

=1:1.91)であった。只、事前登録を加入条件とした傷害保険が発足した2006年3月、4月2ヶ月間の登録数は159例と、それまでの11ヶ月間の2ヶ月平均99例の1.5倍増しており、保険とのタイアップによって本事業が強化されたことを覗かせた(図-2)。骨髄、末梢血ドナー間における年齢、性別、患者とのHLA適合性に関する差は無かった。採取チームから報告された比較的重篤な有害事象は末梢血幹細胞採取で9例(2006年4月現在、血管外漏出、動脈血酸素飽和度低下、カテーテル感染・敗血症・静脈血栓、髄膜腫、胸膜炎・肺炎、狭心症様症状、白血球減少が各1例ずつ、血小板減少が2例)、骨髄採取で1例(2006年7月現在、発熱)であったが、いずれも一過性であり後遺症を残すことは無かった。提供後1年を経たドナーの健康状態聴取が開始された。

D. 考察

わが国の血縁者間造血幹細胞移植例数は近年骨髄:400例、末梢血:600例、計1,000例前後であると推測される(日本造血細胞移植学会全国データ集計事業)。それから見て、本事業の初年度事前登録率は70%弱と計算される。しかし2006年3月、4月2ヶ月間の、傷害保険加入条件設定後の登録例数が159例ということは年間で約1,000例になるわけで、全例事前登録という目標は達成される可能性が出てきた。急性期有害事象は明らかに末梢血ドナーに多いかのようなものであるが、ここには骨髄ドナーに100%発生する腰部穿刺創や麻酔による一過性意識喪失は当然のことながらカウントされないもので、これをもって一概にドナーの負担の軽重を論ずることは出来ないと考える。本シ

ステムは血縁ドナーの安全性を高める上で有用な仕組みと考えるが、一ドナーにつき5年間フォローアップするという事は、最終的には常時5,000名のドナーを半永久的にフォローすることになり、その維持費は決して安くはない。造血細胞移植の健全な発展のためには必須の事業であるだけに、財政的側面も含め研究が続けられる必要がある。

E. 結論

造血幹細胞提供の事前登録制並びに長期フォローアップシステムは採取チームにドナーの安全に対する自覚を新たにさせ、ドナーに発生する有害事象を正確に把握して、それに対する早期対策を可能にするものであり、維持、継続されるべき事業である。

F. 健康危険情報

日本造血細胞移植学会との共同事業として行なわれている本事業を通じて得られたドナーに関わる健康危険情報は逐一同学会のホームページ上に開示される(一般からもアクセス可能)。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kodera Y, Nishida T, Ichinohe T, Saji H.: Human leukocyte antigen haploidentical hematopoietic stem cell transplantation: Indications and tentative outcomes in Japan. *Seminars in Hematology*. 42(2): 112-118. 2005.4
- 2) 小寺良尚: 特集 造血幹細胞移植: 診断と治療の進歩 I.造血幹細胞移植の現状 1.骨髄バンクと非血縁者間骨髄移植

- 日本内科学雑誌 94(7):4-10. 2005.7
- 3) 小寺良尚:造血細胞移植療法の現状と今後の展望 Kyo 143:1-11. 2005
 - 4) Shimada K, Yokozawa T, Atsuta Y, Kohno A, Maruyama F, Yano K, Taji H, Kitaori K, Goto S, Iida H, Morishima Y, Kodera Y, Naoe T, Morishita Y: Solid tumors after hematopoietic stem cell transplantation in Japan: incidence, risk factors and prognosis. Bone Marrow Transplantation. 36(2): 115-121. 2005.7
 - 5) Suzuki T, Kiyoi H, Ozeki K, Tomita A, Yamaji S, Suzuki R, Kodera Y, Miyawaki S, Asou N, Kuriyama K, Yagasaki F, Shimazaki C, Akiyama H, Nishimura M, Motoji T, Shinagawa K, Takeshita A, Ueda R, Kinoshita T, Emi N, Naoe T. Clinical characteristics and prognostic implications of NPM1 mutations in acute myeloid leukemia. Blood: 106(8): 2854-2861. 2005.10
 - 6) Yanada M, Naoe T, Iida H, Sakamaki H, Sakura T, Kanamori H, Kodera Y, Okamoto S, Kanda Y, Sao H, Asai O, Nakai K, Maruta A, Kishi K, Furukawa T, Atsuta Y, Yamamoto K, Tanaka J, Takahashi S: Myeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia in adults: significant roles of total body irradiation and chronic graft-versus-host disease. Bone Marrow Transplantation. 36(10): 867-872. 2005.11
 - 7) Inamoto Y, Teramoto T, Shirai K, Tsukamoto H, Sanda T, Miyamura K, Yamamori I, Hirabayashi N, Kodera Y: Severe hypercholesterolemia associated with decreased hepatic triglyceride lipase activity and pseudohyponatremia in patients after allogeneic stem cell transplantation. International Journal of Hematology. 82(4): 362-366. 2005.11
 - 8) Kanda Y, Sakamaki H, Sao H, Okamoto S, Kodera Y, Tanosaki R, Kasai M, Hiraoka A, Takahashi S, Miyawaki S, Kawase T, Morishima Y, Kato S; Japan Marrow Donor Program. Effect of conditioning regimen on the outcome of bone marrow transplantation from an unrelated donor. Biology of Blood and Marrow Transplantation. 11(11): 881-889. 2005.11
 - 9) 稲本賢弘、鎌塚八千代、辻村朱音、徳永正浩、大庭 拓、宮村耕一、小寺良尚 : 50 歳以上の高齢者における fludarabine と melphalan (non-TBI, non-BU/CY)を用いた同種造血幹細胞移植の経験 臨床血液 47(1):9-15.2006.1
 - 10) Atsuta Y, Suzuki R, Yamamoto K, Terakura S, Iida H, Kohno A, Naoe T, Yano K, Wakita A, Taji H, Hamaguchi M, Kodera Y, Sao H, Morishima Y, Hamajima N, Morishita Y. Risk and prognostic factors for Japanese patients with chronic graft-versus-host disease after bone marrow transplantation. Bone Marrow Transplantation. 37(3): 289-296. 2006.2
 - 11) Suzuki R, Suzumiya J, Nakamura S, Kagami Y, Kameoka JI, Sakai C, Mukai H, Takenaka K, Yoshino T, Tsuzuki T, Sugimori H, Kawa K, Kodera Y, Oshimi K; NK-cell Tumor Study Group. Hematopoietic stem cell transplantation for

natural killer-cell lineage neoplasms. Bone Marrow Transplantation. 37(4): 425-431.2006.2

- 12) Imamura M, Asano S, Harada M, Ikeda Y, Kato K, Kato S, Kawa K, Kojima S, Morishima Y, Morishita Y, Nakahata T, Okamura J, Okamoto S, Shiobara S, Tanimoto M, Tsuchida M, Atsuta Y, Yamamoto K, Tanaka J, Hamajima N, Kodera Y. Current status of hematopoietic cell transplantation for adult patients with hematologic diseases and solid tumors in Japan. International Journal of Hematology. 83(2): 164-178.2006.2

2. 学会発表

- 1) 西村美樹、小澤真一、丸田孝郎、中世古知昭、趙 龍桓、坂巻 壽、佐尾 浩、森 慎一郎、岡本真一郎、宮村耕一、森島泰雄、川瀬孝和、加藤俊一、小寺良尚：JMDP を介した UBMT5,660 例における慢性 GVHD の解析 第 67 回日本血液学会総会・第 47 回日本臨床血液学会総会 横浜 2005.9
- 2) 小島勢二、矢部普正、加藤俊一、加藤剛二、坂巻 壽、気賀沢寿人、生田孝一郎、原 純一、土田昌宏、森島泰雄、小寺良尚：後天性再生不良性貧血に対する非血縁者間同種骨髄移植 —JMDP215 例の検討— 第 67 回日本血液学会総会・第 47 回日本臨床血液学会総会 横浜 2005.9
- 3) 鋏塚八千代、安田貴彦、高橋太郎、稲本賢弘、徳永正浩、大庭 拓、宮村耕一、小寺良尚：骨髄異形成症候群に対する同種造血幹細胞移植 61 例における細胞遺伝学的異常が移植成績に与える影響 第 67 回日本血液学会総会・第 47 回日本臨床血液学会総会 横浜 2005.9
- 4) 神田善伸、坂巻 壽、佐尾 浩、岡本真一郎、小寺良尚、田野崎隆二、笠井正晴、平岡 諱、高橋 聡、宮脇修一、川瀬孝和、森島泰雄、加藤俊一：非血縁者間骨髄移植において移植前処置が移植成績におよぼす影響の解析 第 67 回日本血液学会総会・第 47 回日本臨床血液学会総会 横浜 2005.9
- 5) 稲本賢弘、安田貴彦、鋏塚八千代、徳永正浩、大庭 拓、寺倉精太郎、村田 誠、宮村耕一、直江知樹、小寺良尚：Fludarabine と melphalan を用いた非血縁者間 RIST23 例の feasibility study 第 67 回日本血液学会総会・第 47 回日本臨床血液学会総会 横浜 2005.9
- 6) 安田貴彦、高橋太郎、鋏塚八千代、稲本賢弘、徳永正浩、大庭 拓、宮村耕一、小寺良尚：当院で経験した後天性血友病（第 8 インヒビター）の一例 第 67 回日本血液学会総会・第 47 回日本臨床血液学会総会 横浜 2005.9
- 7) Nakaseko C, Nishimura M, Ozawa S, Cho R, Ohwada C, Maruta A, Sakamaki H, Sao H, Mori S, Okamoto S, Miyamura K, Kato S, Kawase T, Morishima Y, Kodera Y: Risk factors and outcome of chronic GVHD: Analysis of 5,660 patients undergoing unrelated bone marrow transplantation through the Japan Marrow Donor Program. 47th Annual Meeting of the American Society of Hematology. Atlanta. 2005.12
- 8) Tsuchida M, Sao H, Sakamaki H, Kawa K, Kanda Y, Kato K, Hara M, Ishii M, Kikuchi

- A, Okamura J, Maruta A, Takaue Y, Kasai M, Yabe H, Morishima Y, Kato S, Kodera Y: Unrelated donor marrow transplantation for acute lymphoblastic leukemia in Japan. A Japan Marrow Donor Program experience between 1993 and 2003. 47th Annual Meeting of the American Society of Hematology. Atlanta. 2005.12
- 9) Kodera Y, Kato S, Harada M, Shiobara S, Hamajima N, Morishima Y, Tanimoto M, Asano S, Ikeda Y, Dohi H, Nakahata T, Imamura M, Kawa K, Takaue Y, Kanda Y, Yamamoto K, Favre G, Gratwohl A.: Sever adverse events of allogeneic related peripheral blood stem cell donors-results of nation-wide 3,262 consecutively and prospectively registered case-survey in Japan and of its comparison to the outcome of retrospective survey shared with EBMT for stem cell donors. 47th Annual Meeting of the American Society of Hematology. Atlanta. 2005.12
- 10) Kojima S, Yabe H, Kato K, Kigasawa H, Sakamaki H, Tsuchida M, Kato S, Morishima Y, Kodera Y.: Tacrolimus/Methotrexate (MTX) versus Cyclosporine/MTX for graft-versus-host disease (GVHD) prophylaxis in patients with sever aplastic anemia (SAA) who received marrow transplantation from unrelated donors: Results of matched pair analysis. 47th Annual Meeting of the American Society of Hematology. Atlanta. 2005.12
- 11) Atsuta Y, Suzuki R, Yamamoto K, Terakura S, Iida H, Kohno A, Naoe T, Sao H, Kodera Y, Morishima Y, Hamajima N, Morishita Y.: Chronic graft-versus-host disease after allogeneic bone marrow transplantation in Japan: Identification of risk factors and prognostication. 47th Annual Meeting of the American Society of Hematology. Atlanta. 2005.12
- 12) Kojima S, Yabe H, Kato K, Kigasawa H, Sakamaki H, Tsuchida M, Kato S, Morishima Y, Kodera Y.: Effects of HLA-C and HLA-DQB1 mismatching on outcome of unrelated donor marrow transplantation for patients with sever aplastic anemia. 47th Annual Meeting of the American Society of Hematology. Atlanta. 2005.12
- 13) Terakura S, Murata M, Nishida T, Emi N, Akatsuka Y, Riddell SR, Morishima Y, Kodera Y, Naoe T.: Increased risk for treatment-related mortality of bone marrow transplantation in GSTM1-positive recipients. 47th Annual Meeting of the American Society of Hematology. Atlanta. 2005.12
- 14) Kato K, Kanda Y, Eto T, Muta T, Gondo H, Utsunomiya A, Taniguchi S, Shibuya T, Kato S, Kodera Y, Harada M.: Unrelated bone marrow transplantation for adult T cell leukemia/ lymphoma: A study from the Japan Marrow Donor Program. 47th Annual Meeting of the American Society of Hematology. Atlanta. 2005.12
- 15) Suzuki T, Kiyoi H, Ozeki K, Tomita A, Suzuki R, Kodera Y, Miyawaki S, Asou N, Kuriyama K, Yagasaki F, Shimazaki C, Akiyama H, Nishimura M, Motoji T, Shinagawa K, Takeshita A, Ueda R, Naoe

- T.: Clinical characteristics and prognostic implications of NPM1 mutations in acute myeloid leukemia. 47th Annual Meeting of the American Society of Hematology. Atlanta.2005.12
- 16) Miyawaki S, Hatsumi N, Tamaki T, Naoe T, Ozawa K, Kitamura K, Karasuno T, Mitani K, Kodera Y, Yamagami T, Koga D.: Prognostic impact of the detection of the WT1 gene mRNA with peripheral blood in adult acute myeloid leukemia (AML). 47th Annual Meeting of the American Society of Hematology. Atlanta.2005.12
- 17) 稲本賢弘、伊藤雅文、安田貴彦、高橋太郎、銚塚八千代、大庭 拓、宮村耕一、平林紀男、小寺良尚：同種造血幹細胞移植後に出現する stage 3 の皮疹に治療は必要か（後方視的解析） 第 28 回日本造血移植学会総会 東京 2006.2
- 18) 大庭 拓、平林紀男、伊藤雅文、藤野雅彦、榎本和義、安田貴彦、高橋太郎、銚塚八千代、稲本賢弘、宮村耕一、小寺良尚：同種移植後における肝臓病理～障害パターンとその臨床意義の検討 第 28 回日本造血移植学会総会 東京 2006.2
- 19) 鬼塚真仁、岸 賢治、稲本賢弘、大庭 拓、宮村耕一、小寺良尚、堀田知光、猪子英俊：移植後肺合併症と遺伝子多型性 第 28 回日本造血移植学会総会 東京 2006.2
- 20) 安田貴彦、高橋太郎、銚塚八千代、稲本賢弘、大庭 拓、宮村耕一、小寺良尚：当院における同種幹細胞移植後の早期中枢神経合併症の臨床的検討 第 28 回日本造血移植学会総会 東京 2006.2
- 21) 高橋太郎、安田貴彦、銚塚八千代、稲本賢弘、大庭 拓、宮村耕一、小寺良尚、大橋春彦、杉浦 勇：夜間発作性血色素尿症（PNH）に対し、骨髄非破壊的前処置を用いた同種末梢血幹細胞移植を施行した一症例 第 28 回日本造血移植学会総会 東京 2006.2
- 22) 銚塚八千代、安田貴彦、高橋太郎、稲本賢弘、大庭 拓、宮村耕一、伊藤雅文、小寺良尚：当院における遅発性非感染性肺合併症 31 例の後方視的検討 第 28 回日本造血移植学会総会 東京 2006.2
- 23) 寺倉精太郎、村田 誠、西田徹也、恵美宣彦、赤塚美樹、森島泰雄、小寺良尚、直江知樹：代謝酵素 GSTM1 陽性患者に対する非血縁者間骨髄移植では治療関連死亡リスクが増加する 第 28 回日本造血移植学会総会 東京 2006.2
- 24) 鈴木律朗、鈴宮敦司、中村栄男、河 敬也、小寺良尚、押味和夫：NK 細胞系白血病リンパ腫に対する造血幹細胞移植 第 28 回日本造血移植学会総会 東京 2006.2
- 25) 徳永正浩、宮村耕一、大橋春彦、石和田稔彦、土屋 滋、寺倉精太郎、銚塚八千代、稲本賢弘、大庭 拓、小寺良尚：骨髄非破壊的前処置を用いた非血縁者間同種骨髄移植が成功した白血球粘着不全の 1 例 第 28 回日本造血移植学会総会 東京.2006.2
- 26) 阿部大二郎、小澤真一、西村美樹、丸田壱郎、中世古知昭、趙 龍桓、坂巻 壽、佐尾 浩、森慎一郎、岡本真一郎、宮村耕一、川瀬孝和、森島泰雄、加藤俊一、小寺良尚：JMDP を介した UBMT における長期生存者の QOL 第 28 回日本造血移植学会総会 東京.2006.2

- 27) 小澤真一、西村美樹、丸田壱郎、中世古知昭、趙 龍桓、坂巻 壽、佐尾 浩、森慎一郎、岡本真一郎、宮村耕一、川瀬孝和、森島泰雄、加藤俊一、小寺良尚：JMDP を介した UBMT5,660 例における慢性 GVHD の解析 第 2 報 慢性 GVHD 発症例の予後因子 第 28 回日本造血移植学会総会 東京.2006.2
- 28) 神田善伸、坂巻 壽、佐尾 浩、岡本真一郎、小寺良尚、田野崎隆二、笠井正晴、平岡 諦、高橋 聡、宮脇修一、川瀬孝和、森島泰雄、加藤俊一：非血縁者間骨髄移植において移植前処置が移植成績におよぼす影響の解析 第 28 回日本造血移植学会総会 東京.2006.2

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

厚生労働科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）
分担研究報告書

各種造血幹細胞移植の患者およびドナーの登録システムの一元化と
その運用方法に関する研究

分担研究者 山本一仁

愛知県がんセンター中央病院血液・細胞療法部 医長

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

分担研究者

山本一仁
愛知県がんセンター中央病院
血液・細胞療法部
医長

研究協力者

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

熱田由子

名古屋大学大学院医学系研究科
予防医学教室／医学推計・判断学
大学院生

A. 研究目的

本邦における造血細胞移植実施例は、日本造血細胞移植学会、日本小児血液学会日本骨髓バンク、日本臍帯血バンクネットワークのいずれか登録システムに登録されている。昨年度は、効率的な登録システムの構築するため、これら4つの登録・調査用紙及びデータ構造を分析、再検討をおこなったが、今年度は登録システムの一元化の具体案を検討し、入力プログラムを作成し、運用の問題点を検討した。

B. 研究方法

各レジストレーションの登録用紙とデータ構造を比較検討し、統一化項目及び独自項目を検討した。それをもとに、効率的な登録システムの運用のためのデータ構造を決定した。更に登録プログラムの作成し、

実際に運用をおこなう時の問題点を明らかにし、その解決策を検討した。

(倫理面への配慮)

登録システムの個人情報の取り扱いについても検討した。

C. 研究結果

1) 現登録システムの問題点

各移植例は、それぞれの登録システムに登録することになっている。しかし、各登録システムでデータ構造が異なるため、移植成績などのデータの比較をおこなう場合は、コードの振り直しなどをおこなわなければならない状態にあった。また、同じ移植例が別々の登録システムに登録され二重登録や患者の通院施設の変更により追跡調査が困難となるなどの問題が発生している。4つの登録システムの調査項目のうち、同一調査項目は一項目とし、同じ内容でありながら項目名が異なるものや共通化可能な項目は共通化した。

2) 効率的な登録システムの具体化

安全で効率的な登録をおこなうために以下のようなシステムの構築が必要と考えられる。A) 誤入力防止：論理チェック機能 B) 利便性の確保：一つのプログラムで各登録システムへの入力を可能にする。入力途中での保存が行え、必要に応じて、CSVテキストなどの汎用的なデータ形式への出力ができるプログラムの開発。C) 個人情報保護：プログラム自体に外部と通信する機能を持たせない。データを施設外へ出すときには、匿名化することで、追跡調査可能な状態を保ちつつ、個人情報をおこなうことが可能なシステムの構築。D) 追跡調査への

配慮：入力をおこなうと、施設IDとは別にプログラムが独自のIDを作成し、転院や追跡調査に対応する機能。

3) 登録システムの運用上の問題点

プログラムの試用版を作成し、現在、バリデーションをおこなうと共に、不具合の有無を検討している。

4) インターネットを介した登録システム

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

D. 考察

現在、本邦における造血幹細胞移植は4つの登録システムのいずれかに登録されている。それぞれの登録システムは独立しており、データ構造が異なるため、直ちにデータの比較がおこなえない状況になっている。今回の検討により、4つの登録システムを統一した登録システムの構築が具体化されつつある。登録システムの統一化により、登録及び各種造血幹細胞移植間の比較が経済的かつ効率的におこなえる。今後は、より利便性を配慮し、インターネットを介した登録システムの開発が必須であるが、サーバーへの攻撃や情報漏洩の問題などセキュリティなどの課題を解決しなければならない。

E. 結論

造血幹細胞移植の登録システムを統一し、登録プログラムを具体化した。それにより

登録及び各種造血幹細胞移植間の比較が経済的かつ効率的におこなえる。

F. 健康危惧情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Nishio K, Suzuki K, Ito Y, Naito M, Yamamoto K, et al. Possible interactions of the endothelial constitutive nitric oxide synthase genotype with alcohol drinking and walking time for high serum uric acid levels among Japanese. *Metabolism*. 2005 ;54:1302-1308.

Atsuta Y, Kawase H, Hamajima N, Nishio K, Niwa Y, Tanaka D, Yamamoto K, Tamakoshi A. Use of duplex PCR-CTPP methods for CYP2E1RsaI/IL-2 T-330G and IL-1B C-31T/TNF-A T-1031C polymorphisms. *Mol Diagn*. 2005;9:89-94.

Hishida A, Terakura S, Emi N, Yamamoto K, et al. GSTT1 and GSTM1 deletions, NQO1 C609T polymorphism and risk of chronic myelogenous leukemia in Japanese. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2005 ;6:251-255.

Yanada M, Naoe T, Iida H, Sakamaki H, Sakura T, Kanamori H, Koderu Y, Okamoto S, Kanda Y, Sao H, Asai O, Nakai K, Maruta A, Kishi K, Furukawa T, Atsuta Y, Yamamoto K, et al. Myeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia in adults: significant roles of total body irradiation and chronic graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant*. 2005 ;36:867-872.

Imamura M, Asano S, Harada M, Ikeda Y,

Kato K, Kato S, Kawa K, Kojima S, Morishima Y, Morishita Y, Nakahata T, Okamura J, Okamoto S, Shiobara S, Tanimoto M, Tsuchida M, Atsuta Y, Yamamoto K, et al. Current status of hematopoietic cell transplantation for adult patients with hematologic diseases and solid tumors in Japan. *Int J Hematol*. 2006;83:164-178.

Atsuta Y, Suzuki R, Yamamoto K, et al. Risk and prognostic factors for Japanese patients with chronic graft-versus-host disease after bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2006;37:289-296.

2. 学会発表

山本一仁 日本造血細胞移植学会における臨床研究：学会が関与する臨床研究とその体制 学会シンポジウム「EBMの確立、多施設臨床共同研究の現状」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.

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

分担研究報告書

分担研究者 岡本 真一郎 慶應義塾大学医学部 内科 助教授

研究要旨 非血縁者間末梢血幹細胞移植の現状と、国際間での非血縁者造血幹細胞移植に関する規制(regulation)についての情報収集を行った。非血縁者間末梢血幹細胞移植は日本を除くすべてのドナーバンクで施行されており、その有用性に関する後方視的データが蓄積され、現在、NMDP/CIBMTR による骨髓との prospective な比較研究が進行している。国際間非血縁者幹移植に関しては、WMDA による各国の regulation に関する調査が終了し、WMDA ホームページに掲載された。現時点で迅速かつ効率よい造血幹細胞の輸出入の障害となりつつある regulation が EU の European Directive on Human cell and tissue transplantation (Quality and safety requirements, Ethical aspects, Inspection and accreditation, Traceability, Import/Export) に関する規定で、WMDA/JACIE/EBMT の連携により、EU との harmonization を図ることが前向きに検討されている。

A. 研究目的

日本は HLA 適合血縁者ドナーが見出されない場合、HLA 適合非血縁ドナー、非血縁臍帯血、HLA 不適合血縁ドナーなどの alternative sources により、国内において移植に必要とされる造血幹細胞のすべてを自給できる数少ない国である。特に臍帯血バンクの整備と成績向上に伴い、海外に造血幹細胞を求める頻度は着実に低下している。しかし、海外においては造血幹細胞ソースの約 60-70% を海外ドナーに依存しているのが現状である。今回は世界各国/地域における非血縁者間同種末梢血幹細胞の activity と国際間非血縁者間造血幹細胞移植に関する規制の情報収集を行い、わが国における非血縁者間

同種造血幹細胞移植に関連した医療体制の構築の資料とすることを目的とした。

B. 研究方法

年 2 回開催される World Marrow Donor Association (WMDA) の working group meeting/ 年次総会、北米骨髓バンク (National Marrow Donor Program ,NMDP) の年次総会において、造血幹細胞に関する各国/地域の regulation の現状について情報を収集した。

C. 研究結果

- 1) 海外における非血縁者間末梢血幹細胞移植の現状。
海外においては、非血縁者からの末梢

血幹細胞採取が施行されているが、米国骨髓バンクでは提供される造血幹細胞の約60%が、ドイツ(DKMS)では90%が末梢血となっている。BMDWでは非血縁者からの末梢血幹細胞採取に関する実態調査を毎年実施している。その2005年の調査結果では、55の骨髓バンクのうち54のバンクにおいて、初回の幹細胞採取、2回目の幹細胞採取、あるいは緊急時の幹細胞採取として非血縁者からの末梢血採取が認められており、いずれの場合においてもその採取を認めていない国は日本だけであった。

CIBMTR/NMDPは非血縁者間末梢血移植274例と骨髓移植618例との後方視的比較検討をおこなった。その結果、移植後3年での生存率に両者で差は認められない(骨髓33%末梢血29%)が、急性/慢性GVHDおよび移植後9ヶ月以降のTRMおよびtreatment failureの頻度は末梢血において有意に高いことが明らかにされた。この検討結果を踏まえて、現在、米国では非血縁者間末梢血幹細胞移植と骨髓移植の無作為比較試験が多施設共同試験として進行している(BMT-CTN(Bone Marrow Transplantation Clinical Trial Network))。この臨床試験では、30%のドナーおよび患者において試験への参加同意が得られないために、予定より患者/ドナーの登録が遅れている。欧州においても同様の比較試験が計画されたが実施はされていない。

2) 非血縁者間造血幹細胞移植に関する規制

造血幹細胞移植に関する規制は global なものと local なものに分けられる。前者には WMDA より提案された国際間(国境を越えての)非血縁者間造血幹細胞移植のスタンダードとその細目(ドナーに対するインフォームドコンセントの内容、同一ドナーからの2回目以降の採取など)に関する guideline が挙げられる。後者には米国 Food and Drug Administration (FDA), EU の European Parliament/Council が挙げられる。この中で EU の European Directive on Human cell and tissue transplantation は Quality and safety requirements, Ethical aspects, Inspection and accreditation, Traceability, Import/Export に関する規定を定めている。その主要な項目を表2に示すが、規制の対象となる造血幹細胞移植の領域はFDAと比較して多岐にわたっており、この規制によって、欧州では欧州以外の地域の非認定採取施設で採取された造血幹細胞の輸入は認められない等の問題が生じている。

WMDAでは、regulatory issuesに関するWGが造血幹細胞移植に関する各国のregulationに関する情報を収集し、global harmonizationを必要とする点を明確に提示した。具体的な各国の規制は、すべてWMDAのweb siteにlist upされている。WMDAでは、現時点で迅速かつ効率よい造血幹細胞の輸出入の障害となりつつあるEUのEuropean Directive on Human cell

and tissue transplantation (Quality and safety requirements, Ethical aspects, Inspection and accreditation, Traceability, Import/Export) に関する規定に対して、WMDA/JACIE/EBMT の連携をとり、EU との harmonization を図る前向きな検討を開始した。

D. 考察

BMDW からは、2005 年 11 月に世界 42 カ国で機能している 55 の骨髄バンクと 19 の臍帯血バンクに登録されたドナー/臍帯血ユニットが 100,000,000 に達したことが報告された。同種造血幹細胞ソースとしての骨髄と末梢血の採取に伴う安全性に関する情報が蓄積される中で、非血縁者間での末梢血および骨髄の至適利用に関するエビデンスは必ずしも十分ではないが、末梢血採取を選択することが極めて重要な選択肢となる場合がある（ドナーと患者の体重差を著しい場合や、骨髄移植後の primary rejection の rescue など）。また、WMDA の standard にも、末梢血採取は確立した医療と位置づけられており、いかなる場合にも末梢血を提供しないとするわが国の対応は global standard から外れたものである。また、本邦と異なり、海外では primary rejection の rescue として臍帯血を選択することは容易ではない。国際協力が重要な使命である骨髄バンクとしては、早急に 2 回目の移植の選択肢として末梢血の選択を認めることを検討すべきである。

ヒトの組織/細胞 products に関する規制の問題点は、造血幹細胞と他の組織/細胞の移植が異なる点に十分な配慮がなされていないことである。造血幹細胞移植は HLA によってドナーとレシピエントは 1 対 1 対応となることが根本的に異なる事に加えて（1）大多数の造血幹細胞 products は病院で調整されるが、病院は commercial manufacturers でない事。（2）造血幹細胞ソースを扱う殆どすべての分野の活動は非営利団体によるものである事（3）患者の risk/benefit profile 他の領域とは大きく異なることなどが挙げられる。特に国際間で造血幹細胞を交換する場合にはドナーとレシピエントが存在する両国/地域の規制を満たす事が不可欠となり、exchange の迅速性と効率が要求される造血幹細胞移植の大きな障害となっている。EU の規制に対して WMDA/EBMT/JASIE などの造血幹細胞移植領域における学術団体/認定機関が密な連携を図り、造血幹細胞の安全性を確保しつつ効率よい供給を可能とする具体的な規制内容と根拠を示すことは、EU の規制をより global なものとする事に極めて有用であった。日本以外のアジア諸国においても造血幹細胞移植は盛んに施行されているが、その regulation に関して確立したものがないのが現状である。今後は各国/地域の規制を尊重しつつも、WMDA を加えて各国の移植関連学会のリードの下に規制の harmonization を図る事が強く望まれる。

E. 結論

非血縁者からの末梢血幹細胞採取を、安全に施行する体制の整備は不可欠であるが、末梢血は非血縁者間造血幹細胞ソースとして国際的には広く用いられており、国際協力及び global standard の視点からも早急な導入が必要と考えられた。また、国際間の造血幹細胞の安全かつ効率的な exchange に関しては、WMDA/JACIE あるいは FACT などの認定機構に加えて各国の移植関連学会のリードの下に harmonization を図る事が重要と考えられた。

F.健康危険情報

特になし。

G.研究発表

1. 論文発表

Matsushita M., Yamazaki R., Ikeda H., Mori T., Sumimoto H., Fujita T., Okamoto S., Ikeda Y., Kawakami Y. : Possible involvement of allogeneic antigens recognized by donor-derived CD4+cytotoxic T cells in selective GVL effects after stem cell transplantation of patients with haematological malignancy. *British Journal of Haematology* 132 : 56-65, 2005.

Yanada M., Naoe T., Iida H., Sakamaki H., Sakura T., Kanamori H., Koderu Y., Okamoto S., Kanda Y., Sao H., Asai O., Nakai K., Maruta A., Kishi K., Furukawa T., Atsuta Y.,

Yamamoto K., Tanaka J., Takahashi S. : Myeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia in adults: significant roles of total body irradiation and chronic graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplantation* 36: 867-872, 2005.

Oh H., Loberiza FR., Zhang Mj., Ringden O., Akiyama H., Asai T., Miyawaki S., Okamoto S., Horowitz MM., Antin JH., Bashey A., Bird JM., Carabasi MH., Fay JW., Gale RP., Giller RH., Goldman JM., Hale GA., Harris RE., Henslee-Downey J., Kolb HJ., Litzow MR., McCarthy PL., Neudorf SM., Sema DS., Socie G., Tiberghien P., Barrett J. : Comparison of graft-versus-host-disease and survival after HLA-identical sibling bone marrow transplantation in ethnic populations. *Blood* 105 (4) : 1408-1416, 2005.

H.知的財産権の出願・登録状況

特に無し。

Surveys for G-CSF Stimulated Stem Cells (2005)

- Donors may be asked to donate G-CSF stimulated stem cells
YES: 52/55 (NO: Ireland, New Zealand, Japan)
- Donors may be asked to donate G-CSF stimulated stem cells for second donation
YES: 1/55 (NO: Japan)
- Donors may be asked to donate G-CSF stimulated stem cells for compassionate need only
YES: 2/55 (NO: Japan, New Zealand)



European Regulation (表2-1)

QUALITY AND SAFETY STANDARDS

- Selection criteria for the donor and the recipient
- Laboratory test required for donor
- Cell and Tissues procurement procedures and reception at the tissue bank
- Tissues and cells processing, preservation and distribution



European Regulation (表2-2)

ETHICAL ASPECTS

- Voluntary and unpaid donation
- Procurement on a non profit basis
- Mandatory consent and information
- Data Protection and Confidentiality



European Regulation (表2-3)

INSPECTION AND ACCREDITATION

- Competent authorities/ Accreditation and inspection structures
- Supervision of Tissue Procurement
- Accreditation of tissue banks
- Register of accredited Tissue Banks
- Inspection and control measures
- Import/export

2) 年齢が 15 歳以上かつ 55 歳以下で移植の支障となる臓器障害がない、

3) 年齢が 10 歳以上かつ 65 歳以下の HLA 一致同胞ドナーを有する

ドナーの選択基準は、

1) HLA 一致の同胞、

2) 年齢 10 歳以上 65 歳以下の者、

3) ドナー又は代諾者が骨髄採取または G-CSF 投与後のアフエーシスのいずれかに無作為に割り付けられることに文書による同意が得られていること、

4) 全身麻酔下の骨髄採取および G-CSF 後のアフエーシスを施行することに支障となる障害を有さないこと、である。

3. 被験者の登録と無作為化の方法：中央割付方式による無作為化（ランダムマイゼーション）を行い、原疾患の再発や治療関連死に与える影響を考慮し、原疾患の再発リスクおよび年齢を層とした層別化を行う。

4. 治療計画：ドナー及びレシピエントの両者から同意を得た後、登録被験者は骨髄移植群（BMT 群）または末梢血幹細胞移植群（PBSCT 群）に無作為に割り付ける。移植前治療としては BU/CY もしくは CY/TBI レジメンを用いることを原則とする。その他の治療法を用いる場合には引用可能な論文として公表されている、骨髄破壊の治療を行うこととする。

1) PBSCT 群：ドナーに G-CSF を 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ もしくは 400 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ を 1 日 1 回あるいは 2 回に分割して連続 4-6 日間皮下投与し、4-6 日目に 1-2 日間末梢血幹細胞をアフエーシスで採取し、レシピエントに輸注する。移植に必要な CD34 陽性細胞数はレシピエント体重当たり $2 \times 10^6/\text{kg}$ 以上を目標とする。

2) BMT 群：ドナーから全身麻酔下に骨髄穿刺を行い骨髄液を採取し、レシピエントに輸注する。移植に必要な有核細胞数はレシピエント体重当たり $2 \times 10^8/\text{kg}$ 以上を目標とする。移植後の免疫抑制は cyclosporine+短期 methotrexate の統一したレジメンで実施する。

5. 評価項目

主たる評価項目：time-to-event 解析による無病生存期間（leukemia-free survival）及び全生存期間（overall survival）

副次的評価項目：

- ① 急性 GVHD の頻度と重症度、
- ② 慢性 GVHD の頻度と重症度、
- ③ 移植後 100 日以内の全死亡（day 100 mortality）及び非再発期死亡（treatment-related mortality）

6. 目標症例数：以下の設定根拠により登録期間 2 年間で 1 群 170 例、全 340 例を

目標とし、最終症例の登録後 2 年間の追跡観察を行うこととする。尚、以下の設定根拠に用いた変数の不確実性と、研究全体の安全性、倫理性を考慮し、200 症例目が 6 ヶ月の観察を終了した時点で中間解析を実施する。この時、両群の overall survival に差がないとする帰無仮説を検定し、これが棄却された場合、本研究の症例登録は中止とする。

研究実施期間：2 年間。最終登録症例の移植後 100 日間が経過した時点で副次的評価項目に関する最終解析を行う。最終症例登録後 2 年間の追跡評価を行い、主たる評価項目についての最終解析を行う。

C. 研究結果

本研究を 2002 年 7 月から開始し、2006 年 1 月末までに、25 例の症例登録が行われた。症例登録が当初の予定より遅延しているため、2004 年末に参加施設にアンケート調査を行った。その結果、本研究に該当する血縁者ドナー同種造血幹細胞移植症例が、参加施設で減少していること、当初、適格症例の班研究参加同意率を 50%程度と予想したが、実際は 17%程度であること、適格症例でありながら参加して頂けなかった 99 症例中、63 例はドナーサイドの理由での参加拒否であり、BMT と PBSCT の選択率はほぼ半数ずつである、などの点が明らかとなった。これらのことから、現在血縁者間の同種造血幹細胞移植においては、主にドナーが自ら主体的に幹細胞採取の方法を選択しており、ランダム化に同意するケースは限られたごく一部に過ぎず、RCT の結果の一般化可能性を大きく損なう可能性が危惧される。また、ランダム化に同意しなかった例においても、BMT 実施例と PBSCT 実施例には大きな偏りがみられず、これらの移植例について移植の方法を統一して前向きに観察することは、BMT と PBSCT の安全性と有効性を比較する上で極めて貴重な情報を得ることになると考えられ、付随研究として、「成人白血病に対する HLA 一致血縁者ドナーからの同種造血幹細胞移植の前方視的観察研究」を計画している。被検者自身の選択による両治療法の比較結果を RCT の結果と比較することにより、RCT の結果の一般化可能性について検討する上で最大の情報となると思われる。更に、HLA 一致血縁ドナーからの骨髄移植と末梢血幹細胞移植の成績を、日本造血細胞移

植学会のデータを基に後方視的に解析し、特に全身型慢性GVHDの頻度などに関する解析を行うことを計画している。

D. 考察

本研究は開始に先立って、参加施設に調査を行い、十分な症例集積見込みのもと、開始された。しかし、本研究立案時から実際に研究が開始される間に、環境が大きく変化した。参加施設が本邦の移植主要施設であり、HLA一致血縁同胞からの造血幹細胞移植より、非血縁骨髄移植、臍帯血移植などを行う機会が多くなり、参加施設における適格症例が激減したこと、PBSCドナーの白血病発症などの報道によりドナーの意思が強く働くようになり、ドナーのRCTに対する同意を得ることが予想より困難であったことなどにより、本研究の進行が遅延している。

E. 結論

本研究が、患者だけでなく健常人ドナーの無作為割付を必要とする臨床試験であり、進行が遅延している。このような臨床試験を行うにあたり、臨床試験の意義などを理解していただくような一般市民向けの啓蒙運動、またG-CSFの長期的な安全性の確立、等が今後検討すべき重要課題であることが明らかとなった。

F. 健康危険情報

同種末梢血幹細胞ドナーに関わる有害事象につき海外情報をも含めた文献学的検討を行った結果、海外において少なくとも8例の死亡事例が存在することが明らかになった。同種造血細胞移植ドナーは健常者でなければならないという原則を逸脱したものであった。わが国で行われた同種PBSCのためのドナー登録では、2000年4月から2002年12月までの間に登録された2000人以上のドナーで、PBSC採取約1年後に、急性骨髄性白血病を発症し死亡した1症例が報告された。PBSC採取と急性骨髄性白血病発症の因果関係は現時点では明らかでない。今後PBSCドナーフォローアップを確実にし、重篤な合併症の有無を慎重に検討する。日本骨髄移植バンクを介する非血縁者間骨髄移植においては、全身麻酔下での骨髄採取を受けるボランティアドナーの安全性確保が十分考慮され、定期的な安全基準の見直しやドナーのフォローアップ体制が整備されている。同種末梢血幹細胞移植のため

の末梢血幹細胞の動員・採取を受ける健常人ドナーは比較的高用量のG-CSF投与や大量の血液体外循環によるアフエレーシスが必要であり、安全確保のために日本造血細胞移植学会と日本輸血学会により示されているガイドラインを遵守する。ガイドラインは2003年に改定され、よりドナー安全を重視したものとなった。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Nakamura T, Ishikawa F, Sonoda K, Hisatomi T, Quao H, Yamada J, Fukuda M, Ishibashi T, Harada M and Kinoshita S: Characterization and distribution of bone-marrow-derived cells in mouse cornea: *IVOS* 46: 497-503, 2005
2. Mitoma H, Horiuchi T, Hatta N, Tsukamoto H, Harashima S, Kikuchi Y, Otsuka J, Okamura S, Fujita S, Harada M: Infliximab induces potent anti-inflammatory responses by outside-to-inside signals through transmembrane TNF- α . *Gastroenterology* 128: 376-392, 2005
3. Kamezaki K, Shimoda K, Numata A, Haro T, Kakumitsu H, Yoshie M, Yamamoto M, Takeda K, Matsuda T, Akira S, Ogawa K, Harada M: Roles of stat 3 and ERK in G-CSF signaling. *Stem Cells* 23: 252-263, 2005
4. Horiuchi T, Gondo H, Miyagawa H, Otusuka J, Inaba S, Nagafuji K, Takase K, Tsukamoto H, Koyama T, Mitoma H, Tanimoto Y, Miyagawa H, Tahira T, Hayasi K, Hashimura C, Okamura S, Harada M: Association of MBL gene polymorphisms with major bacterial infection in patients with high-dose chemotherapy and autologous PBSC. *Genes and Immunity* 6:162-166, 2005
5. Tsukamoto H, Horiuchi T, Kokubo H, Nagae S, Nishizaka H, Sawabe T, Harashima S, Himeji D, Koyama T, Otsuka J, Mitoma H, Kimoto Y, Hashimura C, Kitano E, Kitamura H, Furue M, Harada M: Molecular analysis of a novel hereditary C3 deficiency with systemic lupus erythematosus.

- Biochim Biophysica Res Commun
330:298-304, 2005
6. Karube K, Oshima K, Tsuchiya T, Yamaguchi T, Kawano R, Suzumiya J, Harada M, Kikuchi M: A "floral" variant of nodal marginal zone lymphoma. *Human Pathology* 36:202-206, 2005
 7. 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 T-cell leukemia/lymphoma. *Blood* 105:4143-4145, 2005
 8. Ishikawa F, Yasukawa M, Lyons B, Yoshida S, Miyamoto T, Yoshimoto G, Watanabe T, Akashi K, Shultz LD, Harada M: Development of functional human blood and immune systems in NOD/SCID/IL2 receptor γ hain^{nuj} mice. *Blood* 106: 1565 - 1573, 2005
 9. Kakumitsu H, Kamezaki K, Shimoda K, Karube K, Haro T, Numata A, Shide K, Matsuda T, Oshima K, Harada M: Transgenic mice overexpressing murine thrombopoietin develop myelofibrosis and osteosclerosis. *Leuk Res* 29:761-769, 2005
 10. Numata A, Shiomoda K, Kamezaki K, Haro T, Kakumitsu H, Shide K, Kato K, Miyamoto T, Yamashita Y, Oshima Y, Nakajima H, Iwama A, Aoki K, Takase K, Gondo H, Mano H, Harada M: Signal transducers and activators of transcription 3 augments the transcriptional activity of CCAAT/Enhancer-binding protein α in granulocyte colony-stimulating factor signaling pathway. *J Biol Chem* 280:12621-12629, 2005
 11. Kawano N, Ishikawa F, Shimoda K, Yasukawa M, Nagafuji K, Miyamoto T, Baba E, Tanaka T, Yamasaki S, Gondo H, Otsuka T, Ohsima K, Shultz LD, Akashi K, Harada M: Efficient engraftment of primary adult T-cell leukemia cells in newborn NOD/SCID/ β 2-microglobulin^{nuj} mice. *Leukemia* 19:1384-1390, 2005
 12. Yokoyama T, Okamura S, Asano Y, Kamezaki K, Numata A, Kakumitsu H, Shide K, Nakashima H, Kanaji T, Sekine Y, Mizuno Y, Okamura J, Matsuda T, Harada M, Niho Y, Shimoda K: A novel mutation in the juxtamembrane intracellular sequence of the granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) receptor gene in a patient with severe congenital neutropenia augments G-CSF proliferation activity but not through the MAP kinase cascade. *Int J Hematol* 82:28-34, 2005
 13. Imamura R, Miyamoto T, Yoshimoto G, Kamezaki K, Ishikawa F, Henzan H, Kato K, Takase K, Numata A, Nagafuji K, Okamura T, Sata M, Harada M, Inaba S: Mobilization of human lymphoid progenitors after treatment with granulocyte colony-stimulating factor. *J Immunol* 175:2647-2654, 2005
 14. Yoshida S, Ishikawa F, Shimoda K, Nagafuchi S, Shimoda S, Yasukawa M, Kanemaru T, Ishibashi H, Shultz LD, Harada M: Human Cord Blood-derived Cells Generate Insulin-Producing Cells In Vivo Stem Cells (in press)
- H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

厚生科学研究補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）

骨髄、末梢血等を利用した効率的な造血細胞移植の運用・登録と臨床試験体制の確立

並びにドナー及びレシピエントの安全確保と QOL 向上に関する研究

平成 17 年度分担研究報告書

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

研究要旨：マウス骨髄移植モデルを用いて、仔から母、母から仔への造血細胞移植時における非遺伝母組織適合性抗原（non-inherited maternal antigens, NIMA）、父由来組織適合性抗原（inherited paternal antigens, IPA）に対する免疫学的寛容効果の検討を行った。胎仔期に NIMA:H-2^d に接触していた H-2^{b/b} の仔マウスをドナーとして、H-2^{b/d} のレシピエントに骨髄＋脾細胞の移植を行った場合には、H-2^d への接触歴がないコントロールの仔マウスをドナーとした場合と比較して、GVHD の重症化が見られにくく、レシピエントの生存率も高い傾向が認められた。一方、IPA:H-2^d への接触歴を有する母マウスあるいは接触歴を有さない母マウスをドナーとして、H-2^{b/d} のレシピエントに移植を行った場合の比較では、GVHD スコア、生存期間のいずれにも有意差が認められなかった。また、仔マウスにおける NIMA への免疫寛容効果は、（1）NIMA に対して特異的であり、（2）移植片から CD4⁺CD25⁺ T 細胞を除去すると認められなくなり、（3）NIMA を発現する腫瘍細胞の拒絶には影響を及ぼさなかった。これらの結果は、NIMA に対する免疫寛容効果が CD4⁺CD25⁺ 制御性 T 細胞によって能動的かつ特異的に調節されている可能性を支持するとともに、NIMA 相補的同胞間や子から母への造血細胞移植では、（A）母から子への移植と比較して GVHD の重症化が起りにくく、（B）移植片対抗腫瘍効果も保持されている、という臨床的観察の実験的根拠を提示するものと考えられた。

A・研究の背景と目的

HLA-A, -B, -DR に 2 抗原以上の不一致が存在する血縁者間における新たなドナー選択方法として、国内外の複数のグループにより、母子間免疫寛容理論に基づいた T 細胞除去を用いない造血幹細胞移植の実現可能性が報告されている。分担研究者らは、このような移植方法の難治性造血器腫瘍に対する救済治療

としての安全性と有用性を検証することが重要との立場から、末梢血に検出される母子間長期マイクロキメリズムをドナー選択の指標とする T 細胞非除去造血幹細胞移植の登録調査研究および前向き臨床試験を行ってきた。

これらの移植方法においては、非遺伝母 HLA 抗原(NIMA, non-inherited maternal HLA

antigens)、あるいは妊娠を経験した母親の一部における父由来 HLA 抗原 (IPA, inherited paternal HLA antigens) への免疫学的低応答性の存在が仮定されているが、当班において実施された登録調査研究の解析結果では、移植片対宿主病 (graft-versus-host disease, GVHD) 方向の不一致が IPA となっている群では、NIMA が不一致の群と比較して、grade III 以上の重症 GVHD の出現頻度が高かったこと、また現在実施されている前向き臨床試験 (FK506 を GVHD 予防に用いた NIMA 相補的血縁者間造血幹細胞移植) の第 I 相段階においても、評価可能であった 9 例中 4 例に grade III の急性 GVHD が出現したことなどより、NIMA や IPA への獲得免疫寛容効果の臨床的意義を問い直す機運も発生している。

今年度の研究では、母子間免疫寛容理論に基づいた HLA 部分不一致ドナー選択方法の妥当性を、より基礎免疫学的な立場から検討する一助として、マウス骨髄移植モデルを用いた IPA や NIMA に対する免疫寛容効果の確認並びにその成立機構の解析を行うことを目的とした。(なお、以下の研究はすべて実験実施機関における動物実験倫理規定を遵守して行われた。)

B. 研究方法

1) ドナーマウス

Zhang と Miller の F1 x P バッククロスモデルを用いて、H-2^d を NIMA とするドナーマウス(胎仔期に H-2^d に接触し、遺伝的には H-2^d を有さない)およびそのコントロールとなるドナーを以下のように作成した。すなわち、B6D2F1(H-2^{b/d})を母に、C57BL/6(以下 B6, H-2^{b/b})を父とする仔マウスのうち、H-2 ハプロタイプが b/b のものを NIMA 接触マウスとして用いた。また、B6 を母に、

B6D2F1 を父とする仔マウスのうち、H-2 が b/b であるものをコントロールマウス(NIMA 非接触 H-2^{b/b} マウス)として用いた。

同様に、オス B6D2F1(H-2^{b/d})と交配した後のメス B6(H-2^{b/b})を IPA 接触マウス、オス B6 と交配した後のメス B6 を IPA 非接触のコントロールマウスとして用いた。

2) レシピエントマウス

移植後の NIMA 効果、IPA 効果を評価するためのレシピエントには B6D2F1(H-2^{b/d})を用いた。また、third party のレシピエントとして、B6C3F1(H-2^{b/k})を使用した。

3) 移植方法

移植前処置には全身放射線照射を用いた。通常、レシピエントマウスに 1 回あたり 6.5 Gy の照射を、3 時間以上の間隔を空けて合計 2 回行った。その後、ドナーマウスから T 細胞除去骨髄有核細胞 5x10⁶ 個と脾 CD4⁺ T 細胞 1.0-2.0x10⁶ 個を調整し、あわせて尾静脈から移植した。

また一部の実験では、脾 CD4⁺ T 細胞から抗 CD25 抗体を用いた negative selection により純度 95%以上の CD25 陰性 CD4⁺T 細胞分画を調整して、同様に T 細胞除去骨髄細胞とあわせて移植を行った。

4) GVHD および移植片対腫瘍効果の評価

移植後の GVHD は、体重減少、姿勢、活動性、毛並み、皮膚の状態、の 5 項目(各 0-2 点、合計最軽症 0 点-最重症 10 点)で評価を行った。

移植片対腫瘍効果の評価は、ドナーからの骨髄移植と同時に DBA/2(H-2^{d/d})由来の肥満細胞腫細胞株 P815 をレシピエントマウスに投与することにより行った。

5) 統計学的解析

移植後のレシピエントマウスの生存率は Kaplan-Meier の product-limit 推定法により行った。また 2 群間の生存率の差の検定には、