

厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）

分担研究報告書

「高齢者骨髄異形成症候群に対する骨髄非破壊的前処置を用いた同種末梢血幹細胞移植」

分担研究者： ○澤田 賢一，廣川 誠
（秋田大学・医学部第三内科）

研究要旨：骨髄異形成症候群（myelodysplastic syndrome: MDS）は中高年齢層に多く発生するが、骨髄破壊的前処置が適応となる年齢層にも稀ではない疾患である。我々は、過去2年間において同種造血幹細胞移植が適応となるMDSの4例を経験し、骨髄非破壊的前処置を用いた同種造血幹細胞移植を行ったのでその安全性と有効性について報告する。

A. 研究目的

年齢 50 才以上の骨髄異形成症候群に対する骨髄非破壊的前処置を用いた同種造血幹細胞移植療法の安全性と有効性について明らかにする。

B. 研究方法

輸血依存性であるかまたはハイリスクの骨髄異形成症候群で、同種造血幹細胞移植の適応があると判断された年齢 50 才以上の症例 4 例を対象とした。骨髄非破壊的前処置としてフルダラビンおよびブスルファンを、急性 GVHD 予防としてシクロスポリンおよびメントレキセートを用いた。非血縁臍帯血を移植片とした場合には全身 X 線照射 2Gy を追加した。HLA6/6 マッチの同胞より G-CSF で動員した末梢血幹細胞を採取し、簡易法にて冷凍保存した移植片を移植当日解凍輸注した。移植前日より好中球数 > 500 まで移植病室にて管理した。

C. 研究成果

症例 1、60 才男性。輸血依存性の refractory anemia with multilineage dysplasia で、染色体異常は 46, XY, del(3)。並存合併症として左前下行枝主幹部に 90~99% の狭窄をともなう冠動脈疾患があった。心駆出率は 0.75 と正常。ドナーは 53 才女性、輸注 CD34+細胞数は 4.0×10^6 /kg。好中球数 > 500 は day 13、異性間移植 FISH にて骨髄・末梢血ともに移植後 2 ヶ月時点において完全ドナーキメラを達成。急性 GVHD grade 0、移植後 5

ヶ月めに特発性間質性肺炎を併発したが、副腎皮質ステロイドに反応良好であった。慢性 GVHD は limited type。現在移植 20 ヶ月経過、血液学的寛解を維持している。

症例 2、55 才男性。低形成 AML の診断のもと多剤併用化学療法にて一旦完全寛解を得たが、再発。再寛解導入療法を行った後、輸血依存性の汎血球減少症が持続、骨髄は低形成で軽度の異形成を認めたが、芽球の増加なく、MDS 様の造血状態と判断。染色体異常は 46, XY, del(20)。輸注 CD34+細胞数は 4.8×10^6 /kg。好中球数 > 500 は day 15、STR 法にて移植後 6 週めで完全ドナーキメラを達成。急性 GVHD grade 0、間質性肺炎なし。現在移植後 16 ヶ月経過、血液学的寛解を維持している。Extensive type 慢性 GVHD（皮膚、肝臓、口腔粘膜）を併発したが、副腎皮質ステロイドにより改善した。

症例 3、50 才女性の RAEB。多剤併用化学療法による寛解導入療法にて血液学的寛解を得たが、アスペルギルス肺炎を合併。抗真菌剤による治療後、refractory anemia の状態で移植を行った。急性 GVHD grade 0、間質性肺炎なし。現在移植後 12 ヶ月経過し、血液学的寛解を維持。Extensive type 慢性 GVHD を併発し、治療中である。

症例 4、53 才女性の refractory anemia で染色体異常は -7。輸血依存性の状態で血清型 2 座不一致の非血縁者間臍帯血移植を施行。移植 7 日目より高熱が出現し、13 日目に意識障害と痙攣を認めた。MRI では両側海馬

の T2 high intensity 領域を認めた。CyA の減量によつて中枢神経症状は改善せず、かつ進行性の肝・腎障害を併発し、移植 22 日目に死亡。死亡時白血球数 1700 と造血は回復傾向であった。

D. 考察

4 例においてフルダラビンおよびブスルファンによる移植前処置の毒性は軽度の消化器症状のみであった。HLA 一致同胞ドナーからの移植 3 例における移植後 100 日以内の経過は順調であったが、3 例全例において慢性 GVHD を認めた。症例 4 において施行された非血縁者間臍帯血ミニ移植後の経過は、従来の HLA 一致同種骨髄・末梢血幹細胞移植と比較して極めて特異なものであった。骨髄非破壊的移植において HLA 不一致が移植成績に及ぼす影響について今後検討する必要があると考えられた。

E. 結論

フルダラビンおよびブスルファン前処置による HLA 一致同胞からの同種造血幹細胞移植は、50 才以上の症例において安全に施行可能であったが、慢性 GVHD のコントロールが今後の課題と考えられた。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ichikawa Y, Hirokawa M, Aiba N, Saitoh H, Fujishima N, Kume M, Miura I, Sawada K. Monitoring the expression profiles of doxorubicin-resistant K562 human leukemia cells by serial analysis of gene expression. *Int J Hematol.* 79: 276-282, 2004
- 2) Nishimura H, Hirokawa M, Fujishima M, Miura I, and Sawada K. Contribution of complementarity-determining region 3 of the TCRVd2 chain to the recognition of aminobisphosphonates by human $\gamma \delta$ T cells. *Int J Hematol.* 79: 369-376, 2004
- 3) Fujishima N, Hirokawa M, Aiba N, Ichikawa Y, Fujishima M, Komatsuda A, Y Suzuki, Kawabata Y, Miura I, Sawada K. Gene expression profiling of human erythroid progenitors by micro-serial analysis of gene expression. *Int J Hematol.* 80: 239-245, 2004
- 4) Fujishima N, Hirokawa M, Ishikawa H, Fujishima M, Kume M, Miura I, Sawada K. May-Hegglin anomaly developing myelodysplasia and acute myeloid leukemia. *Int J Hematol.* 79: 505-506, 2004

2. 学会発表

特になし

H. 知的財産権の出現・登録状況

該当事項なし。

厚生労働省科学研究費補助金（がん臨床研究事業）

分担研究報告書

「移植前治療大量ブスルファンの投与量最適化に関する研究」

分担研究者 森下 剛久 愛知県厚生連昭和病院 内科・血液化学療法科部長

研究要旨：同種造血幹細胞移植の移植前治療を構成する主要薬剤であるブスルファンの体内動態を指標とした最適投与量の決定は移植成績の向上に寄与することが期待される。日本人の体内動態をみる目的で行われた臨床試験9例の結果、経口ブスルファン（BU）の血中濃度は個人差が大きく効果安全域と考えられる血中濃度時間曲線下面積（AUC）を示したのは少数例であり、BU 投与量を初回投与時の AUC にて補正する targeted dose adjustment 法を用いた移植前治療の臨床的有用性を目的とする前方向視的多施設共同研究を開始した。

A. 研究目的

2002年から1年間にわたって行われた造血器悪性腫瘍症例9例を対象とした体内動態試験の結果、経口BU（マブリン散）1mg/kg 投与後の AUC および steady state concentration (C_{ss}) には大きな個人差がみられ、各投与間の較差は少なく、繰り返し投与後の明らかな薬物の蓄積は認められなかった。AUC が高値を示した2例に移植関連死亡（TRM）が認められ、低値を示した1例が早期に原病の再発をきたした。次に経口マブリン散の体内動態（PK）を用いて投与中の4-5ポイントの採血から得られた血中濃度から AUC を推定できる limited sampling model (LSM)を開発し、薬物クリアランスの違いには近似式を2種用意することにより対応した。以上のことをふまえて、2003年8月より「造血器疾患に対するターゲット・ブスルファンとシクロフォスファミドを前治療として用いた造血幹細胞移植に関する研究（臨床第Ⅱ相試験）」を開始した。本研究は、造血幹細胞移植のブスルファン大量療法を含む移植前治療において、個々の症例において初回の体内動態と LSM により算出される推定 AUC に基づいてブスルファン総投与量が効果安全域となるよう補正する、targeted dose adjustment 法を導入し、その臨床的有用性を検討することを目的とする。

B. 研究方法

「造血器疾患に対するターゲット・ブスルファンとシクロフォスファミドを前治療として用いた造血幹細胞

移植に関する研究」の対象症例は大量ブスルファンとエンドキサンの移植前治療による HLA 適合同種造血幹細胞移植が施行される造血器悪性腫瘍症例で年齢16-65歳、PS 0-2 (ECOG)、主要臓器機能が十分保持されていることなどを適格条件とした。BU（マブリン散）の内服は食事の影響を避けるため空腹時とし併用薬剤も限定した。AUC 測定のため、第1回目の投与時に計5回採血し、LSM に基づき BU の steady state concentration (C_{ss})が 800 μg/L となるよう7回目以降の投与量を補正した。第13回目の投与時に計5回採血し、補正の検証のため AUC を測定した。BU の測定は共同研究者の北里大学薬学部臨床薬学研究センター中毒部門（福本真理子）においてガスクロマトグラフィー・マススペクトロメトリー（GC/MS）を用いて行った。LSM は 0.5、1、2、6 時間値を用いて台形公式と消失速度定数を用いた一時衰退を組み合わせて構築した。計算ソフトを用いてコンピューター上で求められた LSM 推定 AUC により補正投与量が算出され移植実施施設に指示される。一部の症例は大量 BU を含むものの CY 以外の薬剤との併用前治療法を選択したため上記試験に登録されなかった症例である。

<倫理面への配慮>

本治療研究においては BU 血中濃度を目標内に保つことにより大量 BU 後の薬物有害反応は軽減されることが予想されているものの、本試験に際し、適格症例に対し説明文書に従って説明し、試験参加について患

者本人より文書で自由意志による同意を得た。説明後、質問をする機会と試験に参加するか否かを判断するのに十分な時間を与え、患者が内容を十分に理解したことを確認した上で、添付同意文書に署名、捺印することで文書による同意を得た。

C. 研究結果

対象患者 26 例（男性 15 例、女性 11 例）の平均年齢は 47.8 ± 11.6 歳で、13 例が急性骨髄性白血病、10 例が骨髄異形成症候群、3 例が慢性骨髄性白血病である。移植方法は、10 例が非血縁者間骨髄移植、8 例が同胞間末梢血幹細胞移植、6 例が同胞間骨髄移植、2 例が自家末梢血幹細胞移植である。15 例が本試験の登録症例である。11 例は登録外症例で、今回の BU 用量調節に関して施設の倫理審査委員会の承認を受けている医療施設の主治医からの要請を受けた症例である。

BU 1mg/kg を初回投与後の体内動態解析の結果、LSM による推定 AUC は平均 $7,065 \pm 1,645 \mu\text{g} \cdot \text{h/L}$ 、推定 C_{ss} は平均 $1178 \pm 276 \mu\text{g/L}$ であった。 C_{ss} は最小 $697 \mu\text{g/L}$ から最大 $1838 \mu\text{g/L}$ まで分布し、約 2.6 倍の患者間変動が見られた。推奨至適濃度 $700 \sim 900 \mu\text{g/L}$ の範囲に収まっていた症例は 2 例のみで、目標 C_{ss} が $800 \mu\text{g/L}$ になるように 23 例で減量、1 例で増量を行った。その結果、補正後の C_{ss} 測定値から推算した最終的な C_{ss} は $629 \sim 880 \mu\text{g/L}$ （平均 $762 \pm 78 \mu\text{g/L}$ ）となり、26 例中 20 例(76.9%)が $700 \sim 900 \mu\text{g/L}$ に収まり、有害事象危険域の $900 \mu\text{g/L}$ を超えた症例は皆無であった。初回の AUC が目標濃度範囲から外れた 24 例について投与量の調節を行った本研究における個別化後 23 例(88.5%)で減量が必要であったこと、平均 1 回投与量が 0.73mg/kg であることから、日本人での至適投与量は現行の標準量 1mg/kg より低用量である可能性が示唆された。

D. 考察

骨髄破壊的同種移植前治療はその高い抗腫瘍効果の一方で強い毒性が懸念され、前治療法の至適化が重要な課題である。標準的前治療薬の一つであるブスルファンは経口剤であるがゆえに体内動態に大きな個人差が存在する。ブスルファンの生物活性は AUC に依

存し、AUC が低い場合は生着不全、再発頻度が上昇し、AUC が高い場合は肝 VOD、中枢神経毒性、不可逆的脱毛などの有害事象が増加する。今回の研究において目標値として設定された AUC はこれまでに欧米において報告された効果安全域に基づいている。本試験により初回の BU 体内動態に基づく用量調節法により目標値に十分近似できることが示されたが、移植後臨床経過に及ぼす影響については試験が継続中であり、primary endpoint の生存最終解析を待たねばならない。BU 体内動態の大きな個人差については腸管吸収に加えて肝臓内での代謝に依存しており、その最初の段階は、glutathione-S-transferase (GST) A1-1 によって触媒される 2 段階反応（グルタチオン抱合）である。毒性は GST の遺伝子多型や cytochrome P450 (CYP) の活性に加えてグルタチオンの枯渇に至る種々の因子が関与する可能性が示されている。体内動態の詳細な分析に加えて、これらの課題を解決することによって、さらに患者個人に合わせたテーラメード医療に寄与することができると考える。

E. 結論

今回の研究により日本人においても経口ブスルファンの体内動態に吸収・代謝の個人差が大きく存在していることが確認され、効果安全域と考えられる AUC に近似させるための targeted dose adjustment 法が十分施行可能であることが示された。ブスルファンの AUC を効果安全域に導くことの臨床的有用性は現在進行中の前方向視的臨床試験の結果により検証する。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

予備的試験結果およびブスルファン体内動態に関する論文を準備中。

2. 学会発表

- 1) 福本真理子、森下剛久、河野彰夫、成松宏人、尾関和貴、澤正史、水田秀一、鈴木一心、杉浦勇、寺倉精太郎、工藤寿子、鶴田陽和、小嶋晃：

造血幹細胞移植前治療における経口大量 busulfan の体内動態の解析：Limited Sampling Model の構築。第 45 回日本臨床血液学会総会、平成 15 年 8 月 31 日。大阪国際会議場。

- 2) 河野彰夫、福本真理子、成松宏人、尾関和貴、澤正史、水田秀一、鈴木一心、杉浦勇、寺倉精太郎、工藤寿子、森下剛久：造血幹細胞移植前

治療における経口大量 busulfan の体内動態の解析：Targeted dose adjustment の提案。第 45 回日本臨床血液学会総会、平成 15 年 8 月 31 日。大阪国際会議場。

- H. 知的財産権の出願・登録状況
該当なし

厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）

分担研究報告書

「通常移植とミニ移植後の微小残存病変の比較検討に関する研究」

分担研究者 小川啓恭 大阪大学大学院医学系研究科 分子病態内科学講座

研究要旨：WT1 遺伝子発現は、panleukemic MRD marker として認識されている。同種造血幹細胞移植を受けた、WT1 遺伝子を高発現する 74 人の白血病患者において、移植前、あるいは移植後の WT1 値が再発に及ぼす影響を、移植後の再発に関与すると考えられて来た他の因子(年齢、疾患名、急性 GVHD の有無、HLA 不適合度、前処置の強度)とともに、多変量解析を行うことによって、解析した。非寛解期症例においては、生着時の WT1 低値と前処置の強度が、有意に移植後の再発率を下げた。また、寛解期症例においては、移植前の WT1 値のみが、有意に再発を下げる因子として、抽出された。さらに、再移植を受けた 2 例の AML 患者の MRD レベルの解析より、HLA 不適合 graft の使用が、ミニ移植後の再発率の増加を防ぐ可能性が示唆された。

A. 研究目的

前処置の強度を下げたミニ移植は、50 歳以上の高齢者に対しても、施行可能である。しかし、aggressive な血液腫瘍に対しては、抗腫瘍効果は必ずしも十分ではないと報告されている。

一方、我々は、通常、癌抑制遺伝子として認識されている Wilms tumor 遺伝子(WT1)が、ほとんど全ての白血病で高発現していること、また、その発現を定量的な reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR)を用いて、測定することにより、微小残存腫瘍(minimal residual disease=MRD)を定量できることを明らかにしてきた。この WT1 assay は、多くの臨床検体の測定結果より、末梢血では $1/10^5$ 、骨髄では $1/10^3$ の感度で、白血病細胞の検出が可能であることが判明している。そこで、この assay system を用いて、前処置の強さや HLA の不適合度が、どのように同種移植後の再発に影響を及ぼすかについて検討した。

B. 研究方法

1992 年 7 月から 2002 年 11 月までに、当科で同種造血幹細胞移植を受けた患者の中で、診断時に、 1×10^{-2} 以上(K562 における WT1 の発現レベルを 1.0 と定義)の WT1 高発現を示した白血病 74 症例を対象とした。74 例の内訳は AML51 例、ALL16 例、CML7 例であった。ドナーと患者との関係は、HLA 半合致血縁ドナー

29 例、血縁適合ドナー30 例、非血縁骨髄ドナー15 例であった。前処置の強さは、ミニ移植 17 例で、残りは通常の前処置であった。移植時の病期は、寛解期移植 30 例に対して、非寛解期移植は 44 例であった。発生した GVHD の頻度は、非寛解期例では、grade 0 33 例(75%)、grade I 2 例(4.5%)、grade II 4 例(9.1%)、grade III 5 例(11.4%)に対して、寛解期例では、grade 0 24 例(80%)、grade I 0 例(0%)、grade II 4 例(13.3%)、grade III 2 例(6.7%)であった。また、再発は、非寛解期移植 14 例(31.8%)に対して、寛解期移植 8 例(26.7%)であった。これらの移植において、移植前、および移植後 1 か月に、骨髄検体を採取し、WT1 遺伝子の発現レベルを測定した。また、キメラ遺伝子を発現している患者においては、同時に、その発現レベルを定量的 RT-PCR を用いて、測定した。これらの同種移植において、移植前、あるいは移植後の WT1 値が再発に及ぼす影響を、移植後の再発に関与すると、従来より考えられて来た他の因子(年齢、疾患名、急性 GVHD の有無、HLA 不適合度、前処置の強度)を加えて、多変量解析を行うことによって、解析した。

造血幹細胞移植の内、HLA 不適合移植のプロトコールは、大阪大学医学部医学倫理委員会で承認を受けた。また、全ての移植について、患者とその家族から、書面による informed consent を得た後、実施された。また、その結果の一部は論文などの形で公表されたが、

患者が特定されない様、匿名の形で行われた。

C. 研究結果

非寛解期移植例 44 例の解析では、移植後の WT1 の低値($P=0.012$)と前処置の強度の高さ($P=0.012$)が有意に再発率を低下させるという結果が得られた。急性 GVHD が発症しない場合、再発の relative risk は 3.52 倍と上昇したが、有意ではなかった($P=0.21$)。また、血縁者間 HLA 不適合移植は、非血縁者間移植に比べて、再発の relative risk は、0.43 倍と低かったが、これも有意ではなかった($P=0.37$)。また、寛解期移植例 30 例の解析では、移植前の WT1 の低値($P=0.047$)のみが、有意に再発率を下げるという結果が得られた。

いずれの病期においても、症例数が少なく、HLA 不適合であることが、有意に GVL 効果が高いことを証明することができなかったが、興味深い 2 症例を経験することができた。HLA 適合同胞から通常の前処置による骨髄移植を受けたが再発したため、HLA 不適合血縁ドナーから、ミニ移植を受けた、2 例の急性骨髄性白血病患者について、その MRD を WT1 assay を行うことにより、monitoring した。その結果、再移植時の MRD が初回移植時の MRD に比べて、有意に低いことが判明した (Transplantation, 78: 488, 2004)。通常、再発後、白血病の悪性度が一段と高くなることを考慮すると、この結果は、HLA 半合致ミニ移植が、通常の HLA 適合骨髄移植に比べて、より高い GVL 効果を有することを示唆している。

D. 考察

非寛解期移植では、前処置の強度が高いことと、移植後の MRD が低値であることが有意に移植後の再発率を下げる事が判った。従来から、再発率を下げる事が報告されていた、急性 GVHD の存在は、移植後の WT1 値に吸収されたか、あるいは、GVHD の治療で相殺されることにより、再発率に有意に影響を及ぼす因子として抽出されなかったと考えられる。寛解期移植では、移植前の MRD の高さが、再発率に影響を与える最も重要な因子であった。このことは、寛解期移植であっても、MRD の高さに基づいて、移植医療を行うべきであることを示している。非寛解期移植症例では、

前処置が弱いこと(ミニ移植)が再発率を上昇させることが明らかになったが、HLA 不適合 graft を用いると、GVL 効果を高め、ミニ移植のこの弱点を補うことができるかもしれない。しかし、これを確かめるためには、さらに多数例での検討が必要である。

E. 結論

WT1 高発現腫瘍においては、WT1 assay により、再発を早期に予測することが可能である。非寛解期移植では、前処置の強度を十分上げることが重要である。また、寛解期移植では、移植前に十分 MRD レベルを下げておくことが、再発率を下げるためには、重要である。ミニ移植時の再発率を下げる 1 つの手段として、HLA 不適合 graft の使用が示唆された。

F. 健康危険情報

特記すべきものなし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ogawa H, Tamaki H, Ikegame K, Soma T, Kawakami M, Tsuboi A, Kim EH, Hosen N, Murakami M, Fujioka T, Masuda T, Taniguchi Y, Nishida S, Oji Y, Oka Y and Sugiyama H.: The usefulness of monitoring WT1 gene transcripts for the prediction and management of relapse following allogeneic stem cell transplantation in acute type leukemia. Blood. 2003; 101: 1698-1704.
- 2) Tamaki H, Ikegame K, Kawakami M, Fujioka T, Tsuboi A, Oji Y, Oka Y, Sugiyama H, Kawase I, and Ogawa H. Successful engraftment of HLA-haploidentical related transplants using nonmyeloablative conditioning with fludarabine, busulfan and anti-T-lymphocyte globulin. Leukemia. 2003; 17: 2052-2054.
- 3) Tamaki H, Mishima M, Kawakami M, Tsuboi A, Kim EH, Hosen N, Ikegame K, Murakami M, Fujioka T, Masuda T, Taniguchi Y, Nishida S, Osumi K, Soma T, Oji Y, Oka Y, Kawase I, Sugiyama H, and Ogawa H. Monitoring minimal residual disease

in leukemia using real-time quantitative polymerase chain reaction for Wilms' tumor gene (*WT1*). International Journal of Hematology. 2003; 78: 349-356.

- 4) Ogawa H, Ikegame K, Kawakami M, Taniguchi Y, Oka Y, and Kawase I. Allogeneic bone marrow transplantation with non-T-cell-depleted marrow from two HLA-antigen-mismatched related donors. Haematologica. 2004; 89: 373-375.
- 5) Yoshihara S, Kato R, Inoue T, Miyagawa H, Sashihara J, Kawakami M, Ikegame K, Oka Y, Sugiyama H, Kawase I, and Ogawa H. Successful treatment of life-threatening human herpesvirus-6 encephalitis with donor lymphocyte infusion in a patient who had undergone HLA-haploidentical nonmyeloablative stem cell transplantation. Transplantation, 77: 835-838, 2004.
- 6) Ogawa H, Ikegame K, Kawakami M, and Tamaki H. WT1 gene transcript assay for relapse in acute leukemia after transplantation. Leukemia and Lymphoma, 45: 1747-1753, 2004.
- 7) Ogawa H, Ikegame K, Soma T, Kawakami M, Tsuboi A, Kim EH, Hosen N, Murakami M, Fujioka T, Masuda T, Taniguchi Y, Yoshihara S, Tatekawa T, Oji Y, Oka Y, and Kawase I. Powerful graft-versus-leukemia effects exerted by HLA-haploidentical grafts engrafted with a reduced-intensity regimen for relapse following myeloablative HLA-matched transplantation. Transplantation, 78: 488-489, 2004.
- 8) Ogawa H, Ikegame K, Kawakami M, Takahashi S, Sakamaki H, Karasuno T, Sao H, Kodera Y, Hira-

bayashi N, Okamoto S, Harada M, Iwato K, Maruta A, Tanimoto M, and Kawa K. Impact of cytogenetics on outcome of stem cell transplantation for acute myeloid leukemia in first remission: a large-scale retrospective analysis of data from the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. International Journal of Hematology, 79: 495-500, 2004.

- 9) Kim EH, Ikegame K, Kawakami M, Nishida S, Fujioka T, Taniguchi Y, Masuda T, Oka Y, Kawase I, and Ogawa H. Unmanipulated HLA-3-antigen-mismatched (haploidentical) reduced-intensity stem cell transplantation for a patient with leukemic transformation of myelodysplastic syndrome: Successful second transplantation after graft rejection. International Journal of Hematology, 80: 449-452, 2004.

2. 学会発表

- 1) 池亀和博、川上 学、藤岡龍哉、谷口裕紀、吉原 哲、白方俊章、西田純幸、升田知機、岡芳弘、小川啓恭：HLA haploidentical donor からの骨髓破壊的前処置を用いた造血幹細胞移植、第27回日本造血細胞移植学会総会
- 2) 吉原 哲、池亀和博、川上 学、藤岡龍哉、谷口裕紀、白方俊章、西田純幸、升田知機、岡芳弘、小川啓恭：血縁 HLA haploidentical donor からのミニ移植、第27回日本造血細胞移植学会総会

H. 知的財産権の出願。登録状況
特記すべきものなし。

厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）

分担研究報告書

「骨髄非破壊的前処置を用いた非血縁者間同種骨髄移植の臨床的検討（第2報）」

分担研究者 原 雅道 愛媛県立中央病院血液内科 部長

研究要旨：骨髄非破壊的前処置を用いた非血縁者間同種骨髄移植を施行し、臨床的検討を行った。対象は通常の骨髄破壊的前処置が施行不可能と診断された急性骨髄性白血病(AML)再発期 1例、急性リンパ性白血病 3例（第1寛解期 2例、再発期 1例）、慢性骨髄性白血病(CML)移行期 1例、成人T細胞性白血病(ATL) 3例（第1寛解期 2例、寛解導入不能例 1例）、骨髄異形成症候群 2例（RA1例、RAEB1例）、非ホジキンリンパ腫(NHL) 3例（第2寛解期 2例、寛解導入不能例 1例）、重症再生不良性貧血(SAA) 4例、ウイルス関連血球貪食症候群(VAHS) 1例、慢性活動性EBウイルス感染症(CAEBV) 1例、計 19例である。移植前処置は Fludarabine(F) +Busulfan(B)+TBI 11例、F+ Melphalan(M) 1例、F + M +Ara-C 1例、F+M+TBI 2例、F+ Cyclophosphamide(C) + ATG 4例である。移植の結果 19例中 17例に生着が得られ、19例中 13例が生存中であり、骨髄非破壊的前処置による非血縁者間同種骨髄移植は施行可能かつ有用な治療法と考えられた。

A. 研究目的

骨髄破壊的前処置を用いた通常の同種骨髄移植を行うことが困難な高齢者や臓器障害、感染症などの合併症を有する症例に対して、骨髄非破壊的前処置を用いた非血縁者間同種骨髄移植を行うことにより、移植の適応を拡大することを目的とした。

B. 研究方法

対象は 2001 年 10 月～2004 年 10 月の間に当科で骨髄非破壊的前処置を用いて非血縁者間同種骨髄移植を施行した 19 例で、病型別では急性骨髄性白血病(AML)再発期 1 例、Ph1 陽性急性リンパ性白血病 3 例（第 1 寛解期 2 例、再発期 1 例）、慢性骨髄性白血病(CML)移行期 1 例、成人 T 細胞性白血病 (ATL) 3 例（第 1 寛解期 2 例、寛解導入不能例 1 例）、骨髄異形成症候群 2 例（RA1 例、RAEB1 例）、非ホジキンリンパ腫(NHL) 3 例（第 2 寛解期 2 例、寛解導入不能例 1 例）、重症再生不良性貧血(SAA) 4 例、ウイルス関連血球貪食症候群(VAHS) 1 例、慢性活動性EBウイルス感染症(CAEBV) 1 例である。

全例通常の移植が困難と判断した症例で、年齢は 17～62 歳（中央値 38 歳）、男女比は 10 : 9 である。ドナーとレシピエントの HLA は遺伝子型一致 12 例、遺伝子型不一致 5 例、血清型 1 座不一致 2 例である。

移植前処置は Fludarabine(F) +Busulfan(B)+TBI 11 例、F+ Melphalan(M) 1 例、F + M +Ara-C 1 例、F+M+TBI 2 例、F+ Cyclophosphamide(C) + ATG 4 例で、原則として造血器腫瘍には F + B + TBI を、SAA には F + C + TBI を施行した。

GVHD 予防には HLA 一致例には Cyclosporin+MTX、DNA 不一致も含めた HLA 不一致例には、FK + MTX を使用した。

なお移植に際しては、あらかじめ通常の骨髄破壊的前処置法による移植ではリスクが大きいこと、骨髄非破壊的前処置法の長所、短所などを詳細に説明し、同意を得て施行した。

C. 研究結果

前処置に伴うおもな副作用としては FC+ATG の前処置で 4 例中 2 例に軽度の肝機能障害が認められた。他には食欲低下、全身倦怠感が認められたものの全例施行可能であった。移植有核細胞数は $1.7\sim 3.8\times 10^8/\text{kg}$ （中央値 $2.8\times 10^8/\text{kg}$ ）であった。生着は全体で 19 例中 17 例に得られたが、SAA に行った F C + ATG の前処置では 4 例中 2 例が拒絶された。うち 1 例は生着後の Graft failure であった。好中球数が $500/\mu\text{l}$ 以上。血小板数 $50,000/\mu\text{l}$ 以上、網状赤血球数 1%以上に要した日数の中央値はそれぞれ 17 日、27 日、24 日であ

った。急性 GVHD は評価可能 13 例中 12 例に発症し、I 度 3 例、II 度 7 例、IV 度 2 例で、II～IV 度の重症 GVHD は 9 例（75%）と比較的多い傾向が見られた。しかしながらこのうち 7 例は II 度の GVHD であり、IV 度の症例も含め全例コントロール可能であった。慢性 GVHD は評価可能 12 例中 7 例に発症し、Limited type 2 例、Extensive type 5 例であった。おもな合併症としては血栓性微少血管病変（TMA）2 例、脳出血 2 例、びまん性肺胞出血（DAH）1 例、心不全 1 例であり、これらは死亡原因となった。

観察期間は短い、19 例中 13 例が生存中であり、6 例が合併症のため死亡した。

D. 考察

骨髄非破壊的前処置を用いた造血幹細胞移植は近年急速に普及しつつある。本領法が有効な治療法であるか否かは、綿密にデザインされた臨床研究として行われる必要があり、50 歳以上の白血病、MDS、悪性リンパ腫を対象とした厚生労働科学研究「高上班」の研究が進行中である。50 歳未満を対象とした同じ目的の本研究班の臨床研究の一環としてわれわれは、骨髄非破壊的造血幹細胞移植において、移植する造血幹細胞は骨髄でも可能か否かを非血縁ドナーからの骨髄移植で検討したわけであるが、その結果、生着は全体で 19 例中 17 例に得られた。骨髄非破壊的前処置において、免疫抑制を十分行えば、非血縁ドナーの骨髄を用いた造血幹細胞移植で十分生着は可能であることが示された。ただ SAA に対する FC+ATG による前処置は血縁間で、あるいは末梢血幹細胞移植であれば有効な方法の一つ

と考えられるが、非血縁の骨髄移植では 4 例中 2 例が拒絶されたことから、この方法では不十分であり、今後は TBI を含む前処置に変更し実施する方針である。

急性 GVHD に関しては重症 GVHD が 75% に発症し、コントロール可能であったが、比較的多い傾向がみられ、今後注意深い観察が必要である。

E. 結論

骨髄非破壊的前処置を用いた非血縁者間

骨髄移植を施行した結果、19 例中 17 例に生着が得られ、19 例中 13 例が生存中である。骨髄非破壊的造血幹細胞移植は非血縁の骨髄移植でも十分可能かつ有用な治療法と考えられた。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

該当なし

2. 学会発表

- 1) 骨髄非破壊的前処置を用いた非血縁者間同種骨髄移植の臨床的検討：原 雅道、谷本一史、中瀬浩一、小塚輝彦、名和由一郎 第 66 回日本血液学会総会・第 46 回日本臨床血液学会総会 2004 年 9 月

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）

分担研究報告書

「若年者骨髄性造血器腫瘍を対象とした骨髄破壊的全処置と骨髄非破壊的前処置を用いた同種末梢血移植の比較検討に関する研究」

分担研究者 河野 文夫 国立病院機構 熊本医療センター 臨床研究部長

研究要旨：骨髄非破壊的前処置による移植の有用性を、従来型骨髄破壊的前処置を用いた移植と比較し研究する。

A. 研究目的

骨髄非破壊的移植(RIST; reduced intensity stem cell transplantation)は高齢者や合併症を持つ患者を中心に施行され、安全性・有効性が確かめられつつある。これによると骨髄破壊的移植(CST; conventional stem cell transplantation)と比べ効果は同等で安全性については同等もしくは優れている可能性がある。本研究では骨髄非破壊的移植が若年者においても有用であるか検証する。

B. 研究方法

移植以外に有効な治療がないと考えられる骨髄系血液悪性腫瘍の症例において、年齢・性別・疾患などのバックグラウンドをそろえ骨髄非破壊的移植と骨髄破壊的移植のランダム化試験を行う。

C. 研究結果

当院では2000年10月より2004年12月まで前処置にフルダラビンを加えたミニ末梢血幹細胞移植(RIST)を41例、通常の前処置による末梢血幹細胞移植(CST)を51例施行した。RIST群の年齢は16～68歳(平均年齢57.5歳)で疾患の内訳はAML8例、ALL4例、ATL5例、MDS7例、CML3例、再生不良性貧血2例、多発性骨髄腫4例、NHL8例を対象とした。前処置としてFlu/BUを28例、Flu/BU/ATG1例、Flu/Cy8例、Flu/L-PAMを4例に行った。一方CST群の年齢は16～62歳(平均年齢39.5歳)、AML18例、ALL7例、ATL7例、MDS3例、多発性骨髄腫1例、CML9例、NHL6例に対しTBIを含んだ前処置8例、BU/CYを43例に施

行した。100日以内の非再発死亡はRIST群では評価可能例38例中7例、CST群では44例中8名に認められた。一年生存はRIST群、CST群それぞれ24例中19例、41例中27例、一年累積再発はRIST群、CST群それぞれ27例中10例、35例中14例であった。両群を50歳以上にしぼって比較すると100日以内の非再発死亡はRIST群では評価可能例24例中5例、CST群では16例中4例であった。

D. 考察

当院において、比較的高齢の移植適応者を中心にRISTを導入し約5年が経過した。現在までのところ100日以内の非再発死亡、一年生存はCSTとの明確な差は認められず効果に関して問題はなかった。今後は症例を積み重ね、RISTを積極的に選択すべき疾患・状態、またRISTを避けるべき状況などを明確にしておく必要がある。

E. 結論

RISTはCSTと効果・合併症発症率はほぼ同等である。

F. 健康危険情報

とくになし

G. 究発表

学会発表

1) T Teshima, F Kawano, et al:

Impact of HLA Mismatch on the Incidence of Acute

Graft-versus-host Disease and Rejection after
Reduced-intensity Conditioning Hematopoietic
Stem Cell Transplantation. 46th ASH Annual
Meeting 2004.12.6-9 San Diego

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

厚生労働科学研究補助金（がん臨床研究事業）

分担研究報告書

「若年者骨髄性造血器腫瘍を対象とした骨髄破壊的全処置と骨髄非破壊的前処置を用いた同種末梢血移植の比較検討に関する研究」

分担研究者 豊嶋 崇徳 九州大学病院 遺伝子・細胞療法部 助教授

研究要旨：造血幹細胞移植後に sphingosin-1-phosphate (S1P) 受容体を刺激することによりドナーT細胞をリンパ節に隔離することが可能である。その場合、ドナーT細胞がリンパ節内の宿主抗原提示細胞により過剰に活性化され、アポトーシスをおこしアロ応答性が低下することが明らかになった。新たな in vivo での抗原特異的免疫寛容導入の可能性が示唆された。

A. 研究目的

骨髄非破壊的前処置を用いた移植法においても、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。非破壊的前処置においては、ドナーT細胞の移植後早期の活性化の程度が弱いためにアポトーシスによる活性化細胞死(AICD)が誘導されず、移植後後期にGVHDが増悪する可能性がある。われわれは、ドナーT細胞がその活性化の場であるリンパ節に留まることにより、宿主抗原提示細胞(APC)との長期にわたる相互作用によって過剰な活性化を起こし、ドナーT細胞にアロ抗原特異的AICDが誘導されると仮説を立てた。これを証明するため sphingosin-1-phosphate (S1P) 受容体であるFTY720を投与し、GVHDが抑制できるか検討した。

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 B6D2F1(H-2^{b/d})、ドナーとして B6(H-2^b)を用いた。両者はMHC不適合で、強いGVHDが発症する。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(4 x 10⁶)と脾T細胞(1-4 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。FTY720はNovartis Pharma AG(スイス)より供与された。移植後

day 0から0.3mg/kgを経口投与した。移植後には血清中のサイトカインをELISA法にて測定し、腸間膜リンパ節から細胞を経時的に回収し、その増殖とアポトーシスの経時的変化を調べた。また、この細胞を二次ホストに adoptive transfer することにより in vivo でのアロ応答性を検討した。

<倫理面への配慮>

岡山大学、九州大学における動物実験のガイドラインを遵守した。

C. 研究結果

FTY720投与群では移植後の腸間膜リンパ節におけるアロ応答性ドナーT細胞の早期の過剰増殖が起こり、IFN- γ 産生能も増加し、活性化され、annexin陽性細胞が増加し、やがてドナーT細胞数はコントロール群よりも早期に減少した。移植後6日目にB6D2F1レシピエントの腸管膜リンパ節よりT細胞を分離し、二次B6D2F1レシピエントへと adoptive transfer を行った。その結果FTY720投与群より分離したT細胞を transfer した群では生存率が有意に上昇した。これらの結果からFTY720投与によってドナーT細胞のアロ応答性は、すでにリンパ節内で低下していることが証明された。

D. 考察

FTY720はS1P受容体を介してT細胞のリンパ節からの遊出を阻止する。移植後にドナーT細胞を活性化

するのは、リンパ節の宿主 APC であり、FTY720 の影響によって、リンパ節内で、T 細胞と APC の相互作用が増強されることにより、アロ応答性 T 細胞の AICD が促進されることが明らかになった。造血幹細胞の最大の合併症である GVHD を予防する最も有効な現行の手段は T 細胞除去であるが、その場合、移植後の免疫不全が高度であり、致死的な日和見感染症の頻発が問題となっている。FTY720 投与では、抗原特異的な AICD が誘導される可能性があり、免疫不全を伴わない新たな GVHD 予防法と考えられる。通常、このような抗原特異的免疫寛容の導入には ex vivo での培養操作を要するが、本法では、in vivo で達成可能であり、臨床応用に適応可能である。

E. 結論

造血幹細胞移植後に sphingosin-1-phosphate (S1P) 受容体を刺激することによりドナー T 細胞をリンパ節に隔離することが可能である。その場合、ドナー T 細胞がリンパ節内の宿主抗原提示細胞により過剰に活性化され、アポトーシスをおこしアロ応答性が低下することが明らかになった。これにより、新たな in vivo での抗原特異的免疫寛容導入の可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Teshima T, Ferrara JLM: Pathophysiology of acute graft-versus-host disease. In : Soiffer R (ed): Stem Cell Transplantation for Hematologic Disorders, pp. 135-158, The Humana Press, Totowa, NJ, USA, 2004.
- 2) Kozuka T, Ikeda K, Teshima T, Kojima K, Matsuo K, Bessho A, Sunami K, Hiramatsu Y, Maeda Y, Noguchi T, Yamamoto K, Fujii N, Imai T, Takenaka K, Shinagawa K, Ishimaru F, Niiya K, Koide N, Tanimoto M, Harada M: Peripheral blood circulating immature cell count predict CD34+ cell yield in G-CSF-induced PBSC mobilization in healthy

donors.

Transfusion 44(4): 526-532, 2004.

- 3) Duffner U, Maeda Y, Cooke KR, Reddy P, Ordemann R, Liu C, Ferrara JLM, Teshima T: Host Dendritic cells alone are sufficient to initiate acute graft-versus-host disease.

Journal of Immunology 172(12): 7393-7398, 2004.

- 4) Hashimoto D, Asakura S, Miyake S, Yamamura T, Van Kaer L, Liu C, Tanimoto M, Teshima T: Stimulation of host NKT cells by synthetic glycolipid regulates acute graft-versus-host disease by inducing Th2 polarization of donor T cells. Journal of Immunology 174 (1): 551-556, 2005.

- 5) Maeda Y, Levy RB, Reddy P, Liu C, Clouthier SG, Teshima T, Ferrara JLM (equally contributing senior author): Both perforin and Fas ligand are required for the regulation of alloreactive CD8+ T cells during acute graft-versus-host disease. Blood, 105 (5): 2023-2027, 2005.

2. 学会発表

- 1) Teshima T : Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation against solid tumors. The 11th Meeting of Transplantation and immunoregulation 21. 2004年11月27日. 東京
- 2) Teshima T : Role of antigen-presenting cells on graft-versus-host disease and graft-versus-tumor effects. The Xth Congress of the International Society of Hematology, Asian-Pacific Division. Sep 1-4, 2004, Nagoya, Japan
- 3) 豊嶋崇徳 : GVHD の発症メカニズム. 第46回小児血液学会. 2004年11月22-23日. 京都(シンポジウム)
- 4) Asakura S, Hashimoto D, Matsuoka K, Sakoda Y, Tanimoto M, Teshima T: Alloantigen expression on host target epithelium inhibits graft-versus-leukemia effects. 46th Annual Meeting of The American Society of Hematology. Dec 4-7, 2004, San Diego, USA
- 5) Hashimoto D, Asakura S, Matsuoka K, Sakoda Y, Tanimoto M, Teshima T: FTY720-induced se-

questration of donor T cells in Lymph nodes reduced graft-versus-host disease. 46th Annual Meeting of The American Society of Hematology. Dec 4-7, 2004, San Diego, USA

- 6) 橋本大吾、朝倉昇司、三宅幸子、山村隆、Van Kaer Luc、谷本光音、豊嶋崇徳。NKT 細胞刺激による急性GVHD予防。第66回日本血液学会総会、第46回日本臨床血液学会総会。2004年9月17-19日。京都
- 7) 朝倉昇司、橋本大吾、松岡賢市、佐古田幸美、谷本光音、豊嶋崇徳。レシピエント非血液細胞に発現するアロ抗原は GVL 効果を減弱する。

第27回日本造血幹細胞移植学会総会。2004年12月16-17日。岡山

H. 知的所有権の出願・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

厚生労働科学研究補助金（がん臨床研究事業）

分担研究報告書

「通常移植とみに移植後の生殖機能保存の検討」

分担研究者 武元 良整 シーピーシークリニック 副院長

研究要旨：造血細胞移植の目的は難治性血液疾患に対する治癒を目的とした治療である。したがって、移植後の社会復帰に必要な日常生活動作の維持や生活の質は二次的なものとして置き去りにされがちである。移植前後に、リハビリを指導し、1.廃用症候群の予防 2.移植症例の心理的賦活を狙い、かつリハビリ目標として1.持久力、筋力、柔軟性そして平衡感覚の維持を上げた。ミニ移植と従来型の移植との間で比較した。その結果、筋力と持久力はミニ移植で良い傾向を認めた。

A. 研究目的

移植前後のリハビリの意義。

B. 研究方法

移植前から移植病室で運動指導を行う。ミニ移植(nonmyeloablative SCT)と従来型の移植(Conventional SCT)との間で比較。

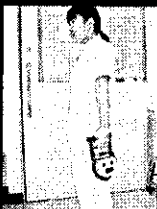
評価項目は図1. に示すような平成11年度文部科学省新体力テストの65歳から79歳用の4項目。A.握力 B.バランス、開眼片脚立ち C.持久力、6分間歩行テスト D.柔軟性、長座位体前屈である。評価は移植前、移植後30日そして100日である。定期的に作業療法士が病室を訪問する。

C. 研究結果

対象は平成14年9月から16年3月の17ヶ月間に施行した造血細胞移植46例のうち本人の同意が得られ、移植後も体力評価が可能であった11例である。移植前、移植後30日そして100日の3点で評価した。1.完遂率とは、すべての評価項目が検査可能であった場合を100%とした。これは移植前と移植後30日とで評価した。ミニ移植では7例中4例、57%。従来型の移植では4例中1例のみ、25%。 2.移植後30日での体力評価改善率、ミニ移植ではA.握力33%、B.バランス、開眼片脚立ち80%、C.持久力6分間歩行テスト40%、D.柔軟性、長座位体前屈50%の改善がみられた。従来型の移植ではA.握力0%、B.バランス、開眼片脚立ち66%、

C.持久力、6分間歩行テスト0%、D.柔軟性、長座位体前屈100%の改善であった。3.移植後100日では、ミニ移植でA.握力0%、B.バランス、開眼片脚立ち100%、C.持久力、6分間歩行テスト60%、D.柔軟性、長座位体前屈60%。従来型の移植ではA.握力0%、B.バランス、開眼片脚立ち33%、C.持久力、6分間歩行テスト66%、D.柔軟性、長座位体前屈75%の改善であった。

平成11年度文部科学省新体力テスト・4項目



A.筋力-握力



B.バランス-開眼片脚立ち



C.持久力-6分間歩行



D.柔軟性-長座位体前屈

図1.

D. 考察

移植におけるリハビリテーションの意義として以下の事が考えられる。廃用症候群の予防、活動性の向上、心理的賦活、QOLの向上そして早期退院と社会復帰などである。今回の比較ではミニ移植がリハビリ完遂率もよく、早期退院が可能である事が予想された。また、握力と持久力に優れる傾向も認められた。さらに、多数例での検討が必要である。

E. 結論

QOLの一つとしての日常動作による体力回復の評価はこれまで、報告が少ない。今回の試みは高齢者のみならず、若年層に対しても 1.早期退院へ向けての取り組み 2.移植関連毒性の少ない移植方法の追求 3.治療目的は病気の治療だけでなく、日常生活や社会への復帰を目的とする。等に向けての新しい情報を提供できる研究と考えられる。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Obama K, Utsunomiya A, Takatsuka Y and

Takemoto Y. Reduced α -intensity non-T cell depleted HLA-haploidentical stem cell transplantation for older patients based on the concept of fetomaternal tolerance. Bone Marrow Transplant 2004, 34: 897-899.

2. 学会発表

- 1) Takemoto Y. • High risk of CMV infection and disease in adult T cell leukemia /lymphoma(ATL) patients following allogeneic stem cell transplantation. • The Xth congress of the international society of hematology, Asian-Pacific Division. (Nagoya,Japan) • 2004.
- 2) 武元良整、他：骨髄非破壊的移植 (RIST) の生存に関する因子。ワークショップ 16-4、2004年12月、第27回日本造血細胞移植学会 (岡山)
- 3) 岩尾あさ子、村山芳博、堂園浩一朗、武元良整：移植前後の体力評価完遂率と体力評価改善率。2004年12月、第27回日本造血細胞移植学会 (岡山)
- 4) 武元良整、他：造血細胞移植後のCMV抗原血症陽性例の検討。第78回日本感染症学会総会 2004年4月6,7日 (東京)

厚生労働科学研究補助金（がん臨床研究事業）

分担研究報告書

「造血器幹細胞移植後の結核症についての臨床病理学的検討」

分担研究者 吉村 邦彦 国家公務員共済組合連合会 虎の門病院 呼吸器センター内科 部長
研究協力者 川畑 雅照, 坂本 晋, 岸 一馬, 本間 栄 虎の門病院 呼吸器センター 内科

研究要旨：1993年から2003年までに当院で造血器幹細胞移植を施行した242例を対象に、移植後の結核症について臨床病理学的に検討した。結核症は3例(1.24%)あり、全例が臍帯血移植後であった。1例で移植前の胸部X線で陳旧性肺結核の所見を認めたが、2例では結核を疑う病歴や所見を欠いていた。発症時の症状は、全例が抗菌薬不応性の発熱で、呼吸器症状は顕著でなかった。発症時の胸部X線は、全例で肺結核や粟粒結核の典型像と異なっていた。強力な治療にも拘らず、3例中2例が死亡し(死亡率66.7%)、予後は不良であった。2剖検例の検討では、結核病巣は乾酪壊死巣が主体で結核症に特徴的な類上皮肉芽腫は認めなかった。

A. 研究目的

造血器幹細胞移植は、造血器悪性腫瘍などの治療として近年広く普及してきた。しかし、その呼吸器系合併症の頻度は高く、同種骨髄移植の検討では40～60%の高頻度に及び、移植関連死の10～40%を占めるため、予後に大きく影響している。呼吸器系は、病原微生物の進入門戸となるため、様々な呼吸器感染症が問題となる。

一方、わが国において、結核症はありふれた感染症であり、2002年の統計でも1年間に3万人を超える結核患者が新規発生例として保健所に届けられている。

人口10万人対の新登録患者数（結核罹患率）は25.8と、欧米先進諸国と比較すると高いものとなっている。

しかしながら、造血器幹細胞移植後の結核症については、これまでのところ詳細な報告はわが国に無く、発症頻度や臨床像、病理学的な特徴などは明らかにされていない。そこで今回、われわれは造血器幹細胞移植に伴う結核症の病態について臨床病理学的に明らかにすることを目的に本研究を行なった。

B. 研究方法

1993年から2003年までの11年間に、当院において造血器幹細胞移植が行われた242例（同種骨髄移植82例、末梢血幹細胞移植65例、臍帯血移植95例）の中で、移植後に結核症を発症した症例の臨床像についてレトロスペクティブに検討し、さらに剖検が得られた症例については、その組織学的特徴について病理学的に検討した。

C. 結果

1993年から2003年までの11年間に施行された造血器幹細胞移植242例の中で結核症を発症したものは3例(表1)であり、発症率は1.24%であった。全てが臍帯血移植であり、平均年齢は51.7歳(24, 64, 67歳)、女性2例、男性1例であった。移植前の造血器腫瘍としては、急性白血病が2例、慢性骨髄性白血病急性転化が1例であった。結核症の発症形式は、全例が粟粒結核で全身多臓器への播種が認められた。

表1. 造血器幹細胞移植後の結核症

	年齢・性別	原疾患	移植	発症	初発症状	診断	予後
症例1	67, M	CML-BC	CBT	60日	発熱BAL		死亡(119日)
症例2	64, F	AML	CBT	24日	発熱BAL		死亡(56日)
症例3	24, F	AML	CBT	35日	発熱BMA		生存(+300日)

CML-BC: 慢性骨髄性白血病急性転化, AML: 急性白血病, CBT: 臍帯血移植, BAL: 気管支肺胞洗浄, BMA: 骨髄穿刺

3例ともに結核の既往はなかったものの、移植前の胸部X線では1例で陳旧性肺結核と考えると矛盾しない右下葉肺底部の石灰化巣を認めた。他の2例では移植前の胸部X線に異常は認めなかった。

結核の発症は平均移植後39.6日(24, 60, 35日)であった。初発時の症状としては、全例で抗菌薬不応性の38℃を越える発熱であり、咳嗽、喀痰、呼吸困難などの呼吸器症状は顕著でなかった。

発症時の胸部単純X線および胸部CTの所見は、全例が典型的な肺結核あるいは粟粒結核と異なるものであり、放射線専門医による読影でも結核の疑いと報告された症例はなかった。胸部単純X線は、1例で両側性の結節影を認めたのみで、他の2例では移植前と比較して変化を認めなかった。胸部CT所見は、2例に肺野病変を認め、1例では肺野に異常は認めず縦隔リンパ節の腫大のみであった。移植前に右下葉肺底部の石灰化巣を認めた症例では、その近傍に小さなコンソリデーションとこれに関与する気管支壁の肥厚を認め気管支肺炎が疑われ、別の1例では一部に空洞を伴う両側性の多発結節影を認め真菌感染が疑われた。

診断は、肺野病変を認めた2例で気管支鏡を施行し、気管支肺胞洗浄液の抗酸菌塗抹、培養あるいはPCRより診断し、肺野病変のなかった1例では骨髄穿刺液のPCRの陽性所見より結核と診断した。症状出現より診断までの期間は平均17.6日(18, 21, 14日)であった。

治療としては、全例で抗結核薬としてイソニアジド、リファンピシンおよびエサンブトールまたはストレプトマイシンに加えた3剤が開始され、さらに結核菌に抗菌活性のあるフルオロキノロンも追加されていた。しかしながら、肺野病変を認めた2例ではARDSを併発し呼吸不全で死亡した。肺野病変のなかった症例のみが長期生存しており、死亡率は66.7%であった。

死亡した2例で剖検が行われ、結核病巣について病理組織学的に検討した。剖検肺の肉眼所見では、2例ともに両側肺に粟粒結核を疑う米粒～大豆大の白色の小結節が散在していた。これらの結節は組織学的には、組織球とリンパ球の浸潤を伴う乾酪壊死巣で、抗酸菌染色では内部に多数の抗酸菌を認め、粟粒結核病巣と診断された。しかしながら、壊死巣周囲の組織の反応は微弱であり、結核症に特徴的な類上皮肉芽腫は認め

ず、これらの所見は2例に非常に類似したものであった。同様の粟粒結核の所見を肝臓、脾臓、骨髄、リンパ腺、甲状腺に認めた。

D. 考察

今回の検討で、造血器幹細胞移植242例の中で結核症を発症した3例は全てが臍帯血移植後であったが、この理由として幾つかの機序が想定される。

第一に、臍帯血移植は同種骨髄移植や末梢血幹細胞移植と比較して、生着に時間を要し、免疫能の回復が遅れることが挙げられる。このため、臍帯血移植後には、他の移植源と比較して、感染症の頻度が高いと言われており、結核症の発症頻度の増加にも関連している可能性がある。

第二に、臍帯血移植の対象となる患者は高齢であることが挙げられる。これは、最近の骨髄非破壊的造血器幹細胞移植(ミニ移植)の普及に伴って、臍帯血移植の対象となる患者が高齢者にも拡大したためである。今回の検討でも、同種骨髄移植(n=82)の平均年齢が43.2歳であるのに対して、臍帯血移植(n=95)の平均年齢は51.6歳であった。近年わが国の結核患者は、高齢者の内因性再燃の増加が問題となっており、2002年には新登録患者における70歳以上の高齢者の割合は4割を超えた。臍帯血移植では60歳以上の患者も稀ではなく、結核既感染の再燃のリスクが高くなるものと考えられる。

第三に、臍帯血移植患者においてはドナーからの結核に対する細胞性免疫の移行がないことが考えられる。同種骨髄移植では成人をドナーとするため、ドナーのBCGの接種や結核菌の曝露に伴う結核に対するTリンパ球を介する細胞性免疫が、移植によってレシピエントに移行しうる。一方、臍帯血移植においては、ドナーは新生児であるためBCGの接種歴や結核菌の曝露の既往がない。このため、臍帯血に含まれるリンパ球は、結核に対する細胞性免疫は有していないと考えられる。臍帯血移植患者においては、自らの結核への免疫を有するリンパ球が、移植前の前処置や移植片対宿主効果により破壊され、これに代わるドナーからのリンパ球が結核に対して細胞性免疫がないため、結核に対する免疫が著しく低下しているものと予想される。

結核症の発症は、全例が移植後2カ月以内で、免疫能が著しく低下している時期であった。発症形式は、移植前の胸部CTで陳旧性石灰化巣を認めた1例では既感染の再燃が疑われたが、発症時に肺野病変はなく縦隔リンパ節腫脹のみを来した症例は24歳と若年であったことから初感染と考えられた。発症時の症状は、全例が抗菌薬不応性の発熱で呼吸器症状に欠けていたが、これは発症時より全身への播種を伴う粟粒結核であったためと考えられる。

造血幹細胞移植後の結核症の診断は、胸部の画像所見だけでは困難であった。発症時の胸部単純X線で異常所見を認めたのは1例のみで、それも典型的な結核の所見とは異なっていた。胸部CTでは全例に異常所見を認めたものの、結核症に非典型的な所見であり、放射線専門医の読影でも結核を疑われた症例はみられなかった。肺野病変を認めた2例では、結核症の診断に気管支鏡検査が有用であった。今回の検討では、全例が症状出現より2-3週程度で診断されており、結核診断におけるdoctor's delayは比較的短期間であったが、造血器幹細胞移植後という著しい免疫抑制状態の患者においては、さらに早期の適切な診断が必要と考えられる。

治療としては、全例で診断後速やかにフルオロキノロンを含む4剤以上の強力な併用療法が行われていた。しかしながら、長期生存が得られたのは1例のみで、その死亡率は66.7%と、造血器幹細胞移植後の結核症は予後不良の合併症と考えられた。

剖検例の検討では、粟粒結核の病巣は2例ともに組織球とリンパ球の浸潤を伴う乾酪壊死巣であり、結核症に特徴的な類上皮肉芽腫は認めなかった。造血器幹細胞移植後の細胞性免疫の低下により結核病巣に対する反応が減弱し、乾酪壊死巣周囲に肉芽腫を形成するだけの反応が得られなかったことが推察された。

E. 結論

1. 造血器幹細胞移植後に、稀ながら結核の発症を認めることがある。
2. 今回の検討では、結核は臍帯血移植後にのみ発症した。その機序として、臍帯血移植は他の造血幹細胞移植と比較して免疫能の回復が遅いこ

と、対象患者が高齢であり既感染の再燃が起るリスクが高くなること、ドナーからの結核の細胞性免疫が移行しないことなどが考えられる。

3. 造血器幹細胞移植後の結核は、典型的な結核の画像所見や臨床所見を欠き、診断が困難となりやすい。
4. 造血器幹細胞移植後の結核は粟粒結核の病型を示し、早期に全身播種しやすく、強力な治療にも拘らず進行し予後不良となることがある。
5. 造血器幹細胞移植後の結核の組織所見は、乾酪壊死が主体であり、典型的な類上皮肉芽腫を形成しない傾向がある。これは、造血器幹細胞移植後の細胞性免疫が微弱で肉芽腫を形成するだけの免疫反応を惹起できないためと考えられる。

F. 健康危険情報

造血器幹細胞移植後に稀ながら結核の発症を認めることがあり、特に臍帯血移植に発症しやすい可能性がある。造血器幹細胞移植後の結核症は、典型的な臨床像や画像所見を欠くため診断が困難である。また、早期より全身播種し治療抵抗性で予後不良となる。このため、臍帯血移植後早期に抗菌薬に不応性の発熱を来した場合は、結核感染も鑑別診断の一つとして挙げ、気管支鏡や骨髄穿刺などを施行し、結核症の検索を積極的に行なうべきである。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 坂本 晋,本間 栄,中谷龍王,川畑雅照,岸 一馬,坪井永保,成井浩司,五十嵐正博,林 昌洋,中田紘一郎,吉村邦彦. Vancomycin 無効で linezolid が奏功した MRSA 敗血症の 1 例. 日本化学療法学会雑誌, 51(9):579-582, 2003.
- 2) 岸 一馬,本間 栄,黒崎敦子,中村茂樹,吉村邦彦. 画像上 BOOP との鑑別を要した原発性肺クリプトコッカス症の 1 例. 日本感染症学会雑誌, 78:327-330, 2004.
- 3) 川畑雅照,本間 栄,坂本 晋,岸 一馬,坪井永保,中田紘一郎,吉村邦彦. 両側肺浸潤影と抹消血好酸球増多を呈した原発性肺コクシディオイデス症