

臍帯血を用いた造血細胞移植の確立に関する研究

(分担)研究者 原 宏 兵庫医科大学 内科学 血液・腫瘍科教授

(2004年度)分担研究報告書

研究要旨: 臍帯血移植には移植後早期に重篤な感染症を合併するリスクがあるこのリスクを回避するために、(1)-1 臍帯血のToll-like receptorの解析を行い、引き続き臍帯血の免疫能の特異性を検討した。(1)-2、現在の造血幹細胞移植の安全性を高め、その有効性を保持するために、移植後のGVLを残しながら、急性GVHD(aGVHD)を予防する手技の基礎的検討を行った。(2)更に、成人での臍帯血移植の安全性を高めるために、複数臍帯血同時移植の安全性を確認するために、第1相試験を計画実行した。(3)、現在、臍帯血はHLA A およびB 抗原の血清型およびDRの遺伝子型にて当初は5抗原以上一致する提供者および患者の間で行う予定であったが成人では保存臍帯血が充分ない状況であり、4抗原以上一致の間で行われている。そこでこのような状況で5抗原以上一致移植と4抗原以上一致の両者の間で差があるのか、否かを検討した。

A、研究目的

最近、骨髄移植よりも提供者の負担の少なく、治療効果も劣らない臍帯血移植療法の確立を目指して造血細胞移植の伴うGVHDの克服、HLAの枠を超える移植の現実および複数同時臍帯血移植の副作用の確認、等を目的として本研究を実施した。

B、研究方法

(1)-1 臍帯血 CD34(+)細胞の Toll-like receptor (TLR)に関する検討

臍帯血移植後にはしばしば各種の重篤な感染症を合併し、死因となることも稀ではない。そこで、細菌・ウイルスのレセプターであるTLRの発現について検討した。臍帯血のCD14陽性細胞はTLR1、2、4、5、6、8を発現していた。移植の状況を考え、臍帯血よりauto-MACSを用いてCD34(+)細

胞を分離しTLRの発現をTLR1~10の mRNA の発現を検討した。

(1)-2、GVHDの克服とGVLによる効果についての検討

既に、ヒトHGFの遺伝子治療について、動脈硬化性血流障害およびBurger病における 治験が開始されているが同じ遺伝子を用いて、BDF1 マウスにおける効果を検討した。即ち、GVHDマウスにおいて、骨髄細胞と脾細胞を移植した、さらに、ヒトHGF遺伝子を含むリポソームをマウス筋肉内に投与し、その後の生存率および腸管上皮の状況を観察した。更に、マウスの mastocytoma 由来 P-815 細胞を移植し、その生存率を検討するとともに、recipientのT細胞のP-815に対するCTL活性を検討した。

(2)、複数同時臍帯血移植について

兵庫医科大学血液・腫瘍科において実施し

た複数同時臍帯血移植例6例について、臨床成績を検討した。適応症例はHLA一致血縁ドナーおよびHLA一致非血縁骨髄ドナーを見出せず、さらに、HLA4/6以上適合の 3×10^7 /kgの細胞数を含む単一臍帯血を見出せない患者とした。移植前処置は、骨髄系腫瘍には、TBI(全身放射線照射) 12Gy(4~6分割)、シクロfosファミド(CY)60mg/kg/日×2日間、サイトシンアラビノシド(araC)3gr/m²/日×2日間、G-CSF 5μg/kg/日×2日間、リンパ系腫瘍には、TBI12Gy(4~6分割)、シクロfosファミド(CY)60mg/kg/日×2日間とした。AGVHDの予防法としてsMTX(短期メソトレキセート)及びシクロスポリン(CSA)3mg/kg/日を採用した。

(3)、HLAと臍帯血移植成績について

NPO法人兵庫さい帯血バンクが提供した症例の移植後報告が得られた117例のHLA適合度と移植後の臨床経過の関連を検討した。即ち、重症 aGVHD、再発、TRM(治療関連死亡)、EFS(無イベント生存率等について、Kaplan-Meier法、Cox ハザード法を用いて検討した。

(倫理面への配慮)

(1) 実験動物への配慮

動物実験においては、実験方法から動物死体の処理に至るまで十分に手技等を記載し、兵庫医科大学動物実験委員会において、審議の上、承認を得た方法で動物実験を行った。猶、本学においては毎年実験動物慰霊祭を催して、その霊の感謝の意を表している。

(2) 研究用臍帯血への配慮

移植用に提供された臍帯血の中で有核細胞数の不足で移植用臍帯血に基準を満足しなかった臍帯血をNPO法人標語さい帯血バンクより提供を受けた。提供に際して、当初はバンクにおいて、連結可能匿名化して提供を受け、感染症検査を終了後、感染性病原の無いことを確認した後

はバンクにおいて連結不可能匿名化している。従って、本学において連結することは無く、提供者のプライバシーは保護されている。

(3)、複数臍帯血移植について:複数臍帯血同時移植における移植後早期の副作用およびリスクを確認する目的で実施施設を限定して(大阪成人病センター、東海大学、東京大学医科学研究所、兵庫医科大学)、計10症例に行われる治療法であり、臨床成績は不明であることの説明文書およびプロトコルを作成した。日本造血細胞移植学会における承認後、日本臍帯血バンクネットワークの協力を得て、複数臍帯血同時移植の第1相研究を実施した。猶、複数臍帯血同時移植の最終2症例は同時登録と判定され、計11症例に実施された。

(4)HLA適合度と移植成績について:臍帯血移植については日本臍帯血バンクネットワークの基準に則った移植同意書およびその後の経過報告を頂く同意書を得られた患者にNPO法人兵庫さい帯血バンクより臍帯血が提供・移植された。その後、移植施設より提供された臨床成績を解析した。

C. 研究成果

(1)-1、臍帯血 CD34(+)細胞の Toll-like receptor (TLR)に関する検討

臍帯血のCD14(+)細胞はTLR1, 2, 5, 6, 8等のmRNAを発現しフローサイトメトリーでもTLR1, 2, 4の発現を認めた。しかし、CD34(+)細胞のTLRのmRNAの発現は非常に弱く、細胞表面においてもその発現は僅かであった。

(1)-2、GVHDの克服とGVLによる効果についての検討

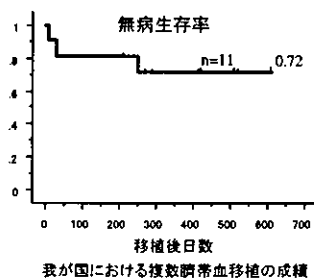
aGVHDマウスは移植後60日ではほぼ80%のマウスが aGVHDにより死亡した。これに対してヒHGF遺伝子治療を実施したマウスは移植80日後においても100%生存していた。腸管の組織学的

検討においてもヒトHGF遺伝子治療マウスでは aGVHD による変化は殆ど認められなかった。また骨髄移植と同時に、P-815 細胞を投与すると投与20日後には全例腫瘍死したが aGVHDマウスでは60日後でも20%のマウスが生存していた。これは、aGVHD がGVL効果のあることを示していた。一方、P-815 細胞を投与、aGVHD マウスにヒトHGF遺伝子治療マウスは全例移植80日後にも生存していた。また、P-815 細胞に対するCTL効果も *in vitro* において確認できた。

(2) 複数臍帯血同時移植について

複数同時臍帯血輸注による重篤な副作用は認めなかった。28日以内の早期死亡2例を除く、全例に持続性生着を認めた。重症の aGVHD は9例中の1例に認めた(Ⅲ度)。現在の所1年生存率は72%と良好な成績が得られた。

図1



(3)、HLA適合度と移植成績について

HLA 不一致度と aGVHD, TRM、再発、EFSの関連について検討した結果、多変量解析ではHLA両者の間に有意の関連を認めなかった。しかし、単変量解析ではEFSに有意な影響を認め、GVHD方向よりもHVG方向の不一致が関連していた。

D、考察

成人の臍帯血移植には感染症の発症リスクが高いことが分かっている。これら感染症における臍帯血TLRの関与については今後の研究を進めねばならない。マウスにおけるヒトHGF遺伝子治

療を施すことにより、aGVHD の発症を予防し、GVL効果を残して悪性腫瘍細胞を排除できる成績が得られた。これらの成果は recombinantHGFを用いて確認する必要があるがヒトにおいても同様の成果が期待される。

複数臍帯血同時移植の第1相試験では米同等の成績と同じく、移植後早期の副作用は認められず、早期の安全性は確認された。移植後の臨床成績は成人単一臍帯血移植に比して生着率/生存率共に劣ることはなかった。しかし、明らかな早期の造血回復は認めなかった。今後、更に移植施設および症例を増やして検討する必要がある。

臍帯血のHLA不一致度と移植後の臨床成績の検討では、多変量解析では有意差を認めなかった。単変量解析ではHVG方向の不一致があれば、EFSにおいてその成績が有意に劣る成績が得られた。

F、結論

今猶、臍帯血移植を危険視する原因の一つに移植後早期の重篤な感染症の合併がある。この合併症は第一に、臍帯血特有の性質である、病原体に暴露されたことのない細胞である、第2に造血の回復遅延がある。この両面から検討を加えるために、臍帯血特有の事情の有無をTLRの面から検討すると共に、免疫能を aGVHD によって低下しないようにとGVK効果を残しながら aGVHD を克服する方法の有無をヒトHGF投与による効果を検討した。その結果、マウスの実験ではヒトHGFにそのような効果のあることが確認された。また、造血の早期回復を求めて、複数臍帯血同時移植の臨床成績を検討する前段階として、子の移植に伴う早期副作用を検討したがそのようなリスクの無いことが判明した。一方、症例数は少ないながらも単一臍帯血移植に比して良好なEFSが得られた。従って、移植施設数、症例数を増やして、

その効果を検討する必要がある。HLAの不一致度と臨床成績の検討では、単変量解析ではHVG方向の不一致があれば、EFSにおいてその成績が有意に劣る成績が得られた。従って、現時点では、十分な細胞数を有する臍帯血が複数あればHLAのHVG方向の少ない臍帯血を選択するのが望ましい。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

原著

- (1), 陳明修、藤盛好啓、大倉伸彦、甲斐俊朗、原宏:ヒト間葉系細胞との共培養によるヒト臍帯血由来巨核球系前駆細胞の体外増幅。兵医大医学会誌。29:29-38. 2004.
- (2) Imado T, Iwasaki T, Kuroiwa T, Sano H, Hara H : Effect of FK506 on donor T-cell functions that are responsible for graft-versus-host disease and graft-versus-leukemia effect. Transplantation, 77: 391-398, 2004.
- (3), Itoi H, Fujimori Y, Tsutsui H, Matsui K, Hada T, Kakishita E, Okamura H, Hara H, Nakanishi K. : Differential upregulation of interleukin-18 receptor α chain between CD4+ and CD8+ T cells during acute graft-versus-host disease in mice. J Interferon & Cytokine Research, 24: 291-296, 2004.
- (4), Imado T, Iwasai T, Kataoka Y, Kuroiwa T, Hara H, Fujimoto J, Sano H, : Hepatocyte growth factor

preserves graft-versus-leukemia effect and T-cell reconstitution after marrow transplantation. Blood, 104(5): 1542-1549, 2004.

- (5), Imoto S, Murayama T, Nagai K, Hirabayashi N, Misawa M, Kawasaki K, Mizuno I, Koizumi T, Kajimoto K, Takahashi T, Hara H, Kumagai S, Saigo K. : Usefulness sequential automatic analysis of fragmented red blood cells for the differential diagnosis of thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome following allogeneic hematopoietic cell transplantation. Laboratory Hematology, 11: 1-6, 2005.

- (6) Yamaguchi N, Fujimori Y, Fujibayashi Y, Kasumoto I, Okamura K, Hara H : Interferon-gamma produced by human cord blood monocyte-derived dendritic cells. Annals of Hematology. (in press)

総説

- (1)三澤真人:移植前にメシル酸イマチニブを投与し臍帯血移植を施行した慢性骨髄性白血病症例、慢性骨髄性白血病治療症例集、医薬ジャーナル社、2004年。
- (2)甲斐俊朗:成人のための臍帯血バンク-成人の臍帯血移植の試み、血液成分治療、細胞療法の夜明けから臨床医療への応用、廣田豊、原宏編、P108~126、医薬ジャーナル社、2004.
- (3)甲斐俊朗:成人のための臍帯血バンク-成人の臍帯血移植の試み、分担執筆 p108-115、血液成分治療、細胞療法の夜明けから臨床医療への応用(廣田豊、原宏編)、医薬ジャー

ナル社、大阪、2004.10.25.

(4) 斐俊朗: 非血縁者間の臍帯血移植、日本医事新報、No.4167, p105, 2004.

学会発表

1) シンポジウム等]

(1) 池本純子, 前田和宏, 国分寺 晃, 村田理恵, 松下恵子, 郡谷哲男, 甲斐俊朗, 三澤真人, 原 宏 : 7-AAD を用いた CD34 陽性造血前駆細胞測定方法の検討. (シンポジウム) 第 48 回日本輸血学会近畿支部総会, 11.13, 京都. (第 48 回日本輸血学会近畿支部総会プログラム・抄録集, 29, 2004.)

(2) 三澤真人, 戸田暁成, 若江 武, 糸井久幸, 岡田昌也, 高塚広行, 原 宏, 藤盛好啓, 甲斐俊朗, 加藤俊一: 成人に対する複数臍帯血移植の 5 例. (ワークショップ) 第 27 回日本造血細胞移植学会総会, 12.16-17, 岡山. (第 27 回日本造血細胞移植学会総会プログラム・抄録集, 31, 2004.)

(3) 戸田暁成, 中島利幸, 野村香織, 若江武, 糸井久幸, 岡田昌也, 高塚広行, 三澤真人, 原 宏: 急性 GVHD と顆粒球エラスターゼ及び AT-3 値との相関性及び BMT と CBSCT との違い. (ワークショップ) 第 27 回日本造血細胞移植学会総会, 12.16-17, 岡山. (第 27 回日本造血細胞移植学会総会プログラム・抄録集, 77, 2004.)

2) 一般講演]

(1) 若江 武, 中島利幸, 戸田暁成, 糸井久幸, 岡田昌也, 高塚広行, 三澤真人, 原 宏 : 血球貪食症候群で発症した NK 細胞型顆粒リンパ球増多症の 1 例. 第 173 回日本内科学会近畿地方会, 6.5, 大阪. (第 173 回日本内科学会近畿地方会プロ

ラム・抄録集, 14, 2004.)

(2) 橋本真木子, 森 亜子, 鮫島厚一, 岡本隆弘, 高塚広行, 三澤真人, 原宏 : EB ウイルス関連血球貪食性リンパ組織球増殖症の成人 2 例に対する治療. 第 173 回日本内科学会近畿地方会, 6.5, 大阪. (第 173 回日本内科学会近畿地方会プログラム・抄録集, 14, 2004.)

(3) 国分寺晃, 池本純子, 今泉理恵, 前田和宏, 郡谷哲男, 谷脇清助, 三澤真人, 夏秋 優, 甲斐俊朗, 原 宏: 輸血副作用として白血球除去フィルタ ーによる即時型アレルギーを生じた症例. 第 52 回日本輸血学会総会, 6.23-25, 札幌. (日本輸血学会雑誌, 50(2), 342, 2004.)

(4) 岡田昌也, 中島利幸, 戸田暁成, 若江 武, 糸井久幸, 高塚広行, 三澤真人, 原 宏: Rituximab と cladribine の併用投与が奏効した再発難治性低悪性度リンパ腫の 3 例. 第 81 回近畿血液学地方会, 7.3, 大阪. (第 81 回近畿血液学地方会プログラム・抄録集, 7, 2004.)

(5) Kokubunji, A., Kai, S., Imaizumi, R., Ikemoto, J., Taniwaki, K., Misawa, M., Natsuaki, M. and Hara, H. : Two cases of adverse reaction due to leukocyte-reduction filter. The 28th Congress of the International Society of Blood Transfusion, 7.11-15, UK . (Vox Sanguinis Abstracts, 87(Suppl. 3), 32, 2004.)

(6) 三澤真人, 中島利幸, 戸田暁成, 若江 武, 糸井久幸, 山口薫子, 岡田昌也, 高塚広行, 原 宏, 甲斐俊朗, 藤盛好啓: 慢性骨髄性白血病 に対する Imatinib Mesylate の治療成績.

- 第66回日本血液学会・第46回日本臨床血液学会合同総会, 9.17-19, 京都。(第66回日本血液学会・第46回日本臨床血液学会合同総会プログラム・抄録集, 255, 2004.)
- (7)岡田昌也, 中島利幸, 野村香織, 戸田暁成, 若江 武, 糸井久幸, 高塚広行, 三澤真人, 原 宏, 甲斐俊朗, 藤盛好啓: 当科における Reduced intensity regimen を使用した成人臍帯血移植の検討. 第66回日本血液学会・第46回日本臨床血液学会合同総会, 9.17-19, 京都。(第66回日本血液学会・第46回日本臨床血液学会合同総会プログラム・抄録集, 308, 2004.)
- (8)若江 武, 中島利幸, 野村香織, 戸田暁成, 糸井久幸, 田畑雅彦, 岡田昌也, 高塚広行, 三澤真人, 原 宏, 甲斐俊朗, 藤盛好啓: 同種造血幹細胞移植後のHHV-6脳炎. 第66回日本血液学会・第46回日本臨床血液学会合同総会, 9.17-19, 京都。(第66回日本血液学会・第46回日本臨床血液学会合同総会プログラム・抄録集, 249, 2004.)
- (9)大倉伸彦, 藤盛好啓, 山口薫子, 西岡啓介, 甲斐俊朗, 原 宏: ヒト間葉系幹細胞の骨芽細胞系への分化の造血幹細胞増幅支持能への影響. 第66回日本血液学会・第46回日本臨床血液学会合同総会, 9.17-19, 京都。(第66回日本血液学会・第46回日本臨床血液学会合同総会プログラム・抄録集, 347, 2004.)
- (10)今戸健人, 黒岩孝則, 岩崎 剛, 佐野 統, 原 宏: HGF は GVL 効果を維持し移植後 T 細胞免疫を促進する. 第66回日本血液学会・第46回日本臨床血液学会合同総会, 9.17-19, 京都。(第66回日本血液学会・第46回日本臨床血液学会合同総会プログラム・抄録集, 206, 2004.)
- (11)粕本育代, 藤盛好啓, 大倉伸彦, 原宏: ヒト間葉系幹細胞とその脂肪分化における Toll-like receptor の発現. 第66回日本血液学会・第46回日本臨床血液学会合同総会, 9.17-19, 京都。(第66回日本血液学会・第46回日本臨床血液学会合同総会プログラム・抄録集, 305, 2004.)
- (12) Imado, T., Iwasaki, T., Kuroiwa, T., Okamoto, T., Hara, H. and Sano, H. : Hepatocyte Growth factor ameliorates chronic graft-versus-host disease. American Society of Hematology 46th annual meeting and exposition, 12.4-7, USA. (blood, 104, 11, 831a, 2004.)
- (13) Kai, S., Misawa, M., Iseki, T., Takahashi, S., Kishi, K., Kato, S., Hiraoka, A. and Hara, H. : Double-unit cord blood transplantation in Japan. American Society of Hematology 46th annual meeting and exposition, 12.4-7, USA. (blood, 104, 11, 376b, 2004.)
- (14) 寺西宏王, 中島利幸, 野村香織, 若江 武, 戸田暁成, 糸井久幸, 岡田昌也, 高塚広行, 三澤真人, 原 宏: 蛋白漏出性胃腸症にて発症したT細胞性リンパ腫の1例. 第82回近畿血液学地方会, 12.11, 京都。(第82回近畿血液学地方会プログラム・抄録集, 6, 2004.)
- (15) 高塚広行, 中島利幸, 野村香織, 若江 武, 戸田暁成, 糸井久幸, 岡田昌也, 三澤真人, 原 宏 : Stem cell

transplantation後TMAにおけるHIT抗体。
第27回日本造血細胞移植学会総会，
12.16-17，岡山。(第27回日本造血細胞
移植学会総会プログラム・抄録集，58，
2004.)

- (16) 荒木延夫，秋田真哉，河村久美子，
能勢義介，井本しおん，三戸 寿，甲斐
俊朗，原 宏：Luminex法を用いた臍帯
血バンク登録時におけるHLA-A, B, C, DRB1遺
伝子の日本人4桁アレルタイピングの導入。第
27回日本造血細胞移植学会総会，
12.16-17，岡山。(第27回日本造血細胞
移植学会総会プログラム・抄録集，42，2004

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

該当なし。

2. 実用新案特許

該当なし。

3. その他

特記すべき事項なし。

臍帯血を用いた造血細胞移植の確立に関する研究

（主任又は分担）研究者 堀田 知光 東海大学医学部・教授

研究要旨

体外増幅した臍帯血幹細胞が試験管内で自己複製しているか否かを確認し、新たな幹細胞増幅システムを開発のために役立てるために、臍帯血 CD34 細胞を EGFP を発現するレトロウイルスベクターにて遺伝子導入し、増幅効率を検討した。解析したクローンの 15%程度が複数マウス間で同一クローンを検出可能であった。さらにこれらのクローンが多分化能と自己複製能を併せ持つことを示した。

A. 研究目的

体外増幅した臍帯血幹細胞が試験管内で自己複製しているか否かを確認し、新たな幹細胞増幅システムを開発のために役立てる。

B. 研究方法

臍帯血 CD34 細胞を EGFP を発現するレトロウイルスベクターにて遺伝子導入し、増幅効率を検討する。この細胞を NOG マウスに移植し、複数マウス間で同一クローンが存在するか否かを LAM-PCR 法にて検討する。LAM-PCR 法では、ウイルス挿入部のヒトゲノム部位をクローニングし、塩基配列を決定後 PCR 用のプライマーを設定し、ユニークなウイルスゲノム挿入部位をクローンのマーカーとして利用する。

C. 研究結果

解析したクローンの 15%程度が複数マウス間で同一クローンを検出可能であった。さらにこれらのクローンが CD19 および CD33 陽性細胞の両者に存在することから多系統に渡る分化能を示すことを明らかにした。さらに二次移植した結果、一部のクローンでは二次移植可能なクローンであることが判明した。以上の結果よりマウス骨髄ストローマ細胞 HESS-5 とヒトサイトカイン TPO, FLK-2 ligand, SCF を利用した体外増幅培養系では体外で幹細胞を増幅可能であることが示された。

D. 考察

今回の培養系では 15%程度の幹細胞は増幅し

ていたが、残りの 85%が維持分裂をしたのか、細胞分裂せずに静止期にとどまっていたのかは不明であり、今後検討する必要がある。これらの細胞の表現型を明らかにし、それらを増幅する方法を考案することによってより効率の良い培養系が開発可能となる。

E. 結論

マウス骨髄ストローマ細胞 HESS-5 とヒトサイトカイン TPO, FLK-2 ligand, SCF を利用した体外増幅培養系では体外で幹細胞を増幅可能である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Spine 29: 1515-1523, 2004
- 2) Mol Ther 10(5): 882-891, 2004
- 3) Blood 104: 3581-3587, 2004
- 4) Leukemia Res, in press, 2004
- 5) Cardiovascular Research 65: 334-344, 2005
- 6) Chest, in press, 2005
- 7) 臨床血液 45: 1048-1052, 2004

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究補助金ヒトゲノム・再生医療等研究事業
分担研究報告書

研究課題 臍帯血の保存年数と移植結果に関する検討

分担研究者 加藤 俊一 東海大学医学部・教授

研究協力者 吉場 史朗 東海大学医学部・助手

研究要旨：臍帯血は冷凍保存されているために直ぐに使用できる長所があるが、臍帯血が造血幹細胞としてどれだけ長期間保存可能かは判明していない。今回、In vitro の検討として東海大学さい帯血バンクにおけるハリテーションによる臍帯血保存年数毎の細胞数などを検討するとともに、実際に東海大学さい帯血バンクから提供した臍帯血による移植結果について、臍帯血の保存年数毎に検討した。

ハリテーションに基づく検討では保存後6年目に細胞数回収率などが低下する傾向を認めたと、5年までは低下は認められなかった。移植成績においても保存期間との間に有意差は認められなかった。今回、解析症例のうち保存期間3年以上の移植症例は28例と少なく、今後日本全体での解析が必要と考えられた。

A. 研究目的

臍帯血移植の長所の1つとして、すでに冷凍保存されているために必要な時に直ちに使用できることがある。しかし、冷凍保存されている臍帯血がどれだけ長期間造血幹細胞としての質を維持できるかについては十分分かっていない。

そこで、現在日本さい帯血バンクネットワークの基準書にしたがって東海大学さい帯血バンクで保存されている臍帯血の細胞数、コロニー形成能などを経時的に検査し、さらに東海大学さい帯血バンクから提供した臍帯血による非血縁者間臍帯血移植の臨床成績を詳細に解析をすることにより、臍帯血幹細胞の保存期間についての検討することを目的とした。

B. 研究方法

1. In vitro の検討

ハリテーションで用いた臍帯血の保存時と解凍時の検査結果を保存年数毎に比較した。有核細胞回収率、トリプソリン法を用いた生存率、CD34回収率、コロニー形成回収率などを比較した。保存期間が1年から6年までの臍帯血を用いて検討した。

2. 移植成績の解析

1997年から2004年3月までに東海大学さい帯

血バンクから提供した臍帯血のうち検討可能であった208例の移植成績を移植保存年数別に、保存時と移植時の有核細胞数、CD34陽性細胞数、細胞生存率、CFU-GM総数を比較するとともに、実際の移植成績として好中球生着率(500/ μ l)、血小板生着率(5万/ μ l)、EFSを解析し、生着不全、GVHDについても検討した。

C. 研究結果

1. 保存サンプルによる検討 (図1)

ハリテーションに基づいた解析では保存後5年目までは有核細胞数回収率・CD34陽性細胞回収率・生存率は保存期間が長くなっても低下することはなかった。しかし、保存6年目では統計学的有意差は無いものの有核細胞数回収率・CD34陽性細胞回収率・生存率ともに低下する傾向にあった。コロニー形成に関しては保存年数毎に結果の相違があり、比較検討は困難であった。

2. 保存時と移植時の検査による検討

保存時と移植時の有核細胞数、CD34陽性細胞数、細胞生存率、CFU-GM総数の比較では、移植時の移植施設における検査施行数が少なかったが、保存年数が長くなることで細胞数・生存率が低下することは認められなかった。

3. 生着 (図2)

好中球生着率(500/ μ l)、血小板生着率(5万/ μ l)は保存1年目の臍帯血で生着が遅い傾向があったが、保存年数との間に有意差は認められなかった。

4. GVHD

保存年数毎におけるGVHDの発症頻度は有意差がなく、重症度においても同程度であった。

5. 生存率

移植の生存率においても保存期間との間に有意差は認められなかった。

E. 結論

解析に基づいた解析では、保存後6年目に有核細胞数回収率・CD34陽性細胞回収率・生存率が低下する傾向を認めた。

実際の移植成績による解析では保存期間と移植結果の間に有意差は認められなかった。

しかし、今回の解析では保存期間3年以上の移植症例は28例と少なく、日本全国の保存期間と移植成績の相関解析が必要である。

F. 健康危害情報

本研究そのものによる健康危害情報はなかった。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Tazume K, Kato S, et al.: Induction of cytomegalovirus-specific CD4+ cytotoxic T lymphocytes from seropositive or negative healthy subjects or stem cell transplant recipients. *Exp Hematol*, 2004;32:95-103.

2) Hagihara M, Kato S, et al.: Platelets, after exposure to a high shear stress, induce IL-10-producing, mature dendritic cells in vitro. Platelets, after exposure to a high shear stress, induce IL-10-producing, mature dendritic cells in vitro. *Journal of Immunology*, 2004;172:5297-5303.

3) Yanada M, Kato S, et al.: Tacrolimus instead

of cyclosporine used for prophylaxis against graft-versus-host disease improves outcome after hematopoietic stem cell transplantation from unrelated donors, but not from HLA-identical sibling donors: a national survey conducted in Japan. *Bone Marrow Transpl*, 2004;34:331-337.

4) Matsumoto M, Kato S, et al.: Changes in thyroid function after bone marrow transplant in young patients. *Pediatrics Int*, 2004;46:291-295.

5) Peters C, Kato S, ETA AL.: Cerebral X-linked adrenoleukodystrophy: the international hematopoietic cell transplantation experience from 1982 to 1999. *Blood*, 2004;104:881-888.

6) Yabe H, Kato S, et al.: Unmanipulated HLA-haploidentical bone marrow transplantation for the treatment of fatal, nonmalignant diseases in children and adolescents. *Int J Hematol*, 2004;80:78-82.

7) Sakata N, Kato S, et al.: Unrelated donor marrow transplantation for congenital immunodeficiency and metabolic disease: an update of the experience of the Japan Marrow Donor Program. *International Journal of Hematology* 2004; 80:174-182.

8) Yahata T, Kato S, et al.: Competitive repopulation assay of two gene-marked cord blood units in NOD/SCID/gammac(null) mice. *Blood*, 2004;105:882-891.

9) Ishiguro H, Kato S, et al.: Long-term follow-up of thyroid function in patients

who received bone marrow transplantation during childhood and adolescence. J Clin Endocrinol Metab, 2004;89:5981~5986.

10) Tsuboi K, **Kato S**, et al. Tsuboi K, **Kato S**, et al.: Potential and origin of the hematopoietic population in human skeletal muscle. Leuk Res, 2005;29:317-324.

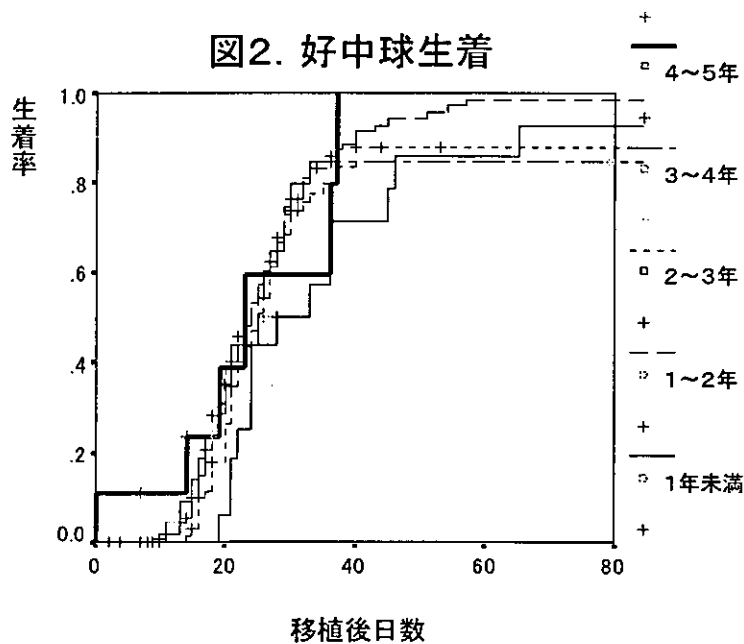
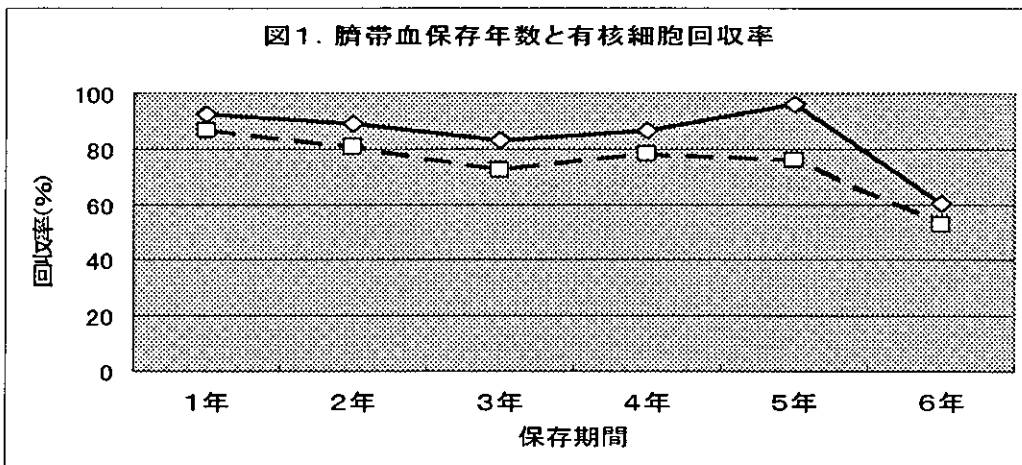
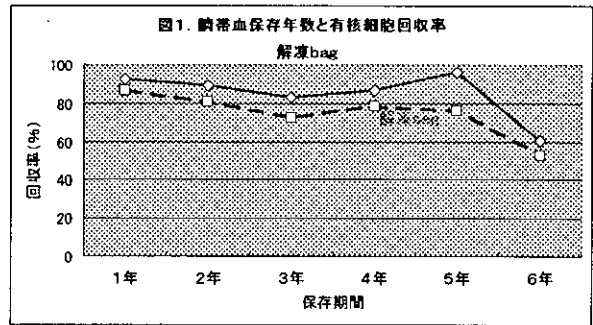
11) **加藤俊一**: わが国における造血幹細胞移植の最近の動向. 移植, 2004;39:1-5.

12) 沖 将行、**加藤俊一**他: 転移性乳癌に合併した骨髄異形成症候群症例に対し施行した体外増幅を併用した臍帯血移植. 臨床血液, 2004;45:1048-1052.

12) 吉場史朗、**加藤俊一**他: マイクロサテライ

トDNA (STR)を用いた造血幹細胞移植後のキメリズム解析の有用性に関する研究. 移植, 2004;39:556-563.

13) 保田由喜治、**加藤俊一**他: 造血幹細胞移植



臍帯血移植の安全性に関する検討

分担研究者 小澤敬也 自治医科大学 医学部 内科学講座血液学部門 教授

研究要旨

臍帯血は臍帯血バンクから供給されるという特殊性から、将来的には「細胞医薬品」として扱われる可能性がある。そこで、臍帯血移植の安全性に関するワーキンググループにおいて、臍帯血が医薬品として扱われるようになった場合を想定した上で、国内外の状況を調査した。即ち、日本さい帯血バンクネットワーク、欧米の臍帯血バンクおよび国際臍帯血バンク組織の実態、欧米各国政府による臍帯血の規制の現状に関して、各バンクならびに国際組織からデータを集めた。その結果、日本の臍帯血バンクに現在保存されている臍帯血は、ほぼ安全性が保たれていると考えられるが、諸外国ではさらに高い安全性の基準が設けられようとしていることが判明した。国際ハーモナイゼーションの観点から、我が国の臍帯血もより高いレベルに目標をおくことが、細胞医薬品として扱われるような事態に備えて重要であろう。

A. 研究目的

我が国では臍帯血移植の成人患者への適応拡大と共に、移植数の急速な増大が見られている。一方、臍帯血は臍帯血バンクから供給されるという特殊性から、将来的には「細胞医薬」として扱われる可能性がある。そこで、臍帯血移植の安全性に関して、臍帯血の採取・保存・検査について、国内外の状況を調査し、国内に保存されている臍帯血の安全性が保証されているか、また海外との格差がないか、国際化に対応出来るかについて調査した。

B. 研究方法

臍帯血移植の安全性に関するワーキンググループの平成16年度委員は表の通りである。本年度は、日本さい帯血バンクネットワーク、欧米の臍帯血バンクおよび国際臍帯血バンク組織の実態、欧米各国政府による臍帯血の規制の現状に関して、各バンクならびに国際組織からデータを集めた。

（倫理面への配慮）

本研究は、倫理的な問題が生ずること

はないと考えている。

<委員長>	
小澤 敬也	自治医科大学医学部教授
<委員>	
岡田 義昭	国立感染症研 血液・安全性研究部第一室長
神原 永子	日本赤十字社血液事業部参事
佐藤 典宏	北海道大学医学部附属病院輸血部副部長
鹿野 真弓	医薬品医療機器総合機構生物系審査部
高梨美乃子	東京都赤十字血液センター技術部研究第二課長
高橋 恒夫	東京大学医科学研究所客員教授
山口 一成	国立感染症研 血液・安全性研究部部長
山口 照英	国立医薬品食品衛生研究所 遺伝子細胞医薬部部長

C. 研究結果

1) 国内の臍帯血に関する規制状況：

我が国の11の公的臍帯血バンクの実態を調査した。我が国では現在、臍帯血は薬事法等の法規による直接の規制はなされていない。これを補完するものとして、日本さい帯血バンクネットワークにより、各臍帯血バンクの従うべき技術指針、各種基準書が策定されている。臍帯血の安全性については、臍帯血移植の実施のための技術指針ならびに基準書群（移植実施、衛生管理、採取、調製、保存管理、品質管理）により規定されている。検査

項目、特に感染症については献血の基準に従い、随時追加修正されている。臍帯血移植の予後に関わる細胞数の増加、CD34の測定等、ネットワークの技術部会で検討され、随時最新の情報が得られている。根幹となる技術指針は作成時に国内外の状況を考慮して作成されているので、国際的に乖離しているところはあまりない。我が国の臍帯血の海外での移植使用については、バンクネットワーク内の国際化小委員会において検討が進められている。これら技術指針に対する各臍帯血バンクの対応状況については、バンクネットワークの事業評価委員会による評価、及びネットワークの指定した第三者評価機関による査察によって、毎年異なるテーマでのチェックが行われている。

2) 海外の規制状況：

諸外国では、臍帯血の血液あるいは医薬品としての取り扱いが明確化されつつある。例えば、ドイツでは Paul-Ehrlich Institute が臍帯血を医薬品として認可し、国内の臍帯血バンクを査察している。他の国々では現在は明確な取り決めはないものの、近い将来血液としての扱いははっきりしてくるものと思われる。臍帯血が国を超えて使われる性質から、ドイツを例として同等のレベルまで臍帯血の品質保証が上げられていく可能性が高い。

米国においてはこれまで臍帯血移植は IND (Investigational New Drug) 外として進められてきたが、近い将来には規制がなされる可能性が高く、その場合には、海外の臍帯血バンクも米国による臍帯血製造承認を得ないと、米国内では移植に使用できなくなる可能性が高い。

いずれの場合も現状の臍帯血に関する品質保証がなされていることが必要であるが、現在国際的に用いられている基準としては、NETCORD、AABB のものがあり、それにしたがって国際査察がなされている。内容はほぼ同じであるが、機関によって査察のレベルが異なると考えられる。欧米における規制がこれらの国際ガイドラインを基盤にしてつくられると思われるが、実際にはさらに厳しい規制が課せられる可能性がある。

D. 考察

我が国では、臍帯血バンクの調査が過去に実施されたことはあるが、細胞医薬品としての観点から安全性の検討が行われたことはない。米国では、FDA において、臍帯血を医薬品として規制する方向で検討が進んでおり、国際ハーモナイゼーションの観点からも、我が国の体制を整備していく必要性が発生するものと予想される。本研究班（臍帯血移植の安全性に関するワーキンググループ）は、そのような事態に備え、予め諸問題を検討しておくのが狙いである。薬事法に基づく品目承認を臍帯血に与える場合には、規格及び試験方法、製造方法、効能効果・用法用量を示す必要がある。また、各臍帯血バンクは医薬品製造業の許可を得る必要性が発生し、細胞処理・保存施設は「医薬品製造工場」として営利事業を行うこととなり、ハード、ソフトの両面で医薬品 GMP に適合することを求められるようになるといった点が、今後の大きな課題になると思われる。現在は機関毎に異なる点があると思われる操作法の統一を図ることも必要になると考えられる。

臍帯血移植が拡大していることから、本研究班の議論を踏まえて、臍帯血が細胞医薬品としての規制がかけられた場合に必要となる臍帯血バンクの整備（設備や体制の改善策）を明らかにしていく必要がある。

E. 結論

日本の臍帯血バンクに現在保存されている臍帯血は、ほぼ安全性が保たれていると考えられるが、諸外国の状況をみると、さらに高い安全性の基準が設けられようとしている。国際ハーモナイゼーションの観点から、我が国の臍帯血もさらに基準の高いレベルに目標をおいて活動を続けていくことが、細胞医薬品として扱われるような事態に備えて重要であろう。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表 (原著論文)

- 1) Ueda K, Hanazono Y, Shibata H, Ageyama N, Ueda Y, Ogata S, Tabata T, Nagashima T, Takatoku M, Kume A, Ikehara S, Taniwaki M, Terao K, Hasegawa M, and Ozawa K: High-level in vivo gene marking after gene-modified autologous hematopoietic stem cell transplantation without marrow conditioning in nonhuman primates. *Mol Ther* 10: 469-477, 2004.
- 2) Muroi K, Kawano-Yamamoto C, Nagashima T, Mori M, Ozawa K, Matsui K, Murakami Y, and Ikeda U: Analysis of hematopoietic progenitors in bone marrow from patients with peripheral artery disease. *Leuk Res* 28: 999-1000, 2004.
- 3) Hara T, Kume A, Hanazono Y,

Mizukami H, Okada T, Tsurumi H, Moriwaki H, Ueda Y, Hasegawa M, and Ozawa K: Expansion of genetically corrected neutrophils in chronic granulomatous disease mice by cotransferring a therapeutic gene and a selective amplifier gene. *Gene Ther* 11: 1370-1377, 2004.

4) Nagashima T, Ueda Y, Hanazono Y, Kume A, Shibata H, Ageyama N, Terao K, Ozawa K, and Hasegawa M: In vivo expansion of gene-modified hematopoietic cells by a novel selective amplifier gene utilizing the erythropoietin receptor as a molecular switch. *J Gene Med* 6: 22-31, 2004.

H. 知的財産権の出願・登録状況
特になし

研究課題 Ex vivo 増幅造血幹細胞の臨床応用に関する研究

分担研究者 中畑龍俊 京都大学大学院医学研究科・教授

研究要旨: ヒト造血幹細胞の in vivo 測定系を開発した。SCF、FL、TPO、IL-6/sIL-6R 複合体存在下で増幅した臍帯血造血幹細胞を用いた臨床研究のための基盤整備を行った。培養バッグおよびリコンビナントアルブミンを用いた無血清培地を開発した。新 GCP に準拠した臨床プロトコルを作成した。

A. 研究目的

体外増幅造血幹細胞を用いたより安全な移植医療の開発を目的として、臨床応用可能な、安全かつ有効なヒト造血幹細胞体外増幅法を開発し、その臨床展開をはかることを目的としている。

B. 研究方法

1. NOD/SCID/ γ_c マウスに種々の数のヒト臍帯血 CD34⁺細胞を移植し、移植後経時的に各種組織中のヒト細胞の存在をフローサイトメトリーで解析した。

2. 安全な培養を行うため、無血清培養法の開発、培養原材料の検討、効果的な細胞融解法、分離法の検討、閉鎖系培養システムの構築などを検討した。

3. 体外増幅された臍帯血幹細胞の安全性のための品質管理基準を作成するため、細胞の表面抗原、コロニー形成能、SCID マウスでの長期造血支持能などを総合的に評価する系を確立し、細菌などの混入を調べる安全性試験とともに効果の評価系システムを検討した。

4. GCP に準拠した臨床プロトコルの作成した。

C. 研究結果および考察

1. われわれが開発した NOG マウスは従来のマウスに比べヒト造血幹細胞の生着率が著しく高く、T細胞を含む全ての血球分化が見られることから、ヒト造血幹細胞の測定系としては画期的なマウスと考えられる。現在、このマウスを用いて ex vivo 増幅造血幹細胞の定量的な測定などを検討中である。

2. Ex vivo 増幅臍帯血移植の臨床研究は海外で先行して行われたが、安全性が証明されたものの有効性の証明は行われていない。我々の可溶性 IL-6 受容体(sIL-6R)/IL-6 複合体、SCF、TPO、FL を組み合わせた方法で増幅した臍帯血造血幹細胞は欧米の報告に比し CD34 陽性率、NOD/SCID マウスによる移植実験にて有意に高いヒト血液細胞キメラリズムが得られた。このことより、我々の方法はより未分化な造血幹・前駆細胞を増幅していると考えられ、臨床効果も期待できると考えている。

3. GMP に準拠した培養法の確立

細菌の混入や動物由来の蛋白の混入を防ぐため、閉鎖系培養の確立と原材料からヒト、動物由来血清を排除した無血清培養法を確立し、現在の臍帯

血バンクのシステムに則った移植が可能となった。4. 安全性を示す試験としては、培養前後における各種染色を組み合わせた形態観察、電顕での微細構造の観察、染色体異常、79種類のサイトカイン分泌の有無の確認を行なった。炎症、変性、がん化などの変化は認められず一定の安全性を確認できた。

5. 新 GCP に準拠した臨床プロトコルの作成

体外増幅された臍帯血幹細胞移植を臨床応用するため、規格試験として製造毎の品質管理規格項目を設定した。また臨床プロトコルの対象を急性骨髄性白血病患者として、主要評価項目を Ex vivo 増幅臍帯血移植の安全性と移植 CD34 陽性細胞数と生着日数に相関があるかどうかの Phase I/II 試験とした。また臨床研究実施計画書、同意説明文書、使用薬剤情報、症例報告書(CRF)、品質及び安全性に関する資料概要、製造管理基準書、品質管理基準書、製造衛生管理基準書、製造標準書などを作成し、平成 17 年 3 月 17 日に先端医療センター再生医療審査会(倫理委員会)で承認された。

D. 結論

ヒト造血幹細胞を増幅できることが示された。平成 17 年第 3 四半期より急性骨髄性白血病に対する Ex vivo 増幅臍帯血移植の Phase I/II Study を開始予定である。

E. 健康危害情報 なし

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Blood 103:860-867, 2004.
- 2) Development 131:1869-1879, 2004.
- 3) J. Immunol. 172:4826-4833, 2004.
- 4) Blood 103:2299-2397, 2004.
- 5) Blood 103:4565-4572, 2004.
- 6) Human Mutat. 24:481-490, 2004.
- 7) Arterioscl. Throm. Vas. 24:477-482, 2004.
- 8) FASEB J. 19:371-378, 2004.
- 9) Cell 119:1001-1012, 2004.
- 10) J. Immunol. 177:1325-1331, 2005.
- 11) Blood 105:1195-1197, 2005.
- 12) Blood 105:2324-2331, 2005.
- 13) J. Immunol. 174:3626-3632, 2005, 2005.
- 14) Int. J. Cancer 133:158-165, 2005.
- 15) Gastroenterology in press.
- 16) J. Biol. Chem. In press.

G. 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 なし

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

遺伝子型 HLA 適合度が臍帯血移植成績に及ぼす影響の検討

研究協力者:西平 浩一	昭和大学藤が丘病院小児科
磯山 恵一	昭和大学藤が丘病院小児科
中島 文明	神奈川県赤十字血液センター
池田 裕一	昭和大学藤が丘病院小児科
廣田 保蔵	昭和大学藤が丘病院小児科
大沼 圭	東京大学医科学研究所
山田耕一郎	昭和大学藤が丘病院小児科

目的

非血縁臍帯血移植(以下、臍帯血移植)の特徴の一つに、非血縁骨髄移植に比較して HLA 適合度の制限が少ないことがあげられる。しかし、遺伝子型 HLA 適合度と移植成績に関する詳細な検討は極めて少ない。

今回、神奈川臍帯血バンクが提供した臍帯血で移植を受けた患者の臍帯血移植成績と、遺伝子型 HLA 適合度との関係を検討した。

方法

血液腫瘍性疾患 67 例のうち、HLA 遺伝子型(class I;A,B, class II;DRB1)が明らかな 65 例について検討した。解析は GVH(graft versus host)および HVG(host versus graft)(拒絶)方向について評価項目(好中球生着率(≥ 500)、血小板生着($\geq 20,000$)、5年生存率、grade II-IV 急性 GVHD 発生率、1年移植関連死亡率(TRM)、再発率、別に各種因子を付加し比較した。生存率、発生率の単変量解析は log-rank test を、多変量解析は cox hazard model を使用した。HLA 遺伝子検査は PCR-SSO 法を用い解析した。

成績

対象疾患の臨床的特徴を表1に、遺伝子型 HLA の不適合度数と症例数を表2に示した。全症

例の成績:好中球生着率 80%、血小板生着 55.4%、event free survival(EFS) 37.9%、overall survival (OS) 43.6%、再発率 32.7%、Transplant-related mortality (TRM)、急性 GVHD 66%であった。表3に HVG 方向 0-1/6 不一致群と 2-4/6 不一致群の成績を示す。遺伝子型 HLA 不適合度との関係: HVG 不一致数別の成績を図 1-2 に示す。好中球、血小板生着率ともに不適合数の増加とともに低下する傾向がみられた。2群間における検討で、2-4/6 不一致群は 0-1/6 不一致群に比較し好中球、血小板生着が有意に遅延し、EFS が低いことが明らかになった(図 3-5)。GVH 方向の不一致数が 0/6 又は 1/6 である症例(27 例)においても HVG2-4/6 不一致群の生着率が低く、EFS も悪い傾向が示された(データ示さず)。生着に影響を及ぼす他の因子を含めた多変量解析では、移植細胞数が最も影響を与える因子となった(表4)。2群間と細胞数の関係では、HVG2-4/6 不一致群で移植細胞数が $3 \times 10^7/\text{kg}$ 以下の場合に極めて生着が悪い結果であった(図 6-7)。また、TRM 発生が HVG 方向 2-4/6 不一致群で高い傾向が認められた(図8)。HVG 方向の2群間において OS、再発率、急性 GVHD 発生率には統計学的有意差は認められなかった。GVH 方向の不一致数別および2群間の比較では共に差は認められるものはなかった。

考案

HVG 方向で、2-4/6 不一致群に血球生着が悪く EFS も低いことが示された。移植細胞数が低い場合により顕著であったことは、残存するレシピエント T 細胞が生着に何らかの影響を及ぼしているものの、十分な移植細胞数の確保でこれを克服できる可能性があることを示しているものと考えられる。この結果は、臍帯血バンクでも HLA 遺伝子型がドナー選択の条件になる可能性があることを示唆している。HVG 方向の適合度が移植成績に及ぼす影響をより正確に検討するには、GVH 方向が全て一致している症例のみを抽出し解析する必要がある。今回の解析は単一バンクからの成績であり大規模解析が重要であると考えられる。

表2 65例の遺伝子型HLA適合度と症例数

	遺伝子型不一致数			
	0	1	2	3
HVG方向(例)	5	20	22	13
GVH方向(例)	4	21	24	11



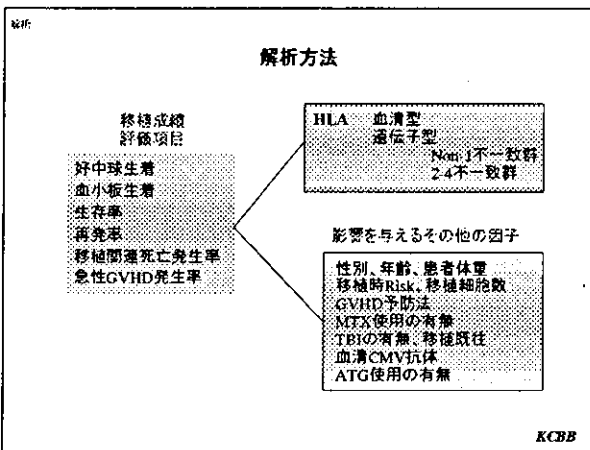
KCBB

表3 遺伝子型HLA型適合度と移植成績

	HVG方向不一致度		P値
	不一致0-1群 (n=26)	不一致2-4群 (n=39)	
70日好中球(≥500)生着(%)	96.0	71.6	0.03*
100日血小板(≥2万)生着	80.0	42.5	0.016*
5年無イベント生存率(%)	49.4	30.1	0.028*
5年全生存率(%)	50.3	39.8	0.086
急性GVHD(≥2度)(%)	68.2	69.0	0.47
5年再発率(%)	30.8	34.7	0.51
1年TRM発生率(%)	22.8	41.9	0.06

単変量解析では、GVHD方向と移植成績の関係で有意差は得られない。

KCBB



KCBB

表4 生着におよぼす移植細胞数とHLA遺伝子型の影響 (多変量解析結果)

	RR	95%CI	P-value
好中球生着			
遺伝子型不一致*	0.69	0.38-1.23	0.21
移植細胞数	0.44	0.26-0.89	0.059
血小板生着			
遺伝子型不一致*	0.58	0.29-1.15	0.12
移植細胞数	0.46	0.23-0.95	0.03

*HVG方向

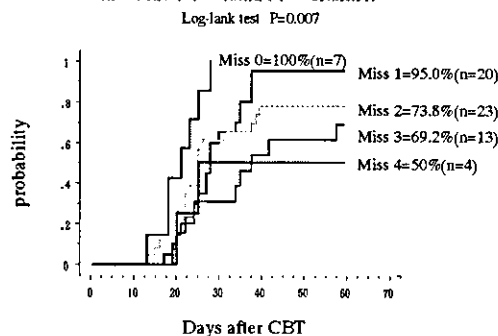
KCBB

表1 悪性腫瘍性疾患65例の特徴

追跡期間(月)	53(3-89ヶ月)
性別M/F(例)	31/21
年齢(歳)	6.1(8mo-65)
体重(kg)	18(6.5-91)
移植細胞数(×10 ⁷ cells/kg)	3.1(0.6-11.7)
疾患	
ALL	26
AML	24
CML	3
NHL	4
JMMoL/MDS	1/1
ATL	2
Neuroblastoma	2
移植時Risk	
High risk(CR1 or CR2)	40
Low risk(≥CR3 or non CR)	27
GVHD予防	
single drug(CsA or FK506)	15
two drugs(+MTX or Pred)	51
前処置	
TBI/non-TBI	42/25
CMV抗体	陽性/陰性 33/14
移植既往	あり/なし 14/50

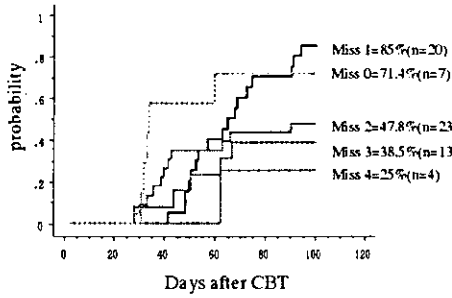
KCBB

図1 好中球回復と遺伝子型HLA型適合度 HVG方向不一致度(不一致数別)



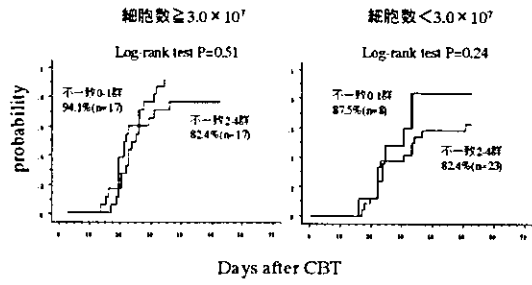
KCBB

図2 血小板回復と遺伝子型HLA型適合度
HVG方向不一致度



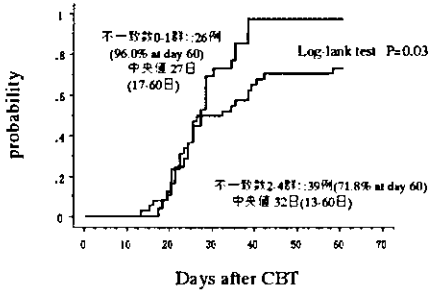
KCBB

図6 好中球回復と遺伝子型HLA型適合度
移植細胞数別比較



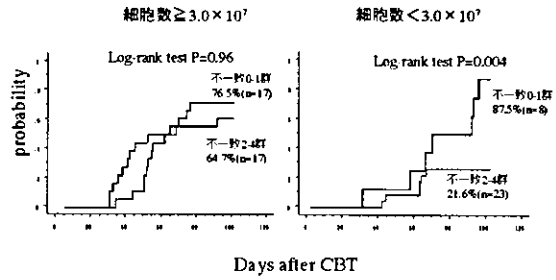
KCBB

図3 好中球回復と遺伝子型HLA型適合度
HVG方向不一致度(2群別)



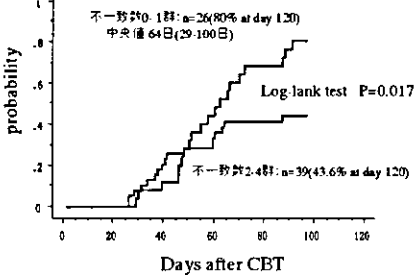
KCBB

図7 血小板回復と遺伝子型HLA型適合度
移植細胞数との比較



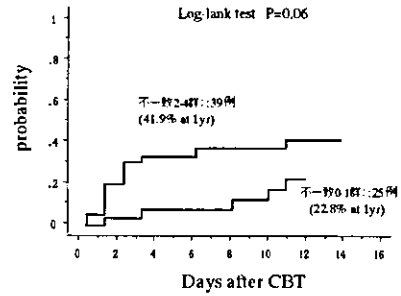
KCBB

図4 血小板回復と遺伝子型HLA型適合度
HVG方向不一致度



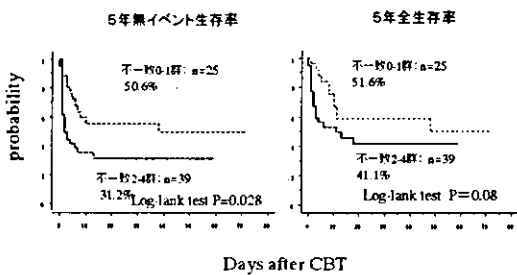
KCBB

図8 TRM発生率とHLA型適合度
HVG方向不一致度



KCBB

図5 生存率とHLA型適合度
HVG方向不一致度



KCBB

III. 研究成果の刊行に関する一覧表