

となった初めての分子である。以上より、OMが胸腺の代替であるリンパ節 HEVs の新生と CCL20 による CD4 記憶 T 細胞分画の拡大とをもたらしていることが明らかとなった。

13

HTLV-1 関連脊髄症 (HAM/TSP) 症例におけるウイルス複製期間の HTLV-1 特異的 CD8⁺ T 細胞の退化した特異性

Degenerate specificity of HTLV-1-specific CD8⁺ T cells during viral replication in patients with HTLV-1-associated myelopathy (HAM/TSP)

Kubota R, Furukawa Y, Izumo S, *et al.*
Third Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Kagoshima University, 8-35-1 Sakuragaoka, Kagoshima 890-8520, Japan
Blood
2003, 101: 3074-3081.

HTLV-1 関連脊髄症/熱帯性痙攣性対麻痺 (HAM/TSP) は HTLV-1 感染で引き起こされる炎症性神経疾患であり、HTLV-1 感染 CD4⁺ T 細胞と HTLV-1 特異的 CD8⁺ T 細胞が病因に関与している。HAM/TSP 症例ではウイルス特異的 CD8⁺ T 細胞による著明な反応があるにもかかわらず、プロウイルス量が多い。しかしながら、*in vivo* でウイルス除去に T 細胞が有効かどうかは不明である。HAM/TSP 症例における HTLV-1 特異的 CD8⁺ T 細胞反応の動態を明確にするため、HTLV-1 プロウイルス量の変化、免疫優性ウイルス抗原決定基のアミノ酸の変化、HTLV-1 特異的 T 細胞の頻度、T 細胞認識の退化について長期的変化を調べた。縦断的研究において、HTLV-1 特異的 CD8⁺ T 細胞の頻度と退化がプロウイルス量と相関することがわかった。HTLV-1 特異的 T 細胞の頻度が同程度としても退化が低い症例では、プロウイルス量がより多い傾向にあった。さらに数多くの症例をプロウイルス量により 2 群に分けると、高プロウイルス量群では、低プロウイルス量群よりも T 細胞認識の退化が低かった。塩基配列解析から、抗原決定基の変異は頻度、退化が最も低い症例で著しく増加していた。これらのデータから、退化した特異性をもった HTLV-1 特異的 CD8⁺ T 細胞はウイルス複製期間に増加し、ウイルス感染を調節していることがわかった。

14

骨髄非破壊的前処置による造血細胞移植後の免疫回復

Immunologic recovery after hematopoietic cell transplantation with nonmyeloablative conditioning

Maris M, Boeckh M, Storer B, *et al.*
Fred Hutchinson Cancer Research Center, 1100 Fairview Avenue N, Seattle, WA 98109-1024, USA
Exp Hematol

目的：著者らは、骨髄非破壊的処置後の HLA 一致造血細胞移植 (HCT) を施行した 51 例のレシピエントと、骨髄破壊的処置後の 67 例のレシピエント対照群との免疫構築について検討した。方法：骨髄非破壊的処置は 2Gy の全身照射 (TBI) ±フルダラビンと、移植後のシクロスポリン + ミコフェノール酸モフェチル (MMF) で構成された。全患者に G-CSF により動員された末梢血単核細胞を輸注した。患者はリンパ球サブセット数、抗体レベル、ウイルス誘導リンパ増殖能、サイトメガロウイルス (CMV)-T ヘルパー (T_H) 細胞の限界希釈分析により連続的

2003, 31: 941-952.

に評価した。移植後最初の1年以上で感染症の発症率を算出した。結果：移植後最初の180日までのリンパ球サブセットの絶対数は、(骨髄非破壊的処置を受けた患者の80日目における総リンパ球数とメモリーB細胞数を除いて)類似していた。しかし1年目では、総CD4数、ナイーブCD4数、およびナイーブCD8数は骨髄破壊的処置を受けた患者で高かった。抗体レベルはすべての時点とワクチン接種後で類似していた。ウイルス誘導リンパ増殖能により評価したCD4細胞機能も同様であった。しかし、CMV-T_H細胞の絶対数は骨髄非破壊的処置後30日と90日で高かった(それぞれ $p = 0.002$, $p = 0.0003$)。明確な感染症合併率は移植後最初の90日以内では骨髄非破壊的処置を受けた患者で低かったが、その後は高くなった。骨髄非破壊的処置によるHCT後30日目と90日目のCMV特異的T細胞数の増加は、CMV感染の頻度の低い時期と一致していた。結論：HCT後早期では、骨髄非破壊的処置を受けた患者の免疫能は骨髄破壊的処置を受けた患者の免疫能より良いようにみえるが、後期では差はない。

15

骨髄移植患者の経口寛容の誘導がセミ同種移植マウスモデルのGVHDを抑制する

Induction of oral tolerance in bone marrow transplantation recipients suppresses graft-versus-host disease in a semiallogeneic mouse model

Nagler A, Ohana M, Alper R, et al.

Liver Unit, Department of Medicine, Hadassah University Hospital, PO Box 12000, Jerusalem 91120, Israel

Bone Marrow Transplant 2003, 32: 363-369.

GVHDは同種幹細胞移植(SCT)を成功させるにあたり最も障害となる病態である。罹患率および死亡率は高く、新しい治療戦略が求められている。今日の治療は主に免疫抑制であり、高い頻度で合併症を起こす。最近、マウスモデルにおいて、経口的に抗原を内服することにより誘導された低免疫反応は慢性GVHD(cGVHD)の進展を抑制することが観察された。本研究の目的は、マウスのセミ同種移植において寛容の誘導とGVHDの緩和が可能かどうかを評価することである。C57BL/6ドナーマウスから採取した 2×10^7 個の脾細胞を、移植前に7Gyの ^{60}Co を全身照射(TBI)した(C57BL/6 $\times$ Balb/c)F1レシピエントマウスに輸注することにより、GVHDを発症させた。経口寛容は、移植後隔日にC57BL/6脾細胞から採取した5回分の蛋白($50\mu\text{g}/\text{mouse}$)をレシピエントF1マウスに経口で与えることにより誘導した。*In vitro*で寛容マウスと非寛容マウスのリンパ球混合試験(MLR)を施行した。キメリズム、GVHDの臨床症状および病理所見をパラメーターとして、レシピエントマウスを観察した。非寛容マウスに対して寛容マウス脾細胞のMLR反応の著明な減少により、寛容の誘導が立証された。肝、小腸、皮膚におけるGVHDの臨床的、病理学的評価で著明な緩和が観察された。寛容の誘導で生着不全は認められなかった。これらの結果は、免疫機構の操作によりGVHDの頻度を減少させるためのステップを構

築するのかもしれない。

貧血・輸血

16 TNF2 アレルは HLA-DR とは独立した重症再生不良性貧血の危険因子である

The TNF2 allele is a risk factor to severe aplastic anemia independent of HLA-DR
Peng J, Liu C, Zhu K, *et al.*
Department of Hematology,
Qilu Hospital of Shandong
University, Jinan, Shandong
250012, China
Hum Immunol
2003, 64: 896-901.

重症再生不良性貧血 (SAA) は自己免疫的要素をもった疾患である。SAA 発症率は MHC 上の遺伝子と強い関連がある。TNF- α 遺伝子は MHC 遺伝子座にコードされており、TNF- α は SAA の病因にかかわっている。TNF2 とよばれるプロモーター領域 -308 位での TNF- α の遺伝子多型 (-308A) は、いくつかの自己免疫疾患との関連が証明されている。本研究では、TNF- α の -308 位プロモーター多型と HLA-DRB1 アレルについて 75 例の SAA 患者、55 例の中等症再生不良性貧血 (MAA) 患者、128 例の対照群で調べた。SAA 患者では対照群と比較し、TNF2, HLA-DR3, -DR2 表現型の頻度が有意に高かった。層別化解析により、TNF2 アレルは HLA-DR3 や -DR2 とは独立して SAA の発症に関連することが確認された。この結果から、TNF2 アレルは SAA の独立した危険因子であることが示唆された。

17 MDS 患者における IFN- γ 産生性インバリアント NK T 細胞の重度で選択的な欠損

Severe and selective deficiency of interferon- γ -producing invariant natural killer T cells in patients with myelodysplastic syndromes
Fujii S, Shimizu K, Klimek V, *et al.*
Laboratory of Tumor Immunology/Immunotherapy,
Rockefeller University, New York, NY 10021, USA
Br J Haematol
2003, 122: 617-622.

著者らは、MDS 患者では糖脂質反応性 V α 24⁺/V β 11⁺ NK T 細胞の重度の欠損があるが、NK 細胞や CD4⁺, CD8⁺ T 細胞にはそのような欠損はないことを示した。MDS 患者の血液や骨髄中では NK T リガンドである α -ガラクトシルセラミドに反応する IFN- γ 産生性 NK T 細胞は検出できないが、インフルエンザウイルス特異的エフェクター T 細胞機能は保たれていた。このような免疫調節に重要な細胞の重度で選択的な欠損は MDS の病態に関与している可能性がある。

18

SLE 患者における赤血球結合 CD55 および CD59 発現低下

Deficiency of red cell bound CD55 and CD59 in patients with systemic lupus erythematosus
 Richaud-Patin Y, Pérez-Romano B, Carrillo-Maravilla E, *et al.*
 Department of Immunology and Rheumatology, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, Vasco de Quiroga No.15, Tlalpan, 14000 Mexico City DF, Mexico
Immunol Lett
 2003, 88: 95-99.

CD55 と CD59 は補体抑制活性を有するグリコシルホスファチジルイノシトールに結合している蛋白である。自己免疫性溶血性貧血 (AIHA) は抗リン脂質抗体 (APLA) と関連がある。本研究の目的は、原発性 AIHA や SLE からの二次性 AIHA 患者の赤血球において、APLA の発現と CD55 および CD59 の発現低下との関連性を評価することにある。24 例の患者 (原発性 AIHA 患者 8 例, AIHA 合併 SLE 患者 11 例, AIHA の合併していない SLE 患者 5 例) と健常対照群 20 例の赤血球における CD55 と CD59 の発現をフローサイトメーターで解析した。血清中のいくつかのリン脂質抗体が ELISA を用いて検討された。SLE だけの患者では CD55 と CD59 が正常に発現していたが, AIHA 合併 SLE 患者のほとんど、原発性 AIHA の少数患者は、これらの分子のうちどちらか、あるいは双方とも低下していたが, APLA 発現との関連性は認めなかった。著者らの結果は、原発性および二次性 AIHA における CD55 と CD59 の発現低下を示したが、この低下は溶血機序においては引き金というよりもむしろ増悪因子として作用していると考えられた。さらに、この後天的な発現低下の原因としての APLA の役割は疑問の多いところである。

血栓・止血

19

ITP 血漿と純化した ITP モノクローナル自己抗体は *in vitro* で巨核球造血を抑制する

Immune thrombocytopenic purpura (ITP) plasma and purified ITP monoclonal autoantibodies inhibit megakaryocytopoiesis *in vitro*
 Chang M, Nakagawa PA, Williams SA, *et al.*
 Hemostasis and Thrombosis, Children's Hospital of Orange County, 455 S Main St, Orange, CA 92868, USA
Blood
 2003, 102: 887-895.

巨核球が血小板同様、ITP 自己抗体の標的になっているかどうかを明らかにするため、*in vitro* での ITP 血漿の巨核球造血に与える影響について調べた。臍帯血単核細胞をトロンボポイエチン存在下、および ITP 患者 (53 例) または健常ドナーの 10% 血漿存在下で培養した。抗血小板糖蛋白 Ib (GPIb) 自己抗体を含んだ ITP 血漿存在下では、対照血漿、および抗 GPIIb/IIIa 自己抗体または抗 GPIb 自己抗体が認められなかった患者血漿に比べ、フローサイトメトリーで同定された巨核球数は有意に減少していた ($p < 0.001$)。ITP 血漿中の抗 GPIb 自己抗体を血小板吸着させると、吸着を行わなかった同じ血漿と比べ、巨核球産生が倍化した。一方、対照血漿で同様の血小板吸着を行っても巨核球産生には何ら影響はなかった。さらに、ITP 患者から単離した 2 つのヒトモノク

ローナル自己抗体、ヒト血小板 GPIIb 重鎖特異的な 2E7, および活性化血小板に発現している GPIIIa の新規抗原特異的な 5E5 は, *in vitro* で有意に巨核球造血を抑制した ($p < 0.001$)。以上より, ITP 血漿中の血小板 GPIb または GPIIb/GPIIIa に対する自己抗体は, 血小板破壊だけでなく血小板産生の抑制にもかかわっていることが示唆された。

造血器腫瘍・化学療法・移植

20

再発性の移植後 FSGS に対する血漿搬出の早期実施

Early use of plasmapheresis for recurrent post-transplant FSGS

Pradhan M, Petro J, Palmer J, *et al.*
Division of Nephrology,
Department of Pediatrics,
Children's Hospital of
Philadelphia, 34th Street and
Civic Center Boulevard,
Philadelphia, PA 19104, USA
Pediatr Nephrol
2003, 18: 934-938.

同種移植における巣状糸球体硬化症 (FSGS) の再発は, 移植不全が頻繁に起こるため困難な臨床状況である。著者らは, 再発 FSGS に対して早期に血漿搬出 (plasmapheresis) を実施した症例について報告する。腎生検で FSGS と証明された小児 18 例 (33%) に対し移植を施行したところ, 6 例が移植後に再発したため (尿蛋白/クレアチニン比の上昇), 血漿搬出を実施した。再発後 1 日以内に治療を受けた患者 (6 例中 4 例) は, 5~13 回の血漿搬出により治療開始後 5~27 日以内に寛解に入った。血漿搬出において反応がみられなかった患者 (6 例中 2 例) は, 蛋白尿が認められてからそれぞれ 7 日目と 17 日目に治療を受けた。そのうち 1 例は急性尿細管壊死, 急性拒絶反応から移植不全となり, 別の 1 例は急性拒絶反応, 進行性蛋白尿が認められ移植不全となった。移植後 22~53 ヶ月においても, 寛解に至った 4 例の移植片は良好な機能を維持している。著者らの経験では, FSGS における移植後の蛋白尿の再発には早期に血漿搬出を実施することが効果的であるといえる。

21

多発性骨髄腫の患者において, 骨髄破壊的同種幹細胞移植後の分子学的寛解はより優れた非再発生存期間を導く

Molecular remission after myeloablative allogeneic stem cell transplantation predicts a better relapse-free survival in patients with multiple myeloma

Corradini P, Cavo M, Lokhorst H, *et al.*
Hematology-Bone Marrow
Transplantation Unit, Istituto
Nazionale per lo Studio e la

骨髄破壊的同種幹細胞移植 (allo-SCT) 後に臨床的完全寛解となった患者が, 分子学的モニタリングの予測価値を評価するための長期的な研究に組み込まれた。Ig 遺伝子再構成について PCR 法を用いることにより, 70 例のうち 48 例でクローン特異的な分子マーカーを生成することが可能となった。これら 48 例中 16 例 (33%) は, 移植後も長期にわたり PCR 陰性であった。しかし, 13 例 (27%) は PCR 陽性が続いており, 19 例 (40%) は陰性/陽性混合のパターンを示した。5 年間の再発累積リスク

Cura dei Tumori, Via
Venezian, 1, 20133, Milan,
Italy
Blood
2003, 102: 1927-1929.

はPCR陰性患者では0%であったのに対し、PCR陰性/陽性混合パターンの患者では33%、PCR陽性患者では100%であった。グループ内の研究では、PCR陰性の持続性についていかなる臨床的要因も特定できなかった。分子病の治療が寛解期間と生存期間を延ばしうるのか否かを評価するprospectiveな研究の計画をこれらの知見が促しうると考える。

22

コンディショニングレジメンとしてのATGは、CML患者の非血縁間造血幹細胞移植後の移植関連死（TRM）を減らし、全生存率を改善する

ATG as part of the conditioning regimen reduces transplant-related mortality (TRM) and improves overall survival after unrelated stem cell transplantation in patients with chronic myelogenous leukemia (CML)

Zander AR, Kröger N, Schleuning M, *et al.*
University Hospital
Hamburg-Eppendorf,
Department of Bone Marrow
Transplantation, Martinistr
52, Hamburg 20246,
Germany
Bone Marrow Transplant
2003, 32: 355-361.

適合した非血縁ドナーからの移植により、重篤なGVHDの危険と移植関連死（TRM）は増加する。抗胸腺細胞グロブリン（ATG）はGVHDを減じ、生着を促進すると報告された。著者らは、Fresenius ATG投与群（145例、平均90mg/kg体重、範囲40～90mg/kg体重）、またはATGなしの標準的な免疫抑制群（188例）の333例のCML患者のretrospectiveな解析を行った。両群は年齢、性別、HLA適合対不適合ドナーの分配において同等になるように考慮された。ATG Fresenius群は白血球の生着が迅速で、急性GVHDやTRMの発生を減少させ（それぞれ $p=0.01$, $p=0.03$ ）、全生存率もかなり良好であった（70%対57%, $p=0.03$ ）。著者らは、造血幹細胞移植におけるATGの明確な役割を評価するためのprospectiveな無作為化試験が必要であると結論づけた。

23

IL-15によって伝達されるLFA-1の誘導は、ヒトNK細胞のCD34⁺ Lin⁻ 骨髄細胞からの細胞傷害性の分化に必要な後期のステップである

IL-15-mediated induction of LFA-1 is a late step required for cytotoxic differentiation of human NK cells from CD34⁺ Lin⁻ bone marrow cells

Barao I, Hudig D, Ascensao JL.
2150 Pennsylvania Avenue,
NW, Washington, DC 20037,
USA
J Immunol
2003, 171: 683-690.

細胞傷害性NK細胞の至適な分化は、骨髄移植後の患者に本来備わっている防御的な免疫能を供給するための重要なプロセスである。*In vitro*でのCD56⁺ CD3⁻ NK細胞の分化には数週間かかるが、IL-2, IL-7, IL-15などのサイトカインによって支持され、免疫療法に有用である。しかしながら、IL-2療法は*in vivo*においてはその効果は不確かであり、*in vitro*においてIL-7のみによって分化したNK細胞は細胞傷害性を欠く。著者らは、*in vitro*においてIL-7によってCD34⁺ Lin⁻ 骨髄細胞から初期分化させたヒトNK細胞がさらなるサイトカイン刺激によって細胞傷害性を獲得するか否か、そして、どのような変化が細胞傷害性を促進す

るかを評価した。IL-7 存在下で培養された細胞は、過去の報告にあるように、すでに細胞傷害性の顆粒蛋白であるパーフォリンとともにグランザイム B を有していた。また、その細胞は LFA-1 を有していなかった。IL-2 または IL-15 による、IL-12 や IL-18 なしでの 1 週間の二次培養の後、IL-7 により培養された細胞は細胞傷害性を獲得した。IL-2 や IL-15 もまた、LFA-1 を誘導した。LFA-1 サブユニットである CD11a と CD18 に対する抗体は、NK 細胞による溶解を抑制し、この新しい LFA-1 が *in vitro* で生成した細胞の細胞傷害能に関係しており、また、不可欠であることを示唆している。LFA-1 はまた、*in vitro* で分化した細胞による標的細胞への結合にも関与している。この研究において、著者らは IL-15 の新しい機能、すなわち、NK 前駆細胞における LFA-1 の誘導能を示し、また、IL-15 は NK 前駆細胞の増殖を単に支持する以上の働きをもつことを示した。わずか 1 週間の IL-15 の投与によるこの効果は、ヒトの治療に実用的に役立つ有用な性質である。

24

抗原遺伝子を導入した造血幹細胞による骨髓移植を用いた生着腫瘍に対する免疫療法

Immunotherapy of
established tumors using
bone marrow
transplantation with antigen
gene-modified
hematopoietic stem cells
Cui Y, Kelleher E, Straley E,
et al.
Immunology and
Hematopoiesis Division,
Sidney Kimmel
Comprehensive Cancer
Center at Johns Hopkins,
Baltimore, MD 21231, USA
Nat Med
2003, 9: 952-958.

現在の腫瘍免疫療法の焦点の 1 つは、樹状細胞 (DC) による腫瘍抗原の提示を通して T 細胞の反応を引き起こすという戦略を発展させることである。現在のワクチンは *in vivo* で DC 上に効率よく抗原をのせる能力に限界がある。体外で培養・生成された DC は抗原を効率よくのせるが、体内に戻された後は実際の抗原提示の場である二次リンパ組織へ移行する DC は少ない。DC による抗原提示の能率と持続性を増すため、本研究ではモデル腫瘍抗原を造血幹前駆細胞 (HSC) へ導入し、これを放射線照射したマウスに移植した。これにより、リンパ組織にあるドナー由来 DC の大部分に導入した遺伝子の効率的な発現がみられた。遺伝子導入 HSC を用いた骨髓移植 (BMT)、DC を誘導し活性化するサイトカインなどの作用物質、および成熟 T 細胞の輸注の組み合わせにより、抗原特異的 T 細胞のかなりの増幅と活性化がもたらされた。この方法により増殖速度が速く、かつすでに生着している腫瘍に対する効果的な抗原特異的免疫療法が可能になるかもしれない。

25

同種幹細胞移植後の微小残存病変の検出は、ALLの再発に関連する

Minimal residual disease detection after allogeneic stem cell transplantation is correlated to relapse in patients with acute lymphoblastic leukaemia

Uzunel M, Jaksch M, Mattsson J, Ringdén O.
Department of Clinical Immunology, Huddinge University Hospital, SE-141 86 Huddinge, Sweden
Br J Haematol
2003, 122: 788-794.

ALLに対して同種幹細胞移植 (allo-SCT) を施行した32例 (小児23例, 成人9例) において, retrospective に微小残存病変 (MRD; minimal residual disease) の評価を行った。クローン性の指標としてはIg, T細胞レセプターの再構成を使用した。allo-SCT後の9例でMRDが検出され, そのうち8例が再発した。最初のMRDが検出されてから再発するまでの期間の中央値は5.5ヵ月 (範囲: 0.5 ~ 30ヵ月) であった。MRDが検出されなかった23例中6例がこれまでに再発している。これらの患者において再発以前にMRDが検出されなかった要因としては, 感度の低さ, 中枢神経系再発, ALLクローンの変化が考えられた。再発のリスクを減少させる要因として, 単変量解析では第一寛解期での移植 ($p = 0.02$), 急性および慢性のGVHDの合併 ($p = 0.03$), allo-SCT後のMRDの欠如 ($p = 0.005$) が, また再発のリスクを増加させる要因として, 多変量解析ではallo-SCT後のMRDの検出 ($p = 0.05$) のみが挙げられた。結論として, allo-SCT後のMRDの検出は再発と関連しており, 腫瘍量がまだ少ない早期の段階でALLの免疫学的治療介入を開始するチャンスを与える可能性がある。

26

II型混合型クリオグロブリン血症におけるリツキシマブの有効性と安全性

Efficacy and safety of rituximab in type II mixed cryoglobulinemia

Zaja F, De Vita S, Mazzaro C, *et al.*
Department of Rheumatology, DPMSC, University of Udine, P.zza S. Maria della Misericordia, 1 33100 Udine, Italy
Blood
2003, 101: 3827-3834.

II型混合型クリオグロブリン血症 (MC) の最適な治療法は解明されていない。しばしばMCの病因であるC型肝炎ウイルス (HCV) に対する抗ウイルス治療は, 一部の症例には無効および禁忌であり, 耐えられない。一方, 現在有用とされる免疫抑制療法は関連する合併症を引き起こす可能性がある。予備的実験での良好な結果に基づき, 本研究ではリツキシマブによる選択的なB細胞遮断を用いた。連続した15例のII型MC患者 (うち12例がHCV関連) を4週間にわたる週1回375mg/m²のリツキシマブ静脈内投与にて治療した。すでに投与されていた場合のみ中等量から少量のステロイドを併用した。すべての患者は活動性のMCで, コルチコステロイドを含めた前治療ではコントロール不良であった。リツキシマブ療法の有効性と安全性を6ヵ月間にわたり評価した。リツキシマブ治療後の全観察期間は9~31ヵ月であった。リツキシマブは皮膚の血管炎 (潰瘍, 紫斑, じんま疹) や, 末梢神経障害, 低悪性度B細胞リンパ腫, 関節痛や発熱などの自覚症状に対し有効で

あった。1例においては最近発症した腎炎が寛解した。検査所見では有意に血清リウマチ因子やクリオグロブリンが減少し、C4が上昇し、臨床的有効性と一致した。治療は十分耐えられ、感染症の合併はなかった。網膜動脈血栓症と軽微な皮下脂肪織炎をそれぞれ1例の患者において認めた。II型MCにおいて、リツキシマブは標準的な免疫抑制療法に代わる安全かつ有効な治療法である可能性がある。種々の全身性の症状発現における薬剤の適応や費用対効果をより明らかにするために比較試験が必要である。

27

造血幹細胞移植を受けた小児および若年成人を対象とした、ヒトサイトメガロウイルス感染への先制治療の指標としての前初期 mRNA 血症と pp65 抗原血症——Prospective な無作為化比較オープンラベル試験

Human cytomegalovirus
immediate-early
mRNAemia versus pp65
antigenemia for guiding
pre-emptive therapy in
children and young adults
undergoing hematopoietic
stem cell transplantation: A
prospective, randomized,
open-label trial

Gerna G, Lilleri D, Baldanti
F, *et al.*
Servizio di Virologia, IRCCS
Policlinico San Matteo, via
Taramelli 5, 27100 Pavia,
Italy
Blood
2003, 101: 5053-5060.

造血幹細胞移植 (HSCT) 患者におけるヒトサイトメガロウイルス (HCMV) 感染の先制治療 (pre-emptive therapy) のよりよいプロトコルを目指して、抗原血症法と HCMV 前初期 mRNA (IEmRNA) を検出する核酸塩基配列法 (NASBA) との比較試験を著者らは企画した。IEmRNA 群では、2日連続 IEmRNA 陽性が確認されたときに抗ウイルス療法を開始し、抗原血症群では、pp65 陽性白血球が $2/2 \times 10^5$ 細胞あるいは2日連続して単一の陽性白血球が確認されたときに開始した。両群とも2回連続で陰性結果が得られたときに治療を中止した。全症例が HSCT 後3ヵ月間モニターされ、一次エンドポイントは抗 HCMV 療法の期間であった。全体で80例の小児患者(41例が IEmRNA 群, 39例が抗原血症群)が血縁あるいは非血縁ドナーから移植を受け、試験を完遂した。HCMV 関連疾患を発病した症例は認めなかった。HCMV 感染は、IEmRNA 群で抗原血症群よりも高頻度に認められ (80% vs 51%, $p = 0.0069$)、治療を受けた患者も高頻度であった (66% vs 44%, $p = 0.045$)。しかし、再発率と治療を要する再発率は2群間で同等であった。患者あたりの治療期間の中央値には有意差を認めなかった。以上により、IEmRNA 法は抗原血症法と比べ治療期間の短縮をもたらさないが、半自動化できる利点のある NASBA による IEmRNA 法は抗原血症法に安全に取って代わることが示唆された。

28

白血病細胞 VLA-4 とストローマのフィブロネクチンの相互作用は、AML の微小残存病変の決定的因子である

Interaction between
leukemic-cell VLA-4 and
stromal fibronectin is a
decisive factor for minimal
residual disease of acute
myelogenous leukemia

Matsunaga T, Takemoto N,
Sato T, *et al.*
Fourth Department of
Internal Medicine, Sapporo
Medical University School of
Medicine, South-1, West-16,
Chuo-ku, Sapporo
060-0061, Japan
Nat Med
2003, 9: 1158-1165.

化学療法後の AML 症例では骨髄微小残存病変 (MRD) から再発が起
こるが、著者らは、薬剤耐性は白血病細胞上の very late antigen (VLA)-4
が骨髄ストローマ細胞のフィブロネクチンに付着することで引き起
されると仮定した。VLA-4 陽性細胞は anoikis (細胞外基質との連結が
失われて細胞死すること)、または、VLA-4 とフィブロネクチンの相互
作用で活性化されるホスファチジルイノシトール 3 キナーゼ (PI-3K) /
AKT / Bcl-2 シグナル伝達経路を介した薬剤誘発のアポトーシスに対す
る抵抗性を獲得していることがわかった。この抵抗性は VLA-4 特異的
抗体で解除された。MRD モデルマウスを用いた系では、シタラビン (Ara-
C) 単独投与では生存がわずかしき延長されなかったのに対して、VLA-4
特異的抗体 + Ara-C 併用投与では 100% の生存率が得られた。さらに
10 例の VLA-4 陰性症例の 5 年生存率が 100% であり、15 例の VLA-4 陽
性症例では 44.4% であることがわかった。以上から、白血病細胞 VLA-4
とストローマ細胞上のフィブロネクチンの相互作用は骨髄 MRD そし
て AML 進展に重要であると考えられた。

29

骨髄分化抗原 CD65s の低発現は高齢者の未分化 AML の特徴
である——ECOG 試験に登録された 711 症例の検討

Low expression of the
myeloid differentiation
antigen CD65s, a feature of
poorly differentiated AML in
older adults: Study of 711
patients enrolled in ECOG
trials

Paietta E, Neuberg D,
Bennett JM, *et al.*
Immunology Laboratory, Our
Lady of Mercy Cancer
Center, New York Medical
College, 600 East 233rd
Street, Bronx, NY 10466,
USA
Leukemia
2003, 17: 1544-1550.

CD65s は前駆細胞抗原である CD34 が消失してから出現することから、
このシアル化炭水化物の抗原は正常骨髄系細胞分化の転換期を示すこ
とが示唆されている。著者らは 7 つの Eastern Cooperative Oncology Group
(ECOG) AML 治療トライアル (1986 ~ 1999 年) に登録された 711 例
において、CD65s の発現が低い (CD65s^{low}) AML 症例の特性を明らか
にした。これらのうち 198 例 (28%) が CD65s^{low} AML であった。形態
学上、CD65s^{low} AML 症例は FAB 分類で最小の分化段階である M0 / M1
よりもよくみられた ($p \leq 0.0001$)。早期前駆細胞抗原である CD34,
CD117 そしてターミナルトランスフェラーゼは、CD65s 高発現 (CD65s^{high})
AML 症例よりも CD65s^{low} AML 症例でよくみられた ($p \leq 0.0001$)。ミ
エロペルオキシダーゼは CD65s^{low} 症例の骨髄芽球の少数に存在したが、
より成熟した骨髄分化抗原である CD15, CD11b はほとんど検出されな
かった ($p \leq 0.0001$)。しかも、両者の診断には細胞遺伝学的予後で分
けた群の中での分布や多剤耐性因子である P 糖蛋白の発生率に差がな
かった。CD65s^{low} AML 症例は明らかに CD65s^{high} AML 症例よりも高齢

であった ($p < 0.0001$)。さらに CD65s^{low} 症例の発生率が年齢 50 歳以下で 20% であったのに対して 80 歳以上では 67% と、加齢とともに増加していた ($p < 0.0001$)。総じて、55 歳以上の症例における完全寛解 (CR) 率の検討では、CD65s^{high} AML 症例の 44% に対して CD65s^{low} AML 症例では 33% であった ($p = 0.055$)。以上から、CD65s^{low} AML は免疫表現型上は未分化な疾患であり、高齢者に発症しやすい。統計学的有意差がないにしても、CD65s^{low} 症例と 55 歳以上の症例のみにみられる CR 率の低下は相関性がありそうである。

30

多発性骨髄腫における反復性ゲノム異常の臨床的、生物学的関連性

Clinical and biologic implications of recurrent genomic aberrations in myeloma

Fonseca R, Blood E, Rue M, *et al.*

Division of Hematology/
Internal Medicine, Stabile 6-22, Rochester, MN 55905, USA
Blood
2003, 101: 4569-4575.

多発性骨髄腫 (MM) では、Ig 重鎖 (IgH) の転座を含む一定の反復性染色体異常が普遍的に起こっている。MM における IgH の転座は癌遺伝子の高発現を引き起こし、t(11;14)(q13;q32), t(4;14)(p16;q32), t(14;16)(q32;q23) がよくみられる。これらの転座の反復性の特性、およびこれらが形質細胞 (PC) の早期における異常であるという所見に基づき、これらが生物学的、臨床的多様性に寄与していると考えられた。さらに 13q14, 17p13 の欠損は、生存期間の短縮に関与する可能性が考えられた。著者らは、Eastern Cooperative Oncology Group による臨床試験 E9486/9487 に登録され、通常の化学療法を受けた 351 例について、細胞質内 Ig をエンハンスした分裂間期の蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーションを用いて欠損 (13q14, 17p13.1), および IgH の転座を検出した。転座はしばしば不均衡性であり、派生染色体の一对が消失していた。t(4;14)(p16;q32) (42 例, 26 vs 45 ヶ月, $p < 0.001$), t(14;16)(q32;q23) (15 例, 16 vs 41 ヶ月, $p = 0.003$), -17p13 (37 例, 23 vs 44 ヶ月, $p = 0.005$), そして -13q14 (176 例, 35 vs 51 ヶ月, $p = 0.028$) の存在は、生存期間の短縮に関与した。患者層を予後に基づき 3 群に分けた。予後不良群は t(4;14)(p16;q32), t(14;16)(q32;q23), -17p13 であり、中間群は -13q14 とし、それら以外を良好群とした。おのおのの生存期間の中央値は 24.7, 42.3, 50.5 ヶ月であった ($p < 0.001$)。この分子生物学的分類で患者層を予後不良群, 中間群, 良好群に分類できることがわかった。さらに重要なことは、MM がゲノム異常によって分類される亜集団で構成されているという証拠を強く示唆するものである。

31

OX40 (CD134) のライゲーションは同種骨髄移植患者の GVHD と移植片拒絶を調節している

Ligation of OX40 (CD134) regulates graft-versus-host disease (GVHD) and graft rejection in allogeneic bone marrow transplant recipients

Blazar BR, Sharpe AH, Chen AI, *et al.*

University of Minnesota Hospital, Box 109, Mayo Bldg., 420 SE Delaware St, Minneapolis, MN 55455, USA

Blood

2003, 101: 3741-3748.

OX40 (CD134) は活性化 T 細胞表面に発現しており、そのリガンドである OX40 リガンド (OX40L) は樹状細胞, B 細胞, 活性化内皮細胞に発現している。OX40 と OX40L 相互作用が GVHD にどのように影響するかを決定するために、著者らは拮抗物質である抗 OX40 モノクローナル抗体 (mAb), または OX40^{-/-} ドナー, または OX40L^{-/-} レシビエントマウスを使用した。どの方法でも GVHD 発症頻度の減少が観察された。OX40 が GVHD 中に分離した CD4⁺, CD8⁺ T 細胞において発現亢進するという事実にもかかわらず、OX40 ライゲーションの主な作用は、GVHD と生着モデル系の両方において CD4⁺ T 細胞のアロ反応であり、CD8⁺ T 細胞のアロ反応ではない。OX40/OX40L 経路の遮断による GVHD 抑制は CD28 シグナル伝達を必要としない。いくつかの研究で、OX40 は T ヘルパー 2 (Th2) 反応の誘導に不可欠とされている。しかし、*in vivo* で OX40/OX40L 経路の遮断は transcription-6^{-/-} (Stat-6^{-/-}) (Th2 欠損), または Stat-4^{-/-} (Th1 欠損) MHC 不一致の脾細胞のシグナルトランスデューサー, アクチベーターのどちらかにより誘導された GVHD による死亡率を減少させた。このことは、GVHD を改善させる効果は Stat-4 または Stat-6 シグナル伝達を必要としないことを示唆する。OX40L が活性化 T 細胞上に発現していると報告されているにもかかわらず、異なるモデルでは OX40L^{-/-} と OX40L^{+/+} T 細胞が輸注されたときには GVHD における効果は観察されなかった。これらの所見は GVHD の OX40/OX40L による調節にかかわる機序について示唆を与えるものである。

32

多発性骨髄腫特異的細胞傷害性 T リンパ球の *ex vivo* での誘導

Ex vivo induction of multiple myeloma-specific cytotoxic T lymphocytes

Hayashi T, Hideshima T, Akiyama M, *et al.*

Dana-Farber Cancer Institute, 44 Binney St., Boston, MA 02115, USA

Blood

2003, 102: 1435-1442.

多発性骨髄腫 (MM) は、免疫抑制によって特徴づけられる治癒不可能な形質細胞性腫瘍である。本研究で、著者らは骨髄 (BM) 血清中に自己の抗 MM 免疫を抑制する因子を同定し、*ex vivo* で MM 特異的細胞傷害性 T リンパ球 (CTLs) を誘導する方策について検討した。著者らは、MM 患者の BM 血清が表現型および T 細胞増殖をわずかに刺激するのみであることから、樹状細胞 (DCs) の誘導を抑制することを見出した。抗血管内皮細胞成長因子 (anti-VEGF) および/または抗 IL-6 (anti-IL-6) 抗体はこの抑制効果を中和し、少なくとも一部で、VEGF と IL-6 が

MM 患者における免疫抑制に関与していることを確認した。Ex vivo で MM 特異的 CTLs を誘導するために、GM-CSF, IL-4 を含む培地で付着単核細胞を 5 日間培養し、未熟な DCs を誘導した。その後、TNF- α 存在下にアポトーシス MM 小体と 3 日間共培養し、それらの成熟を促した。自己 BM あるいは末梢血単核細胞はこれらの DCs で毎週刺激され、DCs をパルスするのに用いられる MM 細胞に対する細胞傷害活性が測定された。アポトーシス小体と培養した DCs [T 細胞/DCs 比が 360:1 で刺激指数 (SI) は 23.2] は、MM 細胞のみで刺激された T 細胞 (SI は 5.6) や DCs だけの場合 (SI は 9.3), MM lysate-pulsed DCs (SI は 13.5) に比べて、著明に T 細胞増殖を刺激した。MM 患者からのこれらの CTLs は、自己の MM 細胞に対して特異的な細胞傷害活性 [エフェクター細胞/標的細胞比 (E/T 比) が 40:1 で 24.7%] を示した。よって、本研究では、MM 患者由来 CTLs は自家腫瘍細胞を認識して壊死を引き起こすことが示され、MM 患者の予後を改善する新しい免疫療法の枠組みが提案された。

33

骨髓異形成の成熟非芽球性骨髓系細胞における早期骨髓性抗原発現

Evidence for expression of early myeloid antigens in mature, non-blast myeloid cells in myelodysplasia
Xu D, Schultz C, Akker Y, et al.

Montefiore Medical Center,
Department of Pathology,
North 4, 111 East 210th
Street, Bronx, NY 10467,
USA

Am J Hematol
2003, 74: 9-16.

MDS は、しばしば細胞遺伝学的異常を伴うクローナルな造血幹細胞障害である。この疾患は新規あるいは治療に関連して発生しうる。MDS の芽球については幅広く研究されてきたが、成熟非芽球性骨髓系細胞 (NBMCs) についての報告はほとんどない。著者らは、retrospective に症例対照研究を行った。MDS 48 例と非腫瘍性対照群 12 例の骨髓中の NBMCs を平均側方散乱光 (SSC) チャンネル数と異常な細胞表面抗原の発現を用いた、多項目フローサイトメトリーにより解析した。MDS 症例は、細胞遺伝学的異常に基づいて層別化された。正常核型の MDS 患者の NBMCs は、対照群と比べて HLA-DR 発現が有意に亢進していた ($p = 0.034$)。細胞遺伝学的異常を伴い、骨髓芽球が 5% 以上の MDS 患者の NBMCs は、対照群と比べて CD34 および HLA-DR 発現が有意に亢進していたが、CD10 と平均 SSC チャンネル数は低値であった。細胞遺伝学的異常の有無に有意差を認めなかったが ($p > 0.05$)、NBMCs の CD34 発現は、新規 MDS と比べると治療関連性 MDS で有意に亢進していた ($p = 0.01$)。これらのデータは、MDS の骨髓成熟 NBMCs が、健常対照群には認められない表現型変化をもつことを示唆している。

34

ALL とリンパ腫症例における抗アスパラギナーゼ抗体の免疫学的交差反応の評価

Evaluation of immunologic crossreaction of antiasparaginase antibodies in acute lymphoblastic leukemia (ALL) and lymphoma patients

Wang B, Relling MV, Storm MC, *et al.*

Department of Hematology and Oncology, St. Jude Children's Research Hospital, 332 N. Lauderdale Street, Memphis, TN 38105-2794, USA

Leukemia

2003, 17: 1583-1588.

化学療法中に薬剤過敏反応を認めた、または認めなかった ALL/リンパ腫症例において、1 種類のアスパラギナーゼ製剤に対する抗体によって、他のアスパラギナーゼ製剤に対する抗体の出現がどの程度予測でき相關するのかを評価した。新たに ALL またはリンパ腫と診断された小児 24 例において、多剤併用の寛解導入療法と再寛解導入療法の一部としての大腸菌アスパラギナーゼ 10,000 IU/m² 筋注を週 3 回、計 9 回の投与と、維持療法の最初の 7 ヶ月間に月 1 回、計 7 回の投与について調査した。寛解導入療法の前と後で血漿サンプルを集めた。24 例中 6 例は臨床的反応が出現しなかった（未反応群）ので、大腸菌製剤のみを投与された。アレルギー反応を起こした 18 例（反応群）について *Erwinia* アスパラギナーゼの投与に切り替えたところ、1 例がアナフィラキシー様反応を起こしたので、ポリエチレングリコール（PEG）アスパラギナーゼ投与に切り替えた。ELISA 法により、3 種類すべてのアスパラギナーゼに対する抗体レベルを測定した。導入療法後の大腸菌に対する抗体は、反応群（ 0.063 ± 0.066 ）において未反応群（ 0.019 ± 0.013 ）よりも高かった（ $p = 0.03$ ）。再導入療法後の抗 *Erwinia* アスパラギナーゼ抗体は、反応群（ 0.431 ± 0.727 ）が未反応群（ 0.018 ± 0.009 ）よりも有意に高かった（ $p = 0.007$ ）。検出された抗大腸菌アスパラギナーゼ抗体は、導入療法後（ $r = 0.714$, $p < 0.001$ ）および再導入療法後（ $r = 0.914$, $p < 0.001$ ）に検出された抗 PEG 抗体と相関したが、導入療法後（ $r = 0.119$, $p = 0.580$ ）および再導入療法後（ $r = 0.078$, $p = 0.716$ ）に検出された抗 *Erwinia* アスパラギナーゼ抗体とは相関しなかった。この結果から、患者の抗大腸菌アスパラギナーゼ抗体の自然獲得と抗 PEG アスパラギナーゼ抗体出現との間には交差反応性があるが、抗 *Erwinia* アスパラギナーゼ抗体出現には交差反応性がないことが示唆される。

35

HLA 適合同胞ドナーを用いた造血幹細胞移植において、移植後の G-CSF の投与と II ～ IV 度の急性 GVHD の頻度の増加に関連が認められた

G-CSF given after haematopoietic stem cell transplantation using HLA-identical sibling donors is associated to a higher incidence of acute GVHD II-IV

Huddinge 大学病院において 1993 ～ 2001 年までに HLA 適合同胞ドナーより造血幹細胞移植（HSCT）を施行された 155 例につき、移植後に投与される G-CSF の効果を検討した。血液悪性腫瘍の患者のみを対象とした。前処置として 118 例に全身放射線照射（TBI）を行い、37 例にブスルファンを投与した。GVHD 予防のために、全例にメトトレキサ-

Remberger M, Naseh N, Aschan J, *et al.*
Clinical Immunology,
Huddinge University
Hospital, SE-141 86
Stockholm, Sweden
Bone Marrow Transplant
2003, 32: 217-223.

ト+シクロスポリンを併用投与した。155例のうち66例(43%)で HSCT後にG-CSFが投与された。G-CSFを投与された症例では、好中球の生着までの期間が有意に短かった($p < 0.001$)。G-CSFの投与は、赤血球輸血や血小板の生着、感染症には効果が認められなかった。しかし、G-CSFの投与を受けた患者群では投与を受けなかった患者群に対し、II～IV度の急性GVHDの頻度が有意に高かった(34% vs 9%, $p < 0.001$)。多変量解析では、G-CSFの効果がII～IV度の急性GVHDの他の既知のリスクファクターとは独立していることが示された。GVHDによる死亡は、2群においてそれぞれ4例と2例で認められた($p = 0.06$)。移植関連死や生存、慢性GVHD、再発、非再発生存の累積発生率は2群間で同等であった。結論として、HLA適合同胞間におけるHSCT後のG-CSF投与はII～IV度の急性GVHDの危険性を高めはするが、移植関連死には関係しない。

36

骨髄非破壊的造血細胞移植後の再発・進行に対する治療成績—— 予後に対する治療介入の効果

Relapse or progression
after hematopoietic cell
transplantation using
nonmyeloablative
conditioning: Effect of
interventions on outcome
Bethge WA, Storer BE, Maris
MB, *et al.*
Fred Hutchinson Cancer
Research Center, 1100
Fairview Avenue N., Seattle,
WA 98109-1024, USA
Exp Hematol
2003, 31: 974-980.

目的：骨髄非破壊的同種造血細胞移植(HCT)後に悪性腫瘍が再発・進行した患者に対する再寛解導入を目指した治療介入の効果を解析した。
方法：造血器悪性腫瘍に対してHCT療法を受けた224例のうち原疾患の再発・進行のみられた81例についてretrospectiveに解析を行った。すべての症例は2Gyの全身放射線照射(TBI)のみ、または2GyのTBIとフルダラビンでの前処置と、ミコフェノール酸モフェチルとシクロスポリンによる移植後免疫抑制療法を受けた。結果：再発・進行から12ヵ月後の全生存率は36%であった。再発・進行のみられた81例のうち15例は治療介入を行わなかったが、うち12例が病勢の進行により死亡し、3例(20%)が生存している。81%にあたる66例が何らかの治療介入を受けた(32例が免疫抑制剤の中止、13例がドナーリンパ球輸注、21例が化学療法)。66例中20例(30%)が生存しており、5例が完全寛解、4例が部分寛解、1例が不変であり、10例では病勢が進行した。治療介入の全奏効率は27%であった。治療介入を受けた症例のうち46例(70%)が死亡したが、その主な死因は再発・進行であった。再発・進行後に治療介入を受けなかった群の推定1年生存率は15%であったのに対して、治療介入を受けた群は41%であった。治療介入を受けた群の生存率に寄与した因子は、治療反応性($p = 0.002$)、原疾患($p = 0.001$)、移植から再発までの期間($p = 0.0005$)であった。結論：骨髄非破壊的HCT後に再発または進行した患者の予後は全体として不良であるが、免疫療法と化学療法の併用などの治療介入は生存率を改善する可能性

がある。

37

慢性 GVHD による血小板減少症の 2 症例においてみられた末梢血トロンボポイエチン濃度と血小板数との関連

Thrombopoietin concentrations in peripheral blood correlated with platelet numbers in two patients with thrombocytopenia by chronic graft-versus-host disease

Hirayama Y, Sakamaki S, Tsuji Y, *et al.*
Internal Medicine, Higashi Sapporo Hospital, Shiroishi-ku Higashi Sapporo 3-3, Sapporo, 003-8585, Japan
Am J Hematol
2003, 73: 285-289.

血小板減少症は、慢性 GVHD (cGVHD) における臨床症状の 1 つとして知られている。しかしながら、血小板減少症の原因が説明できない症例が存在する。近年、骨髓 (BM) 間質細胞由来のトロンボポイエチン (TPO) と、血小板・巨核球由来のトランスフォーミング増殖因子 (TGF)- β が、生体内における巨核球産生の強力な正および負の制御因子として同定された。著者らは、BM における TPO 産生の減少が cGVHD 患者における血小板減少症の一因であるとの仮説を立てた。よって、この研究では、HLA の適合した親族からの幹細胞移植を受け、引き続いて重度の血小板減少症を伴う cGVHD を発症した 2 例の急性白血病患者において、末梢血 (PB) と BM における TPO と TGF- β の濃度を連続的に測定した。その結果、血小板数は TPO 濃度と関連しており、また、その濃度は PB よりも BM において恒常的に高いことが示された。BM と PB の TPO の濃度差は血小板数が低いときには減少し、BM 由来の TPO 産生量が血小板減少症を併発している期間中減少していることを示唆した。TGF- β の濃度は、すべての測定期間において正常であった。以上の著者らの結果により、cGVHD 患者における血小板減少症の 1 つの機序は、BM 細胞による TPO 産生量の低下であることが示唆された。

AIDS	後天性免疫不全症候群	HPLC	高速液体クロマトグラフィ
AIHA	自己免疫性溶血性貧血	Ht	ヘマトクリット
ALG	抗リンパ球グロブリン	³ H-TdR	トリチウム化チミジン
ALL	急性リンパ性白血病	HTLV	ヒト T 細胞白血病ウイルス
AML	急性骨髄(芽球)性白血病	ICAM-1	intercellular adhesion molecule-1
ANLL	急性非リンパ性白血病	IDDM	インスリン依存性糖尿病
APL	急性前骨髄球性白血病	IFN	インターフェロン
APTT	活性化部分トロンボプラスチン時間	Ig	免疫グロブリン
Ara-C	シトシンアラビノシド	IL	インターロイキン
ATP	アデノシン三リン酸	ITP	特発性血小板減少性紫斑病
B-CLL	B 細胞性慢性リンパ性白血病	LAK	リンホカイン活性化キラー
BFU-E	赤血球コロニー形成細胞	LDL	低比重リポ蛋白
cAMP	サイクリックアデノシン-リン酸	LGL	大顆粒性リンパ球
cDNA	相補的デオキシリボ核酸	LPS	リポ多糖体
CFU	コロニー形成単位	Mφ	マクロファージ
CFU-Eo	好酸球コロニー形成単位	M-CSF	マクロファージコロニー刺激因子
CFU-GEMM	顆粒球, 赤血球, 巨核球, 大食細胞コロニー形成単位	MDS	骨髄異形成症候群
CFU-GM	顆粒球マクロファージコロニー形成単位	M/E 比	顆粒球赤血球比
CFU-Meg	巨核球前駆細胞コロニー形成単位	Meg-CSF	巨核球コロニー刺激因子
CFU-S	脾コロニー形成単位	MG	ミクログロブリン
CLL	慢性リンパ性白血病	MHC	主要組織適合遺伝子複合体
CML	慢性骨髄性白血病	mRNA	メッセンジャーリボ核酸
ConA	コンカナバリン A	NADP	ニコチナミドアデニンジヌクレオチドホスフェート
CR	補体レセプター	NADPH	還元型 NADP
CSF	コロニー刺激因子	NK 細胞	ナチュラルキラー細胞
DNA	デオキシリボ核酸	PCR	ポリメラーゼ連鎖反応
DR	D 関連抗原	PDGF	血小板由来成長因子
EB ウイルス	Epstein-Barr ウイルス	Ph ¹	フィラデルフィア染色体
EDTA	エチレンジアミンテトラ酢酸	PHA	フィトヘムアグルチニン
EIA	酵素免疫定量法	PNH	発作性夜間血色素尿症
ELISA	酵素免疫測定法	PWM	pokeweed mitogen
EPO	エリスロポエチン	r~	組み換え型~
Fab, F(ab') ₂	抗原結合フラグメント	RA	慢性関節リウマチ
FAB 分類	(仏米英グループ) 急性白血病の形態学的分類法	RIA	ラジオイムノアッセイ (放射免疫測定法)
FACS	蛍光活性化細胞選別	RNA	リボ核酸
G-CSF	顆粒球コロニー刺激因子	SCID	重症複合免疫不全症
GM-CSF	顆粒球マクロファージコロニー刺激因子	SDS	ドデシル硫酸ナトリウム
GVH	対宿主移植片	SLE	全身性エリテマトーデス (汎発性紅斑点性狼瘡)
GVHD	移植片対宿主病	T-ALL	T 細胞性急性リンパ性白血病
GVHR	移植片対宿主反応	TdT	終末デオキシヌクレオチド転換酵素
Hb	ヘモグロビン	TNF	腫瘍壊死因子
HDL	高比重リポ蛋白	t-PA	組織プラスミノゲン活性化物質
HE 染色	ヘマトキシリン・エオジン染色	VLDL	超低比重リポ蛋白
HIV	ヒト免疫不全症ウイルス	vWF	von Willebrand 因子
HLA	ヒト白血球抗原	WBC	白血球

特集 知っておきたいゲノムの知識

ゲノムと技術

間野 博行

J I M

第14巻 第2号 別刷
2004年2月15日 発行

医学書院

ゲノムと技術

間野 博行

Question & Answer

Q : ヒトゲノムの解明が医療・医学にもたらす影響は？

A : 多くの疾患の発症・進展のメカニズムが、これまでにないスピードで解明されていく。さらに、これらの知見を基にした新しい疾患分類法、診断法および治療法が提案されるようになる。

Keyword : PCR 法, ゲノムワイドスクリーニング, DNA チップ。

ヒトゲノムの塩基配列解明とともに、ヒトのもつ全遺伝子セットが明らかになりつつある。蛋白質をコードしない遺伝子がどの程度あるかは未だ不明であるが、蛋白質を作る一般的な遺伝子のほぼすべてが決定される日は近い。21 世紀の医療・医学はこの膨大なヒトゲノム情報によって大きく変革されると期待される。現在なお病因が不明な疾患の発症機構はこれまでにないスピードで解明されると考えられ、それに伴い疾患の診断法・治療法も大きな変化を余儀なくされるであろう。さらに、遺伝子異常を基にした新しい疾患概念の定義、分類の変更も現実のものになるであろう。本稿では、今日の医療の場において利用される遺伝子診断法を概説するとともに、DNA チップを初めとした新しいゲノミクス技術についても紹介したい。

Polymerase chain reaction (PCR) 法

PCR は、任意の遺伝子領域を試験管のなかできわめて簡便に増幅する代表的な手技であり、数時間の反応で 100 万倍ほどの増幅率を得ることも困難ではない。実際には、増幅したい DNA 領域の両端に結合する短い DNA 断片(プライマー)を基質となる微量の DNA と混和し、DNA 合成酵素

を働かせる。すると、プライマーを先頭として DNA が合成されていくが、ここでいったん試験管を熱し、作成された 2 本鎖 DNA を解離させる。その後もう 1 度冷やすことにより、新たなプライマーの結合が生じ、再び DNA 合成酵素を働かせることでプライマーからの新しい合成が起きる。これを n 回繰り返すと、理論的にはプライマーで挟まれた領域が 2^n 倍に増幅されることになる(図 1)。

PCR を応用することで、健常者には「存在しない」が特定の疾患のみで「存在する」ような DNA/RNA 断片を、きわめて高感度かつ信頼性良く検出することができる。PCR による診断法の応用範囲は広いが、たとえば感染症の遺伝子診断などはその最も良い例であろう。今日の医療においても、PCR 法を用いることで、結核菌や C 型肝炎ウイルスをきわめて感度良く検出することができる。

現在臨床の場で行われている PCR の他の適応として、「疾患特異的染色体転座」の検出がある。たとえば、慢性骨髄性白血病のほぼ全例および急性リンパ性白血病の一部において、9 番染色体と 22 番染色体の相互転座である $t(9;22)$ が認められ、その結果 *BCR* 遺伝子と *ABL* 遺伝子との融合遺伝子 *BCR-ABL* が生じることになる。今この融合点をまたぐように *BCR* と *ABL* 両遺伝子中に

プライマーを設定し PCR 反応を行うと、両遺伝子の融合産物のみを増幅可能である。健常者においては、9 番と 22 番染色体は物理的につながっていないため PCR 産物は作られない。また、これまで白血病の「完全寛解」は「骨髓中に幼若芽球が 5% 以下しか存在しない」ことによって定義されてきたが、PCR を用いれば、たとえば 100 万個の血液細胞中に 1 個でも白血病細胞が残っていれば検出できるのだ¹⁾。現在ではこのようにして、微少残存白血病細胞をきわめて高感度に検出でき、それを基に患者さんの治療戦略を変更することが可能である。さらに最近では、real-time RT (reverse transcription)-PCR 法、TaqMan RT-PCR 法など、遺伝子発現量を定量的に評価する PCR 法も広く用いられるようになっている。

新しい技術

旧来の PCR 法、サザンブロット法 (DNA を検出する)、ノーザンブロット法 (mRNA を検出する) などは原則的に 1 ～ 数種類の遺伝子 (あるいは蛋白質) の解析を前提とした技術であり、たとえば 1 度に数百の標的を解析することは不可能であった。しかし近年、ヒトゲノム情報を直接利用する全く新しい技術が開発されつつある。

DNA チップ

たとえば DNA チップ・DNA マイクロアレイ (以下、DNA チップ) を用いることで、何万種類もあるヒト全遺伝子の発現量を簡便に測定することも可能になってきた。DNA チップは、スライドガラスなどの小さな担体上にきわめて高密度に DNA 断片あるいはオリゴヌクレオチドを配置したもので、1 度の実験でこれらすべての遺伝子の発現量を定量可能である (図 2)²⁾。1 枚のスライド上に 3 万種類上のヒト遺伝子すべての cDNA をセットすれば、1 回の実験で「ヒト全遺伝子の発現スクリーニング」という夢のような解析が可能

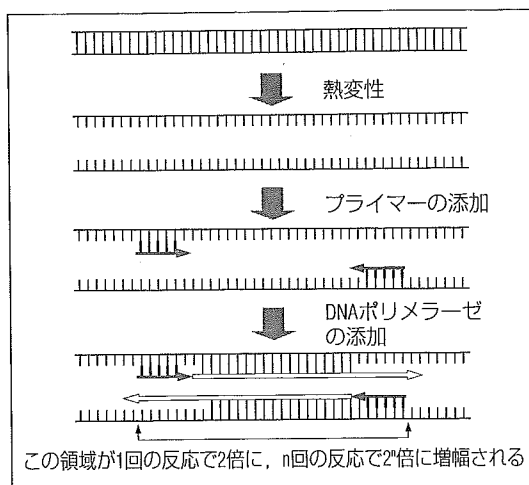


図1 PCR法のメカニズム

基質 DNA を熱変性後、プライマーを添加し DNA 合成酵素を作用させることで、プライマーから相補的な DNA 鎖を合成する。この後「熱変性-プライマーの結合-DNA 合成」を繰り返すことで、指数関数的にプライマーで挟まれた領域を試験管内で増幅可能である。RNA に関しても、逆転写酵素でいったん cDNA とすることで、同様に増幅できる。

になる。すなわち、ヒトにおける任意の細胞および組織における遺伝子発現プロファイル (J1) 全体を、直接比較することができるのだ。たとえば、このような全ヒト遺伝子チップを用いて、ある疾患の患者 20 名と健常者 20 名のサンプルを比較することにより、疾患患者においてのみ発現が上昇 (あるいは低下) する遺伝子が同定できるであろう。これらの遺伝子は診断用遺伝子マーカーとしてきわめて有用なだけでなく、疾患発症自体の原因となっている可能性も高い。さらに、これまでは鑑別診断に苦慮していた類縁疾患 A と B とを直接比較することで、新しい診断法も提示できると予想される³⁾。

J1 ノート

J1 遺伝子発現プロファイル

任意の遺伝子に関する発現量、あるいはその変化のパターンなどの特徴を総称する言葉。近年は、任意の細胞や組織におけるすべての遺伝子に関する発現様式 (= トランスクリプトーム) についても用いられることが多い。