

3. 米国血液学会(アトランタ) 2005年12月
Matsui T. et al. 他8名
Cell adhesion and migration regulated by EphB6 expressed on human hematopoietic progenitors
4. 日本造血幹細胞移植学会(東京) 2006年2月
 - ①鶴岡真理子、松井利充 他4名
急性 GVHD 予防・短期 MTX 投与後の口内炎発症予防におけるクライオセラピー有効性の検討
 - ②松井裕子、松井利充 他10名
末梢性 T 細胞性リンパ腫(PTCL)に同種移植が奏功した3症例

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
該当なし
2. 実用新案登録
該当なし
3. その他
該当なし

『細胞移植療法の適応拡大と効率化を目指した共同研究組織の構築』

分担研究者 金丸 昭久 近畿大学医学部/血液内科 教授

研究要旨

移植医療において輸血部は種々の面において重要な役割を担う。当然ながら、各患者の貧血、血小板減少の状態を把握し、赤血球製剤、血小板製剤および新鮮凍結血漿の供給をおこなう。それ以外にも、ドナーからの末梢血幹細胞採取、採取細胞のCD34陽性細胞への純化、ABO血液型不適合移植におけるドナー細胞からの赤血球や血漿成分の除去、ABO血液型不適合移植におけるレシピエントの赤血球抗原や凝集素価の測定、ドナーおよびレシピエントのHLAの確認、VNTRによる生着確認など、移植医療において輸血部は欠かせない存在となっている。近年、移植後の血栓性微小血管障害（thrombotic microangiopathy: TMA）が注目されているが、発症時には新鮮凍結血漿の輸注や血漿交換が行われ、このような治療においても輸血部の貢献が大きい。このTMAに含まれる血栓性血小板減少性紫斑病（thrombotic thrombocytopenic purpura: TTP）の診断に重要であることが明らかになったADAMTS13活性を輸血部において経時的に測定することによって、より迅速な診断と効率的な治療に寄与できると考えられる。

A. 研究目的

血栓性微小血管障害(thrombotic microangiopathy: TMA)は、微小血管の障害に基づく、1) 微小血管性溶血性貧血、2) 消耗性の血小板減少症、3) 微小循環不全に基づく臓器障害の3つを特徴とする症候群で、発症機序は、毛細血管や細動脈の内皮細胞障害によって血小板血栓が生じることによるものと考えられている。近年、造血幹細胞移植後にしばしばTMAを発症し、予後不良となっている。造血幹細胞移植では、移植前処置として強力な化学療法と、しばしば全身放射線照射を受けるため、全身の毛細血管や細動脈の内皮細胞が障害されると考えられる。さらに、移植後には急性移植片対宿主病（acute graft-versus-host disease: GVHD）を予防するために免疫抑制剤（二次性のTMAの誘因となり得る）を用い、また急性GVHDを発症した場合にも免疫抑制剤を用いるため、高頻度にTMAを発症する。

移植後のTMAの好発部位は腸管や、皮膚、肝臓であるが、これらは移植後のもっとも重要な合併症である急性GVHDの標的臓器でもある。さらに、このTMAと急性GVHDは臨床像では鑑別することは不可能に近く、組織所見による鑑別が不可欠である。加えて、TMAと急性GVHDの治療法は正

反対で、急性GVHDが免疫抑制を強化するのに対して、TMAでは免疫抑制剤がその病状を増悪することがわかっている。迅速かつ正確にこの両者を鑑別し、治療を開始しなければならないが、移植後に大腸カメラを施行することは容易ではなく、生検標本を得ることも困難である。われわれはこれまでにTMAを早期に診断する目的で、移植前から経時的に凝固系検査および内皮細胞障害に関する検査を行うとともに、赤血球の破碎を顕微鏡的に確認し、一定の効果が得られてきた。TMAは、精神神経症状がみられる血栓性血小板減少性紫斑病（thrombotic thrombocytopenic purpura: TTP）と、進行性の腎機能障害がみられる溶血性尿毒症症候群（hemolytic uremic syndrome: HUS）の総称名として用いられているが、TTPの発症に関与していることが明らかになったADAMTS13活性を輸血部において経時的に測定し、かつ従来から行われている診断法との関連をみることは、TMA、VOD（肝中心静脈閉塞症: liver veno-occlusive disease）、急性GVHDのみならずその他各種合併症の病態解明に役立つとともに、臨床的には多くの患者の移植関連死亡を軽減でき、非常に有用であると考えられる。

B. 研究方法

同種造血幹細胞移植患者を対象として、ADAMTS13活性およびインヒビターの有無について検討する。

具体的な移植患者は、HLA適合同胞、HLA不適合血縁者、HLA適合非血縁ドナーとする。細胞源は骨髓、末梢血幹細胞および臍帯血を適宜用いる。移植前処置は、骨髓破壊的前処置として、cyclophosphamide、busulfan、全身放射線照射を組み合わせたものを用い、reduced-intensityな前処置としては、fludarabineをキードラッグとし、アルキル化剤であるcyclophosphamide、melphalan、busulfanを組み合わせて用いる。急性GVHD予防としては、HLA適合性を勘案してシクロスポリンあるいはタクロリムスに加えてメソトレキセートの短期療法を用いる。移植後の合併症は早期発見に努めるべく慎重におこなう。移植前から経時的に血球算定、直接・間接ビリルビン、LDH、尿素窒素、血清クレアチニンなどの生化学検査に加えて、フィブリノーゲン、FDP、AT-Ⅲ、トロンビン・AT-Ⅲ複合体(TAT)、FDP-Dダイマー(D-D)、プラスミノーゲン、トロンボモジュリン、プラスミノーゲンアクチベーター-1(PAI-1)を測定するとともに、実際に赤血球の破碎がどの程度おこっているか顕微鏡的に確認する。

ADAMTS13活性の測定は輸血部においてELISA法によっておこなう。すなわち、抗GST抗体固定化プレートにvWF73基質を添加し、反応させる。洗浄後、サンプルを添加し、反応させる。洗浄後、HRP標識抗N-10抗体を添加し、反応させる。洗浄後、OPD-H202基質を添加し、反応させる。停止液を加えた後、吸光度計にて測定する。

臨床的な評価に加えて、輸血部における研究的な測定結果を総合的に判断し、早期治療に役立たせる。

<倫理面への配慮>

輸血部において測定するADAMTS13活性の結果は、あくまでも臨床診断の補助療法として用いられるべきものであり、患者に不利益をもたらすものではない。

C. 研究結果

当院において造血幹細胞移植を施行した患者4名のADAMTS13活性を経時的に測定した。対象患者は急性骨髄性白血病第二寛解期、慢性骨髄性白血病第二慢性期(骨髓移植後再発例)、骨髓異形成症候群白血病化(非寛解)、急性リンパ性白血病第一寛解期の4例で、年齢は24~59歳、男性・女性各2例ずつであった。ADAMTS13活性は移植前処置前から退院まで、経時的に少なくとも週に1回測定した。症例1は全経過を通じてADAMTS13活性は高値を示した。症例2は前処置開始前からADAMTS13活性は低値を示し、新鮮凍結血漿の補充療法が必要であった。症例3および4はそれぞれ移植後day8およびday9にADAMTS13活性は低値となり、新鮮凍結血漿の補充が必要と判断できた。その結果、新鮮凍結血漿5単位の投与前後でADAMTS13活性は平均で約12%増加し、移植後血栓性微小血管障害(thrombotic microangiopathy:TMA)の発症を予防できた可能性が示唆された。

D. 考察

Furlanらの研究により、血栓性血小板減少性紫斑病(TTP)ではvonWillebrand因子切断酵素(vonWillebrand factor-cleaving protease:

vWF-CPase)活性の著減が認められ、インヒビターも検出されたことから、TTPの病因はvWF-CPase活性の低下であり、TTPでは後天的にこの酵素に対するIgG型インヒビターが産生されていることが明らかになった。vWF-CPaseはその後ADAMTS

(a disintegrin-like domain, and metalloprotease, with thrombospondin type 1 motif)13と分類される新規の亜鉛型メタロプロテアーゼであることが示された。移植患者では血栓性微小血管障害(thrombotic microangiopathy:TMA)が高頻度に発症するが、ADAMTS13活性およびインヒビターを測定することによりその発症を予防できると考えられる。酵素活性の減少患者に対しては新鮮凍結血漿による補充療法を行い、インヒビター保有患者には血漿交換が有用と思われる。今回、経時的にADAMTS13活性を測定し、低値の症例に対しては新鮮凍結血漿の補充療法をおこなった。移植後血栓性微小血管障害(thrombotic microangiopathy:TMA)を発症した症例はなかったが、新鮮凍結血漿の補充療法の有用性についてはさらなる症例の蓄積が必要である。

E. 結論

移植患者において、ADAMTS13 活性を経時的に測定した。ADAMTS13 活性は移植前から低値の症例と、移植後早期に低下する症例があった。ADAMTS13 活性は新鮮凍結血漿の補充療法により改善することが確認された。ADAMTS13 活性低値症例に対して新鮮凍結血漿の補充療法を行った結果、今回検討した症例においては血栓性微小血管障害 (thrombotic microangiopathy: TMA) を発症した症例はなかった。移植後の TMA は急性 GVHD、特に腸管 GVHD との鑑別は困難であり、TMA の発症を予知し予防することは生命予後を改善する上でも重要であると考えられる。

F. 健康危機情報

該当なし

G. 研究発表

該当なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

『 腫瘍細胞の細胞周期と GVL 効果 』

分担研究者 林 邦雄 国家公務員共済組合連合会 京阪奈病院/内科 非常勤医師

研究要旨

多発性骨髄腫を対象とした

- 1) 自己の抗腫瘍免疫
- 2) 移植レシピエントに見られる GVL の抗腫瘍効果
- 3) 免疫学的機序を持つ抗腫瘍剤

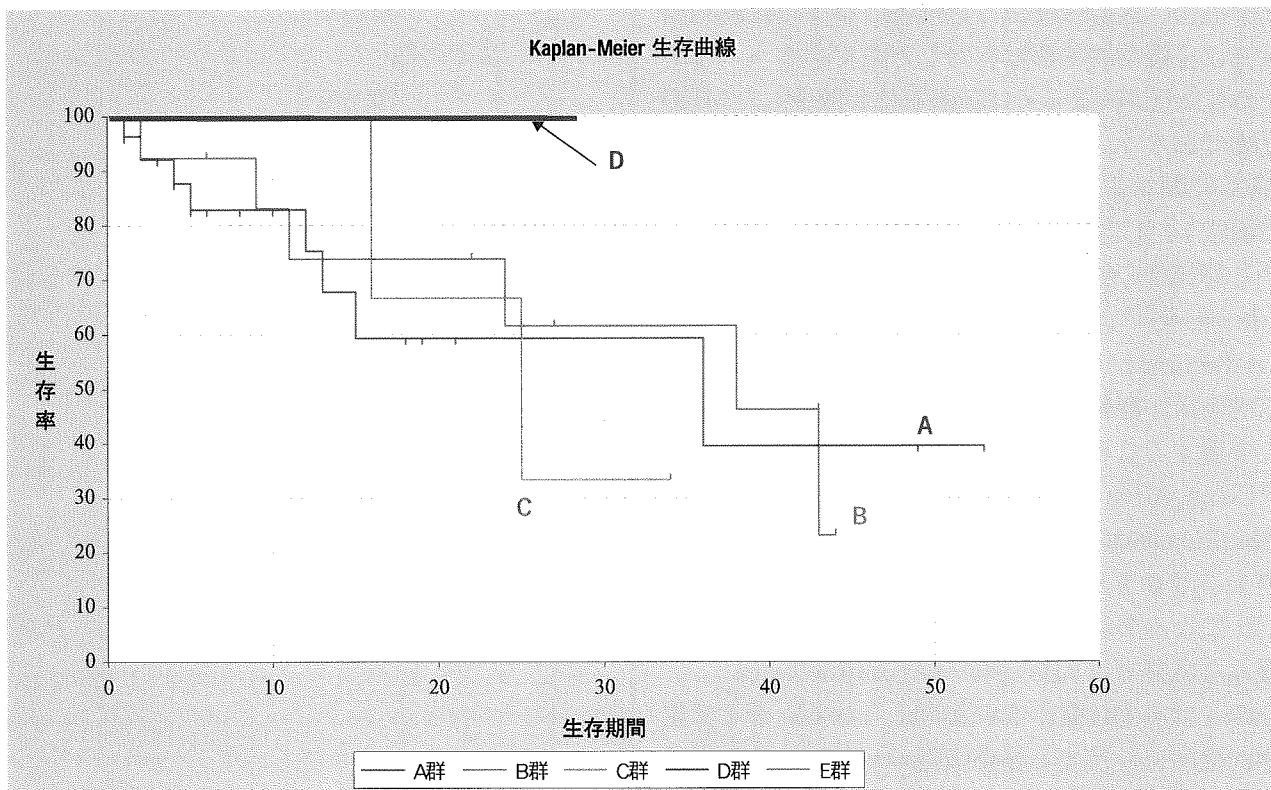
という 3 つの免疫学的治療の評価を目指す。MRD の評価を量と腫瘍細胞の cell kinetics の面から検討し、Tumor immunology を臨床的に評価する方法を模索する。

A. 研究目的

Tumor immunology を臨床的に評価し、移植レシピエントに見られる GVL を有効に引き出す方法を臨床的に検討し、比較的悪性度の高くない low malignant disease に対する mini 移植の高い有効性の裏付け研究を行い mini 移植の適応拡大についての理論的根拠を作成する事を目的とする。

B. 研究方法

Low grade malignant disease として多発性骨髄腫を取り上げ、7施設の治療結果のデータを収集し、staging と治療効果を検討した(感謝:京阪血液研究会)。判明した結果は、1) 病態を診断する staging 方法の選択が予後結果の判定に反映する。2) 化学療法の強さは予後の改善として反映されるが、SCTの結果はその治療の強さに対する相当の効果が認められない。(下のグラフ参照)



A:強い緩解導入 B:MPなどの軽い化学療法 C:SCT(Auto & Allo) D:thalidomideを使った化学療法

移植前の残存腫瘍の量的減少および細胞増殖抑制という質的抑制を検討するとともに、移植後のalloSCT、autoSCT と細胞免疫学的作用が期待される新薬の cytotoxic-immunological effectを臨床的に検討する目的で多発性骨髄腫のprospective studyを（京阪血液研究会において）企画している。

<倫理面への配慮>

今までの過去の臨床結果の検討とその正しい評価を行う。新規薬品の導入に際しては国内外のデータを開示する。多発性骨髄腫の prospective study の意味を説明し納得同意を得て治療を行う。

C. 研究結果

Low grade malignant disease に対する mini 移植の安全性とその有効性を確認した。移植前の MRD の病状、特に悪性細胞の cell kinetics とこの mini の結果得られる GVL との関係が、mini の治療対象の選択に重要であると考えた。自己の腫瘍免疫と免疫学的抗腫瘍効果のある新しい薬の抗腫瘍作用と GVL の比較が興味ある研究課題として浮かび上がった。

D. 考察

化学療法、放射線療法に抵抗性となった腫瘍細胞の除去に免疫学的治療は有効な方法であろう。しかしその有効性が高まるのは腫瘍細胞が減少した MRD の状態であろう。

GVL に関する文献上の検討では、cytotoxic T cell は移植後 14 日で機能していることが分かっている。しかし移植後の短い時期では腫瘍細胞の減少は one log decrease で、さらに 100 日から 200 日かけて two log reduction が可能となると言う。事実、GVL の臨床的効果が評価出来るのは数ヶ月から長いと 2 年近くを要することが分かっている。具体的に CML が PCRnegative になるのに 6 ヶ月、CLL の molecular remission に 9 ヶ月、MM の M-protein の消去には 6 ヶ月から 1 年、Follicular Lymphoma が CR になるのに 21 ヶ月と言う。腫瘍の細胞分裂が盛んな状態では allo-cytotoxic-immunological reaction は有効に働かないと考えられる。そこで免疫学的機序に対抗する腫瘍細胞の cell kinetics の重要性が浮かび上がる。

E. 結論

腫瘍細胞の Cell kinetics を確認する方法論がないため、腫瘍活性に関連するサイトカインの量的評価、ISS の指標になっている Alb,β2MG の経過、マルク検鏡での腫瘍細胞の同定・同時にマーカーによる同定などを使って腫瘍細胞の activity を評価出来ないか検討する。ISS による staging では stage1,2,3 と明瞭に予後が分離することから、この staging を基礎に免疫学的抗腫瘍薬、Auto-SCT、allo-SCT の 3 治療方法の評価を行い、治療法の選択を腫瘍細胞の activity の視点から決定することを目的に研究を行う。

F. 健康危機情報

該当なし

G. 研究発表

該当なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

『同種造血幹細胞移植における免疫能回復と抗腫瘍効果の機構解明』

分担研究者 長藤 宏司 九州大学病院／第一内科 助手

研究要旨

治療抵抗性固形腫瘍の患者に対して骨髄非破壊的治療を移植前治療とする同種末梢血幹細胞移植を施行した。対象症例は全14例（膵癌7例、胃癌2例、大腸癌、腎癌、胸腺癌、ユーイング肉腫、悪性組織球症、各1例）である。膵癌の2例にCRとPR、大腸癌、胸腺癌、悪性組織球症、各1例にPRを認めた。GVT効果が確認された症例では、全例gradeII以上の急性GVHDが出現した。またGVHDの出現しない症例ではGVT効果は出現しなかった。急性GVHDの出現しなかった5症例の移植後生存期間中央値は54日、急性GVHDの出現した8症例の移植後生存期間中央値は200日であった。胃癌1例において生着前の緑膿菌感染症による早期死亡を認めた。極めて予後不良である進行膵癌において、本療法では6例中2例にPR以上の腫瘍縮小効果という有望な成績が得られた。本療法におけるGVT効果はマイナー組織適合抗原(mHA)を標的にした同種免疫反応によりもたらされると考えられている。この分子機構を明らかにするために、現在我々はGVT効果が確認された患者末梢血に存在するmHA特異的細胞障害性リンパ球の解析を行っている。

A. 研究目的

白血病の治癒的治療法として確立されている同種骨髄移植や同種末梢血幹細胞移植(peripheral blood stem cell transplantation, PBSCT)の効果発現機構は、移植前の骨髄破壊的治療による抗白血病効果よりも、ドナー由来免疫担当細胞による移植片対宿主病(graft-versus-host disease, GVHD)に伴う抗白血病効果(graft-versus-leukemia, GVL)により依存していると考えられている。加えて同種PBSCT後の血液細胞の生着とGVL発現には、移植前の骨髄破壊的治療は必須ではなく、免疫抑制療法を主体とする骨髄非破壊的治療を移植前治療とする幹細胞移植(non-myeloablative stem cell transplantation; NST)が有用であり、毒性、治療関連死が少ないことが明らかとなった。近年、転移性乳癌や腎細胞癌など固形腫瘍に対して施行された同種骨髄移植や同種PBSCTにおいても、GVL効果と同様の移植片対腫瘍(graft-versus-tumor, GVT)効果が観察されている。従って本研究では、抗癌剤治療に抵抗性の固形腫瘍に対しGVT効果を期待したNSTを施行し、安全性と有効性を検討すると共に、GVT効果の分子機構を解析することを目的とする。

B. 研究方法

治療抵抗性固形腫瘍の患者に対して骨髄非破壊的治療を移植前治療とする同種末梢血幹細胞移植を施行した。対象症例は全14例（膵癌7例、胃癌2例、大腸癌、腎癌、胸腺癌、ユーイング肉腫、悪性組織球症、各1例）である。同意の上同胞のHLAタイピングを行い、ドナーを選択した。レシピエントは65歳以下で十分な主要臓器機能を有し(ECOG performance status 0~2、肝機能 T.Bil \leq 1.5mg/dl、AST, ALT \leq 正常上限の2倍、腎機能 Creat. \leq 1.5mg/dl、肺機能 PaO₂ \geq 60Torr、心機能 EF \geq 60%)、測定可能病変あるいは評価可能病変を持ち、かつHLAの一致する同胞からの末梢血幹細胞採取可能な症例を選択した。ただし症状を有する脳転移例、間質性肺炎、重篤な心疾患、コントロール不良な糖尿病、重篤な感染症、その他主治医が不適と判断した症例は除外した。HLA一致同胞にG-CSF(10 μ g/kg)を5日間皮下投与してPBSCを動員し、4、5日目にアフエレーシスによってPBSCを採取し凍結保存した。一方、患者に対する移植前の骨髄非破壊的治療として

(1) cyclophosphamideとfludarabine、(2) fludarabineとBusulfan、(3) fludarabineとTBI、のいずれかを前処置とし、day0にPBSCを経静脈的に輸注した。移植目標はCD34陽性細胞 2×10^6 /kg(レシピエント体重)

とした。GVHD予防には、標準的なmethotrexateとcyclosporineの併用投与を行った。支持療法や感染症予防は同種骨髄移植に準じて実施した。生着およびキメラ状態の解析には造血回復（好中球 500/ μ l、血小板20,000/ μ l）の他に、FISH法による性染色体、PCR法によるマイクロサテライト・マーカー(VNTR, STR)を利用した。GVTの評価は測定可能病変における腫瘍縮小率を指標とした。

<倫理面への配慮>

患者本人およびドナーに対して、1) 本研究の目的と方法、2) 骨髄非破壊的前治療を併用した同種末梢血幹細胞移植、3) 予想される効果と副作用、4) 他の治療法との比較、5) 同意撤回、などについて担当医師が説明文書を用いて十分に説明し、同意を得ることを前提とした。本研究は九州大学医学部倫理委員会の審査を受け、実施に関する承認を受けた。

C. 研究結果

胃癌一症例が移植後 18 日目に緑膿菌による肺炎および菌血症を合併し死亡した。その他 100 日以内の移植関連死亡は認められなかった。客観的抗腫瘍効果としては、膵癌の 1 例では移植 37 日目の CT 検査上腫瘍が消失し CR に入ったことを認めた。しかし腫瘍消失に伴うステント挿入部の脆弱化が原因と思われる総胆管破裂を起こし 57 日目に死亡した。剖検にて膵頭部腫瘍のほぼ完全な消失を認めた。胃癌症例は SD であったが、移植前イレウスにより IVH 管理下であったのが、移植後イレウス症状は消失し経口摂取可能となり移植後 45 日目に退院した。

膵癌の 2 例に CR と PR、大腸癌、胸腺癌、悪性組織球症、各 1 例に PR を認めた。GVT 効果が確認された症例では、全例 gradeII 以上の急性 GVHD が出現した。また GVHD の出現しない症例では GVT 効果は出現しなかった。急性 GVHD の出現しなかった 5 症例の移植後生存期間中央値は 54 日、急性 GVHD の出現した 8 症例の移植後生存期間中央値は 200 日であった。100 日以内の腫瘍死は 3 例、100 日以降は 4 例、他の 2 例は移植後 667 日、497 日現在生存中である。

D. 考察

本療法は固形癌に対して国外でも積極的に臨床試験が行われており、腎細胞癌では比較的良好な成績が報告されているが、他臓器由来の固形癌を含めその効果は未だ確立されていない。進行膵癌は従来の治療法では極めて予後不良であるが、本療法施行 6 症例の内 2 例が PR 以上と有望な成績が得られた。胃癌症例で、移植後の骨髄低形成期に緑膿菌感染症を合併し死亡した。NST においても感染症のコントロールは重要な課題である。これまでの本療法施行症例において移植後 100 日以内の腫瘍死が 3 例認められたことは、GVT が出現するまでの移植後 2-3 か月間の腫瘍増殖制御の必要性を示唆するものと考えられる。今後、(1) 癌種別の治療対象症例選択、(2) 移植前治療法の選択による完全キメラ状態への早期導入、(3) キメラ状態と GVT の相関、(4) 移植前後での既存の抗癌剤の併用、などの点が本研究を通じ検討すべき課題と考えられた。

一方移入細胞の担う GVT の増強を図るための基礎的研究も重要である。本療法では GVT と GVHD の密接な関連を認めることから、この GVT はマイナー組織適合性抗原 (mHA) を標的にした同種免疫反応によりもたらされる可能性が高い。この分子機構を明らかにするために、現在我々は GVT が認められた患者末梢血に存在する mHA 特異的細胞障害性リンパ球の検討を行っている。即ち同症例における患者・ドナー間の mHA フェノタイプの差異の検出、mHA ペプチド結合 HLA テトラマーを用いた mHA 特異的 T 細胞レパートアの経時的変化の測定、mHA 特異的細胞障害性 T 細胞(CTL)クローンの免疫学的性状の評価を行っている。これらの情報は、GVT 効果を高め本療法の有効性を増強する方策を検討する上で極めて有用であると考えられる。

E. 結論

治療抵抗性固形腫瘍患者に対して、骨髄非破壊的治療を用いた同種末梢血幹細胞移植を施行した。胃癌 1 症例で生着前の緑膿菌感染症による早期死亡を経験した。膵癌において有効症例を認め、本療法の有効性が示唆された。今後も症例を増やし、本療法の安全性と有効性をさらに検討する。本療法では GVT と GVHD の密接な関連を認めることからこの GVT はマイナー組織適合性抗原 (mHA) を標的にした同種免疫反応によりもたらされる可能性が高い。

GVT 効果が確認された症例では、全例 gradeII 以上の急性 GVHD が出現した。また GVHD の出現しない症例では GVT 効果は出現しなかった。本治療による GVT 効果と GVHD の分離が、最重要の検討課題である。

F. 健康危機情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Numata A, Yasuda K, Fukuda T, Baba E, Yamasaki S, Takase K, Miyamoto T, Nagafuji K, Nakano S, Harada M. Non-myeloablative allogeneic haemopoietic stem-cell transplantation for treatment of metastatic invasive thymoma. Lancet Oncol, 6: 626-628, 2005.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

『同種造血幹細胞移植後のウイルス感染症とGVHD病態の解明』

分担研究者 宇都宮 與 慈愛会 今村病院分院/院長

研究要旨

成人 T 細胞白血病 (ATL) 21 例 (男性 13 例、女性 8 例、年齢の中央値 49 歳) に対して 24 回の同種造血細胞幹移植を施行した。骨髄破壊的移植が 10 例、骨髄非破壊的移植が 11 例であった。同種移植の全生存期間の中央値は 8.4 ヶ月で、3 年全生存率は 33.2% であった。寛解状態別の解析では PD で移植を施行した患者の 3 年全生存率は 12.5% で CR/PR/SD の 47% に比し有意に劣っていた ($P=0.02$)。移植後 100 日以上生存例は 16 例で、10 例に再発がみられた。再発 10 例のうち 9 例が皮膚に再発した。再発した 10 例中 7 例に完全寛解が得られた。皮膚のみに再発した 5 例のうち免疫抑制剤の中止や減量のみで 4 例に完全寛解が得られ、移植後 Gv-ATL 効果と考えられた。

A. 研究目的

近年成人 T 細胞白血病 (ATL) に対する同種造血細胞幹移植で予後の改善が報告され、その臨床効果として graft-versus-ATL (Gv-ATL) 効果が注目されている。今回 ATL に対して当科で施行した同種造血細胞幹移植 21 例について臨床的に検討した。

B. 研究方法

対象は 1998 年 6 月から 2005 年 5 月までに同種造血細胞幹移植を施行した ATL 21 例 (24 回)。移植症例の臨床的背景、移植方法、移植成績、再発やその後の経過、などについて検討を加えた。

C. 研究結果

男性 13 例、女性 8 例、移植時の年齢の中央値は 49 歳 (37-62 歳)、ATL の臨床病型は急性型 18 例、リンパ腫型 2 例、慢性型 1 例であった。移植前の寛解状態は CR 7 例、PR 1 例、SD 5 例、PD 8 例で、骨髄破壊的移植が 10 例、骨髄非破壊的移植が 11 例であった。骨髄移植が 5 例、末梢血幹細胞移植が 13 例、臍帯血移植が 3 例で、HLA 一致の移植が 14 例、不一致の移植が 7 例であった。初回化学療法から移植までの期間の中央値は 5.7 カ月 (3.1-27.0 カ月) であった。同種移植後の全生存期間の中央値は 8.4 カ月 (1.4-83.7+カ月) で、生存 7 例の観察期間の中央値は 28.0 カ月 (4.3-83.7+カ月) であった。21 例の 3 年全生存率は 33.2% であった (図 1)。寛解状態別の解析では PD で移植を施行した患者の 3 年全

生存率は 12.5% で CR/PR/SD の 47% に比し有意に劣っていた ($P=0.02$ 、図 2)。移植後 100 日以上生存例は 16 例で、これらのうち 10 例が再発・再増悪した。再発 10 例のうち 9 例が皮膚に再発、末梢血 4 例、リンパ節 3 例、中枢神経 1 例であった。皮膚再発した 9 例中 5 例は皮膚のみの再発であった。再発した 10 例中 7 例に完全寛解が得られたが、特に皮膚のみに再発した 5 例のうち免疫抑制剤の中止や減量のみで 4 例に完全寛解が得られた。

図1. 全生存率

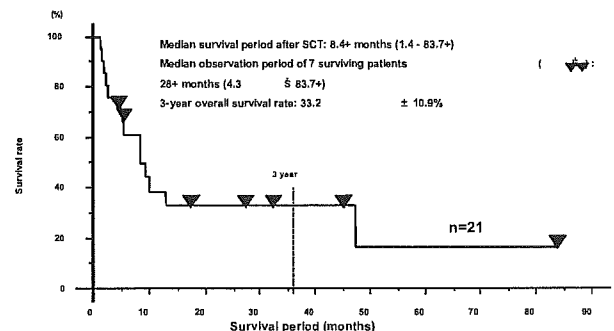
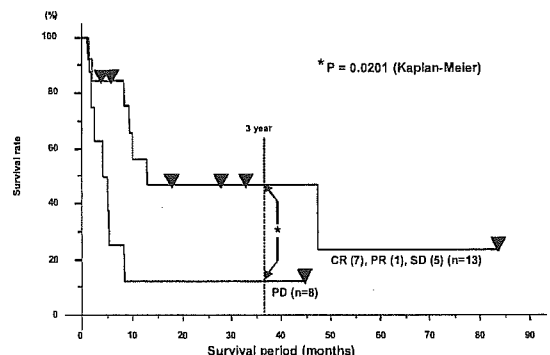


図2. 移植時の寛解状態別全生存率



D. 考察

ATLの同種造血幹細胞移植後の生存解析ではPDでの移植成績が不良であったが、SD症例は適応があるものと考えられる。今回の検討においても再発・再増悪後の免疫抑制剤の中止のみで高率に再寛解が得られ、Gv-ATL効果と考えられた。全例にGVHDの合併もみられており、Gv-ATL効果とGVHDが切り離せるものかどうか。今後解明する必要がある。

E. 結論

ATLの同種造血幹細胞移植後にGv-ATL効果が確認された。

F. 健康危機情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 宇都宮 興, 米倉健太郎: 成人に対する臍帯血移植の治療成績と今後-3)成人T細胞白血病. 血液・腫瘍科 50(2):166-173, 2005
2. 宇都宮 興, 塚田 順一, 河野 文夫, 森内 幸美, 魚住 公治, 松石 英城, 岡村 孝, 末岡 榮三朗, 今村 豊, 佐分利 能生, 菊池 博, 林 真, 岡村 精一, 牧野 茂義, 柴田 恵介, 久富 木庸子, 衛藤 徹也, 増田 昌人, 古賀 震, 高塚 祥芝, 田村 和夫: 成人T細胞白血病リンパ腫の同種造血幹細胞移植の適応規準作成を目指して-九州血液疾患治療グループ(K-HOT)アンケート調査-. 臨床と研究 82(7): 113-117, 2005
3. Kurihara K, Harashima N, Hanabuchi S, Masuda M, Utsunomiya A, Tanosaki R, Tomonaga M, Ohashi T, Hasegawa A, Masuda T, Okamura J, Tanaka Y, Kannagi M: Potential immunogenicity of adult T-cell leukemia cells in vivo. *Int J Cancer*, 114: 257-267, 2005.
4. Okamura J, Utsunomiya A, Tanosaki R, Uike N, Sonoda S, Kannagi M, Tomonaga M, Harada M, Kimura N, Masuda M, Kawano F, Yufu Y, Hattori H, Kikuchi H, Saburi Y: Allogeneic stem cell transplantation with reduced conditioning intensity as a novel immunotherapy and antiviral therapy for adult T-cell leukemia/lymphoma. *Blood*, 105: 4143-4145, 2005.

5. Fukushima T, Miyazaki Y, Honda S, Kawano F, Moriuchi Y, Masuda M, Tanosaki R, Utsunomiya A, Uike N, Yoshida S, Okamura J, Tomonaga M: Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation provides sustained long-term survival for patients with adult T-cell leukemia/lymphoma. *Leukemia*, 19: 829-834, 2005.
6. Kannagi M, Harashima N, Kurihara K, Ohashi T, Utsunomiya A, Tanosaki R, Masuda M, Tomonaga M, Okamura J: Tumor immunity against adult T-cell leukemia. *Cancer Sci*, 96: 249-255, 2005.
7. Ohno E, Ono K, Kikuchi H, Saburi Y, Utsunomiya A, Nasu M: Prolonged remission of adult T-cell leukemia/lymphoma treated with interferon-gamma following autologous peripheral blood stem cell transplantation. *Leuk Lymphoma*, 46: 1843-1845, 2005.

2. 学会発表

1. 米倉健太郎, 小浜浩介, 竹内昇吾, 高塚祥芝, 神崎保, 宇都宮興: 全身の紅斑を初発症状として発症し、さい帯血移植で完全寛解を維持している急性型ATLの一例. 第21回日本皮膚悪性腫瘍学会学術大会 2005年5月 茨城
2. 宇都宮興, 米倉健太郎, 竹内昇吾, 高塚祥芝, 田代幸恵, 神崎保: 当科における成人T細胞白血病に対する同種造血幹細胞移植. 第45回日本リンパ網内系学会総会 2005年7月 福岡
3. 竹内昇吾, 高塚祥芝, 米倉健太郎, 島悦子, 小浜浩介, 武元良整, 宇都宮興: 当科における臍帯血移植8例の臨床的検討. 第67回日本血液学会・第47回日本臨床血液学会合同総会 2005年9月 神奈川
4. 吉満誠, 藤原弘, 武元良整, 有村公良, 宇都宮興, 太良光利, 魚住公治, 有馬直道, 鄭忠和: RIST後、寛解を維持しているPOEMS症候群後二次性MDS症例. 第67回日本血液学会・第47回日本臨床血液学会合同総会 2005年9月 神奈川

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
該当なし
2. 実用新案登録
該当なし
3. その他
該当なし

『細胞治療の臨床評価法の確立』

分担研究者 國頭 英夫 国立がんセンター中央病院／総合病棟部 医長

研究要旨

同種造血幹細胞移植の臨床試験において、免疫反応に伴う抗腫瘍効果や合併症を評価する適切な指標を検討し、治療成績の向上に資する。

A. 研究目的

同種造血幹細胞移植の臨床試験において、免疫反応に伴う抗腫瘍効果や合併症を評価する適切な指標を検討し、治療成績の向上に資する。

B. 研究方法

同種造血幹細胞移植後に発生するGVHDは、治療効果でもある graft-versus-leukemia/lymphoma(GVL) 効果と重なる面も持つため、その完全な予防が必ずしも治療成績の向上にはつながらない。また、GVHDに特徴的とされる腸管症状は、移植前処置に伴う臓器毒性や感染症と区別することが困難であるなど、現在の指標の問題点が指摘されている。このため、国立がんセンター中央病院で施行される同種造血幹細胞移植例の経過を臨床的に分析し、抗腫瘍効果であるGVL効果と副作用であるGVHDの特徴をまとめ、その結果に基づいて我が国の実態に合致した指標を検討する。

<倫理面への配慮>

各症例に対しては、この治療法が臨床試験であること、ならびにそれに伴う事項について十分な説明がなされ、自発的な文書で同意が取れている。その同意には、治療経過などにつき将来的な研究に応用されることも含まれている。

C. 研究結果

国立がんセンター中央病院で2000年1月から2004年12月の間に同種造血幹細胞移植を受けた患者315人について、GVL効果によって再発が減少して生存率の向上に結びついたか、移植方法の差によりGVL効果やGVHDに差が生じたか否か、あるいは特徴的な副作用が発生したか否かを検討した。このため、急性GVHDおよび慢性GVHDと再発・

疾患増悪、非再発死亡、全生存期間あるいは無増悪生存期間との相関を多変量解析で評価した。その結果、慢性GVHDはミニ移植の場合においてのみ移植後再発を低下させてGVL効果として認識されたが、その他の場合には非再発死亡を増加させて生存期間の延長には結びつかなかった。急性GVHDにはGVL効果は認められなかった。しかしながらGVHDの評価自体、下痢などの消化管症状や肺症状がある場合には感染症との鑑別が困難で、個々の医師の判断によるところが多く、判定基準も不明確な点が課題として浮き上がった。

D. 考察

同種造血幹細胞移植には、種々の臓器毒性のほかに長期の免疫不全に基づく感染症とGVHDなどの重症合併症が多く発生する。しかし、同種移植後の患者に対する適切な免疫調整法は未だ確立しておらず、特に移植を受ける高齢患者が急増する現状では重要な課題となっている。本研究では、移植後の免疫反応を臨床的に評価することで、現在の指標の持つ意義と問題点を検討した。その結果、免疫反応を治療効果に結びつけるためには急性反応を抑制して慢性反応を誘導することが重要と示唆された。今後、その評価に用いた指標の客観性を高める検討を行い、我が国の医療現場の実態に即した免疫反応の臨床評価体系を築く必要がある。

E. 結論

免疫反応を伴う治療系では、客観的で信頼性に富む臨床評価法を検討することが重要である。

- F. 健康危機情報 該当なし
G. 研究発表 該当なし
H. 知的財産権の出願・登録状況 該当なし

研究成果の刊行に関する一覧

1. Kishi Y, Kami M, Murashige N, Tanaka Y, Fujisaki G, Kusumoto S, Mori S, Takaue Y, Tanosaki R: Hyperacute GVHD and emergence of peripheral CD3+CD56+ T-cells and activated natural killer cells are useful markers for early diagnosis of post-transplant hemophagocytic syndrome. *Bone Marrow Transplant*, 35:415-417, 2005.
2. Horii A, Kanda Y, Goyama S, Onishi Y, Komeno Y, Mitani K, Kishi Y, Ogawa S, Imataki O, Chiba S, Kojima R, Hamaki T, Sakiyama M, Kami M, Makimoto A, Tanosaki R, Takaue Y, Hirai H; Japan Hematology and Oncology Clinical Study Group. A prospective trial to evaluate the safety and efficacy of pravastatin for the treatment of refractory chronic graft-versus-host disease. *Transplantation*, 79:372-374, 2005.
3. Chizuka A, Kami M, Kanda Y, Murashige N, Kishi Y, Hamaki T, Kim SW, Horii A, Kojima R, Mori SI, Tanosaki R, Gomi H, Takaue Y: Value of surveillance blood culture for early diagnosis of occult bacteremia in patients on corticosteroid therapy following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*, 35:577-582, 2005.
4. Akiyama Y, Tanosaki R, Inoue N, Shimada M, Hotate Y, Yamamoto A, Yamazaki N, Kawashima I, Nukaya I, Takesako K, Maruyama K, Takaue Y and Yamaguchi K: Clinical response in Japanese metastatic melanoma patients treated with peptide cocktail-pulsed dendritic cells. *J Transl Med*, 3:4, 2005.
5. Kobayashi K, Kami M, Ikeda M, Kishi Y, Murashige N, Tanosaki R, Mori S, Takaue Y: Fulminant septicemia caused by *Bacillus cereus* following reduced-intensity umbilical cord blood transplantation. *Haematologica*, 90:ECR06, 2005.
6. Matsubara H, Makimoto A, Higa T, Kawamoto H, Sakiyama S, Hosono A, Takayama J, Takaue Y, Murayama S, Sumi M, Kaneko A, Ohira M: A multidisciplinary treatment strategy that includes high-dose chemotherapy for metastatic retinoblastoma without CNS involvement. *Bone Marrow Transplant*, 35:763-766, 2005.
7. Homma CI, Kami M, Masuo S, Sakiyama M, Kojima R, Horii A, Kusumi E, Katori H, Takeuchi K, Kishi Y, Murashige N, Kim SW, Takaue Y, Mitamura T: Graft-versus-host disease of the kidney after rapid tapering of cyclosporin following reduced intensity hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*, 35:929-930, 2005.
8. Kishi Y, Murashige N, Kami M, Miyakoshi S, Shibagaki Y, Hamaki T, Takaue Y, Taniguchi S: Optimal initial dose of oral cyclosporine in relation to its toxicities for graft-versus-host disease prophylaxis following reduced-intensity stem cell transplantation in Japanese patients. *Bone Marrow Transplant*, 35:1079-1082, 2005.
9. Heike Y, Hosokawa M, Osumi S, Fujii D, Aogi K, Takigawa N, Ida M, Tajiri H, Eguchi K, Shiwa M, Wakatabe R, Arikuni H, Takaue Y, Takashima S: Identification of serum proteins related to adverse effects induced by docetaxel infusion from protein expression profiles of serum using SELDI ProteinChip system. *Anticancer Res*, 25:1197-1203, 2005.
10. Kusumi E, Kami M, Kanda Y, Murashige N, Kishi Y, Suzuki R, Takeuchi K, Tanimoto TE, Mori T, Muta K, Tamaki T, Tanaka Y, Ogawa H, Yamane T, Taniguchi S, Takaue Y: Reduced-intensity hematopoietic stem-cell transplantation for malignant lymphoma: A retrospective survey of 112 adult patients in Japan. *Bone Marrow Transplant*, 36:205-213, 2005.
11. Kobayashi K, Kami M, Murashige N, Kusumi E, Kishi Y, Hamaki T, Horii A, Matsumura T, Yuji K, Masuo S, Mori S, Miyakoshi S, Tanosaki R, Mitamura T, Takaue Y, Taniguchi S, Tokyo SCT Consortium Institution: Outcomes of patients with acute leukaemia who relapsed after reduced-intensity stem cell transplantation from HLA-identical or one antigen-mismatched related donors. *Br J Haematol*, 129:795-802, 2005.

12. Kojima R, Tateishi U, Kami M, Murashige N, Nannya Y, Kusumi E, Sakai M, Tanaka Y, Kanda Y, Mori S, Chiba S, Kusumoto M, Miyakoshi S, Hirai H, Taniguchi S, Sakamaki H, Takaue Y: Chest computed tomography of late invasive aspergillosis after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*, 11:506-511, 2005.
13. Hori A, Kami M, Ohnishi M, Murashige N, Kojima R, Takaue Y: Feasibility of early tapering of cyclosporine following reduced-intensity stem cell transplantation for advanced hematologic or solid malignancies. *Haematologica*, 90:1001-1003, 2005.
14. Harada Y, Imataki O, Heike Y, Kawai H, Shimosaka A, Mori S, Kami M, Tanosaki R, Ikarashi Y, Iizuka A, Yoshida M, Wakasugi H, Saito S, Takaue Y, Takei M, Kakizoe T: Expansion of α -Galactosylceramide-stimulated V α 24⁺ NKT cells under non-FBS cultured the absence of animal materials. *J Immunotherapy*, 28:314-321, 2005.
15. Ikarashi Y, Iizuka A, Heike Y, Yoshida M, Takaue Y, Wakasugi H: Cytokine production and migration of in vitro-expanded NK1.1(-) invariant V α 14 natural killer T (V α 14i NKT) cells using alpha-galactosylceramide and IL-2. *Immunol Lett*, 101:160-167, 2005.
16. Teshima T, Matsuo K, Matsue K, Kawano F, Taniguchi S, Hara M, Hatanaka K, Tanimoto M, Harada M, Nakao S, Abe Y, Wake A, Eto T, Takemoto Y, Imamura M, Takahashi S, Ishida Y, Kanda Y, Kasai M, Takaue Y: Impact of human leucocyte antigen mismatch on graft-versus-host disease and graft failure after reduced intensity conditioning allogeneic haematopoietic stem cell transplantation from related donors. *Br J Haematol*, 130:575-587, 2005.
17. Ikarashi Y, Iizuka A, Koshidaka Y, Heike Y, Takaue Y, Yoshida M, Kronenberg M, Wakasugi H: Phenotypical and functional alterations during the expansion phase of invariant V α 14 natural killer T (V α 14i NKT) cells in mice primed with α -galactosylceramide. *Immunology*, 116:30-37, 2005.
18. Morita Y, Hosokawa M, Ebisawa M, Sugita T, Miura O, Takaue Y, Heike Y: Evaluation of cytomegalovirus-specific cytotoxic T-lymphocytes in patients with the HLA-A(*)02 or HLA-A(*)24 phenotype undergoing hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*, 36:803-811, 2005.
19. Kojima R, Kami M, Kanda Y, Kusumi E, Kishi Y, Tanaka Y, Yoshioka S, Morishima S, Fujisawa S, Mori SI, Kasai M, Hatanaka K, Tajima K, Kasai M, Mitani K, Ichinohe T, Hirai H, Taniguchi S, Sakamaki H, Harada M, Takaue Y: Comparison between reduced intensity and conventional myeloablative allogeneic stem-cell transplantation in patients with hematologic malignancies aged between 50 and 59 years. *Bone Marrow Transplant*, 36:667-374, 2005.
20. Hosokawa M, Kadota R, Shichijo S, Itoh K, Dmitriev I, Krasnykh V, Curiel DT, Takaue Y, Wakasugi H, Takashima S, Heike Y: Cell cycle arrest and apoptosis induced by SART-1 gene transduction. *Anticancer Res*, 25:1983-1990, 2005.
21. Yuji K, Miyakoshi S, Kato D, Miura Y, Myojo T, Murashige N, Kishi K, Kobayashi K, Kusumi E, Narimatsu H, Hamaki T, Matsumura T, Kami M, Fukuda T, Masuo S, Masuoka K, Wake A, Ueyama J, Yoneyama A, Miyamoto K, Nagoshi H, Matsuzaki M, Morinaga S, Muto Y, Takaue Y, Taniguchi S: Reduced-intensity unrelated cord-blood transplantation for patients with advanced malignant lymphoma. *Biol Blood Marrow Transplant*, 11:314-318, 2005.
22. Suzuya H, Watanabe T, Nakagawa R, Watanabe H, Okamoto Y, Onishi T, Abe T, Kawano Y, Kagami S, Takaue Y: Factors associated with granulocyte colony-stimulating factor-induced peripheral blood stem cell yield in healthy donors. *Vox Sanguinis*, 89:229-235, 2005.
23. Ohnishi M, Sakurai T, Heike Y, Yamazaki R, Kanda Y, Takaue Y, Mizoguchi H, Kawakami Y: Evaluation of cytomegalovirus-specific T-cell reconstitution in patients after various allogeneic haematopoietic stem cell transplantation using interferon- γ -enzyme-linked immunospot and human leucocyte antigen tetramer assays with an immunodominant T-cell epitope. *Br J Haematol*, 131:472-479, 2005.

24. Takami A, Okumura H, Yamazaki H, Kami M, Kim SW, Asakura H, Endo T, Nishio M, Minauchi K, Kumano K, Sugimori N, Mori S, Takemoto Y, Shimadoi S, Ozaki J, Takaue Y, Nakao S: Prospective Trial of High-Dose Chemotherapy Followed by Infusions of Peripheral Blood Stem Cells and Dose-Escalated Donor Lymphocytes for Relapsed Leukemia after Allogeneic Stem Cell Transplantation. *Int J Hematol*, 82:449-455, 2005.
25. Takama H, Tanaka H, Nakashima D, Ueda R, Takaue Y: Population pharmacokinetics of intravenous busulfan in patients undergoing hematopoietic stem cell plantation. *Bone Marrow Transplant*, 37:354-351, 2006.
26. Kim SW, Tanimoto TE, Hirabayashi N, Goto S, Kami M, Yoshioka S, Uchida T, Kishi K, Tanaka Y, Kohno A, Kasai M, Higuchi M, Kasai M, Mori S, Izutsu K, Sao H, Ishikawa T, Ichinohe T, Takeuchi K, Tajima K, Tanosaki R, Harada M, Tobinai K, Hotta T, Takaue Y: Myeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for non-Hodgkin lymphoma: a nationwide survey in Japan. *Blood*, *in press*.
27. Imataki O, Heike Y, Ishida T, Takaue Y, Ikarashi Y, Yoshida M, Wakasugi H, Kakizoe T: Efficient ex vivo expansion of V α 24+ NKT cells derived from G-CSF-mobilized blood cells. *J Immunotherapy*, *in press*.
28. Kakugawa Y, Kami M, Kozu T, Kobayashi N, Shoda H, Matsuda T, Saito Y, Oda I, Hamaki T, Mineishi S, Takaue Y, Shimoda T, Saito D: Endoscopic evaluation for cytomegalovirus enterocolitis after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Gut*, *in press*.
29. Morita Y, Heike Y, Kawakami M, Miura O, Nakatsuka S, Ebisawa M, Mori S, Tanosaki R, Fukuda T, Kim SW, Tobinai K, Takaue Y: Monitoring of WT1-specific cytotoxic T lymphocytes after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *International Journal of Cancer*, *in press*.
30. Watanabe H, Watanabe T, Suzuya H, Wakata Y, Kaneko M, Onishi T, Okamoto Y, Abe T, Kawano Y, Kagami S, Takaue Y: Peripheral blood stem cell mobilization by granulocyte colony-stimulating factor alone and engraftment kinetics following autologous transplantation in children and adolescents with solid tumor. *Bone Marrow Transplant*, *in press*.
31. Imataki O, Nakatani S, Hasegawa T, Kondo M, Ichihashi K, Araki M, Ishida T, Kim SW, Mori S, Fukuda T, Tobinai K, Tanosaki R, Makimoto A, Takaue Y: Nutritional support for patients suffering from intestinal GVHD after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Am J Hematol*, *in press*.
32. Takami A, Mochizuki K, Asakura H, Yamazaki H, Okumura H, Nakao S: High incidence of cytomegalovirus reactivation in adult recipients of an unrelated cord blood transplant. *Haematologica*, 90:1219-1293. 2005.
33. Takami A, Mochizuki K, Okumura H, Ito S, Suga Y, Yamazaki H, Yamazaki M, Kondo Y, Asakura H, Nakao S: Mycophenolate mofetil is effective and well tolerated in the treatment of refractory acute and chronic graft-versus-host disease. *Int J Hematol*, 83:80-85, 2006.
34. Sugimori C, Chuhjo T, Feng X, Yamazaki H, Takami A, Teramura M, Mizoguchi H, Omine M, Nakao S: Minor population of CD55-CD59- blood cells predicts response to immunosuppressive therapy and prognosis in patients with aplastic anemia. *Blood*, 107: 1308-1314, 2006.
35. Matsuoka H, Obama H, Kelly M, Matsui T, and Nakamoto M: Biphaseic functions of the kinase-defective EphB6 receptor in cell adhesion and migration. *J Biol Chem*, 280: 29355-29363, 2005.
36. Urahama N, Ito M, Sada A, Yakushijin K, Yamamoto K, Okamura A, Minagawa K, Hato A, Chihara K, Roeder RG, Matsui T: The role of transcriptional coactivator TRAP220 in myelomonocytic differentiation. *Genes to Cells*, 10:1127-1137, 2005.
37. Yamamoto K, Okamura A, Hato A, Yakushijin K, and Matsui T: A novel translocation t(2;3)(q11;q27) involving the *BCL6* gene in follicular lymphoma with dup(12q) and t(14;18). *Cancer Genetics Cytogenetics (Letter)*, 159:184-186, 2005.

38. Yamamoto K, Ito M, Minagawa K, Urahama N, Sada A, Okamura A, and Matsui T: A novel translocation der(13)t(7;13)(p13;q14) involving 13q14 with monoallelic loss of *RB1* and *D13S319* in myelodysplastic syndrome. *Cancer Genetics Cytogenetics*, 162:160-165, 2005.
39. Yakushijin K, Matsui T, Okamura A, Yamamoto K, Ito M, and Chihara K: Successful treatment with defibrotide for sinusoidal obstruction syndrome after hematopoietic stem cell transplantation. *Kobe J Med Sci*, 51:55-65, 2005.
40. Yamamoto K, Nishikawa S, Minagawa K, Yakushijin K, Okamura A, Matsui T: Therapy-related myelodysplastic syndrome with inv(16)(p13q22) and I type *CBFβ/MYH11* after autologous transplantation: undetectable fusion transcript in pretransplant progenitor cells. *Leukemia Res*, 30:354-361, 2006.
41. Okamura A, Iwata N, Tamekane A, Hamaguchi M, Fukui C, Yamamoto K, and Matsui T: Casein kinase Iε down-regulates phospho-Akt via PTEN following genotoxic stress-induced apoptosis in haematopoietic cells. *Life Science*, 78:1624-1629, 2006.
42. Tanaka Y, Kurata M, Togami K, Fujita H, Watanabe N, Matsushita A, Maeda A, Nagai K, Sada A, Matsui T, and Takahashi T: Chronic eosinophilic leukemia with FIP1L1-PDGFRα fusion gene in a patient with a history of combination chemotherapy. *Int J Hematol*, 83:152-155, 2006.
43. Numata A, Yasuda K, Fukuda T, Baba E, Yamasaki S, Takase K, Miyamoto T, Nagafuji K, Nakano S, Harada M. Non-myeloablative allogeneic haemopoietic stem-cell transplantation for treatment of metastatic invasive thymoma. *Lancet Oncol*, 6:626-628, 2005.
44. 宇都宮興, 米倉健太郎: 成人に対する臍帯血移植の治療成績と今後-3)成人T細胞白血病. *血液・腫瘍科* 50:166-173, 2005
45. 宇都宮興, 塚田順一, 河野文夫, 森内幸美, 魚住公治, 松石英城, 岡村孝, 末岡榮三朗, 今村豊, 佐分利能生, 菊池博, 林真, 岡村精一, 牧野茂義, 柴田恵介, 久富木庸子, 衛藤徹也, 増田昌人, 古賀震, 高塚祥芝, 田村和夫: 成人T細胞白血病リンパ腫の同種造血幹細胞移植の適応規準作成を目指して-九州血液疾患治療グループ(K-HOT)アンケート調査-. *臨床と研究* 82: 113-117, 2005
46. Kurihara K, Harashima N, Hanabuchi S, Masuda M, Utsunomiya A, Tanosaki R, Tomonaga M, Ohashi T, Hasegawa A, Masuda T, Okamura J, Tanaka Y, Kannagi M: Potential immunogenicity of adult T-cell leukemia cells in vivo. *Int J Cancer*, 114: 257-267, 2005.
47. Okamura J, Utsunomiya A, Tanosaki R, Uike N, Sonoda S, Kannagi M, Tomonaga M, Harada M, Kimura N, Masuda M, Kawano F, Yufu Y, Hattori H, Kikuchi H, Saburi Y: Allogeneic stem cell transplantation with reduced conditioning intensity as a novel immunotherapy and antiviral therapy for adult T-cell leukemia/lymphoma. *Blood*, 105: 4143-4145, 2005.
48. Fukushima T, Miyazaki Y, Honda S, Kawano F, Moriuchi Y, Masuda M, Tanosaki R, Utsunomiya A, Uike N, Yoshida S, Okamura J, Tomonaga M: Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation provides sustained long-term survival for patients with adult T-cell leukemia/lymphoma. *Leukemia*, 19:829-834, 2005.
49. Kannagi M, Harashima N, Kurihara K, Ohashi T, Utsunomiya A, Tanosaki R, Masuda M, Tomonaga M, Okamura J: Tumor immunity against adult T-cell leukemia. *Cancer Sci*, 96:249-255, 2005.
50. Ohno E, Ono K, Kikuchi H, Saburi Y, Utsunomiya A, Nasu M: Prolonged remission of adult T-cell leukemia/lymphoma treated with interferon-gamma following autologous peripheral blood stem cell transplantation. *Leuk Lymphoma*, 46:1843-1845, 2005.

Correspondence

Hyperacute GVHD and emergence of peripheral CD3+ CD56+ T cells and activated natural killer cells are useful markers for early diagnosis of post-transplant hemophagocytic syndrome

Bone Marrow Transplantation (2005) 35, 415–417.
doi:10.1038/sj.bmt.1704771
Published online 10 January 2005

Hemophagocytic syndrome (HPS) is a cytokine-related disorder characterized by sustained high-grade fever, pancytopenia, hepatomegaly, coagulopathy and hemophagocytosis in the marrow, spleen, or lymph nodes.¹ The development of HPS is related to underlying immune dysregulation and inappropriate activation of macrophages. In adults, viral, bacterial, and fungal infections and/or malignant lymphoma are associated with HPS.¹

HPS is a rare complication following stem-cell transplantation (SCT), and occasional case reports only have been published.^{2,3} Besides infection and hematologic malignancies, immune reactions particularly hypercytokinemia following SCT have been associated with HPS. Although some patients with early-onset HPS respond to corticosteroids, HPS is often fatal. At present, its clinical characteristics remain unknown. We report a patient who developed early-onset HPS after allogeneic SCT. A 30-year-old man with chemorefractory acute myeloid leukemia was referred to our hospital for allogeneic SCT in November 2003. After cytoreduction using cytarabine, he underwent peripheral blood SCT from his one-locus-mismatched sister in January 2004. The preparative regimen consisted of busulfan 4 mg/kg/day for 4 days and cyclophosphamide 60 mg/kg for 2 days. Graft-versus-host disease (GVHD) prophylaxis was tacrolimus 0.03 mg/kg/day. Methotrexate was omitted from GVHD prophylaxis to enhance a graft-versus-leukemia effect. The numbers of infused CD34+ cells and CD3+ cells were 2.6×10^6 /kg and 3.2×10^8 /kg, respectively.

His clinical course was uneventful until day 3, when he developed a high-grade fever. Lacy blanching erythema and diarrhea appeared on day 4. White blood cell (WBC) count was $100/\text{mm}^3$ on the day. Hyperacute GVHD was suspected. Painful hepatomegaly, weight gain, and jaundice appeared on day 7, and hepatic veno-occlusive disease (VOD) was diagnosed. When renal dysfunction developed on day 7, we switched tacrolimus to methylprednisolone 0.5 mg/kg. On day 8, the WBC increased to $1600/\text{mm}^3$ including 90% lymphocytes (Figure 1). Double X signals were shown by sex chromosome fluorescence *in situ* hybridization in 100% of the peripheral leukocytes. Fluorescence-activated cell sorter (FACS) showed that 44, 36 and 8% of the lymphocytes were CD3–CD56+, CD3+ CD56–, and CD3+ CD56+, respectively (Figure 1), and that 31% of cytoplasmic CD3+ cells expressed NKp46, a specific marker of activated natural killer cells (NK cells).⁴ While the skin rash and diarrhea improved,

his renal and respiratory functions deteriorated. Chest radiographs revealed bilateral pulmonary edema and pleural effusions. Serum creatinine increased to 5.9 mg/dl. We suspected worsening hyperacute GVHD and VOD, and increased the dose of methylprednisolone to 2.0 mg/kg. He achieved neutrophil engraftment on day 10, when the WBC was $5700/\text{mm}^3$. The numbers of neutrophils, surface CD3+, and CD20+ cells were 4500, 780, and $70/\text{mm}^3$, respectively. Despite intensive immunosuppression, he rapidly deteriorated and died of multiple-organ failure on day 11. Throughout his clinical course, the spleen was not palpable. Repeated blood cultures failed to detect any organisms.

Post-mortem examination showed normocellular marrow with an increase in activated macrophages. In the liver, fibrous obliteration of terminal hepatic venules, dilatation of centrilobular sinusoids, and necrosis of zone 3 hepatocytes were evident. These findings were consistent with VOD. No findings suggested hepatic involvement by acute GVHD. A massive infiltration of activated macrophages was present in the liver, while neither CD3+ nor CD56+ cells were observed. Serum cytokine levels were: interferon gamma 0.2 IU/ml (normal range: <0.1 IU/ml), interleukin (IL) –2 <0.8 U/ml (normal range: <0.8 U/ml), IL-6 467 pg/ml (normal range: <4.0 pg/ml), tumor necrosis factor alpha 7 pg/ml (normal range: <5.0 pg/ml), and macrophage colony-stimulating factor 10 000 pg/ml (mean levels in healthy volunteers, 670 pg/ml).

Hyperacute GVHD preceded the onset of HPS in this patient, which is an immunological syndrome overlapping with engraftment syndrome, capillary leak syndrome, and periengraftment clinical abnormalities.⁵ The previously reported patients with HPS following allo-SCT, and our patient had high-grade fever, skin eruption, and diarrhea in common; these are typical manifestations of hyperacute GVHD,^{2,3} although the possibility of toxicity from the preparative regimen cannot be excluded. The negative post-mortem findings for GVHD in our patient cannot exclude the diagnosis of hyperacute GVHD because it had resolved before death and because the pathological findings of hyperacute GVHD are not always identical with those of conventional GVHD.^{5,6} High-dose corticosteroid is usually effective for hyperacute GVHD. However, this persisted despite corticosteroids in this patient and finally resulted in fatal HPS, although the time from the onset of hyperacute GVHD to steroid initiation might have influenced the outcome. Since this patient had a one-locus-mismatched related donor and GVHD prophylaxis with tacrolimus and no methotrexate,⁶ he was at high risk of hyperacute GVHD. Severe hyperacute GVHD might have aggravated cytokine dysregulation, contributing to the development of HPS. This hypothesis is consistent with previous observations, suggesting that a severe alloimmune response resulted in HPS.²

It should be noted that the patient developed lymphocytosis with CD3+ CD56+ T cells. The number of activated NK cells expressing NKp46 was also elevated in the peripheral blood. These findings are comparable with

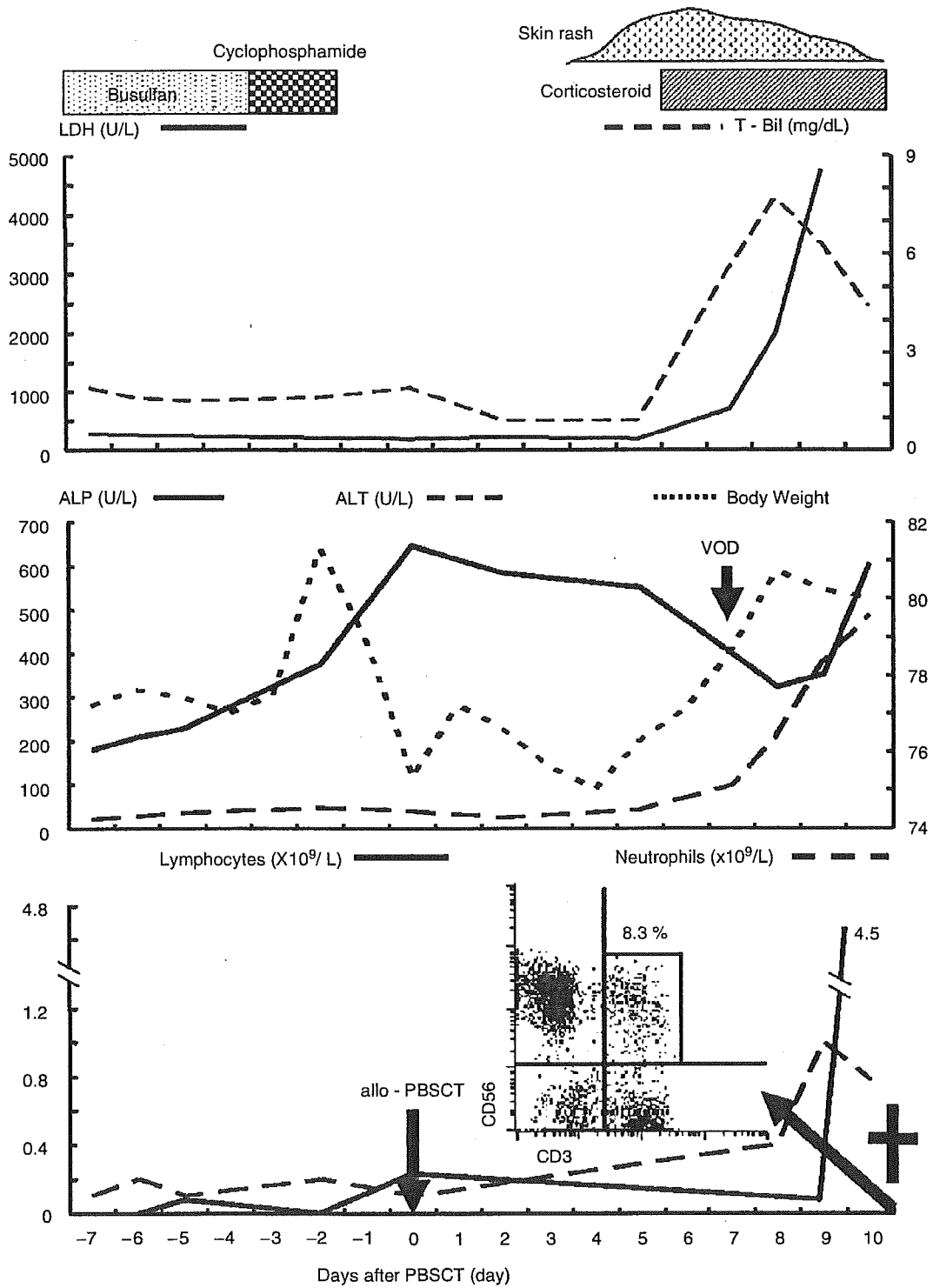


Figure 1 Clinical course of this patient. On day 8, the WBC increased to 1600/mm³ including 90% lymphocytes. Double X signals were shown by sex chromosome fluorescence *in situ* hybridization in 100% of the peripheral leukocytes. FACS showed that 44, 36, and 8% of the lymphocytes were CD3-CD56+, CD3+CD56-, and CD3+CD56+.

our previous case report.⁷ While CD3+CD56+ T cells have been described in both murine and human tissues,^{8,9} their clinical significance has not been fully clarified. Some

of these lymphocytes are classified into cytokine-induced killer (CIK) cells, which are a unique population of cytotoxic T-lymphocytes with higher proliferative and

cytolytic activities in comparison to the reported CD3⁻, CD56⁺ lymphokine-activated killer cells, which are essentially activated NK cells.¹⁰ Since CIK cells can be generated *in vitro* using exogenous IL-2, IL-7, or IL-12, cytokine storm associated with severe hyperacute GVHD might have promoted the generation of CIK cells, causing HPS and severe organ damages in this patient. Alternatively, an increase in CD3⁺ CD56⁺ lymphocytes and NK cells might have reflected activated immune reactions, and these cells might not have caused severe organ damages. At present, the exact mechanisms of these immune reactions remain unknown, and further investigation is required to clarify the clinical significance. Post-mortem examination, which failed to show infiltration of CD3⁺ CD56⁺ T cells in the liver, supports the latter hypothesis. The clinical course of this patient suggests that the development of hyperacute GVHD, and proliferation of CD3⁺ CD56⁺ T cells and activated NK cells with NKp46 in the peripheral blood are useful markers for early diagnosis of HPS.

Y Kishi¹
M Kami¹
N Murashige¹
Y Tanaka²
K Haraguchi³
G Fujisaki¹
S Kusumoto¹
S-I Mori¹
Y Takaue¹
R Tanosaki¹

¹Hematopoietic Stem Cell
Transplantation Unit,
The National Cancer Center
Hospital, Tokyo, Japan;
²Program in Molecular
Therapeutics, Department of
Surgery, Duke University
Medical Center, Durham,
NC, USA; and
³Department of Hematology
and Oncology, University of
Tokyo, Tokyo, Japan

References

- 1 Tsuda H. Hemophagocytic syndrome (HPS) in children and adults. *Int J Hematol* 1997; **65**: 215–226.
- 2 Abe Y, Choi I, Hara K *et al*. Hemophagocytic syndrome: a rare complication of allogeneic nonmyeloablative hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2002; **29**: 799–801.
- 3 Ishikawa J, Maeda T, Miyazaki T *et al*. Early onset of hemophagocytic syndrome following allogeneic bone marrow transplantation. *Int J Hematol* 2000; **72**: 243–246.
- 4 Moretta L, Moretta A. Unravelling natural killer cell function: triggering and inhibitory human NK receptors. *EMBO J* 2004; **23**: 255–259.
- 5 Kim DH, Sohn SK, Kim JG *et al*. Clinical impact of hyperacute graft-versus-host disease on results of allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2004; **33**: 1025–1030.
- 6 Sullivan KM, Deeg HJ, Sanders J *et al*. Hyperacute graft-versus-host disease in patients not given immunosuppression after allogeneic marrow transplantation. *Blood* 1986; **67**: 1172–1175.
- 7 Tanaka Y, Kami M, Ogawa S *et al*. Hyperacute graft-versus-host disease and NKT cells. *Am J Hematol* 2000; **63**: 60–61.
- 8 Sykes M. Unusual T cell populations in adult murine bone marrow. Prevalence of CD3⁺ CD4⁻ CD8⁻ and alpha beta TCR⁺ NK1.1⁺ cells. *J Immunol* 1990; **145**: 3209–3215.
- 9 Schmidt RE, Murray C, Daley JF *et al*. A subset of natural killer cells in peripheral blood displays a mature T cell phenotype. *J Exp Med* 1986; **164**: 351–356.
- 10 Schmidt-Wolf IG, Lefterova P, Mehta BA *et al*. Phenotypic characterization and identification of effector cells involved in tumor cell recognition of cytokine-induced killer cells. *Exp Hematol* 1993; **21**: 1673–1679.

A Prospective Trial to Evaluate the Safety and Efficacy of Pravastatin for the Treatment of Refractory Chronic Graft-Versus-Host Disease

Akiko Hori,¹ Yoshinobu Kanda,^{2,4} Susumu Goyama,² Yasushi Onishi,¹ Yukiko Komeno,² Kinuko Mitani,³ Yukiko Kishi,¹ Seishi Ogawa,² Osamu Imataki,¹ Shigeru Chiba,² Rie Kojima,¹ Tamae Hamaki,¹ Michiyo Sakiyama,¹ Masahiro Kami,¹ Atsushi Makimoto,¹ Ryuji Tanosaki,¹ Yoichi Takaue,¹ and Hisamaru Hirai,² for the Japan Hematology and Oncology Clinical Study Group

This prospective study evaluates the safety and efficacy of pravastatin for the treatment of chronic graft-versus-host disease (GVHD). We included 18 patients with refractory chronic GVHD. Oral pravastatin was started at 10 mg/day, and the dose was increased up to 40 mg/day in 4 weeks. This maximum dose was administered over 8 weeks. There were no severe adverse events caused by pravastatin. A clinical response was observed in the skin score in two patients, mouth score in five patients, eye score in two patients, liver score in three patients, platelet count score in one patient, and weight loss in two patients. The overall response rate was 28%. Immunophenotypic analyses showed that T-helper (Th)1 cells were dominant in all but one patient before treatment and that the Th1/Th2 ratio tended to be lower in the responders than in the nonresponders. A randomized controlled trial is warranted to evaluate the efficacy of pravastatin against chronic GVHD.

Keywords: Chronic graft-versus-host disease, pravastatin, treatment.

(*Transplantation* 2005;79: 372–374)

Chronic graft-versus-host disease (GVHD) is one of the major complications after allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation and develops in 25% to 80% of allogeneic transplant recipients (1–3). Corticosteroids and cyclosporine are most widely used to treat chronic GVHD, but they have demonstrated limited efficacy.

Pravastatin is a lipid-lowering agent that inhibits 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase. Recently, the immunosuppressive effect of statins has been highlighted in both clinical and laboratory studies. Pravastatin reduced the incidence of graft rejection after cardiac and kidney transplantation (4, 5). Statins also prevented islet allograft rejection in a mouse model (6). Two distinct molecular mechanisms of the immunosuppressive effect of statins have recently been proposed. First, statins suppress the induction of major histocompatibility complex-II expression by interferon-gamma on human endothelial cells and macrophages (7). Second, statins selectively inhibit the molecular association between leukocyte function antigen-1 and intercellular adhesion molecule-1 (8). With these data, we performed a prospective clinical trial to evaluate the safety and efficacy of pravastatin for the treatment of chronic GVHD.

Patients aged between 20 and 70 years who had refractory pathologically proven chronic GVHD were eligible for the study. Refractory chronic GVHD was defined as chronic GVHD that was not improved by first-line treatment with corticosteroids at more than 0.5 mg/kg or cyclosporine at a therapeutic blood level for at least 2 weeks, or that showed progression during the tapering of first-line treatment. Patients had to demonstrate good hepatic and renal function as defined by serum bilirubin less than 85.5 $\mu\text{mol/L}$ (5 mg/dL), alanine aminotransferase less than 500 IU/L, and serum creatinine less than 176.8 $\mu\text{mol/L}$ (2.0 mg/dL). Patients with myopathy or who were receiving fibrates were excluded to avoid rhabdomyolysis. All of the patients provided their written informed consent. This study was approved by the institutional review board at each participating institution.

Pravastatin was started orally at 10 mg/day. The dose was increased to 20 mg/day after 2 weeks and finally to 40 mg/day after 2 additional weeks with close monitoring for adverse events. The maximum dose was continued over 8 weeks, unless grade 3 or 4 adverse events attributable to pravastatin were observed. Immunosuppressive agents that were being taken at study entry were continued at the same dose. However, once the dose of these immunosuppressive agents was increased or other immunosuppressive agents were added, the patient was withdrawn from the study and considered a nonresponder.

The incidences and severity of adverse events attributable to pravastatin were evaluated according to the National Cancer Institute Common Toxicity Criteria, Version 2.0. To evaluate the efficacy of pravastatin, chronic GVHD was graded at study entry according to Akpek's prognostic model (9). Response was evaluated every 2 weeks for 12 weeks after the initiation of treatment as an intent-to-treat basis. Response in individual organs was defined as follows: A marked response was a change from Akpek's code 2 or 3 to code 1, a

¹ Hematopoietic Stem Cell Transplant Unit, National Cancer Center Hospital, Tokyo, Japan.

² Department of Cell Therapy and Transplantation Medicine, University of Tokyo Hospital, Tokyo, Japan.

³ Department of Hematology, Dokkyo University School of Medicine, Tochigi, Japan.

⁴ Address correspondence to: Yoshinobu Kanda, M.D., Department of Cell Therapy and Transplantation Medicine, University of Tokyo Hospital, 7-3-1, Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8655, Japan. E-mail: ycanda-tky@umin.ac.jp.

Received 1 September 2004. Revised 30 September 2004. Accepted 21 October 2004.

Copyright © 2005 by Lippincott Williams & Wilkins
ISSN 0041-1337/05/7903-372

DOI: 10.1097/01.TP.0000151001.64189.1D