該当する場合には、本試験の対象とはしないこととした。

- ① 移植前処置あるいはGVHD予防に抗胸腺細胞グロブリン(ATG)を使用する場合
- ② 骨髄非破壊的前処置を使用する症例
- ③ レシピエント血清中にドナー候補者のHLAに対する抗体が認められる場合。
- ④ レシピエントのperformance status (ECOG)が2以上の場合。
- ⑤ その他、レシピエントが移植の実施上問題となる感染症や合併症を有している場合。
- ⑥ ドナー候補者が骨髄または末梢血幹細胞の提供上問題となる既往症あるいは感染症・合併症を有している場合。

### 3) 移植方法

本試験の対象症例が進行病期例であることから、移植前処置はそれぞれの症例に最も適切と考えられる方法を選択してよいこととしたが、原則として過去に文献報告がなされている骨髄破壊的な方法を使用することとした。

移植片はG-CSFで動員した末梢血幹細胞(G-PBSC)(目標移植CD34陽性細胞数:レシピ

エントの体重1kgあたり $2.0 \times 10^6$ 以上)または骨髄(目標採取有核細胞数:レシピエントの体重1kgあたり $2.0 \times 10^8$ 以上)のいずれか、あるいは採取細胞数が上記の目標数に満たなかった場合には、各施設の判断によりG-PBSCと骨髄の併用を行なっても良いこととした。急性GVHD予防は全例FK506の持続静脈内投与とshort-term MTX(day +1に $10 \text{ mg/m}^2$ , day +3, day +6に $7 \text{ mg/m}^2$ )によって行った。

### 4) 評価項目・中止基準

本試験の主要評価項目は移植後100日目までの死亡、とした。また、累積登録症例数毎のIII度以上急性GVHDおよび移植後100日以内死亡の出現頻度に基づいて、二項分布の95%信頼区間の下限值よりIII度以上急性GVHDの発症頻度が25%より高いと推定された場合あるいは移植後100日以内死亡の頻度が30%より高いと推定された場合には、試験を中止することとした。

## C. 研究結果

### 1) 登録症例の背景

2003年2月から2005年1月までに本試験に登録され、移植が実施された症例10例の背景を表1に示す。登録症例の年齢中央値は23歳(14~49歳)、性別は男女とも5例、原疾患は急性骨髄性白血病(AML)が8例、慢性骨髄性白血病(CML)と成人T細胞白血病(ATL)が各1例、移植時の病期は初回寛解導入不能例が3例、再発後非寛解が6例、急性転化が1例であった。

### 2) ドナーの背景

本試験の実施に当たって、造血幹細胞の提供を行ったドナーの背景を表1に示す。提供時の年齢中央値は33歳(21~53歳)、レシピエントとの血縁関係は、母親が4名、娘が1

名、NIMA 相補的同胞が 5 名であり、レシピエントとの HLA 適合度は、GVH 方向では 2 抗原不一致が 7 名、3 抗原不一致が 3 名、HVG 方向では 2 抗原不一致が 7 名、3 抗原不一致が 3 名であった。また、提供した幹細胞は骨髄が 4 名、動員末梢血幹細胞が 6 名であった。

### 3) 移植前処置

移植前処置には、全例において全身放射線照射 (TBI) を含んだレジメンが使用されており、CY+TBI (cyclophosphamide 120 mg/kg +TBI 12 Gy) が 6 例、CA+CY+TBI (CY+TBI +Ara-C 8 g/m<sup>2</sup>) が 3 例、fludarabine 120 mg/m<sup>2</sup>+melphalan 140 mg/m<sup>2</sup>+TBI 12 Gy が 1 例であった (表 2)。

### 4) 生着

重症感染症により早期死亡に至った 1 例を除く 9 例全例にドナー造血細胞の生着が確認された。表 2 にこれら 9 症例における好中球数および血小板数の生着日を示す。

### 5) 急性 GVHD

急性 GVHD の評価は 9 例で可能であり、0 度が 3 例、I 度が 1 例、II 度が 1 例、III 度が 4 例、と III 度の出現頻度が高かった。III 度急性 GVHD の出現をドナー別に見ると、2 抗原不一致例では 6 例中 1 例であったが、3 抗原不一致例 3 例では全例、また GVH 方向の不一致が IPA の場合には 4 例中 1 例、NIMA の場合には 5 例中 3 例と、以前に実施された全国登録調査の結果と異なり、IPA, NIMA の不一致よりも不一致抗原数の影響が示唆される結果であった。III 度急性 GVHD を発症した 4 例については、全例において methylpredonisolone 2 mg/kg をこえる用量のステロイド剤による治療が行われ、3 例ではさらにミコフェノール酸モフェチル (MMF) の併用が行われたが、このうち 1 例では移植後

100 日目の時点においても、grade II 以下への重症度の改善が認められなかった。また高用量のステロイド剤単独で治療の行われた例において、移植後 6 ヶ月目にアスペルギルス肺炎、9 ヶ月目にカリニ肺炎の合併が認められた。

### 6) 移植後の生存状況

最終観察日 (2005 年 3 月 15 日) 時点で、10 例中 6 例が完全寛解の状態に生存中であり、その生存期間中央値 (範囲) は 300 日 (60 日 ~642 日) に到達している。最終観察時点における生存例の Karnofsky score は 4 例が 90%以上、1 例は 80%であった。

## D. 考察

2001 年以降、本邦の複数の施設から、NIMA 相補的血縁者をドナーに選択することによって、T 細胞除去を用いずに HLA 2、3 抗原不一致の造血幹細胞移植を比較的 safely に実施することが可能であったとする報告が相次いでなされている。昨年本研究班で実施された NIMA 相補的血縁者間移植の registry study の結果でも、約 4 分の 1 の症例に III 度以上急性 GVHD が出現していたにもかかわらず、およそ 40% の症例に長期生存が得られていたことから、一般的なドナーが得られない難治性造血器腫瘍症例に対してはこの移植方法が新たな治療選択肢となり得る可能性が示唆されていた。しかし、言うまでもなく、NIMA 相補的血縁者間移植の一般的な適応を確立するためには、これらの先行する報告において示された結果を、今後適切な前向き臨床試験によって検証することが必須である。

今回の試験では、まず移植後早期の安全性を検証するため、10 例を対象として移植後 100 日までの生存を評価することが目的とされた。III 度の急性 GVHD が 4 例に出現した点に課題は残

るものの、登録症例のほとんどが化学療法に抵抗性の白血病例であったにもかかわらず、移植後 100 日以内死亡は 2 例にとどまり、重症感染症による生着前死亡 1 例を除く、9 例中 6 例が寛解生存中という結果が得られていることは、特筆に値する。また、早急には結論できないものの、NIMA 相補的血縁者間移植では、臍帯血移植と異なり、生着不全が見られにくい傾向が観察されていることから、今後新規の免疫抑制剤の導入などにより重症 GVHD の発症頻度を減少させることが可能となれば、進行期以外の造血器腫瘍に対しても、本移植法の適応を拡大していくことが可能となるのではないかと期待される。

なお、NIMA 相補的造血幹細胞移植における重症 GVHD 発症の危険因子を明らかにするため、昨年度から動物骨髄移植モデルを用いた検討も開始しており(松岡・豊嶋・一戸)、GVH 標的が NIMA に一致する移植では IPA が標的となる移植と比較して急性 GVHD が重症化しにくいことや、出産後の授乳歴が NIMA への免疫学的寛容効果の強化に關与する可能性が示唆されている。

#### E. 結論

母子間マイクロキメリズムを NIMA あるいは IPA への免疫学的低応答性の指標とした NIMA 相補的 HLA ハプロアイデンティカル血縁者間移植は、tacrolimus+MTX で GVHD 予防を行った場合には従来の代替ドナーからの移植よりも III 度以上急性 GVHD 発症のリスクが高い可能性があるものの、進行期造血器腫瘍に対する救援治療として今後さらにその有用性を検討されていくべき移植法であると考えられた。

#### F. 健康危険情報

昨年報告したように、本試験登録例中 1 例に HHV-6 脳症によると考えられる意識障害から人工呼吸器による呼吸管理を必要とした事例が経験された。通常と同種造血幹細胞移植後にも発生し得る合併症であるが、HLA 不一致移植においてその発症頻度が高まる可能性も指摘されているため、NIMA 相補的血縁者間移植においても移植後早期の重篤な合併症のひとつとして、十分な留意が必要なものと考えられる。

#### G. 研究発表

##### 1) 論文発表

Ichinohe T, Uchiyama T, Shimazaki C, Matsuo K, Tamaki S, Hino M, Watanabe A, Hamaguchi M, Adachi S, Gondo H, Uoshima N, Yoshihara T, Hatanaka K, Fujii H, Kawa K, Kawanishi K, Oka K, Kimura H, Itoh M, Inukai T, Maruya E, Saji H, Kodera Y: Feasibility of HLA-haploidentical hematopoietic stem cell transplantation between non-inherited maternal antigen (NIMA)-mismatched family members linked with long-term fetomaternal microchimerism. *Blood* 2004;104:3821-3828.

Muta T, Kamo M, Gondo H, Kato K, Eto T, Shibuya T, Fukuda T, Miyamoto T, Nagafuji K, Ichinohe T, Harada M.: Human herpesvirus-6 encephalitis followed by severe acute GVHD after a stem cell transplant from a microchimeric non-inherited maternal antigen (NIMA)-mismatched sibling. *Bone Marrow Transplant* 2005;35:411-413.

2) 紀要

Ichinohe T, Maruya E, Tamaki S, Kodera Y, Uchiyama T, Saji H.: NIMA and NIPA in haploidentical related transplantation: The Kyoto Experience. In: Hansen JA, Dupont B, eds. HLA 2004-Immunobiology of the human MHC: Proceedings of the 13 th International Histocompatibility Workshop and Congress. Vol.2. Seattle: IHWG press (in press).

Saji H, Maruya E, Ichinohe T, Tamaki S, Watanabe A, Ogawa H : Long-term fetomaternal microchimerism, an indicator of HLA haploidentical/mismatched donation. In: Hansen JA, Dupont B, eds. HLA 2004-Immunobiology of the human MHC: Proceedings of the 13 th International Histocompatibility Workshop and Congress. Vol.2. Seattle: IHWG press (in press).

H. 知的財産権の出願状況

特になし。

No.	Patient characteristics				Donor characteristics			Mismatched HLA locus	
	Diagnosis	Disease status	Age	Sex	Relationship	Age	Sex	GVH vector	HVG vector
1	AML(M5a)	2nd relapse	15	F	Mother	33	F	A, B	A, B
2	CML	Blastic phase	14	M	Mother	48	F	B, DR	B, DR
3	AML(M2)	1st relapse	20	F	NIMA-complementary sibling	21	M	A, B, DR	B, DR
4	AML(M5b)	PIF*	24	F	Mother	53	F	A, B	A, B
5	AML(M1)	1st relapse	23	M	Mother	50	F	B, DR	A, B, DR
6	AML(M4)	1st relapse	35	M	NIMA-complementary sibling	32	F	A, B, DR	A, B, DR
7	AML(M7)	1st relapse	21	M	NIMA-complementary sibling	24	M	B, DR	A, DR
8	ATL	PIF	49	F	Daughter	23	F	A, B	A, B
9	AML(M4)	1st relapse	40	F	NIMA-complementary sibling	47	M	A, B, DR	B, DR
10	AML(M1)	PIF	22	M	NIMA-complementary sibling	23	M	A, DR	B, DR

\*PIF=primary induction failure

表 1 : 登録症例およびドナーの背景

No.	Conditioning	Stem cell source	Engraftment (days)		Acute GVHD			Survival (days)	Current status	
			ANC>500	PLT>20K	Overall Grade	Stage				
						Skin	Liver	GI		
1	FLU+MEL+TBI	PBSC	13	17	0	0	0	0	185	Died of relapse
2	CA+CY+TBI	BM	14	24	I	2	0	0	642+	Alive in CR
3	CY+TBI	PBSC	15	36	III	3	0	2	83	Died of relapse
4	CA+CY+TBI	BM	16	23	0	0	0	0	101	Died of disease progression
5	CY+TBI	PBSC	12	12	III	3	3	3	534+	Alive in CR
6	CY+TBI	PBSC	15	N.R.	III	3	1	4	436+	Alive in CR
7	CY+TBI	PBSC	12	14	II	3	0	0	165+	Alive in CR
8	CY+TBI	BM	N.R.	N.R.	UE	-	-	-	10	Died of infection
9	CY+TBI	BM	14	31	III	3	2	3	131+	Alive in CR
10	CA+CY+TBI	PBSC	12	13	0	0	0	0	60+	Alive in CR

FLU=fludarabine; MEL=melphalan; TBI=total-body irradiation; CA=cytarabine; CY=cyclophosphamide; BM=bone marrow; PBSC=peripheral blood stem cell; ANC=all neutrophil count; PLT=platelet count; N.R.=not reached; GI=gastrointestinal tract; UE=unevaluable.

表 2 : 登録症例の移植方法および移植成績

厚生労働科学研究「FK506 を GVHD 予防に用いた NIMA 相補的血縁者間  
造血幹細胞移植に関する臨床試験」施設内臨床試験審査委員会承認施設（五十音順）

大阪市立大学医学部附属病院 血液内科（試験分担医師：日野 雅之）

京都大学医学部附属病院 血液・腫瘍内科（試験分担医師：吉岡 聡、山本 玲）

京都大学医学部附属病院 小児科（試験分担医師：足立 壮一）

京都府立医科大学附属病院 第二内科（試験分担医師：島崎 千尋、淵田 真一）

群馬県済生会前橋病院 血液内科（試験分担医師：土岐 典子）

慈愛会今村病院分院 血液内科（試験分担医師：武元 良整）

独立行政法人国立病院機構九州がんセンター 血液内科（試験分担医師：鶴池 直邦）

独立行政法人国立病院機構名古屋医療センター

（試験分担医師：濱口 元洋、田淵 貴大）

名古屋第一赤十字病院 血液内科（試験分担医師：大庭 拓）

新潟県立がんセンター病院 小児科（試験分担医師：小川 淳）

浜の町病院 血液・腫瘍センター（試験分担医師：権藤 久司、牟田 毅）

松下記念病院 小児科（試験分担医師：吉原 隆夫）



## MHC不一致母子間骨髄移植における 対 NIMA / IPA 免疫寛容

～ マウスモデルでの検討 ～

松岡 賢市<sup>1</sup> 一戸 辰夫<sup>2</sup> 朝倉 昇司<sup>1</sup>  
橋本 大吾<sup>1</sup> 谷本 光吉<sup>1</sup> 豊嶋 崇徳<sup>3</sup>

- 1) 岡山大学医学部 血液腫瘍呼吸器内科
- 2) 京都大学医学部 血液腫瘍内科
- 3) 九州大学医学部 遺伝子・細胞治療センター

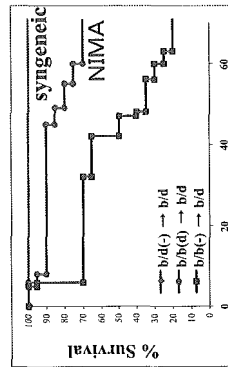
## 背景と目的

NIMAおよびIPAへの免疫寛容

- 臨床での腎移植<sup>(2)</sup>や骨髄移植<sup>(3)(4)(5)</sup>の後方視的解析から、NIMA/IPAは拒絶やGVHDの対象となりにくい「非自己」抗原である可能性が示唆されている。
- これまで動物モデルでNIMA/IPAの移植免疫における優位性を示した実験は、心移植モデルのみであり<sup>(6)</sup>、骨髄移植モデルでの検討はなされていない。
- NIMA/IPAに対する免疫寛容効果を、マウス骨髄移植モデルにてconfirmすることを第一の目的とする。

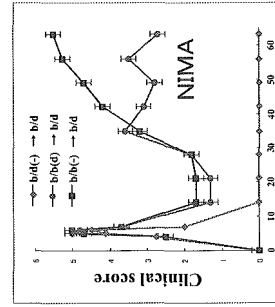
1. Class et al. *Science*, 1988, 241
2. Burlingham et al. *New England Journal of Medicine*, 1998, 339
3. Van Rood et al. *Blood*, 2002, 99
4. Shimazaki et al. *Blood*, 2003 Apr 15; 101(8):3334-6.
5. Ishinoke et al. *Blood*, 2004 Dec 1; 104(12):3821-8
6. Andrassy et al. *Journal of Immunology*, 2003, 171

## 移植後生存率



NIMA-exposed donorからの骨髄移植は、controlに比較して生存率の有意な延長を認める。  $p < 0.004$

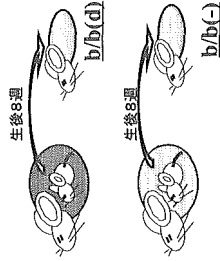
## GVHD重症度



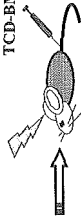
NIMA-exposed donorからの骨髄移植は、day30以降で臨床的GVHDの消退を認める。

## Ex.1: NIMA-exposed donorからの骨髄移植

ドナー  
B6  
(b/b)  
生後8週



レシピエント  
[B6 x D2] F1  
(b/d)



## GVHD重症度

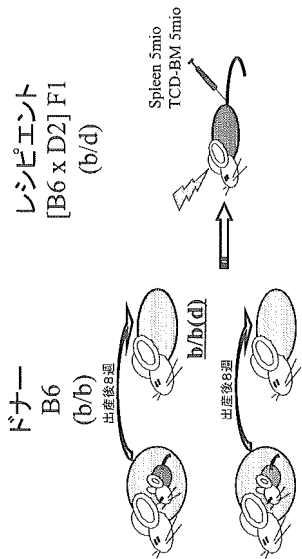
移植後50日



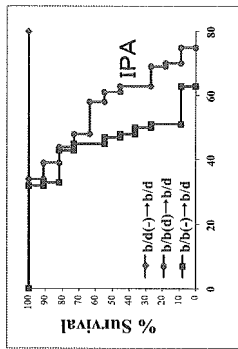
NIMA曝露群

コントロール群

### Ex.2: IPA-exposed donorからの移植

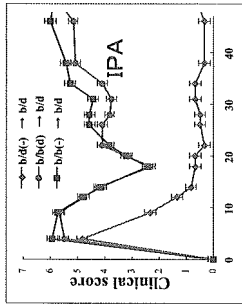


### 生存率



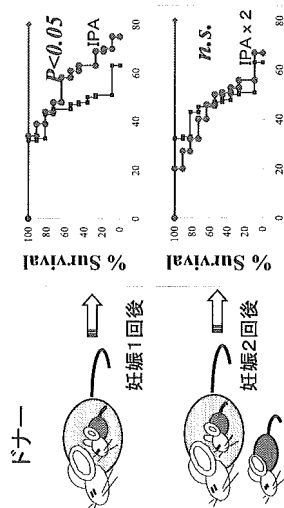
IPA-exposed donorからの骨髄移植は、controlに比較して生存率の有意な延長を認めるがNIMAほどの効果は認めない。P<0.05

### GVHD重症度



IPA-exposed donorからの骨髄移植はcontrol群に比較してGVHDscoreの低下を認めるが、その差はわずかである。

### IPA-exposure : 妊娠1回 vs 妊娠2回



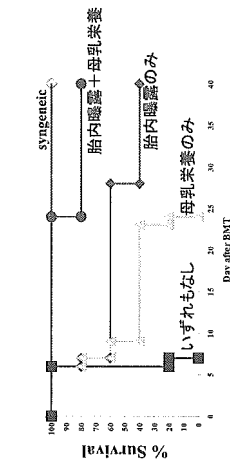
妊娠出産によるIPA曝露が複数回になると、IPAに感作され、いったん獲得された寛容効果がりセットされる可能性がある。

### NIMA-exposureとIPA-exposureの違い

NIMA曝露の方がIPA曝露より、GVHD抑制効果が高いのはなぜか？

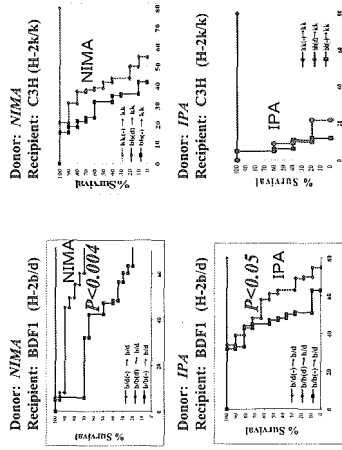
	NIMA 子	IPA 母	新生仔寛容
1. 曝露時期	胎児	大人	新生仔
2. 曝露抗原量	多い	少ない	多い
3. 曝露経路	経胎盤 + 経口(母乳)	経胎盤のみ	腹腔内投与

### 曝露経路による対NIMA寛容導入効果の違い



NIMA効果は、経胎盤的血液交換、経口的母乳栄養のいずれの経路からも導入される。

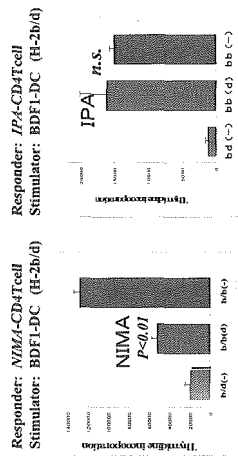
**対NIMA/IPA寛容の抗原特異性**



NIMA/IPA曝露マウスは、前曝露抗原に対し、特異的免疫寛容を獲得している。特にNIMA移植で、寛容効果が顕著である。

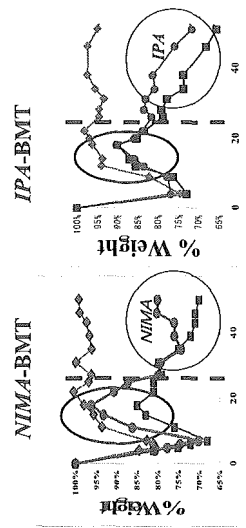
**NIMA/IPA寛容の機序は？**

**In vitro alloresponse (MLR)**

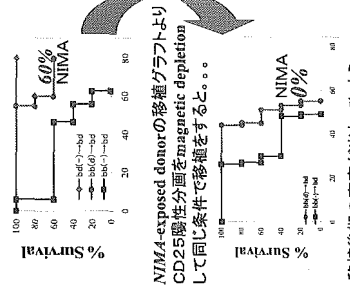


NIMA曝露マウスのT細胞は、同種抗原に対するexpansionが、低下している。IPA曝露マウスのT細胞では、同種抗原に対するexpansionの低下はない。

**In vivo alloresponse (Weight change in BMT)**



**CTL deletion? or Ag-specific Treg?**

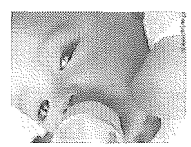


**NIMA寛容機序へのCD25+CD4+Treg関与の可能性**

NIMA-exposed donorの移植/ラットよりCD25陽性分画をmagnetic depletionして同じ条件で移植をすると。。。移植後期の寛容が壊れてしまう。⇒alb-reactive CTLは残存

**まとめ**

- NIMA/IPA曝露は、抗原特異的な免疫寛容を導入し、MHC不適合母子間骨髄移植のGVHDを軽減 (NIMA > IPA)。
- NIMA効果は経胎盤的曝露と母乳経口的曝露のいずれからでも導入される。
- NIMA効果にはCD25+CD4+制御性T細胞の関与が示唆された。



厚生科学研究ヒトゲノム・再生医療等研究事業  
『骨髓等を利用した効率的な造血幹細胞移植の運用・登録と臨床試験体制の確立に  
関する研究(主任研究者:小寺良尚班長)』

平成16年度分担研究報告書

分担研究課題:HLA不適合造血幹細胞移植の臨床試験体制の確立と適正運用—成分移植—  
分担研究者 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:HLA2、3座不適合血縁者間同種造血幹細胞移植に関する研究を行った。重篤な移植片宿主病(GVHD)を軽減する目的にて、CD34陽性細胞純化法を用いたHLA2、3座不適合血縁者ドナーからの同種末梢血幹細胞移植法の安全性及び有効性を検討する臨床第 I / II 相多施設共同試験を行った。CD34細胞純化法としては、その簡便性と高いCD34陽性細胞純化効率で認知されているCliniMACSを採用し、その医療機器としての同種造血幹細胞移植領域への承認申請も併せて目的とした(麒麟麦酒株式会社による臨床治験)。16例の一次登録が行われたが、内3例はレシピエント、2例がドナーの除外基準に抵触し不適格となった。11例で幹細胞採取及びCD34細胞純化が行われ、4例で $4 \times 10^6$ /kg以上の細胞数が得られず、不適格例となった。6例で実際に移植が行われ、5例で速やかに生着が得られ(生着日中央11日幅10-13日)、1例は生着前に感染症にて死亡された。重篤なGVHDは見られなかったが、生着した5例中3例で再発、1例のみ移植後93日段階で無病生存中である

#### A. 研究目的

同種造血幹細胞移植はその強力な骨髓破壊的前処置と移植片対腫瘍効果により多くの難治性造血器悪性腫瘍症例を救命してきた。ただし、この治療法はあくまでも HLA 一致ドナーの存在あって成立する治療法であり、血縁者間でドナーが見つかる可能性は 1/3 とされる。血縁ドナー不在の症例は、骨髓バンクや臍帯血バンクに依存してきたがこれもすべての移植を必要とする症例に移植医療の提供を可能とするものではない。血縁者に HLA2、3 座不適合ドナーを見つけることは困難ではなく、仮にこの HLA2、3 座不適合血縁者間同種造血幹細胞移植法が標準療法となれば、より多くの症例の移植医療を可能とする。

通常、特に処理を行わずこの移植を行った場合は移植片拒絶や重篤な免疫反応(移植片宿主病:GVHD)により、長期生存を得ることは困難とされる。この研究においては、移植片から免疫を担当するリンパ球を除去する目的にてCD34陽性細胞(=造血幹細胞)を positive selection により純化し、それを移植細胞源とすることにより、これらの免疫反応を回避し、標準治療法として確立することを目的とする。

#### B. 研究方法

同種造血幹細胞移植以外に救命する手段がないとされる急性白血病の非寛解例、慢性骨髄性白血病の急性増悪期、急性転化期で、HLA一致した適切なドナーが存在しない症例を対象とした。ドナーは健康な HLA2、3 座不一致の血縁者とした。ドナーからは通常の方法で末梢血幹細胞を採取し、CliniMACS にて CD34 陽性細胞を純化し、移植日まで凍結、保存する。この際、 $4.0 \times 10^6$  個/kg の患者体重以上得られた症例を本登録可能とする。移植前処置は、Fludarabine ( $30 \text{mg}/\text{m}^2$ , day -6~-2)、

Thiotepa ( $5 \text{mg}/\text{m}^2$  x2/day day 5)、Thymoglobulin ( $2.5 \text{mg}/\text{kg}$  day-4~day-1)、Total Body Irradiation 12 Gy (4 ないし 6 分割)とし、GVHD 予防は Cyclosporine 単剤とした。

Primary endpoint は移植後 35 日以内の生着率とし、GVHD や感染症、生存率等は secondary endpoint とした。目標症例数は 19 例である。

本臨床試験におけるデータ管理は厳正に行い、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。データマネージメント業務は、日本臨床研究支援ユニット・血液データセンター(J-CRSU データセンター)で行い、改正 GCP を遵守した高い質管理を行うことにより、より信頼性の高いデータを得るとともに、本試験で品質保証されたデータに基づいて適応承認申請を行う。なお、CliniMACS による細胞純化のプロセスは麒麟麦酒株式会社の臨床治験として行い、同種移植領域での医療機器としての承認を目指す。

#### C. 研究結果

2003 年 8 月から症例登録を開始し、16 例の一次登録が行われ、2005 年 3 月をもって症例登録を終了した。16 例の一次登録例中、3 例はレシピエント(再寛解例)、2 例がドナーの除外基準(造血機能低下および高血圧、糖尿病)に抵触し不適格となった。11 例で幹細胞採取及び CD34 細胞純化が行われたが、4 例で  $4 \times 10^6$ /kg 以上の細胞数が得られず、不適格となった。6 例で実際に移植が行われ、5 例で速やかに生着が得られ(生着日中央 11 日幅 10-13 日)、1 例は生着前に感染症にて死亡された。重篤な GVHD は見られなかったが、生着した 5 例中 3 例で再発、1 例のみ移植後 93 日段階で無病生存中である

#### D. 考察

血縁者に HLA 一致ドナーが得られず、適切なバ

ングドナーも得られない場合の代替法として、血縁 HLA2、3 座不適合移植は開発されてきた。最近では母子間免疫学的寛容を背景にした HLA 不適合ドナーの選択や移植後の免疫抑制療法を強化することにより HLA 不適合移植を可能とすることも報告されている。より高い可能性で移植を可能とする臍帯血移植も成人例において急速に症例が増加し、その良好な成績も報告されつつある。将来的にはこれら複数の移植法の有効性を比較する臨床試験が必須であるが、すべての症例に同様にドナー候補が存在するわけではないため、これらの移植法の特徴をふまえた上でのドナーの選択が必要となる。

当臨床試験においては CD34 陽性細胞移植における生着を評価し、一つの移植手段として確立し、同種造血幹細胞移植領域における CliniMACS の承認を目的とするものである。早期死亡の 1 例を除き、移植が行われた 6 例中 5 例において平均 11 日(幅 10-13 日)で生着が見られ、危惧された重篤な GVHD の発症も見られなかった。この移植法では輸注される T リンパ球が  $10^4$ /kg レベルまで減少するため重篤な GVHD 発症を抑制する反面、graft versus leukemia(GVL)効果も損なわれる可能性がある。今回の研究では対象症例が非寛解期の急性白血病であり、再発に関する評価は極めて困難である。実際、生着した 5 例中 3 例で移植後再発が見られているが、いずれも移植後早期の再発(移植後 31、42、132 日)であり、細胞障害性 T リンパ球が誘導される前の再発であり、GVL 効果の欠如というよりも原疾患に起因する可能性が高い。

## E. 結論

血縁 HLA2、3 座不一致ドナーからの CD34 陽性細胞移植の安全性と有効性を評価した。評価可能な 5 例全例において生着が見られ、重篤な GVHD も発症せずその安全性は評価できる。しかし、生着した 5 例中 3 例で再発が見られ、現在生存中の症例は 1 例のみである。

## F. 健康危険情報

該当なし

## G. 研究発表

### 1.論文発表

1. Yamasaki S, and 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.

## 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

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

各種造血細胞移植の患者及、ドナーの登録システム一元化と  
運用方法に関する研究

分担研究者 山本一仁

名古屋大学大学院医学系研究科予防医学教室／医学推計・判断学 助手

研究要旨：現在、様々な造血幹細胞源を用いた移植が実施されており、それぞれ独自の登録システムを運用している。造血細胞移植の治療成績とドナーの安全性を確認する作業は、健全な移植医療の発展のために必要であり、そのための患者およびドナーの登録と継続した追跡調査に加えて、各種造血幹細胞間の比較検討が必要となる場合がある。その作業を経済的かつ効率よく行うには、各登録システムの一元化が必須である。この研究においては、**各種造血幹細胞移植の登録システムの一元化とその運用方法の問題点を明らかとして、その作業手順を整備するための準備をおこなった。**

分担研究者

山本一仁  
名古屋大学大学院医学系研究科  
予防医学教室／医学推計・判断学  
助手

研究協力者

浜島信之  
名古屋大学大学院医学系研究科  
予防医学教室／医学推計・判断学  
教授

熱田由子  
名古屋大学大学院医学系研究科  
予防医学教室／医学推計・判断学  
大学院生

A. 研究目的

本邦における造血細胞移植実施例は、日本造血細胞移植学会、日本小児血液学会日本骨髄バンク、日本臍帯血バンクネットワークのいずれかに登録されている。効率的な登録システムの構築するため、これら4つの登録・調査用紙及びデータ構造を分析、再検討をおこない、登録システムの一元化とその運用方法の問題点を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

日本造血細胞移植学会、日本小児血液学会日本骨髄バンク、日本臍帯血バンクネットワークの各登録用紙とデータ構造を比較検討し、どの項目が統一化可能か、独自項目として残すべきか、統一化する場合の問題点は何かを検討した。また、効率的な登

録システムの運用のため、インターネットを利用した登録についての問題点を検討した。

(倫理面への配慮)

登録システムの個人情報の取り扱いについても検討した。

## C. 研究結果

### 1) 現登録システムの問題点

各移植例は、それぞれのシステムに登録することになっている。その結果、各登録システムでデータ構造が異なるため、移植成績などのデータの比較をおこなう場合は、コードの振り直しなどをおこなわなければならない。また、同じ移植例が別々の登録システムに登録され二重登録や患者の通院施設の変更により追跡調査が困難となるなどの問題が発生している。

### 2) 現登録システムの調査項目総数

4つの登録システムの調査項目のうち、全く同じ調査項目は一項目としてあわせると、調査項目総数は630項目であった。その内、同じ内容でありながら、項目名が異なるものや共通化可能な項目を一項目にすると???項目となった。

### 3) 効率的な登録システムの運用の検討

4つの登録システムの共通項目を統一化することに加えて、安全で効率的な登録をおこなうために以下のようなシステムの構築が必要と考えられる。A) 誤入力の防止：論理チェック機能を持たせる。B) 利便性の確保：一つのプログラムで登録システムへの入力を可能にする。入力途中で保存が行え、必要に応じて、CSVテキストなどの汎用的なデータ形式への出力ができるプログ

ラの開発。C) 個人情報保護：プログラム自体に外部と通信する機能を持たせない。データを施設外へ出すときには、匿名化することで、追跡調査可能な状態を保ちつつ、個人情報ははずすことが可能なシステムの構築。

4) インターネットを介した登録システム  
インターネットを介した登録システムは、その利便性により、登録率を上げる可能性がある一方、システムを開発するにあたっては、サーバーへの攻撃や情報漏洩の問題などセキュリティに十分配慮した上で実施する必要がある。

## D. 考察

現在、本邦における造血幹細胞移植は4つの登録システムのいずれかに登録されている。しかしながら、それぞれの登録システムは独立しており、データ構造が異なるため、直ちにデータの比較がおこなえない状況になっている。今回の検討により、4つの登録システムは、それぞれの独自の調査項目を残しつつ、統一化可能であることが示された。登録システムの統一化により、登録及び各種造血幹細胞移植間の比較が経済的かつ効率的におこなえる。今後は、この研究結果に基づいて、具体的にシステムを構築することが必要である。また、インターネットを介した登録システムの開発は今後の課題として解決しなければならない。

## E. 結論

造血幹細胞移植の登録システムは統一化可能であり、それにより登録及び各種造血幹細胞移植間の比較が経済的かつ効率的におこなえる。

F. 健康危惧情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Yanada M, Terakura S, Yokozawa T, Yamamoto K, et al. Multiplex real-time RT-PCR for prospective evaluation of WT1 and fusion gene transcripts in newly diagnosed de novo acute myeloid leukemia. *Leuk Lymphoma*. 2004;45:1803-1808.

Niwa Y, Hamajima N, Atsuta Y, Yamamoto K, Tamakoshi A, Saito T, Hirose K, Nakanishi T, Nawa A, Kuzuya K, Tajima K. Genetic polymorphisms of p73 G4C14-to-A4T14 at exon 2 and p53 Arg72Pro and the risk of cervical cancer in Japanese. *Cancer Lett*. 2004;205:55-60.

Hamajima N, Atsuta Y, Niwa Y, Nishio K, Tanaka D, Yamamoto K, Tamakoshi A. Precise definition of anonymization in genetic polymorphism studies. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2004;5:83-88.

Nishio K, Tanaka D, Atsuta Y, Yamamoto K, Tamakoshi A, Nakamura S, Sekido Y, Niwa T, Hamajima N. Genotype announcement in a genetic polymorphism study for health checkup examinees at Nagoya University Hospital. *Nagoya J Med Sci*. 2004;67:45-49.

Goto Y, Hamajima N, Honda H, Matsuo K, Yamamoto K, Tamakoshi A, Ando T, Goto H. Association between *Helicobacter pylori* seropositivity and NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 (NQO1) C609T polymorphism observed in outpatients and health checkup examinees. *Gastric Cancer*. 2005;8:12-17.

2. 学会発表

山本一仁、小寺良尚、他. 同種末梢血幹細胞ドナーの有害事象に対する危険因子および CD34 細胞回収数に関する予測因子の検討—日本造血細胞移植学会同種末梢血幹細胞ドナーフォローアップ事業中間データより— 第 27 回日本造血細胞移植学会総会. 2004.

Kodera Y, Harada M, Kato S, Shiobara S, Hamajima N, Morishima Y, Tanimoto M, Asano S, Ikeda Y, Dohi H, Nakahata T, Imamura M, Kawa K, Takaue Y, Kanda Y, Yamamoto K, Gratwohl A. Severe adverse events of allogeneic peripheral blood stem cell donors – Results of nation-wide 2,784 prospectively registered case survey and of its comparison to bone marrow donors in Japan. 第 31 回 EBMT 総会. 2005.

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし



膠原病に対する造血幹細胞移植療法のための臨床試験体制の確立と実施  
(膠原病特に強皮症に対する末梢血幹細胞移植に関する検討)

小池 隆夫(北海道大学大学院医学研究科病態内科学講座・第二内科・教授)

研究要旨

既存の治療に抵抗を示す難治性自己免疫疾患、特に全身性硬化症(強皮症)患者を対象として磁気細胞分離システムにより純化した自家末梢血純化 CD34 陽性細胞移植を超大量免疫抑制療法について行うことで、従来の治療法に抵抗性の症例に対する本治療法の有効性ならびに安全性を検討し、本邦におけるその標準的方法を確立することを目的とした。同時に免疫学的な解析を行うことにより難治性自己免疫疾患の病態への本治療法の作用機序を解析した。現在までに全身性強皮症患者 5 例に対して自家末梢血純化 CD34 陽性細胞移植併用超大量免疫抑制療法を施行した。移植 5 例中 4 例において移植後比較的早期より皮膚硬化の改善が認められ、その効果は持続性であった。免疫学的には血清自己抗体価の推移は一定ではなく、これまでのところ末梢血単核球分画と病態変化との関連も認められていない。長期治療成績の報告によると、移植後 3 年の時点で皮膚硬化の悪化傾向が観察されており、引き続き経過観察を行う必要がある。

1. 研究目的

自己免疫疾患は原因不明の慢性炎症性疾患であり、免疫システムの異常が基盤に存在すると考えられている。臨床像および病態は多彩であり、これまでの所、根治的治療法および疾患特異的治療法は確立していない。副腎皮質ステロイド剤や免疫抑制剤による免疫抑制療法が現在の治療の主体であるが、治療に抵抗を示す難治例も少なからず存在し、このような例は生命予後ならびに社会的予後も極めて不良である。こうした難治性症例に対する造血幹細胞移植併用超大量免疫抑制療法の有効性が評価されつつある。しかしその作用機序解明や標準的実施法の確立は未だ途上であり、また本邦における系統的な研究はなされていない。本研究では難治性自己免疫疾患に対する自家末梢血純化 CD34 陽性細胞移植併用超大量免疫抑制療法の有効性、安全性を検討し、また治療過程における免疫学的基礎データを蓄積し、難治性自己免疫疾患への作用機構を解明し臨床試験の実施に資することを目的とした。

2. 研究方法

(1) 対象症例: 副腎皮質ステロイド剤、免疫抑制剤を含む既存の治療法に抵抗性の自己免疫疾患患者、特に全身性強皮症を対象として本治療法を実施した。適応判定に際しては 60 歳以上、高度の心不全、不整脈、腎障害等を有する症例等は除外した。また事前に十分なインフォームドコンセントを行い同意が得られ、かつ当院倫理委員会及び適応判定委員会の承認した症例

を対象とした。

当科で適応となった症例は現在まで 6 例である。いずれも治療開始時点で発症 3 年以内で高度の皮膚硬化を認め、ステロイド、D-ペニシラミンを含む種々の治療歴を有していた。

(2) 治療法: Granulocyte colony stimulating factor (G-CSF) 単独もしくは、Cyclophosphamide (CY)  $2 \text{ g/m}^2 \times 2$  日間投与後 G-CSF 併用で末梢血中へ血液幹細胞を動員、採取し、磁気細胞分離システム(AM9802)を用いて CD34 positive selection を行い純化し、また末梢血純化 back up 用細胞を別に確保し凍結保存した。移植前処置は CY 200 mg/kg を 4 日間投与とし、その後純化凍結保存しておいた自己末梢血 CD34 陽性細胞を輸注した。G-CSF 投与を併用し造血能の回復を促すとともに、化学療法における各種の標準的補助療法を行った。

(3) 免疫学的検討: 治療過程における各種自己抗体価の変動を測定するとともに、末梢血リンパ球サブセットおよびサイトカイン産生能の変化を FACS により解析した。

3. 研究結果

(1) 臨床症状: 平成 14 年までに 3 症例につき移植療法を実施し、また平成 15 年から本年にかけさらに 3 例が本治療法の適応症例となった。化学療法期間中の一過性感染症以外はともに大きな合併症をきたさなかった。皮膚所見については、初期の 4 症例はともに modified Rodnan total thickness skin score (mRodnan

TSS)で25%以上の改善を認め、modified Health Assessment Questionnaire (mHAQ)についても一時的に全身状態の悪化した症例3を除いて著明な改善を認めた。さらに初期3症例については皮膚症状の改善は持続している。症例5は、移植療法に抵抗性であったが、現在までのところ治療反応性に関連する因子は明らかになっていない。呼吸機能、腎機能は移植後一過性に低下し、いずれも移植後約12ヶ月の時点で移植前値に回復した。

(2) 安全性に関する検討:全症例で十分量のCD34陽性細胞が採取され、移植後の造血能回復は速やかであった。移植後、全症例でサイトメガロウイルス抗原血症を認め、ガンシクロビルによる加療を行った。症例2については、移植後に血球貪食症候群の合併を認めた。症例3については、移植後、出血性膀胱炎、心膜炎等の合併症を呈し、長期入院加療を要した。症例6は、末梢血幹細胞採取時にcapillary leak syndromeの合併を認め、検討の結果、移植そのものは見送ることとした。現在はいずれの症例も外来通院中であり、定期的全身精査で重篤な異常を認めていない。

(3) 免疫学的検討:血清学的検査では、ガンマグロブリン値、抗核抗体、抗TOPO-I抗体等は低下例もみられたが、一定の傾向を認めず皮膚病変の改善と関連しなかった。免疫学的にはCD56+、CD19+分画の回復は比較的速やかであったが、CD4+/CD8+比は移植後長期にわたり低値を示した。

#### 4. 考察

これまで、強皮症に対する同療法の治療効果、安全性についていくつかの第I、II相試験の結果が欧米より報告されている。これらのよると、治療反応性はこれまでの報告、当科経験症例と同様に約2/3の症例に認められている。長期的には、移植後3年の時点で、治療効果範囲内ではあるものの皮膚病変の悪化傾向が報告されている。今後、長期経過の報告とともに移植適応症例の層別化が可能か否か、今後の報告が待たれる。造血器疾患に比して高い移植関連死亡については、強皮症においては、放射線照射を含む移植前処置において肺野を遮蔽することで移植関連死亡率の低下が報告されている。また、頻度は少ないものの、末梢血幹細胞採取、移植前処置に用いられるCYによる心毒性と考えられる死亡例も報告されている。原病の合併症として心伝道障害、不整脈を有する症例も少なくなく、慎重な適応が求められるとともに、適応基準の評価が必要と考えられる。

本治療法が自己免疫疾患の病態改善をもたらす機序は当初、超大量免疫抑制療法による免疫システム破壊と再構築と推測されていた。しかし当科強皮症症例における自己抗体価の変動、FACS等を用いた今回の

検討では、病態変化との関連性は認められていない。

現在、適応評価中の症例も含めて当科症例の経過を検討し、移植適応基準、移植プロトコールの再評価が必要である。

#### 5. 結論

自家末梢血純化CD34陽性細胞移植併用超大量免疫抑制療法 of 適応症例6例の内、5症例に同療法を施行した。移植5例中4例で皮膚病変の改善を認め、その効果は持続性であった。この治療反応性の違いについては、これまでのところ特定の傾向は認められていないが、今後症例の蓄積による層別化が必要である。また、適応除外基準、移植方法のさらなる適性化が必要であり、同時に病態の解明と臨床試験を含む検討が望まれる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

#### 1. 論文発表

1. Li,N., Nakamura,K.,Jiang,Y.,Tsurui,H., Matsuoka,S.,Abe,M.,Ohtsuji,M.,Nishimura,H.,Kato,K.,Kawai,T.,Atsumi,T., Koike,T.,Shirai,T.,Ueno,H., Hirose,S. Gain-of-function polymorphism in mouse and human Ltk:implications for the pathogenesis of lupus erythematosus. Hum Mol Genet 13:2 171-179.2004
2. Endo,T.,Nakao,S.,Koizumi,K.,Nishio,M., Fujimoto,K., Sakai,T., Kuwano,K., Obara,M., Koike,T. Successful treatment with rituximab for autoimmune hemolytic anemia concomitant with proliferation of Epstein-Barr virus and monoclonalgammopathy in a post-non myeloblastic stem cell transplant patient. Ann Hematol.83.114-116.2004
3. Yasuda,S., Atsumi,T., Ieko,M., Matsuura,E., Kobayashi,K., Inagaki,J., Kato,H., Tanaka,H., Yamakado,M., Akino,M., Saitou,H., Amasaki,Y.,Jodo,S, Amengual,O., Koike,T.: Nicked  $\beta_2$ -glycoprotein I: a marker of cerebral infarct and a novel role in the negative feedback pathway of extrinsic fibrinolysis. Blood. 103:10. 3766-3772.2004
4. Yamamoto,S., Tsuji,T., Matsuzaki,J., Zhange,Y., Chamoto,K., Kosaka,A., Togashi,Y., Sekikawa,K., Sawada,K., Takeshima,T. Koike,T., Nishimura,T.: Unexpected role of TNF- $\alpha$  in graft versus host reaction (GVHR): donor-derived TNF- $\alpha$  suppresses GVHR via inhibition of IFN- $\gamma$ -dependent donor type-1 immunity. Int Immunol. 16: 811-817. 2004
5. Endo,T., Mogi,Y., Koizumi,K., Nishio,M., Fujimoto,K., Sakai,T., Kumano,K., Obara,M.,

- Ikedo, H., Koike, T.: Peripheral blood stem cell mobilization following plus rituximab therapy combined with G-CSF in patients with B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *Bone Marrow Transpl.* 33:703-707. 2004
6. Yasuda, S., Ogura, N., Horita, T., Yasuda, I., Hioka, T., Kondo, N., Fujisaku, A. Abacterial prostatitis and primary biliary cirrhosis with Sjogren's syndrome. *Mod Rheumatol* 14:70-72. 2004
  7. Das, H., Atsumi, T., Fukushima, Y., Shibuya, H., Ito, K., Yamada, Y., Amasaki, Y., Ichikawa, K., Amengual, O., Koike, T.: Diagnostic value of antiagalactosyl IgG antibodies in rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol* 23:218-222. 2004
  8. Ieko, M., Tarumi, T., Takeda, M., Nito, S., Nakabayashi, T., Koike, T.: Synthetic selective inhibitors of coagulation factor Xa strongly inhibit thrombin generation without affecting initial thrombin forming time necessary for platelet activation in hemostasis. *J Thromb Haemost* 2: 612-622. 2004
  9. Amengual, O., Atsumi, T., Koike, T.: Antiprothrombin antibodies and the diagnosis of antiphospholipid syndrome. *Clin Immunol* 112: 144-149. 2004
  10. Yang, L., Hakoda, M., Iwabuchi, K., Takeda, T., Koike, T., Kamatani, N., Takada, K.: Rheumatoid Factors Induce Signaling from B cells, leading to Epstein-barr virus and B-cell activation. *J Virol* 78:18. 9918- 9923. 2004
  11. Kataoka, H., Koike, T. :Lupus mortality in Japan. *Autoimmun Rev* 3: 421- 422. 2004
  12. Xiao, S., Deshmukh, S. U., Jodo, S., Koike, T., Sharma, R., Furusaki, A., Sung, J. S., Ju, Shyr-Tu.: Novel negative regulator of expression in Fas Ligand(CD178) Cytoplasmic tail: Evidence for Translational Regulation and against Fas Ligand Retention in secretory lysosomes. *J Immunol* 173: 5095- 5102. 2004
  13. Yasuda, S., Atsumi, T., Ieko, M., Koike, T.:  $\beta$ 2-glycoprotein I, anti- $\beta$ 2-glycoprotein I, and fibrinolysis. *Thromb Res* 114: 461- 465. 2004
  14. Atsumi, T., Amengual, O., Yasuda, S., Koike, T.: Antiprothrombin antibodies-are they worth assaying? *Thromb Res* 114: 533-538. 2004
  15. Hashimoto, S., Ogawa, Y., Ishida, T., Mochizuki, T., Koike, T., Sato, H., Ueda, T.: Steroid-sensitive nephrotic syndrome associated with positive C1q immunofluorescence. *Clin Exp Nephrol* 8: 266- 269. 2004
  16. Bohgaki, M., Atsumi, T., Yamashita, Y., Yasuda, S., Sakai, Y., Furusaki, A., Bohgaki, T., Amengual, O., Amasaki, Y., Koike, T.: The p38 mitogen-activated protein kinase(MAPK) pathway mediates induction of the tissue factor gene in monocytes stimulated with human monoclonal anti- $\beta$ 2Glycoprotein I antibodies. *Int Immunol* 16:11. 1633- 1641. 2004
  17. Yasuda S, Atsumi T, Matsuura E, Kaihara K, Yamamoto D, Ichikawa K, Koike T. Significance of valine/leucine<sup>247</sup> polymorphism of  $\beta$ 2-glycoprotein I in antiphospholipid syndrome: increased reactivity of anti- $\beta$ 2-glycoprotein I autoantibodies to the valine<sup>247</sup>  $\beta$ 2-glycoprotein I variant. *Arthritis Rheum* 52:1.212-218. 2004
  18. Sugiura-ogasawara. M., Atsumi, T., Ozaki, Y., Koike, T., Suzumori, K.: Phosphatidylserine-dependent antiprothrombin antibodies are not useful markers for high-risk woman with recurrent miscarriages. *Fertil Steril* 82:51440-1442. 2004
2. 学会発表
    1. Koike, T. : " Antiphospholipid Syndrome" 7<sup>th</sup> International Congress SLE and Related conditions , New York, U.S.A., May 9-13, 2004
    2. Koike, T. : " Antiphospholipid Syndrome, mechanism of thrombus and complication of reproductive system" 11<sup>th</sup> European Congress on Reproductive Immunology, Praha, Czech , June 30-July 3, 2004
    1. Koike, T. : " Antiphospholipid Syndrome, mechanism of thrombus and complication of reproductive system" 11<sup>th</sup> Asia Pacific League Associations for rheumatology Congress, Jeju, Korea , September 11- September 15, 2004
    2. Koike, T. : " Antiprothrombin-is it worth assaying? " 11<sup>th</sup> International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Sydney, Australia, 12-19, November , 2004
    3. Koike, T. : " Pathogenesis of antiprothrombin antibody " 4<sup>th</sup> International Congress on Autoimmunity, Budapest, Hungary, 3-7, November , 2004
  - H. 知的財産権の出願・登録状況(予定も含む)  
特になし

厚生労働科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療研究事業）

分担研究報告書

活性化 CD4 陽性リンパ球による DLI のための臨床試験体制の  
確立と実施に関する研究

分担研究者：伊藤 仁也 先端医療センター再生医療研究部主任研究員

研究要旨

DLI の問題点を解決すべく、固相化 CD3 抗体と IL-2 を用いた活性化した CD4 陽性細胞を造血細胞移植後の白血病の再発および、移植後免疫不全での難治性ウイルス感染症に対し、輸注する臨床研究を計画した。

これまで白血病に対する活性化ドナー CD4 輸注療法を行った症例のうち、脱落例、無効例の解析を行った。その結果、脱落 21 例中 14 例がプロトコル違反であり、そのうちほとんどが、化学療法の併用のため効果判定が不能になった例であった。プロトコル違反の原因を解析すると輸注による効果発現までの期間に白血病細胞の増加が起こり、化学療法を行わざるを得ないことが判明した。また、有効例 10 例中 3 例に DLI 前化学療法を行っているのに対し、無効例では 18 例中 14 例に DLI 前化学療法を行っており、免疫学的検査においても DLI 前化学療法の種類と強度が臨床効果に影響を及ぼすことが、示唆された。この影響を調べるために、ATP アッセイ法を用いた免疫担当細胞に及ぼす各種抗がん剤の細胞障害性を検討した結果、AraC がもつとも免疫担当細胞に与える影響が少ないことがわかった。また移植後の難治性ウイルス感染症に対しては、CMV 感染症で 7/10、Adeno virus 感染症で 4/4 で有効であり、移植後に問題となる難治性ウイルス感染症の新しい治療として、臨床研究プロトコルを作成した。臨床研究に先駆け、このような細胞治療の臨床試験体制を確立するためには、GMP に則った細胞の製造、品質管理体制を整え、管理基準書、標準作業手順書を完成させた。また細胞の品質管理および臨床効果判定のために、高感度網羅的ウイルス検出システムを開発し、特許申請した。

研究協力者

森尾 友宏	東京医科歯科大学総合診療部
清水 則夫	東京医科歯科大学難治疾患研究所ウイルス感染学
加藤 剛二	名古屋第一赤十字病院
関根 暉彬	株式会社リンフォテック
小林 健一郎	先端医療センター再生医療研究部
鹿村 真之	先端医療センター再生医療研究部