

## 強皮症と造血幹細胞移植

北海道大学大学院医学研究科 病態内科学講座（第二内科） 分担研究者 小池 隆夫

〔はじめに〕 膠原病とその類縁疾患は、発症に自己反応性リンパ球、自己抗体の関与が想定されており多彩な症状を呈する原因不明の慢性炎症性疾患である。当施設では、当科血液グループとともに主に強皮症に対する末梢血幹細胞移植療法を施行している。これまで、6例が適応症例となり末梢血幹細胞採取を行い、5例に対して同療法を行っている。この内、最初に施行した3例については3年以上の経過観察が行えている。

〔対象と方法〕 症例は、当院移植適応基準を満たし、判定委員会の承認およびインフォームドコンセントの得られた強皮症6例（女性4名、男性2名、年齢平均42.33±16.48歳、罹病期間平均22.17±9.79年、modified Rodnan total thickness skin score (mRTSS) 平均27.33±8.33 (/51)）。末梢血幹細胞動員/採取は、最初の1例を除いて顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF) + cyclophosphamide (CY) 4g/m<sup>2</sup>で行い、CD34陽性細胞を純化、凍結保存した。移植前処置は、何れの症例もCY 200 mg/kgで行った。1例は、末梢血幹細胞採取時にcapillary leak syndromeを起こし、検討の結果、末梢血幹細胞移植は行っていない。移植症例については、移植前後における臨床症状、血清学的変化を観察するとともに、末梢血単核球について分画および炎症、免疫関連遺伝子発現レベルをフローサイトメトリー、cDNAアレイ法を用いて検討した。

〔結果と考察〕 移植CD34陽性細胞数、純度は、 $5.35 \pm 4.22 \times 10^6 / \text{kg}$ 、 $94.22 \pm 2.63\%$ であり、移植後の造血能回復も速やかであった。合併症は、ウイルス感染症が主なものでありいずれも対処可能であった。治療効果は、5症例中4例でmRTSSの急速な改善が得られ、呼吸機能検査、腎機能検査値も移植後一時的に低下を示した後、移植前値に回復しその後は著変なく推移している。治療反応性はこれまでの報告と同様の結果である。強皮症の長期経過観察の報告では、移植前値の-25%を治療効果ありと判断した場合、3年の経過で治療効果の持続が認められるもののmRTSSは悪化の傾向を示したことが報告されている。この点については、引き続き経過観察が必要である。強皮症においては、移植後死亡率が高いことが報告されているが、その原因として移植前処置の全身放射線照射、頻度は少ないものの心毒性の可能性等が考えられており、症例の蓄積による層別化が望まれる。免疫学的には、当科経験例では自己抗体の推移は一様ではなく、これまでのところ末梢血単核球分画の推移と病態変化との関連は認められていない。現在、CD34純化も含めてプロトコールを再検討中である。

自己末梢血幹細胞移植が有効であった全身性硬化症の一例

岡部起代子 水田秀一 丸山文夫 深谷修作 吉田俊治 江崎幸治  
 藤田保健衛生大学 血液内科/リウマチ血液内科

症例 45歳 女性

主訴:皮膚硬化の進行

現病歴:2003年1月よりレイノー症状が出現、6月には顔面と下肢に浮腫を生じるようになった。10月より近医にて強皮症と診断されプレドニゾロン10mg/日と外用剤を処方されていた。皮膚硬化の範囲が上肢から徐々に体幹にまで広がってきたため、2004年2月当院リウマチ・感染症内科を受診。同年5月に入院。

入院時現症

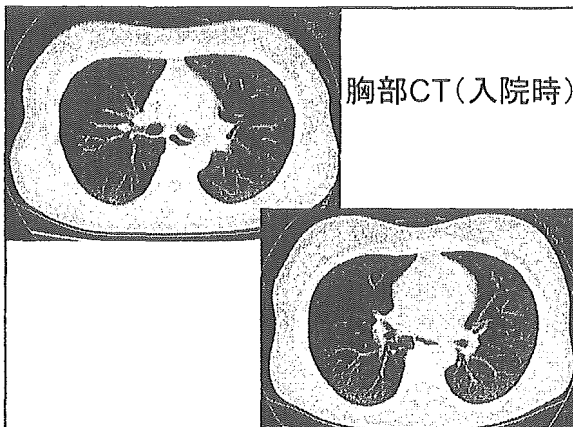
BT 36.8°C、BP 106/62mmHg、PR 88/分  
 皮膚:顔面・両上肢・胸部の浮腫性硬化  
 皮膚潰瘍(-)、mRSS 26点  
 口腔:開口障害(+)、舌小帯短縮(+)、潰瘍(-)  
 胸部:両側下肺野に fine crackle を聴取  
 腹部:異常なし  
 神経学的所見:異常なし

入院時検査所見

末梢血	生化学	血清・免疫
WBC 5900/ $\mu$ l	TP 7.2g/dl	RF 39
Neu 75%	T-B 0.6mg/dl	ANA $\times$ 160
ly 14%	AST 26U/L	抗Scl-70抗体 253.4
Mo 8%	ALT 19U/L	抗RNP抗体(-)
Eo 3%	LDH 341U/L	KL-6 3170 U/ml
RBC 424万/ $\mu$ l	BUN 10mg/dl	肺機能
Hb 13.3g/dl	Cr 0.6mg/dl	%VC 90.0%
Ht 40.4%	CRP 0.5mg/dl	FEV1.0% 95.1%
Plt 29.3万/ $\mu$ l		%DLCO 60.0%
		心機能
		EF 60%

Eligibility Criteria

- $16 \leq \text{Age} \leq 60$
- Systemic sclerosis 3 years or less from the onset.
- Modified Rodnan skin score  $\geq 16$
- Progressive systemic sclerosis within 6 months.
- Interstitial or pulmonary vascular lung disease (FVC or DLCO  $< 70\%$  of predicted)
- Myocardial disease: arrhythmia requiring therapy, cardiomegaly
- Proteinuria or elevation of serum Cr greater than the upper limit of normal



Treatment regimen

Mobilization  
 Cyclophosphamide 2g/m<sup>2</sup> 2 days + G-CSF  
 Cell selection  
 CD34 positive selection  
 Conditioning regimen  
 Cyclophosphamide 60mg/kg 3days

## PBSC Collection and Engraftment

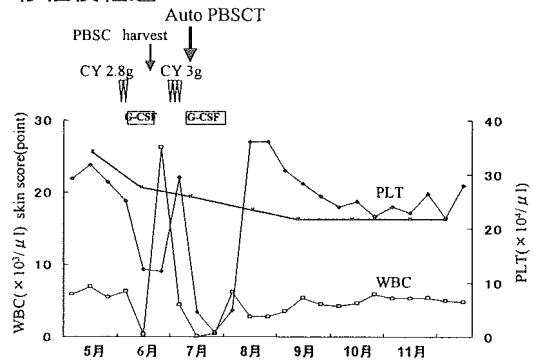
### Mobilization and graft

CD34 positive cells  $2.48 \times 10^6/\text{kg}$   
 Recovery 47%  
 Purity 91.2%

### Engraftment

Days to ANC  $>500/\mu\text{l}$  11  
 Days to PLT  $>50000/\mu\text{l}$  15

## 移植後経過

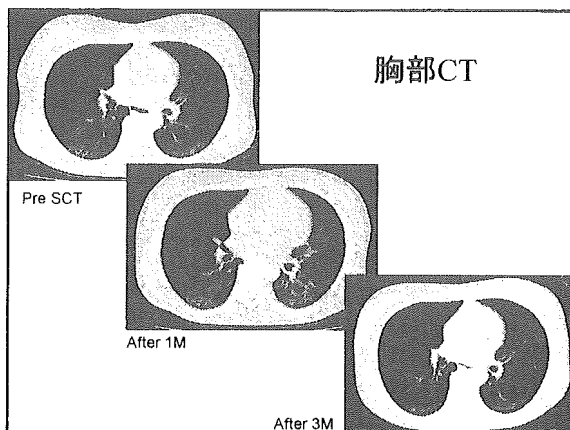


## Regimen-related toxicities

- Mucositis < grade 1 (NCI-CTC)
- Pulmonary toxicity:  
 decreased %VC and %DLCO(at 1 month)
- CMV antigenemia at 15days

## Disease evaluations

	Pre SCT	1M	2M	3M	4M	5M	6M
Skin score(point)	26	20	17	16	16	16	16
ANA(rimes)	160		80	80		40	
Anti-Scl-70Ab	253		213	243	218	227	233
KL-6(U/ml)	3170		1590	1192	1670	1680	1515
FVC(%)	90	75			88		
DLCO(%)	60.9	37.3			54.5		



## まとめ

- 全身性進行性強皮症の患者にCD34 positive selectionを併用した自家末梢血幹細胞移植を安全に施行することができた。
- 移植後1ヶ月後に一時的な肺機能障害を認め、移植前処置に伴うTRTと考えられたが、4ヶ月後には改善した。
- 移植後 Skin Score の改善が認められ6ヶ月経過した現在も効果が維持されている。

# MHC不一致母子間骨髓移植における

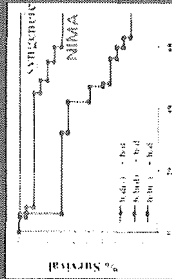
## 対 NIMA / IPA 免疫寛容

～ マウスモデルでの検討 ～

松岡 真由<sup>1)</sup> 一戸 長夫<sup>2)</sup> 豊嶋 崇徳<sup>3)</sup>

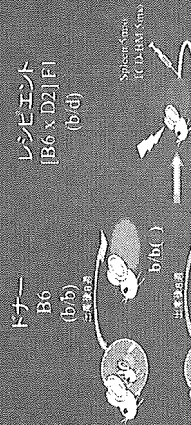
- 1) 岡山大学医学部 血液腫瘍科
- 2) 京都大学医学部 血液腫瘍内科
- 3) 九州大学医学部 遺伝子・細胞治療センター

### 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。  $p < 0.004$

### Ex.2. IPA-exposed donorからの移植



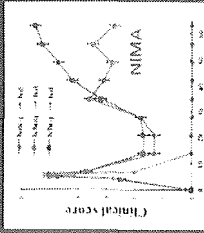
### 背景と目的

#### NIMAおよびIPAへの免疫寛容

- 臨床での腎移植や骨髄移植<sup>1,2,3,4)</sup>の後方性的報告から、NIMA/IPAは拒絶やGVHDの発症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(NIMA/IPA)の移植免疫における寛容性を示した実験は、心移植モデルのみであり、骨髄移植モデルでの検討はなされていません。
- 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。

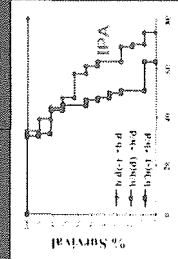
- 1) Abbas AS, Lichtman AS, Saper CB. *Cellular Immunology*. 2004;230:23-47.
- 2) Yamamoto T, et al. *Blood*. 2002;99:1023-1030.
- 3) Shimada K, et al. *Blood*. 2002;99:1031-1038.
- 4) Shimada K, et al. *Blood*. 2002;99:1039-1046.
- 5) Abbas AS. *Journal of Immunology*. 2002;168:2901-2909.

### GVHD重症度



NIMA-exposed donorからの骨髄移植は、B6/30以降で臨床的GVHDの消滅を認める。

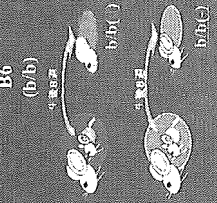
### 生存率



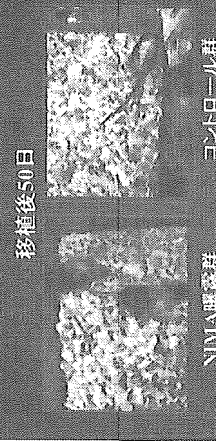
IPA-exposed donorからの骨髄移植は、controlに比較して生存率の有意な延長を認める。NIMAほどの効果は認めない。  $p < 0.005$

### Ex.1: NIMA-exposed donorからの骨髄移植

#### ドナー

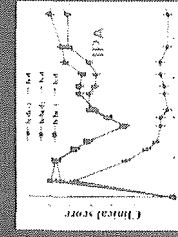


### GVHD重症度

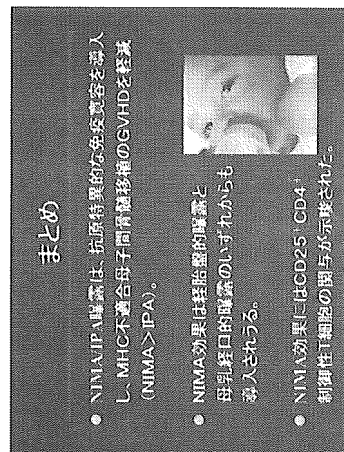
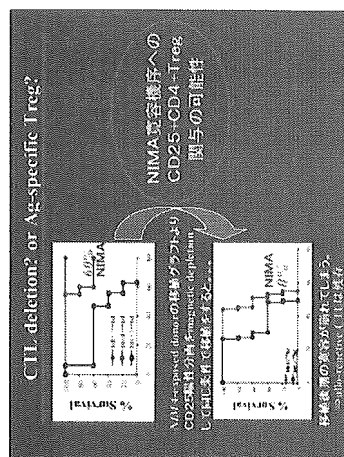
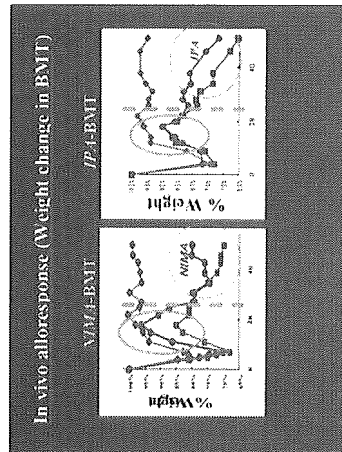
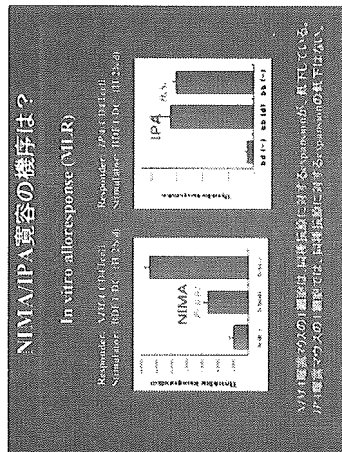
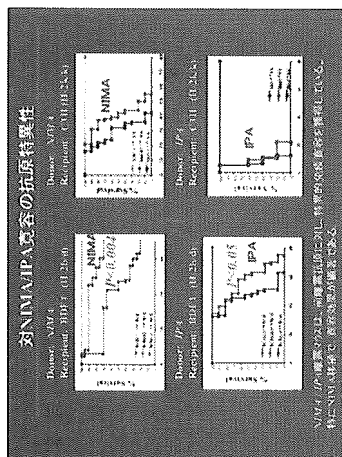
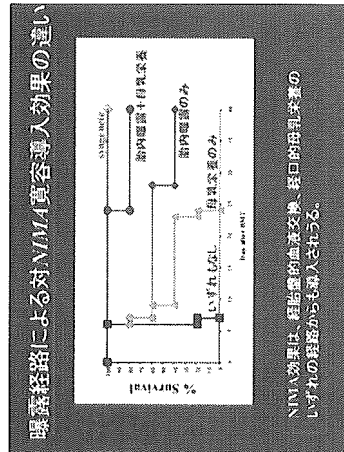
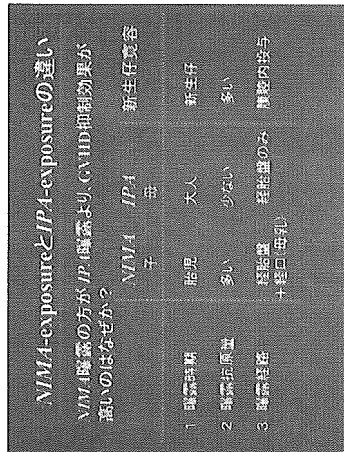
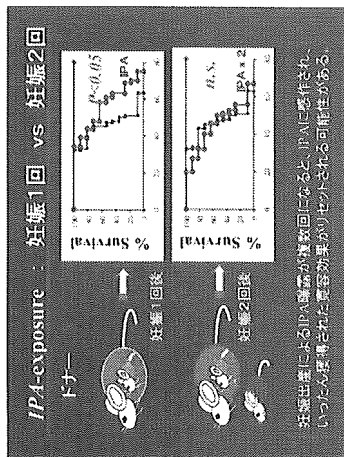


NIMA曝露群 コントロール群

### GVHD重症度



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



# 骨髓内骨髓移植 —サルからヒトへ—

関西医科大学第一病理

同 移植センター

同 再生医学難病治療センター

同 癌治療センター

池原 進

マウス、ラット、ウサギを用いたこれまでの実験結果から、従来の静脈内骨髓移植(IV-BMT)よりも門脈内骨髓移植(PV-BMT)の方が優れていること、また骨髓内骨髓移植(IBM-BMT)の方がPV-BMTよりも、さらに優れていることを、我々は明らかにしてきた。これら小動物を用いた結果に基づいて、ヒトへの応用を視野に入れて、カニクイザルを用いた実験を開始した。まず、従来の骨髓細胞の採取方法を検討し、長管骨を用いた灌流法が末梢血(T細胞)の混入もなく、GvH病も発症しないことを発見した。さらに、最近、腸骨からもT細胞の混入なしに、灌流法ができることを見出した。

次に、このようにして採取した骨髓細胞(造血幹細胞のみならず間葉系幹細胞も含む)を、静脈内へ注入(IV-BMT)するのではなく、骨髓内へ直接注入する、骨髓内骨髓移植法(IBM-BMT)を開始した。IV-BMTでは、大部分の細胞が肺へtrapされるが、IBM-BMTでは、骨髓腔内に注入するため、効率良く造血幹細胞と間葉系幹細胞を増殖させることができ、造血の回復が促進される。5年以上に亘る、カニクイザルを用いた100回以上の実験結果から安全性と有効性が確認できたので、今回、広州(中国)の南方医科大学附属南方病院の小児科の Chunfu Li 教授らのグループと共同で、通常のBMTでは治療できない  $\beta$ -Thalassemia majorの女兒(5才)に対して父親(37才)の骨髓細胞を灌流法で採取し、IBM-BMTを施行したので、その結果について報告する。

## 成人臍帯血移植後における感染症とその管理

- 東大医科研における経験 -

厚生労働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適用・登録と臨床試験体制の確立に関する研究」班

主任研究者: 小寺 良尚  
分担研究者: 浅野 茂隆  
研究協力者: 高橋 聡、友成章、大井淳

平成16年度第二回研究会議 2005年1月29日 @東京

## Infection rates after transplantation

Infection	MUD (n=28)	UCB (n=28)	Rate ratio for MUD/UCB (95% CI)	P-value
Bacterial	0.25	0.54	0.46 (0.3 - 0.7)	0.02
Fungal	0.06	0.08	0.66 (0.2 - 1.6)	0.38
Viral	0.19	0.14	1.33 (0.7 - 2.6)	0.37
CMV	0.09	0.06	1.6 (0.6 - 4.2)	0.33
Total infections	0.49	0.77	0.64 (0.4 - 0.8)	0.06
<b>Infection rates during first 50 d after transplantation</b>				
Bacterial	1.25	3.13	0.44 (0.2 - 0.74)	0.03
Fungal	0.18	0.32	0.56 (0.1 - 3.05)	0.50
Viral	0.54	0.16	3.35 (0.6 - 16.6)	0.13
Total infections	1.97	3.61	0.55 (0.3 - 0.91)	0.02
<b>Infection rates beyond 50 d after transplantation</b>				
Bacterial	0.16	0.2	0.82 (0.4 - 1.5)	0.52
Fungal	0.05	0.06	0.83 (0.2 - 2.7)	0.78
Viral	0.16	0.14	1.14 (0.5 - 2.2)	0.72
Total infections	0.37	0.39	0.94 (0.6 - 1.4)	0.67

Laughlin M.J. et al. *British Journal of Haematology* 124, 488, 2004

## Conditioning Regimen, GVHD Prophylaxis and Supportive Care

### Conditioning Regimen :

- TBI (12Gy on D-8 and -9) + Ara-C (12g/m<sup>2</sup> on D-5 and -4) + CY (120mg/kg on D-3 and -2)
- G-CSF (5μg/kg/d on D-6 and -4) for myeloid malignancies

### GVHD Prophylaxis :

- CsA(3mg/kg/d)+MTX(D1:15mg/m<sup>2</sup>; D3:10mg/m<sup>2</sup>; D6:10mg/m<sup>2</sup>)

### Supportive Care :

- Class100 air-filtered rooms with reverse barrier nursing
- Tnmethopm/sulphamethoxazol 4Tab before transplant and after PMN recovery
- Gut decontamination with OFLX 300mg and FCZ 200mg
- Acyclovir 1000mg until D35
- G-CSF 5μg/kg/d until PMN recovery
- Immunoglobulin infusions if IgG<500mg/dL

## CMV

### Monitoring

- Antigenemia assay twice a week after engraftment

### Preemptive therapy with GCV

- 10 mg/kg/day for 14 days or 5 mg/kg/day for 7 days
- CCr < 50 ml/min: Dose reduction to 60%

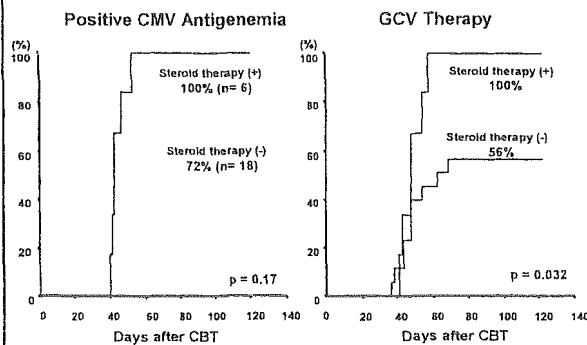
### Criteria for initiation

- Standard-risk:  
≥ 4/300000 cells
- High-risk (II-IV GVHD or steroid therapy) :  
≥ 2/300000 cells

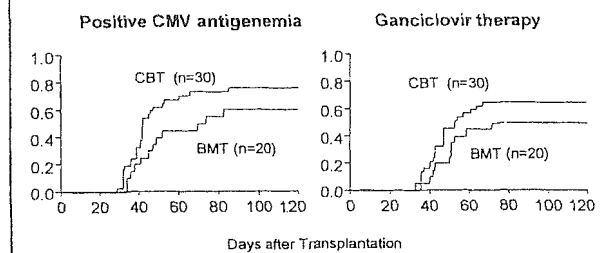
### Criteria for discontinuation

- Consecutive 2 or more negative results
- ANC < 1000/ml

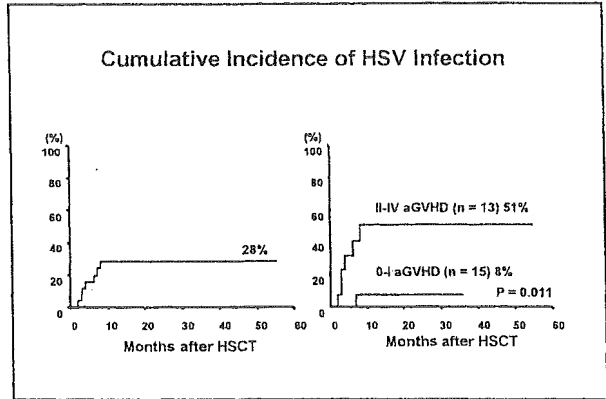
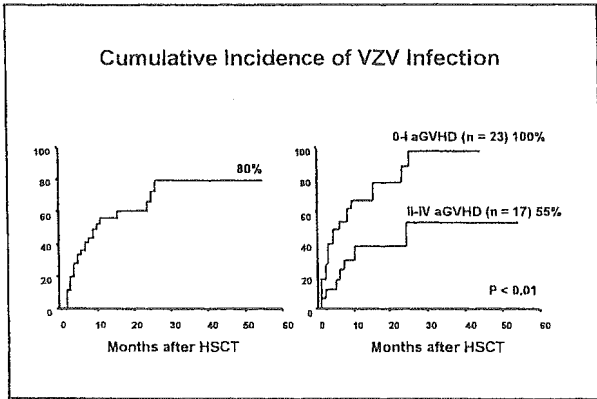
## Cumulative Incidence of CMV Infection after CBT



## Positive Antigenemia Development and Requirement for Anti-CMV Therapy







### HHV-6B

---

**Clinical Features of Infection**

Encephalitis, Pneumonitis, Fever, Skin rash,  
GVHD, Delayed engraftment, Bone marrow suppression

**Previous Results in BMT and PBSCT**

HHV-6B DNA detection in PBMCs by PCR assay:  
Incidence of 30-80%, 2-4 weeks after BMT or PBSCT

**Methods in the Present Study**

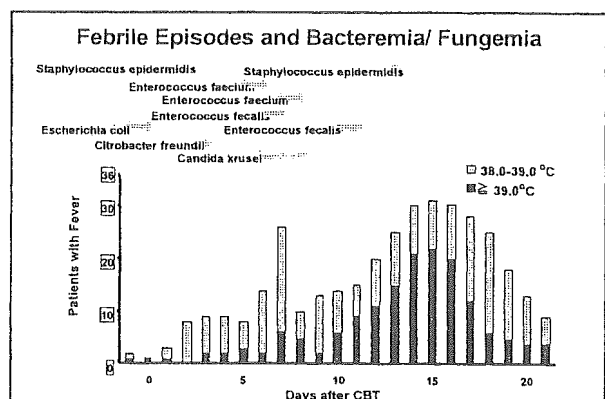
Real-time quantitative PCR assay on serum (< 200 copies/ml)

### HHV-6B DNAemia after CBT and BMT

HHV-6B DNAemia	CBT	BMT	P
Week 1	0%	nd	
Week 2	65%	14%	< 0.001
Week 3	70%	10%	< 0.0001
Week 4	13%	0%	0.13

### Bacteremia and Fungemia

	No. of patients	Day of positive cultures
<b>Bacteremia</b>		
Gram-positive		
Staphylococcus epidermidis	2	D+2 D+13
Enterococcus faecium	2	D+5, +6 D+7, +8
Enterococcus faecalis	2	D+6, +7 D+10, +11
Gram-negative		
Escherichia coli	1	D-1, 0
Citrobacter freundii	1	D+3
<b>Fungemia</b>		
Candida krusei	1	D+6, +7, +8
<b>Total</b>	<b>9 of 36 (25%)</b>	<b>16 of 309 (5%)</b>



厚生労働省科学研究トグノム・再生医療等研究会  
「骨髄などを利用した発育的な造血細胞移植の適用・登録と臨床研究体制の確立に関する研究」第  
小寺 良尚 部長

平成16年度 第2回 研究報告会 (2005/1/28)

### 同種末梢血幹細胞採取における 適正な採取量に関する研究

都立駒込病院 造血細胞移植チーム  
比留岡源、奥山真樹、酒井泰和、山下卓也、坂巻壽

Hematopoietic Cell  
Transplantation Team  
Tokyo Metropolitan Komagome Hospital

### 背景・目的

	移植CD34陽性細胞数	
	多い	少ない
患者	造血回復↑ GVHD↑ 再発↑	造血回復↓ GVHD↓ 再発↑
ドナー	G-CSF↑ 採取回数↑ 血小板減少↑	G-CSF↓ 採取回数↓ 血小板減少↓

◆同種末梢血幹細胞移植における必要最少限度のCD34陽性細胞数を定めることは依然として重要な課題である。  
◆ $2 \times 10^6/\text{kg}$ 以上が本当に必要か？

Hematopoietic Cell  
Transplantation Team  
Tokyo Metropolitan Komagome Hospital

### 同種PBSCTのCD34+細胞数の検討

◆ 対象  
・施設： 神奈川県立がんセンター、静岡赤十字病院、東京都立駒込病院、東海大学附属病院、横浜市立大学附属病院、(関東造血細胞移植共同研究グループ)

・同種PBSCT例 (連続症例)  
移植期間：1997年10月～2004年9月  
総症例数：155例

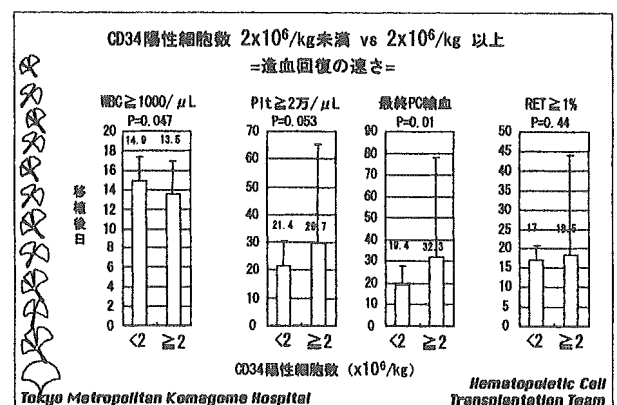
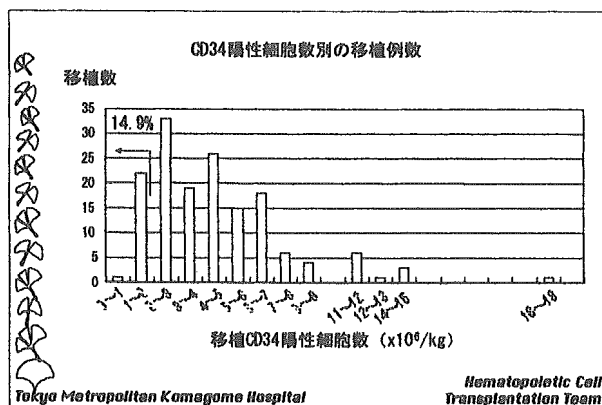
◆ 方法  
同種末梢血幹細胞移植例を後方視的に調査し、主にCD34陽性細胞数と造血回復、GVHDの発症率、およびドナーへの負担度の関係を解析する。その結果、適切に必要な最少限の移植細胞数を考察する。

Hematopoietic Cell  
Transplantation Team  
Tokyo Metropolitan Komagome Hospital

### 患者背景

患者	ドナー	原疾患
男/女 89/66	男/女 78/77	MHL 47 (30.3)
年齢 $38.9 \pm 12.1$	年齢 $38.8 \pm 12.8$	ALL 35 (22.6)
移植前処置		他白血病 1 (0.7)
myeloablative 122 (78.7)		MDS 16 (10.3)
RIST 25 (16.1)		CML 21 (13.5)
ほか 4 (2.6)		MM 7 (4.5)
不明 4 (2.6)		ML 14 (9.0)
		AA 9 (5.8)
		固形腫瘍 2 (1.3)
計 155		他 3 (1.9)

Hematopoietic Cell  
Transplantation Team  
Tokyo Metropolitan Komagome Hospital



CD34陽性細胞数  $2 \times 10^6/\text{kg}$ 未満 vs  $2 \times 10^6/\text{kg}$ 以上  
=GVHD発症率=  
(HLA match, myeloablative)

CD34 ( $\times 10^6/\text{kg}$ )	<2.0	$\geq 2.0$	$\times 2$ 検定 (p)
n	17	86	
aGVHD発症率 (%)			
$\geq \text{GI}$	52.9	67.4	0.26
$\geq \text{GII}$	35.3	37.2	0.88
$\geq \text{GIII}$	11.8	2.3	0.5
n	14	72	
cGVHD発症率 (%)			
Lim+Ext	57.1	51.2	0.60
Ext	42.8	36.1	0.98

Tokyo Metropolitan Komagome Hospital  
Hematopoietic Cell Transplantation Team

採取器械とCD34+細胞採取効率および血小板減少

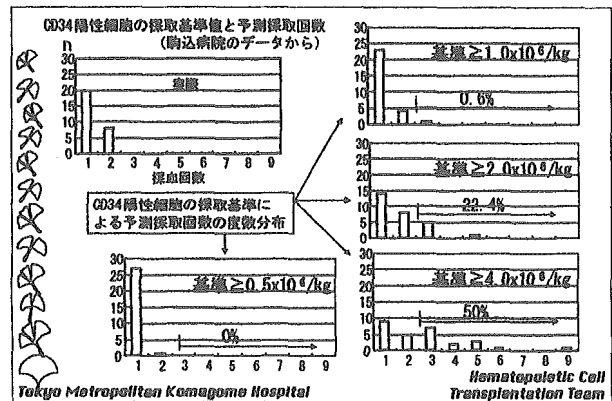
	Spectra Manual	Spectra Auto	Fresenius
n	90	15	50
採取回数	$1.6 \pm 0.7$	$1.7 \pm 0.8$	$2.0 \pm 0.8$
CD34総数	$5.0 \pm 3.0^*$	$3.6 \pm 2.8^*$	$4.0 \pm 2.3$
CD34/Apheresis	$3.8 \pm 3.0$	$3.2 \pm 3.4$	$2.4 \pm 1.7$
Apheresis後血小板	$9.7 \pm 3.8^{**}$	$13.2 \pm 5.1^{**}$	$9.4 \pm 2.6$

Tokyo Metropolitan Komagome Hospital  
Hematopoietic Cell Transplantation Team

採取後のドナー血小板数  
Apheresis回数との関係

apheresis回数	1	2	3	4
n	64	61	25	2
%	41.3	39.4	16.1	1.3
CD34+ ( $\times 10^6/\text{kg}$ )	$5.1 \pm 3.2$	$4.7 \pm 2.4$	$3.2 \pm 2.1$	1.5
apheresis後血小板数 ( $\text{万}/\mu\text{L}$ )	$11.4 \pm 3.2$	$4.8 \pm 2.4$	$8.4 \pm 2.4$	9.7

Tokyo Metropolitan Komagome Hospital  
Hematopoietic Cell Transplantation Team



まとめ

- ◆同種末梢血幹細胞移植において、移植CD34陽性細胞数  $2 \times 10^6/\text{kg}$ 未満と  $2 \times 10^6/\text{kg}$ 以上の場合について、比較検討した。
- ◆  $2 \times 10^6/\text{kg}$ 未満でも、全例生着した。  $2 \times 10^6/\text{kg}$ 未満で WBC  $\geq 1000/\mu\text{L}$ に回復する日数が長かったが、許容範囲と思われた。
- ◆GVHDの発症率に関しては差がなかった。
- ◆CD34陽性細胞数  $2 \times 10^6/\text{kg}$ 以上の採取を目指すことで、ドナーへの負担としては血小板減少が大きな問題である。必要なCD34陽性細胞数を  $2 \times 10^6/\text{kg}$ 未満としドナー負担を軽減することを検討することは今後とも意識あることと考える。

Tokyo Metropolitan Komagome Hospital  
Hematopoietic Cell Transplantation Team

ドナーアフェレーシスの安全性に関する検討 -自家移植と同種移植時の採取比較

札幌北検病院 血液内科 小林直樹、杉田純一、笠井正晴

- ・末梢血幹細胞採取時のドナーの安全性に関して自家・同種移植の採取について比較検討した。
- ・対象は2001年1月から2003年12月までに採取を行った  
 同種移植群(健常人) 29例 29回  
 自家移植群 34例 35回 である。
- ・採取時G-CSFは、400  $\mu\text{g}/\text{m}^2$ または10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ を連日投与した。自家群ではG-CSFを化学療法後のnadirより採取まで投与し2日間の採取を行った。同種群ではG-CSFを5日間投与し、4、5日目に採取した。
- ・幹細胞採取は血球成分分離装置CS3000 plusまたはCobe spectraを用いて行った。

Characteristics of donors			Cytapheresis		
	同種群	自家群		同種群(n=29)	自家群(n=35)
年齢(才)*	41 (18-66)	46 (17-65)	G-CSF投与日数*	5(4-5)	5(3-10)
男性:女性	14:15	25:9	採取日数*	2(1-3)	2(1-3)
疾患	Non Hodgkin's lymphoma	20例	総血液処理量(L)*	20.0	15.0
	Multiple myeloma	6例		(9.0-30.0)	(8.4-27.0)
	Germ cell tumor	4例	血液処理量(ml/kg)*	163.9	154.5
	Hodgkin's lymphoma	3例		(120.2-208.3)	(80.0-250.0)
	PNET	1例			
		*median(range)	採取ルート	肘静脈 27例 ダブルル-メンカテテル 2例	27例 7例

\*median(range)

採取時白血球数

	同種群 (n=29)	自家群 (n=35) (G-CSF+化学療法)	自家群 (n=7) (G-CSF単独)
採取1日目*	40600 (26600-49000)	15100 (2000-50500)	26200 (15700-38300)
採取2日目*	38200 (23100-50200)	23100 (6370-46000)	31000 (12900-47740)

\*median(range)

採取細胞数

	同種 (n=29)	自家群 (n=35) (G-CSF+化学療法)	自家群 (n=7) (G-CSF単独)
単核細胞数* ( $\times 10^8/\text{kg}$ )	6.6 (3.3-13.4)	4.6 (2.1-12.9)	3.4 (2.1-6.0)
CD34陽性細胞数* ( $\times 10^6/\text{kg}$ )	4.0 (2.2-16.9)	6.4 (2.1-31.1)	5.1 (1.0-16.0)

\*median(range)

Adverse effects due to G-CSF administration

Symptom Grade	同種群 (n=29)			自家群 (n=35)		
	1	2	total	1	2	total
Bone pain	46%	4%	50%	48%	0	48%
Fatigue	50%	0	50%	-	-	-
ALP上昇	40%	0	40%	25%	13%	38%
LDH上昇	30%	0	30%	27%	0	27%

Adverse effects due to cytapheresis

Symptom Grade	同種群(n=29)			自家群(n=35)		
	1	2	total	1	2	total
Paresthesia	32%	0	32%	34%	0	34%
VVR	0	0	0	0	0	0

同種群のThrombocytopenia

Grade	1	2	3	4
採取前	0	0	0	0
1回採取後	3%	3%	0	0
2回採取後	28%	24%	4%	0

※自家群の血小板輸血施行例 16例(46%)  
中央値40単位(10-75)

まとめ

1. G-CSF投与に伴う随伴症状

同種群では採取時の白血球数が高値であったが、骨痛の頻度は自家群と同等であった。痛みはGrade 1-2で採取後は軽快し重症例は認めなかった。ALP、LDHの異常値の頻度も同等であった。

2. 幹細胞採取に伴う随伴症状

同種・自家群とも採取時、Ca製剤の予防投与を行いクエン酸中毒予防を図っているが、しびれ感の出現は30-40%に認めており今後工夫が必要と考えられる。VVRの発症は両者とも認めなかった。

3. 幹細胞採取による血小板減少

同種群の約3割に血小板減少を認めたが、自家例と異なり採取の前後で血小板輸血を必要とする例は認めず安全に施行できた。

ゲノムワイドな  
マイナー組織適合抗原の探索

東海大学医学部  
分子生命科学  
菊地智樹 成瀬紗子 猪子英世

マイナー組織適合抗原  
(minor histocompatibility antigens, mHa)

- HLA一致同種間の造血幹細胞移植においてもGVHD (graft versus host disease) が発症しうる。
- その背景としてHLA以外にも免疫応答に関与する抗原があると考えられ、それらをマイナー組織適合抗原 (mHa) という。
- 現在までにマイナー抗原の多くは、donorとrecipientの間のsingle nucleotide polymorphism (SNP) に由来することが明らかにされ、造血幹細胞移植および悪性腫瘍に対する免疫療法での役割が注目されている。

新たなマイナー抗原探索のアプローチ

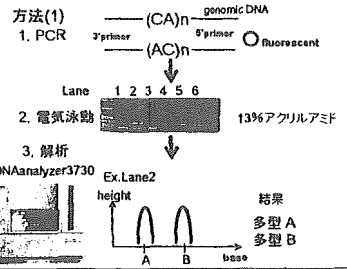
- 現在までに報告されている約10種類のヒトマイナー抗原の同定には、すべてマイナー抗原を認識するCTLを樹立する方法がとられていた。
- 今回マイナー抗原新規同定への新たなアプローチは、「マイクロサテライトマーカーを用いたマッピング」を応用し新規マイナー抗原を探索しようとするものである。

マイクロサテライト多型

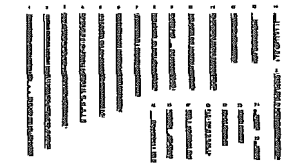
- 2~7塩基を単位とするDNAの繰り返し配列
- SNPよりも豊富な多型が認められる (多いものでは10種類以上)
- 高いヘテロ接合性

Ex. AAGTCACACACAGTTG (CA)4  
AAGTCACACACACAGTTG (CA)6  
AAGTCACACACACACAGTTG (CA)7

マッピングに適した良好な遺伝マーカーである

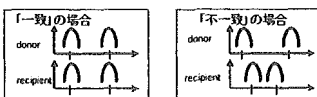


猪子研究室で収集した  
マイクロサテライトマーカー



全染色体上の約27,000個のマーカー情報を収集

方法(2)

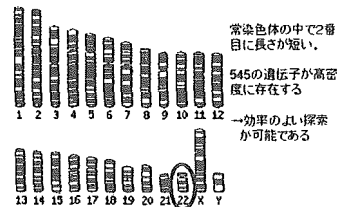


各検索領域の100~200kbごとにマーカーを設定し、donorとrecipientがおなじマイクロサテライト多型を示した組み合わせを「一致」、異なる多型を示した組み合わせを「不一致」と定義し、多型の差異とGVHDgradeとを比較し統計的に解析を行う。

今回のマイナー抗原探索領域

- 効率性からヒト22番染色体 長腕
- 免疫担当分子から chemokine cluster region (1)17q11-21 (2)4q21
- MHCクラスI-関連分子  
Chr 6p21.3: MICA, B, NFE Chr 6q25: RAET1E, G, H, I, IL, IN  
Chr 7q22.1: AZGP1 Chr 1q21-25: CD1A, B, C, D, E, MRF1  
Chr 19q13.3: FCGR2 Chr 20q11.2: EPC

ヒト22番染色体

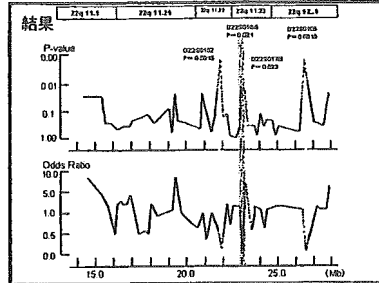


### 対象

・ JMDPが管理しているHLA-A,B,C,DR,DO locusが一致した同種造血幹細胞移植症例50例

・ 対象疾患  
急性骨髄性白血病症例 20 pairs  
急性リンパ性白血病症例 10 pairs  
慢性骨髄性白血病症例 20 pairs

GVHD 頻度別  
grade 0 25例  
grade III+IV 25例(III 17例+IV 8例)



### 考察

・ GVHD発症例(gradeIII+IV群)に「不一致」が多いマーカー D22S0176i  
→マーカー近傍にマイナー候補遺伝子の存在が示唆される

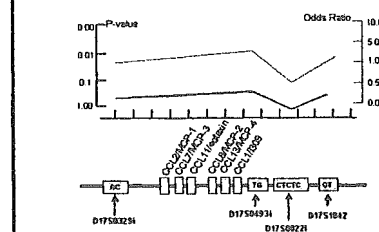
GVHD未発症例(grade0)に「不一致」が多いマーカー D22S0152, D22S0184i, D22S0105  
→今後の検討が必要

### ケモカイン

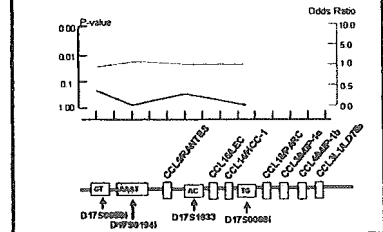
- ・ サイトカインの一種
- ・ 白血球遊走性 chemotactic activityを有する。
- ・ 機能分類
  - 1.炎症性ケモカイン  
局所炎症の調節  
標的細胞-好中球 単球 好酸球
  - 2.免疫ケモカイン  
リンパ球分化(胸腺等)  
リンパ組織構築

GVHDに関連性が指摘されている

### chr17q 11.2 chemokine cluster region



### chr17q12 chemokine cluster region



厚生労働科学研究ヒトゲノム、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」班  
平成16年度第二回研究会議 平成17年1月28日

## NK受容体適合性と 非血縁者間骨髄移植成績

東京都赤十字血液センター  
屋部登志雄、平安恒幸、柏瀬貢一

愛知県がんセンター 血液、細胞治療部  
森島泰雄

### 今年度の解析

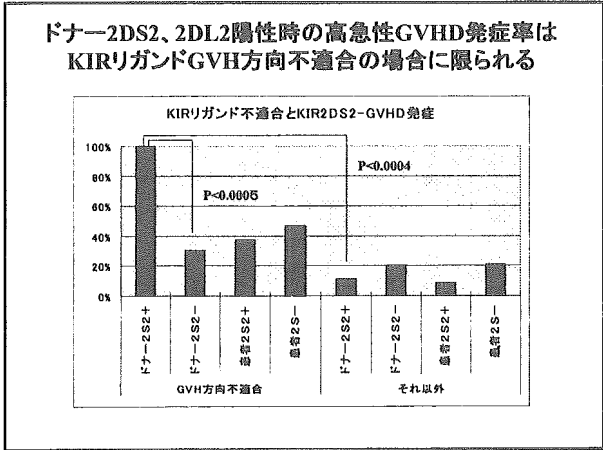
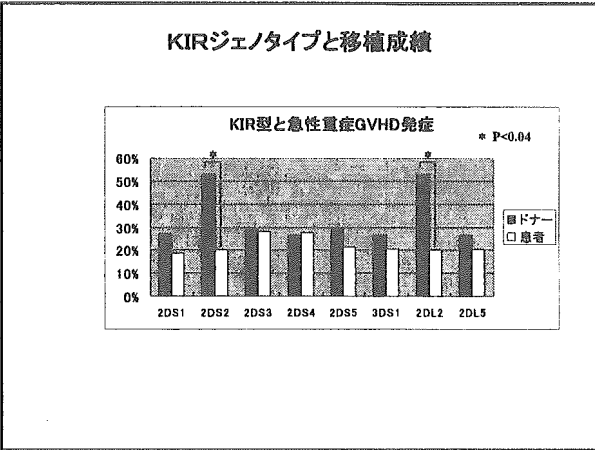
1、KIRジェノタイプ解析数を増やし移植成績との関連を調べる  
HLA-C抗原KIRリガンド型不一致および一致の計約200ペア  
についてKIR型16種類をPCR-SSP法で決定し移植成績との  
関連を統計解析中

2、LILR受容体ジェノタイプ解析  
マウスにおいてGVHD発症と関連が示されたPIRのヒトのホモログ  
のLILRファミリーと移植成績の関連

LILRA3多型について約500ペアを解析中

### 患者、ドナーのKIRジェノタイプ解析

KIR型	型	リガンド特異性	患者	ドナー
2DL1	抑制	HLA-C G1(C2)	100%	100%
2DL2		HLA-C G2(C1)	15%	13%
2DL3		HLA-C G2(C1)	100%	100%
2DL4		HLA-G	100%	100%
2DL5		未定	37%	38%
3DL1	抑制	HLA-Bw4	93%	93%
3DL2		HLA-A3,A11	100%	100%
3DL3		未定	100%	100%
2DS1	活性化	HLA-C G1(C2)	38%	37%
2DS2		HLA-C G2(C1)	15%	13%
2DS3		未定	13%	13%
2DS4		未定	88%	88%
2DS5		未定	28%	32%
3DS1	未定	37%	38%	
2DP1	偽		100%	100%
3DP1			100%	100%



### まとめ

患者、ドナーのKIRジェノタイプと移植成績との相関を解析した

ドナーがKIR2DS2(2DL2)陽性の時に急性重症GVHD発症率が高い

KIRリガンドがGVH方向不適合時のみに観察されることから抑制型KIRが不在時に活性化型2DS2がリガンドを認識すると反応が起きるモデルが考えられる

KIRリガンド適合性のみならずKIRジェノタイプとリガンドとの適合性も移植成績に影響することが示された

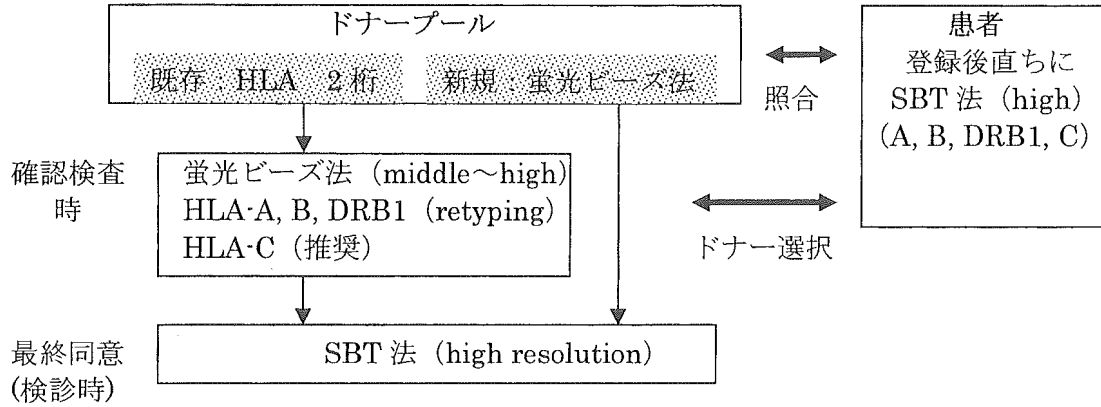
海外データとの相違は移植レジムの差異や受容体、リガンド多型性が集団間で異なることが原因と考えられる



厚生労働科学研究ヒトゲノム・再生医療等研究事業「平成16年度第2回小寺班会議」資料  
12. 非血縁者間骨髄移植における HLA 適合度に基づいたドナー選択のあり方

森島泰雄 山本 健 笹月健彦 組織適合性部会

1. JMDP における HLA 検査とコーディネート (案)



2. HLA 適合度に基づくドナー選択順位とその成績 (JMDP)

順位	A	B	C	DR B1	n	3年生存	6年生存	P	A-GVHD (grade3,4)	P
1	○	○	○	○	1128	58%	52%	-	13%	-
2	○	○	○	×	219	55	53	0.745	14	0.536
3	○	○	×	○	371	54	45	0.052	20	0.001
4	○	○	×	×	172	49	48	0.011	28	<0.0001
5a	×	○	○	○	155	42	36	<0.0001	22	0.001
5b	○	×	○	○	22	34	-	0.013	28	<0.0001
6a	○	×	×	○	84	37	37	<0.0001	31	<0.0001
6b	×	○	×	○	100	31	30	<0.0001	31	<0.0001
6c	×	○	○	×	30	35	28	0.003	15	0.697
6d	○	×	○	×	19	26	20	0.001	28	0.046
6e	×	×	○	○	7	ne	ne		ne	
7a	○	×	×	×	28	42	18	0.009	38	0.0002
7b	×	○	×	×	47	31	31	<0.0001	35	<0.0001
7c	×	×	○	×	6	ne	ne		ne	
7d	×	×	×	○	34	30	27	0.0004	41	<0.0001
8	×	×	×	×	19	24	16	<0.0001	28	0.029

○ HLA 遺伝子型適合 × HLA 遺伝子型 1 型不適合 A, B, DRB1 : 血清型適合  
HLA-A, B, C, DRB1 遺伝子型が同定できた全症例 ne : 症例数が 9 例以下のため解析せず。

### 3. HLA-C 不適合移植における NK 細胞受容体(KIR:NKG2L)適合の臨床的意義

順位	A	B	C	DR B1	KIR	n	3年生存	6年生存	P	A-GVHD (grade3,4)	P
HLA-C 単独不適合											
3a	○	○	×	○	○	324	56%	47%	-	18%	-
3b	○	○	×	○	×	52	40	20	0.016	34	0.008
HLA-C + DRB1 不適合											
4a	○	○	×	×	○	147	53	53	-	25	-
4b	○	○	×	×	×	29	34	28	0.012	41	0.085

KIR 不適合 : GVHD 方向

NK 細胞受容体 (KIR 2 DL) と HLA-C 抗原とのリガンド適合度とは、

NK 細胞受容体の一つである KIR 2 DL の KIR 2 DL 2 と KIR 2 DL 3 は HLA-C のアミノ酸配列 Ser77, Asp80 (Group1 エピトープ) と結合して NK 細胞の活性化を抑制している。

KIR 2 DL1 は HLA-C の配列 Asp77, Lys80 (Group2 エピトープ) と結合して NK 細胞の活性化を抑制している。HLA-C 抗原は以下に示すように Group1 か Group2 のどちらかのエピトープを有する。

造血細胞移植ではドナー由来の造血細胞に置き換わるため、HLA-C 不適合移植においては、以下に示すように患者 (あるいはドナー) の KIR 2 DL と結合する HLA-C のエピトープが存在しない場合があり、このため患者 (あるいはドナー) の KIR 陽性細胞が活性化され、GVHD (あるいは拒絶) が生じる可能性がある。KIR の GVHD 方向 (拒絶方向) の不適合は通常のリンパ球による HLA 不適合とは逆方向になることに注意。

HLA-C エピトープ	HLA 型	
Group 1 (G1) (Ser77, Asp80)	血清型	Cw2, Cw4, Cw5, Cw6
	遺伝子型	Cw*0401, Cw*0501, Cw*0602, Cw*1502
Group 2 (G2) (Asp77, Lys80)	血清型	Cw1, Cw3, Cw7, Cw8
	遺伝子型	Cw*0102, Cw*0302, Cw*0303, Cw*0304, Cw*0702, Cw*0704, Cw*0801, Cw*0803, Cw*1202, Cw*1402, Cw*1403

JMDP での頻度 G1 7.3% G2 92.7%

適合度	患者		ドナー		JMDP での頻度
GVHD 方向の不適合	G2	G2	G1	G2	4.6%
	G1	G1	G1	G2	
拒絶方向の不適合	G1	G2	G2	G2	5.8%
	G1	G2	G1	G1	
両方向の不適合	G1	G1	G2	G2	0.5%
	G2	G2	G1	G1	
適合	G1	G2	G1	G2	89.2%
	G2	G2	G2	G2	
	G1	G1	G1	G1	

## V. (財) ヒューマンサイエンス振興財団

「平成16年度ヒトゲノム・再生医療等研究推進事業」に  
基づく研究班事業報告並びに研究実績報告書

(様式 9)

[外国人研究者招へい事業]  
(ヒトゲノム・再生医療等研究推進事業)

## 研究実績報告書

1. 招へいされた外国人研究者

所属・職名： フレッドハッチンソン癌研究所、ワシントン大学、助教授  
Assistant Professor, Fred Hutchinson CRC, University of  
Washington

氏 名： イーダス ウォーレン 博士  
Edus H. Warren III, M.D.

2. 招へい申請者

所属・職名： 名古屋第一赤十字病院骨髄移植センター長  
氏 名： 小寺良尚

3. 受け入れ研究者

所属・職名： 愛知県がんセンター研究所腫瘍免疫学部・室長  
氏 名： 赤塚美樹

4. 招へい期間： 平成 16 年 10 月 5 日より平成 16 年 10 月 14 日 (10 日間)

5. 研究課題： 再発造血器腫瘍に対するマイナー抗原を標的とした養子免疫療法の確立

6. 研究活動の概要

10月6日、金沢大学第三内科において講演会を行った。(参加者 20名)

- ① 再発白血病に対する養子免疫療法について
- ② 腎癌に対する移植後に出現するマイナー抗原特異的細胞傷害性T細胞について

10月7日、愛知県がんセンターにて講演会を行った。(参加者 40名)

- ① タンパク質のスプライシングによって形成される新規マイナー抗原
- ② 再発白血病に対する養子免疫療法について