

- randomized controlled trial to compare once-daily versus twice-daily filgrastim for mobilization of peripheral blood stem cells from healthy donors. *Biology of Blood and Marrow Transplantation* 2006;12:408-413
3. Yuki Asano-Mori, Yoshinobu Kanda, Kumi Oshima, Takuro Watanabe, Eriko Shoda, Toru Motokura, Mineo Kurokawa, Shigeru Chiba. Pharmacokinetics of ganciclovir in haematopoietic stem cell transplantation recipients with or without renal impairment. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2006;57:1004-1007
  4. Kumi Oshima, Yoshinobu Kanda, Fumio Nakahara, Eriko Shoda, Takahiro Suzuki, Yoichi Imai, Takuro Watanabe, Takashi Asai, Koji Izutsu, Seishi Ogawa, Toru Motokura, Shigeru Chiba and Mineo Kurokawa. Pharmacokinetics of alemtuzumab after haploidentical HLA-mismatched hematopoietic stem cell transplantation using in vivo alemtuzumab with or without CD52-positive malignancies. *American Journal of Hematology* 2006;81:875-879
  5. Yoshinobu Kanda, Rie Hyo, Takuya Yamashita, Katsumichi Fujimaki, Kumi Oshima, Masahiro Onoda, Takehiko Mori, Toru Sakura, Masatsugu Tanaka, Miwa Sakai, Jun Taguchi, Mineo Kurokawa, Atsuo Maruta, Shinichiro Okamoto, Hisashi Sakamaki for the Kanto Study Group of Cell Therapy. Effect of blood cyclosporine concentration on the outcome of hematopoietic stem cell transplantation from an HLA-identical sibling donor. *American Journal of Hematology* 2006;81:838-844
  6. Shinichi Kako, Yoshinobu Kanda, Tomohiko Sato, Susumu Goyama, Naohiro Noda, Eriko Shoda, Kumi Oshima, Morihiko Inoue, Koji Izutsu, Takuro Watanabe, Toru Motokura, Shigeru Chiba, Masashi Fukayama, and Mineo Kurokawa. Early relapse of JAK2 V617F-positive chronic neutrophilic leukemia with central nervous system infiltration after unrelated bone marrow transplantation. *American Journal of Hematology* (in press)
  7. Koji Kato, Yoshinobu Kanda, Tetsuya Eto, Tsuyoshi Muta, Hisashi Gondo, Shuichi Taniguchi, Tsunefumi Shibuya, Atae Utsunomiya, Takakazu Kawase, Shunichi Kato, Yasuo Morishima, Yoshihisa Kodera, and Mine Harada for the Japan Marrow Donor Program. Allogeneic bone marrow transplantation from unrelated HTLV-I-negative donors for adult T-cell leukemia/lymphoma: Retrospective analysis of data from the Japan Marrow Donor Program. *Biology of Blood and Marrow Transplantation* (in press)

◆学会発表

1. Yoshinobu Kanda Haploidentical HLA-mismatched hematopoietic stem cell transplantation using Campath-1H in vivo. Asan Medical Center Symposium on Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation. Seoul, Korea. October, 2006

H. 知的財産権の出願・登録状況  
なし。

## HLA 一致血縁ドナー以外のドナーから同種造血幹細胞移植の開発

分担研究者 原田 実根

九州大学大学院医学研究院・臓器機能医学部門内科学講座・病態修復内科学分野 教授

### 研究要旨

HLA 一致血縁ドナーが存在せず、年齢および合併症などにより従来型の造血幹細胞移植が適応とならない患者に対する新規造血幹細胞移植療法の開発を行った。HLA 血清型完全一致非血縁ドナーから採取された骨髄幹細胞を使用し、従来の前処置療法と比較して治療強度を軽減した同種造血幹細胞移植 (reduced-intensity stem cell transplantation; RIST) いわゆるミニ移植術を行い、その有効性と安全性を評価することを目的とする臨床試験を遂行した。2006年2月現在で、目標症例25例に対して26症例の登録を終え、本試験を終了した。26症例中250に生着を確認、移植後1年の全生存率は38.5%であった。GVHD、感染症などが今後の課題と考えられた。

### A. 研究目的

HLA 一致血縁ドナーからの同種造血幹細胞移植は、造血器疾患に対する根治的な治療法として確立している。HLA が一致し適格な血縁ドナーがない場合、幹細胞ソースとして、HLA 不一致血縁ドナー、非血縁 HLA 一致ドナー、非血縁臍帯血などが、考慮される。さらに、従来型の造血幹細胞移植は、患者の年齢、および合併症などによりその適応が制限されていた。しかしながら、白血病などの造血器悪性腫瘍は加齢と共にその発症頻度が増加する。そのため、より安全な移植療法の開発が重要である。

本研究では、他に有効な治療法を持たない難治性造血器疾患を有するにもかかわらず、根治療法としての通常の骨髄破壊的移植術が適応とはならない患者を対象とする。HLA 血清型完全一致非血縁ドナーから採取された骨髄

幹細胞を使用し、従来の前処置療法と比較して治療強度を軽減した同種造血幹細胞移植 (reduced-intensity stem cell transplantation; RIST) いわゆるミニ移植術を行い、その有効性と安全性を評価する。本研究の特徴は、ミニ移植術で一般に用いられる HLA 一致血縁ドナー由来の末梢血幹細胞を用いずに、HLA 一致非血縁ドナーの骨髄幹細胞を用いた場合の成績を検討することである。

### B. 研究方法

本研究では、他に有効な治療法を持たない難治性造血器疾患を有するにもかかわらず、根治療法としての通常の骨髄破壊的移植術が適応とはならない患者を対象とする。HLA 血清型完全一致非血縁ドナーから採取された骨髄幹細胞を使用し、従来の前処置療法と比較し

て治療強度を軽減した同種造血幹細胞移植 (reduced-intensity stem cell transplantation; RIST) いわゆるミニ移植術を行い、その有効性と安全性を評価する。移植前治療は、2-CdA 0.11mg/kg x 6 days, Bu 4mg/kg x 2 days, TBI 4Gy、GVHD 予防は CSP+sMTX で行う。

主要評価項目 (primary endpoint)

- (1) 移植後 28 日時点での生着
- (2) 造血回復までの期間、完全キメラ達成までの期間および割合(移植後 day 90±5 でドナー由来細胞が 90%以上)

副次的評価項目 (secondary endpoint)

- (1) 移植後 100 日時点の全生存率および無増悪生存率
- (2) 移植後 1 年の全生存率および無増悪生存率
- (3) 前処置・急性移植片対宿主病 (graft-versus-host disease; GVHD) 予防薬の毒性
- (4) GVHD の頻度・重症度
- (5) 感染症発症率

対象

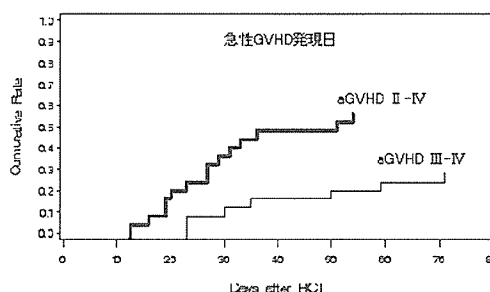
難治性造血器疾患に罹患し、他の治療では治癒や長期生存が期待できないような病気や病状であるにもかかわらず、年齢制限 (50 歳以上) や臓器機能障害、大量化学 (放射線) 療法の既往があるために通常の血縁/非血縁者間同種造血幹細胞移植の適応にならない患者を本研究の対象とする。血清検査において、HLA の A/B/DR 座の全てが適合した 6/6 完全一致または 5/6 一致の血縁ドナーを有さず、HLA 完全一致血縁ドナーが存在し骨髓提供の同意を得ることができた患者において、説明同意書を用いて同意を得た者について行う。

### C. 研究結果

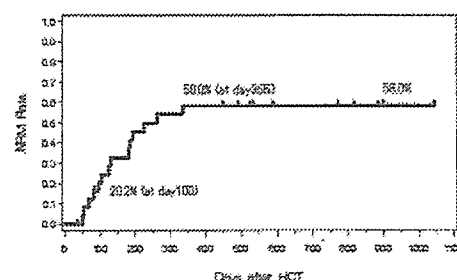
2005 年 7 月までに 26 名の症例登録が行われた。年齢は 36-64 才(中央値 56.5 才)、男性 16 人、女性 10 人、登録時の PS は、0 17 人、1 9 人であった。ミニ移植の適応理由は年齢が 73%で最も多かった。疾患は低リスク 65%、ハイリスク 35%であった。

移植関連毒性は、NCI-CTC で grade3 以上が、心臓 4%、肺 16%、肝臓 31%、口腔粘膜 69%、消化管 34%であった。

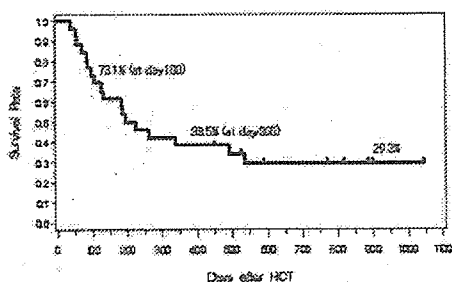
急性 GVHD は、0 27%、I 15%、II 27%、III 27%、IV 4%であった。



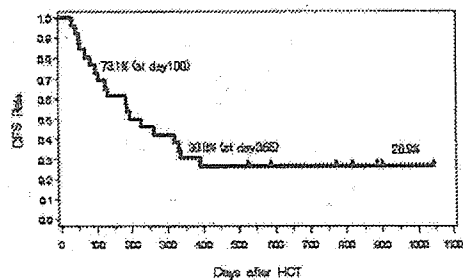
慢性 GVHD は、評価可能な 13 名中、限局型 31%、全身型 69%であった。CMV 抗原血症陽性化は、88%、CMV 感染症は 23%に発症した。累積非再発死亡率は 53%であった。



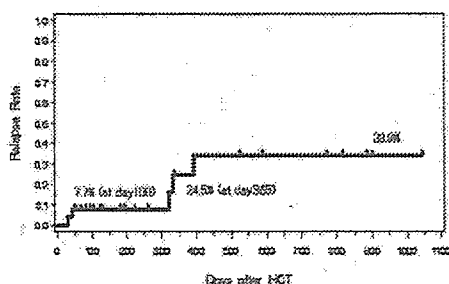
死因は、原疾患の進行 2 名 (11%)、感染症 11 名 (64%)、GVHD + 感染症 4 名 (22%)であった。主要評価項目の day28 までの生着は 25 名(96%)、day90 までの完全キメラ達成は早期死亡した 2 名を除く 24 名全例で行われた。



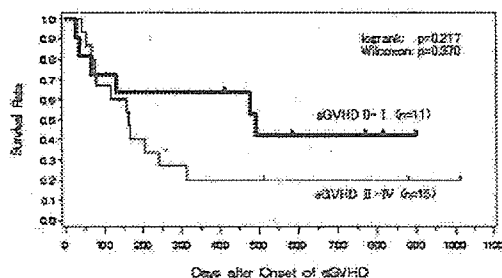
1年後の全生存率は38.5%であった。



1年後の無病生存率は30.8%であった。



1年後の累積再発率は24.5%であった。



gradeII以上の急性GVHDを発症すると生命予後が悪いことが明らかとなった。

#### D. 考察

本試験は、非血縁ドナーからのミニ移植多施設共同研究である。本試験の結果から、移植前治療 2-CdA 0.11mg/kg x 6 days, Bu

4mg/kg x 2 days, TBI 4Gyにより十分な生着が期待できること、CSP+sMTXでは急性GVHDの予防が必ずしも充分ではなく、GVHDを発症した例ではその生命予後が悪化すること、原疾患の進行よりも治療関連死亡の方が多く、などが明らかとなった。今後は、GVHD予防をより強化することにより、治療関連死亡の減少を図り、全生存率の向上を図る必要がある。

#### E. 結論

- 非血縁者間骨髄ミニ移植の多施設共同臨床第I相試験を完遂した。
- 生着、完全キメラといった主要評価項目はクリアした。
- 原疾患の増悪を来す患者は少なかった。
- しかしGVHDや感染症(特に敗血症)をコントロールしきれずに死亡する患者が多かった。

本研究から、HLA一致非血縁ドナーからミニ移植は可能であるが、依然として治療関連死亡が多く改良の余地があることが明らかとなった。今後、移植後免疫抑制療法の改善、感染症に対する支持療法の進歩などが望まれる。

#### G. 研究発表

##### ◆ 論文発表

1. Tsukamoto H, Nagafuji K, Horiuchi T, Miyamoto T, Aoki K, Takase K, Henzan H, Himeji D, Koyoma T, Miyake K, Inoue Y, Nakashima H, Otsuka T, Tanaka Y, Nagasawa K, Harada M: A phase I - II trial of autologous peripheral blood stem cell transplantation in the treatment of

- refractory autoimmune disease. *Ann Rheum Dis* 65: 508-514,2006
2. Kim SW, Tanimoto TE, Hirabayashi N, Goto S, Kami M, Yoshioka S, Uchida T, Kishi K, Tanaka Y, Kohno A, Kasai M, Higuchi M, Mori S, Fukuda T, Izutsu K, Sao H, Ishikawa T, Ichimohe T, Takeuchi K, Tajima K, Tanosaki R, Harada M, taniguchi S, Tobinai K, Hotta T, Takaue Y: Myeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for non-Hodgkin lymphoma: a nationwide survey in Japan. *Blood* 108: 382-389, 2006
  3. Shide K, Shimoda K, Kamezaki K, Kakumitsu H, Kumamo T, Numata A, Ishikawa F, Takenaka K, Yamamoto K, Matsuda T, Harada M: Tyk2 mutation homologous to V617F Jak2 is not found in essential thrombocythaemia, although it induces constitutive signaling and growth factor independence. *Leuk Res.* (in press)

## Gemtuzumab ozogamicin 併用移植前処置を用いた 難治性 AML に対する HLA 二座不一致臍帯血移植

分担研究者 中尾 眞二  
金沢大学大学院医学系研究科細胞移植学 教授

### 研究要旨

移植後再発例に対する移植を成功させるためには、迅速なドナーの選定と治療関連毒性の軽減が重要である。臍帯血ミニ移植はこれらの要件を兼ね備えていることから、新たな治療戦略の一つとして注目されている。しかし、臍帯血ミニ移植では前処置による抗腫瘍効果そのものが期待できないため、再発率が高くなることが懸念されている。一方、近年あいついで開発された分子標的薬は、正常組織に対する毒性が少ないことから、治療関連毒性を回避するためには理想的な抗腫瘍薬である。今回我々は、初回移植から5ヵ月後に再発をきたした FLT3/ITD を有する AML（FAB 分類 M1、正常核型）の17歳女性に、gemtuzumab ozogamicin（GO）を併用した骨髄非破壊的前処置（Flu+L-PAM+TBI）による臍帯血ミニ移植を行った。前処置開始時は非寛解であったが、移植後には寛解が得られ、5ヶ月を経過した現在も寛解を維持している。GO を併用した臍帯血ミニ移植は、移植後早期の再発例に対する治療戦略の一つになる可能性が示唆された。

### A. 研究目的

移植後早期の再発 AML に対しては治療戦略が限られており、確立した治療法は存在しない。化学療法単独やドナーリンパ球輸注療法のみでは、通常永続的な寛解は期待できない。再移植は治癒を期待できる唯一の選択肢であるが、新たなドナー選定には時間を要し、治療関連毒性も増すことから、治療成績は不良である。近年急速に広まりつつある臍帯血ミニ移植は、これらの問題点を克服できることが期待されるものの、非寛解状態での移植では抗腫瘍効果が十分ではない可能性がある。

今回我々は、初回移植から5ヵ月後に再発した難治性の非寛解 AML に対し、

gemtuzumab ozogamicin(GO)を併用した骨髄非破壊的前処置による臍帯血移植を行ったところ、再寛解が得られた例を経験した。臍帯血ミニ移植における GO 追加の安全性と有用性について検討した。

### B. 研究方法

GO の投与方法に関しては Hanel らの報告（Br J of Haematol. 2003; 120: 1093-94）を参考にして、以下の前処置による臍帯血移植を実施した。

Day -21	GO 6 mg/m <sup>2</sup>
Day -14	GO 3 mg/m <sup>2</sup>
Day -7 ~ -3	Flu 25 mg/m <sup>2</sup>

Day -2        L-PAM 40 mg/m<sup>2</sup>  
Day -1        TBI 2Gy

### C. 研究結果

症例は 17 歳女性。2005 年 9 月、AML-M1 を発症。染色体は正常核型であったが、FLT-3/ITD を認めた。DNR+Ara-C による寛解導入療法により完全寛解となった。予後不良が予想されたため、大量 Ara-C 療法 2 コースによる地固め療法の後、TBI+Ara-C+CY による前処置を用いて、2006 年 2 月 28 日 HLA 適合非血縁ドナーから同種骨髄移植を行った。GVHD 予防は短期 MTX+シクロスポリンを用いた。Day 17 に Grade I の GVHD を合併したが自然軽快した。その後の経過は順調であったが、day 125 頃より血小板減少が出現。Day 140 の骨髄穿刺で芽球を 8.4%認めたため再発と診断した。芽球は初発時と同様に CD33 陽性であった。初回移植からの経過が短く、再発早期であることを考慮し、移植前の化学療法は行わずに非寛解状態での臍帯血ミニ移植を計画した。Day -21 および day -14 に GO を投与し、Flu+L-PAM+TBI による骨髄非破壊的前処置後、8 月 17 日(初回移植後 day 169)に HLA 二座不適合の臍帯血移植を実施した。GVHD 予防は tacrolimus 単独とした。好中球の生着は day 18 に得られ、最終血小板輸血は day 51 であった。経過中、tacrolimus による TMA を合併したものの、重篤な合併症なく経過し、再移植後 5 ヶ月を経過した現在寛解を維持している。

### D. 考察

臍帯血ミニ移植は迅速なドナー選定が可能な上に移植後早期の治療関連毒性を軽減でき

ることから、移植後再発例に対する治療戦略の一つとして期待されている。しかし、前処置そのものによる抗腫瘍効果が期待できないため、本例のような非寛解例での適応は困難と考えられてきた。今回われわれは抗腫瘍効果を増強する目的で移植前処置に GO を併用した。分子標的薬は正常組織に対する毒性を回避できることから理想的な抗癌剤と考えられる。

臍帯血移植ではしばしば生着不全が問題となる。GO がターゲットとしている CD33 は、白血球細胞は表出しているものの、正常造血幹細胞は発現していないため、たとえ臍帯血移植後に GO が残存したとしても造血の再構築には悪影響を及ぼさないと考えられる。

GO の肝毒性は単独投与では通常可逆性であるが、移植前後の使用では VOD のリスクを高めることが知られている。Wadleigh らは、GO の投与から移植までの期間が 3.5 ヶ月以内の症例では 90%が VOD を発症したと報告した (Blood. 2003; 102: 1578-1582)。本例では再移植直前投与であったため、投与量を 6 mg/m<sup>2</sup>+3 mg/m<sup>2</sup>に減量したためか、VOD を含め重篤な肝障害はみられなかった。

我々が知る限り臍帯血ミニ移植の前処置に GO を組み込んだ例は本例が第一例目である。本投与量での GO の安全性と効果が確認されれば、初回移植例であっても GO を組み込んだ前処置が今後有望となるかもしれない。

### E. 結論

GO を併用した臍帯血ミニ移植は、移植後早期 AML 再発例に対する安全で有効な治療戦略の一つになる可能性が示唆された。



## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### ◆ 論文発表

1. Sugimori, C., Yamazaki, H., Feng, X., Mochizuki, K., Kondo, Y., Takami, A., Chuhjo, T., Kimura, A., Teramura, M., Mizoguchi, H., Omine, M. & Nakao, S. Roles of DRB1\*1501 and DRB1\*1502 in the pathogenesis of aplastic anemia. *Exp Hematol*, 2007; 35, 13-20.
2. Takami A, Shimadoi S, Sugimori C, Takemoto K, Shibayama M, Yoshida T, Murayama T, Nagai K, Miyamura K, Asakura H, Nakao S. Successful treatment of minimal residual disease-positive Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia with imatinib followed by reduced-intensity unrelated cord blood transplantation after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation. *Int J Hematol* 2006; 84: 170-3.
3. Takami A, Takamatsu H, Yamazaki H, Ishiyama K, Okumura H, Ohata K, Konaka H, Asakura H, Namiki M, Nakao S. Reduced-intensity unrelated cord blood transplantation for treatment of metastatic renal cell carcinoma: first evidence of cord-blood-versus-solid-tumor effect. *Bone Marrow Transplant*. 2006; 38:729-732.

### ◆ 学会発表

1. Chiharu Sugimori, Kanako Mochizuki, Xingmin Feng, and Shinji Nakao. Roles of HLA-DR15 Alleles in the Pathogenesis of Acquired Aplastic Anemia (AA): DRB1\*1502 Is in Linkages Disequilibrium with Unique Genes Which Determine Susceptibility to AA. **The American Society of Hematology 48th Annual Meeting**, Orlando, Florida. December 9-12, 2006.
2. Akiyoshi Takami, Shigeru Shimadoi, Yukio Kondo, Hirokazu Okumura, and Shinji Nakao. Monocyte Colony-Stimulating Factor Enhances Rituximab-Dependent Cellular Cytotoxicity by Monocytes. **The American Society of Hematology 48th Annual Meeting**, Orlando, Florida. December 9-12, 2006.
3. Yukio Kondo, Xingmin Feng, Yoshihisa Kumano, and Shinji Nakao. CDK2-Specific CTLs Can Be Generated *In Vivo* from Donor Derived T Cells in HLA-A24+ Patients with Leukemia in Remission after Allogeneic Stem Cell Transplantation. **The American Society of Hematology 48th Annual Meeting**, Orlando, Florida. December 9-12, 2006.

## H. 知的財産権の出願・登録状況

- 1) 特許取得 なし
- 2) 実用新案登録 なし
- 3) その他 なし

## 臓器障害を有する患者のHLA不一致移植の安全性の検討

分担研究者 谷口 修一

国家公務員共済組合連合会 虎の門病院 血液科 部長

### 研究要旨

難治性血液疾患に対する根治的治療である同種造血幹細胞移植の進歩は近年著しい。最近移植前処置を軽減したミニ移植が開発され、臓器障害を持つ症例や高齢者にも同種移植療法を提供できるようになった。またドナーに関しても臍帯血を用いることにより成人でも90-95%の症例に移植医療を提供できる状況にある。虎の門病院血液科では、ドナーに危険を及ぼすことなく速やかに入手できる臍帯血と移植前処置の軽減による副作用軽減という2つの利点を持ち合わせた臍帯血ミニ移植を積極的に行ってきた。対象は2002年1月から2005年12月まで虎の門病院血液科で臍帯血を用いたミニ移植を行った症例で臍帯血および患者の血清型と遺伝子型HLAが判明している156例を対象にHLA一致度と生着との関連を検討した。多変量解析においてGVH方向のHLA一致度と移植CD34陽性細胞数が有意に生着と関連していた。GVH方向のHLA不適合と移植後早期の免疫反応や血球貪食症候群は生着不全に繋がる可能性が示唆された。

### A. 研究目的

同種造血幹細胞移植術は、難治性血液疾患に対する根治的治療であるが、これまで骨髄破壊的移植術（フル移植）が主に若年者に対し施行されてきた。近年骨髄非破壊的移植術（ミニ移植）が、臓器障害を有する症例や高齢者にも安全に施行可能なことが示され、そのフル移植と変わらない有効性が報告されている。一方、造血幹細胞移植には基本的にHLA一致ドナーが必要であるが、HLA一致血縁者ドナーは2/3の症例で見つからず、骨髄バンクを介した移植は、登録から移植までに3~6ヶ月かかり、緊急の状況には対応できないことが多い。この場合、HLA不適合血縁からの移植やHLA二座不一致まで移植可能な

臍帯血移植が考慮される。

臍帯血移植の一般的な生着率は80-90%と報告され、移植片拒絶が最大の問題とされている。移植細胞数やCD34陽性細胞数と生着率の関連が指摘されているが、今回、HLA不適合と生着について検討した。

### B. 研究方法

対象は2002年1月から2005年12月まで虎の門病院血液科で臍帯血を用いたミニ移植を行った症例で臍帯血および患者の血清型と遺伝子型HLAが判明している156例で解析を行った。生着率を見る目的のため、移植後28日以内の死亡例は除外した。が数は延べ158例で初回移植例136例を解析の対象とし

た。年齢中央値 54 才(17-79)。疾患別では、急性骨髄性白血病 41 例、急性リンパ性白血病 21 例、悪性リンパ腫 31 例、慢性骨髄性白血病 6 例、骨髄異形成症候群 19 例、成人 T 細胞性白血病 14 例その他 6 例であった。すべての症例で適切な HLA 一致血縁ドナーはなく、高齢や臓器障害のため骨髄破壊的移植が困難な症例であった。

前処置は Fludarabine(Flu、25mg/m<sup>2</sup> 5 日間)+Melphalan(l-PAM 40mg/m<sup>2</sup> 2 日間)+TBI4Gy が殆どであった。GVHD 予防は cyclosporine 3mg/kg 単独もしくは tacrolimus 0.03mg/kg 単独で行い、移植 1 日目から G-CSF を併用した。

HLA 一致度は、HLA6/6 一致が 8 例、5/6 一致 46 例、4/6 一致 98 例、3/6 一致 4 例であった。

#### 倫理上の問題点に対する配慮

本研究は当院で行った臍帯血ミニ移植の後方視的コホート研究である。今回の研究を目的とした説明および同意取得は行っていない。ただし統計解析においては患者固有情報の匿名化を行い、個人情報漏洩の防止に努めた。

### C. 研究結果

一次性生着不全は 18 例(11.5%)に見られた。生着例の白血球生着の中央値は 19 日(幅 11-55)であった。GVH 方向の HLA 一致度が 5-6/6 の症例では、day100 時点での生着率は 94.4%で、3-4/6 一致例の 85.3%と比べて有意に良好な生着を示した(p<0.001)。また生着速度も生着の中央値が 5-6/6 一致例では 17 日(幅 11-36 日)で 3-4/6 一致例の 20 日(幅 11-55 日)に比べて速い傾向にあった。HVG 方向の HLA 一致度と生着の関連についても検討

した。5-6/6 一致例では 90.9%の生着、3-4/6 一致例では 87.5%で統計学的な有意差を認めなかった(p=0.5895)。生着速度についても両群で差を認めなかった。先着に関する HLA 一致度以外の因子を単変量解析で解析した。移植総細胞数(<3x10<sup>7</sup>/kg)と CD34 陽性細胞数(>1x10<sup>5</sup>/kg)は有意に生着と相関した。P 値はそれぞれ 0.0009 と 0.0005 であった。患者年齢、性別、疾患のリスク、GVHD 予防法、血液型はいずれも生着との関連性は示されなかった。多変量解析においても、GVHD 方向での 5-6/6 一致および CD34 陽性細胞数と共に有意に生着に寄与する因子として抽出された。

### D. 考察

移植 CD34 陽性細胞数と共に GVH 方向の HLA 一致度が生着と強く関連した因子として抽出された。拒絶のメカニズムは通常 HVG 方向の HLA 一致が関連していると思われるが、我々の移植系に置いては逆の結果であった。我々は臍帯血移植移植後の生着不全の原因として移植後早期の血球貪食症候群の関与に注目してきた。移植後早期の血球貪食症候群の発症については、感染症や移植後早期の免疫反応などがその誘因として考えられる。GVH 方向の HLA 不一致がより強い移植後早期の免疫反応を惹起し、それが血球貪食症候群ひいては生着不全と関連している可能性がある。

### E. 結論

当院の臍帯血ミニ移植 156 例の解析で、生着に関連する因子として移植 CD34 陽性細胞数と共に GVH 方向の HLA 一致度の関連性が示された。

## F. 健康危険情報

該当なし

## G. 研究発表

### ◆論文発表

1. Miura Y, Taniguchi S, et al. Oral beclomethasone dipropionate as an initial treatment of gastrointestinal acute graft-versus-host disease after reduced-intensity cord blood transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2006 38: 577-9
2. Narimatsu H, Taniguchi S, et al. Graft failure following reduced-intensity cord blood transplantation for adult patients. *Br J Haematol.* 2006 Jan;132(1):36-41.

### ◆学会発表

1. Matsuno N, Taniguchi S, et al. Impact of Human Leukocyte Antigen Compatibility on Engraftment in Adult Patients Receiving Reduced-Intensity Umbilical Cord Blood Transplantation Using Calcineurin Inhibitor Alone for GVHD Prophylaxis. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)*, Nov 2006; 108: 3147.
2. Yamamoto H, Naoyuki Uchida, Taniguchi S, et al. High Incidence of Cytomegalovirus Reactivation and Diseases Following Reduced-Intensity Cord Blood Transplantation for Adult Patients. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)*, Nov 2006; 108: 2846.

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

## 多発性骨髄腫の multidrug-resistance (MDR) と予後における IAPファミリータンパク遺伝子発現の影響についての検討

分担研究者 鈴木 憲史  
日本赤十字社医療センター 血液内科 部長

### 研究要旨

多発性骨髄腫は近年発症頻度が増加傾向にあり、初期の化学療法にはある程度反応するが、再燃時には半数以上で多剤耐性遺伝子 (MDR genes; multidrug resistance genes) を発現し治療抵抗性となる。本疾患は現在のところ治癒例がみられず、自己造血幹細胞移植に引き続き、同種ミニ移植療法が数少ない治癒戦略である。しかし、造血幹細胞移植療法は造血器疾患に対する根治的な治療法ではあるが、移植前処置の毒性、移植片対宿主病(GVHD)、感染症などの合併症を生じ再発も多い。血縁者間の移植の利点として、再発治療のための DLI (ドナーリンパ球輸注療法) がタイミング良く実施出来る事であるが HLA 不一致血縁ドナーしか幹細胞源がない場面が多く、アレルツマブを用いた HLA 二座以上不一致血縁ドナーからの同種造血幹細胞移植療法の開発は重要である。今年度は MDR 遺伝子の発現とアポトーシスの関係を中心に研究を展開した。

### A. 研究目的

多発性骨髄腫は Pre B から Immature B 細胞あたりの単独クローンが分化増殖し、単一な形質細胞が主に骨髄で増加し、一般に血清中に単クローン性の蛋白のみられる腫瘍である。発症頻度は 10 万人に 2.5 人で、わが国でも最近増加傾向にある。

現時点では骨髄腫の治癒は期待できないので、治療目標は完全または部分寛解に導入し、QOL を良好な状態に維持し、生存期間延長することであるが、集学的治療で治癒を目指す時期がきている。骨髄腫の治療は化学療法が中心となるが、条件が満たされれば末梢血幹細胞移植や同種ミニ移植も計画され、長期生存や GVM 効果での治癒が期待される。

さて、微量残存骨髄腫細胞撲滅のための

GVM 効果を増強するには MDR 遺伝子の抑制とアポトーシスの誘導が重要である。サブイピンなどのアポトーシス阻害タンパク質 (IAP) ファミリーはショウジョウバエからヒトに至るまで、非常によくその構造と機能が保存されているタンパク質である。アドリアマイシンなどの抗がん剤で誘導される MDR 遺伝子と共同して抗アポトーシスとして働き、以前に我々が報告した、ホスト側のリンパ球による TRAIL(TNF-related apoptosis-inducing ligand)を介しての腫瘍細胞アポトーシス(Blood97:2067,2001)の作用をブロックする。このブロックを解除できれば、微量残存骨髄腫細胞の撲滅も可能であり治癒も望めることを期待して検討した。

## B. 研究方法

IAP と MDR 遺伝子の発現を臨床経過の判明している骨髄腫患者 26 例の骨髄凍結検体と対照群 7 例について検討した。初診時、化学療法後の骨髄検体について RT-PCR 法を用いて MDR1、LRP (Lung Resistance Protein)、IAP ファミリーであるサバイビン、cIAP1、cIAP2 および XIAP の発現を検討した。4 年未満に死亡した症例を予後不良群、4 年以上生存した群を予後良好群とした。

## C. 研究結果

RT-PCR による化学療法前後の骨髄検体における MDR1、LRP の発現については、健常者と多発性骨髄腫患者群との間において有意差が認められた (Mann-Whitney's U test)。

化学療法後 MDR1 が増加した骨髄腫骨髄検体における IAP ファミリー発現と予後との関係については、MDR1 増加群では、予後不良群は予後良好群と比較してサバイビン、cIAP1、cIAP2 および XIAP の発現比が有意に高かった。同様に LRP が増加した骨髄腫骨髄検体における IAP ファミリー発現と予後との関係については、LRP 増加群では、予後不良群は予後良好群と比較して cIAP1 および cIAP2 発現比が有意に高かった。

## D. 考察

多発性骨髄腫における MDR1 と LRP の発現は健常者群と比較して有意に高かった。

多発性骨髄腫群では化学療法前後で MDR1 の発現が 53.8%、LRP の発現が 65.4% に増加した。

化学療法により骨髄腫細胞数が減少するにも関わらず、MDR1、LRP が増加する症例において、IAP 発現増加は予後不良となることが示された。アドリアマイシンなどの抗がん

剤で誘導される MDR 遺伝子は抗アポトーシス効果を有する IAP に影響を及ぼしていることが示唆された。

## E. 結論

アポトーシスの細胞内シグナル伝達機構の解明から、アポトーシスの実行過程はアポトーシスを引き起こす因子と、逆にそれを防ぐ因子によって巧みに制御されている。骨髄腫細胞の MDR のアポトーシスへの関与や IAP を含む抗アポトーシスの特性を解明することは重要と思われた。

GVM 効果が期待できるアテムツズマブを用いた HLA 二座以上不一致血縁ドナーからの同種造血幹細胞移植療法後に、MDR 遺伝子の抑制と IAP の阻害や TRAIL を介してのアポトーシスの誘導により、再発を防ぎ、治療症例が出てくることが期待される。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### ◆論文発表

1. Yasunori Nakagawa, Kenshi Suzuki, Masanobu Kitagawa et al: IAP-Family Protein expression correlates with poor outcome of multiple myeloma patients in association with chemotherapy-induced overexpression of multidrug resistance genes. *American Journal of Hematology* 81:824-831,2006

## I. 知的財産権の出願・登録状況

なし

## 高齢者 HLA 不一致移植の安全性の検討

分担研究者 森 慎一郎

国立がんセンター中央病院臨床検査部細菌免疫検査室 医長

### 研究要旨

HLA 不一致移植において克服すべき最大の問題点の一つが移植片対宿主病（Graft versus host disease; GvHD）であるが、これを過度に抑制することは、免疫不全による感染症や再発のリスクを増すことになるため、GvHD に対する患者の認容性に応じて適度な発症予防法を確立する必要がある。そこで高齢者における GvHD の認容性を検討するために、国立がんセンター中央病院において同種造血幹細胞移植を実施され、II 度以上の急性 GvHD を合併した 144 例について、治療関連死亡に関与する因子を後方視的に検討した。急性 GvHD 発症後の治療関連死亡率は年齢とともに増加する傾向が明らかであり、多変量解析では治療関連死亡の危険因子は年齢、GvHD の重症度、ドナーの種類が有意であり、原疾患のリスクや前処置の強度は有意な関連がみられなかった。これらの結果より、高齢者では若年者と比較して GvHD に対する認容性が低く、GvHD 発症後の治療関連死亡のリスクが高いことが示された。従って、今後 HLA 不一致移植の開発を進める際には、高齢者においては若年者よりも強力な GvHD 予防を行うことにより、治療成績の向上が期待される。

#### A. 研究目的

HLA 不一致移植における最大の合併症は移植片対宿主病（GvHD）である。強力な免疫抑制剤やアレムツズマブなどのモノクローナル抗体を用いることにより、致命的な GvHD の発症を抑制することが可能となってきたが、一方 GvHD の過度の抑制は免疫不全による感染症の増加や、移植片対腫瘍効果の減弱による再発の増加を招く危険性がある。従って高齢者の HLA 不一致移植の開発を行う際、GvHD に対する認容性が若年者と同様であるかどうかを明らかにした上で、適切な GvHD 予防方法を確立す

ることが求められる。

そこで今回我々は国立がんセンター中央病院において同種造血幹細胞移植を受け、II 度以上の急性 GvHD を合併した患者に関して後方視的に検討し、年齢が GvHD 発症後の治療関連死亡率に影響する程度を検討した。

#### B. 研究方法

国立がんセンター中央病院において、2000 年から 2005 年の 6 年間に造血器悪性腫瘍に対して同種造血幹細胞移植を実施された 334 例のうち、再発または再燃がみられる

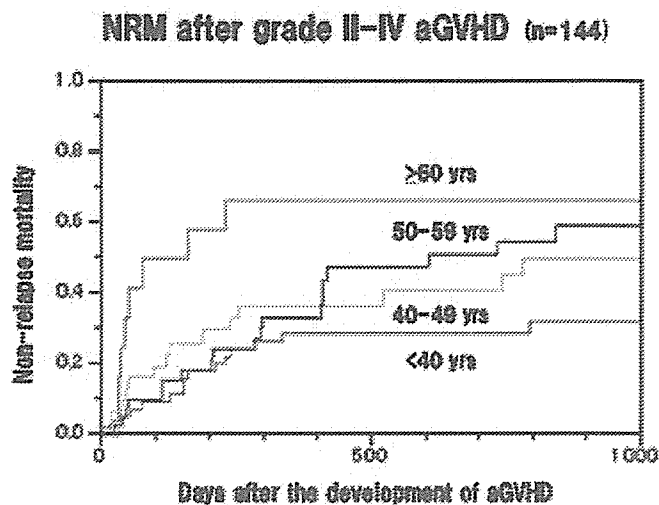
前に Grade II-IV の急性 GvHD を発症した 144 例の患者について、後方視的に検討した。前移植例の 334 例の年齢中央値は 46 歳（幅 1-68 歳）、原疾患は標準リスクが 69 例で、残る 265 例（79%）は再発のハイリスクであった。ドナーは HLA 一致血縁者が 138 人であり、残る 196 例（58%）は HLA 不一致血縁者（41 例）、または非血縁者（155 例）であった。移植前処置は通常の骨髄破壊的レジメンを用いた例（フル移植）が 165 例（49%）であり、残る 169 例は前処置減弱レジメンを用いた、いわゆるミニ移植の症例であった。

これらの患者のうち急性 GvHD は 54% の患者で発症しており、重症度の内訳では I 度 36 例（11%）、II 度 82 例（25%）、III 度 43 例（13%）、IV 度 21 例（6%）であった。II 度以上の急性 GvHD を発症した 144 例に関して、移植後の治療関連死をエンドポイントとし、治療関連死亡の危険因子に与与することが予想される原疾患の再発リスク、移植前処置のレジメン（フル移植対ミニ移植）、ドナーの種類（HLA 一致血縁者とそれ以外）の要因とともに、年齢が治療関連死亡に与える影響の大きさを単変量解析、多変量解析にて検討した。

### C. 研究結果

II 度以上の急性 GvHD 発症例全体での累積非再発死亡率（Non-relapse mortality; NRM）は 41% であった。これを 40 歳未満、40-49 歳、50-59 歳、60 歳以上の年代別に分けてみると、NRM は 29%、41%、55%、67% と年齢とともに著しく増加していた（ $P < 0.0001$ ）。すなわち、高齢者では GvHD を発症す

ると若年者と比較してその予後は有意に不良となることが明らかとなった。



一方、前処置の強度（フル移植対ミニ移植）や原疾患のリスク（スタンダードリスク対ハイリスク）ではそれぞれ 39%対 44%、42%対 41%と差がみられなかった。ドナー別（HLA 一致血縁者対その他）では 34%対 45%と代替ドナーからの移植例で NRM が増加する傾向がみられたが、有意ではなかった（ $P = 0.14$ ）。GvHD の重症度別にみると、Grade II 28%、Grade III 36%、Grade IV 95%（ $P < 0.0001$ ）と重症度が高いほど NRM が有意に増加した。GvHD の重症度、年齢、ドナーの種類、原疾患のリスク、前処置の強度を共変量とし NRM をエンドポイントとした Cox 回帰分析を行ったところ、Hazard 比でそれぞれ 3.4（ $P < 0.0001$ ）、1.9（ $P < 0.0001$ ）、1.9（ $P < 0.03$ ）、0.8（ $P = 0.63$ ）、0.35（ $P = 0.35$ ）とやはり年齢は GvHD の重症度やドナーの種類とは独立した有意な危険因子であることが示された。



#### D. 考察

当研究班で昨年度報告した通り、高齢者に対する同種造血幹細胞移植後の後の治療関連死亡の危険性は全ての患者において均等でなく、移植前の併存疾患の種類とその重症度に大きく依存しており、これを評価するために HCT-CI score は極めて有用である。従って、高齢者に対して代替ドナーからの移植を考える際、併存疾患の程度と原疾患の再発リスクの高さによって患者を層別化することの有用性が示唆された。そこで、併存疾患が軽度で疾患リスクが高い例では、強力な GVL 効果を期待して GvHD 予防を減弱するといった考えも成り立つ。しかし、今回の検討により高齢者では若年者と比較して GvHD 発症後の生命予後が不良であり、特に 50 歳以上の例では、II 度以上の急性 GvHD 発症後の治療関連死亡率は 50%を上回っていた。つまり、GvHD 予防を減弱することにより再発を予防する効果があったとしても、高齢者においてはそれが最終的な生命予後の改善につながる余地はほとんどないものと考えられる。従って、今後の治療戦略の開発においては、GvHD の発症を極力抑制して移植の安全性を高める努力が必須であると考えられた。

#### E. 結論

高齢者に対する同種造血幹細胞移植においては、GvHD の発症を極力抑える治療方法が最も有効な可能性がある。

#### F. 健康危険情報

該当せず

#### G. 研究発表

##### ◆論文発表

1. Onishi Y, Mori S, Higuchi A, Kim SW, Fukuda T, Heike Y, Tanosaki R, Minematsu T, Takaue Y, Sasaki T and Furuta K. Early detection of plasma cytomegalovirus DNA by real-time PCR after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Tohoku J Exp Med*, 210: 125-135.2006
2. Morita Y, Heike Y, Kawakami M, Miura O, Nakatsuka SI, Ebisawa M, Mori SI, Tanosaki R, Fukuda T, Kim SW, Tobinai K and Takaue Y. Monitoring of WT1-specific cytotoxic T lymphocytes after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Int J Cancer*, 119: 1360-1367.2006
3. Komeno Y, Kanda Y, Hamaki T, Mitani K, Iijima K, Ueyama J, Yoshihara S, Yuji K, Kim SW, Ando T, Kami M, Yamamoto E, Hiruma K, Mori S, Hirai H and Sakamaki H. A randomized controlled trial to compare once- versus twice-daily filgrastim for mobilization of peripheral blood stem cells from healthy donors. *Biol Blood Marrow Transplant*, 12: 408-413.2006
4. Kim SW, Tanimoto TE, Hirabayashi N, Goto S, Kami M, Yoshioka S, Uchida T, Kishi K, Tanaka Y, Kohno A, Kasai M, Higuchi M, Mori SI, Fukuda T, Izutsu K, Sao H, Ishikawa T, Ichinohe T,

- Takeuchi K, Tajima K, Tanosaki R, Harada M, Taniguchi S, Tobinai K, Hotta T and Takaue Y. Myeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for non-Hodgkin lymphoma: a nationwide survey in Japan. *Blood*, 108: 382-389.2006
5. Kakugawa Y, Kami M, Kozu T, Kobayashi N, Shoda H, Matsuda T, Saito Y, Oda I, Gotoda T, Mori S, Tanosaki R, Murashige N, Hamaki T, Mineishi S, Takaue Y, Shimoda T and Saito D. Endoscopic evaluation for cytomegalovirus enterocolitis after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Gut*, 55: 895-896.2006
  6. Imataki O, Makimoto A, Kato S, Bannai T, Numa N, Nukui Y, Morisawa Y, Ishida T, Kami M, Fukuda T, Mori SI, Tanosaki R and Takaue Y. Coincidental outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a hematopoietic stem cell transplantation unit. *Am J Hematol*, 81:664-669. 2006
  7. Imataki O, Nakatani S, Hasegawa T, Kondo M, Ichihashi K, Araki M, Ishida T, Kim SW, Mori SI, Fukuda T, Tobinai K, Tanosaki R, Makimoto A and Takaue Y. Nutritional support for patients suffering from intestinal graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Am J Hematol*, 81: 747-752.2006

#### ◆学会発表

1. Takahiro Fukuda, Yukiko Iisaka, Fusako Ohara, Atsushi Fujieda, Satoshi Yamasaki, Sung-Won Kim, Shin-ichiro Mori, Ryuji Tanosaki, Yuji Heike, Atsushi Makimoto, Kensei Tobinai, Yoichi Takaue Age-Related Risk of Non-Relapse Mortality Associated with Acute Graft-Versus-Host Disease. Session Type: Oral Session: 48th Annual Meeting of the American Society of Hematology, Orlando, 2006

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

### Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧

## 研究成果の刊行に関する一覧表

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻名	ページ	出版年
Keiichi Nakagawa, <u>Yoshinobu Kanda</u> , Hideomi Yamashita, Yoshio Hosoi, Kumi Oshima, Kuni Ohtomo, Nobuhiko Ban, Sen Yamakawa, Shunsuke Nakagawa, Shigeru Chiba.	Preservation of ovarian function by ovarian shielding when undergoing total body irradiation for hematopoietic stem cell transplantation. A case report of two successful cases.	Bone Marrow Transplantation	37	583-587	2006
Yukiko Komeno, <u>Yoshinobu Kanda</u> , Tamae Hamaki, Kinuko Mitani, Kimiko Iijima, Jun-ichi Ueyama, Satoshi Yoshihara, Koichiro Yuji, Sung-won Kim, Toshihiko Ando, Masahiro Kami, Emi Yamamoto, Kiyoshi Hiruma, Shin-ichiro Mori, Hisamaru Hirai, and Hisashi Sakamaki for the Japan Hematology and Oncology Clinical Study Group.	A randomized controlled trial to compare once-daily versus twice-daily filgrastim for mobilization of peripheral blood stem cells from healthy donors.	Biology of Blood and Marrow Transplantation	12	408-413	2006
Yuki Asano-Mori, <u>Yoshinobu Kanda</u> , Kumi Oshima, Takuro Watanabe, Eriko Shoda, Toru Motokura, Mineo Kurokawa, Shigeru Chiba.	Pharmacokinetics of ganciclovir in haematopoietic stem cell transplantation recipients with or without renal impairment.	Journal of Antimicrobial Chemotherapy	57	1004-1007	2006
Kumi Oshima, <u>Yoshinobu Kanda</u> , Fumio Nakahara, Eriko Shoda, Takahiro Suzuki, Yoichi Imai, Takuro Watanabe, Takashi Asai, Koji Izutsu, Seishi Ogawa, Toru Motokura, Shigeru Chiba and Mineo Kurokawa.	Pharmacokinetics of alemtuzumab after haploidentical HLA-mismatched hematopoietic stem cell transplantation using in vivo alemtuzumab with or without CD52-positive malignancies.	American Journal of Hematology	81	875-879	2006
<u>Yoshinobu Kanda</u> , Rie Hyo, Takuya Yamashita, Katsumichi Fujimaki, Kumi Oshima, Masahiro Onoda, Takehiko Mori, Toru Sakura, Masatsugu Tanaka, Miwa Sakai, Jun Taguchi, Mineo Kurokawa, Atsuo Maruta, Shinichiro Okamoto, Hisashi Sakamaki for the Kanto Study Group of Cell Therapy.	Effect of blood cyclosporine concentration on the outcome of hematopoietic stem cell transplantation from an HLA-identical sibling donor.	American Journal of Hematology	81	838-844	2006
Tsukamoto H, Nagafuji K, Horiuchi T, Miyamoto T, Aoki K, Takase K, Henzan H, Himeji D, Koyoma T, Miyake K, Inoue Y, Nakashima H, Otsuka T, Tanaka Y, Nagasawa K, <u>Harada M</u>	A phase I-II trial of autologous peripheral blood stem cell transplantation in the treatment of refractory autoimmune disease.	Annals of the Rheumatic Diseases	65	508-514	2006
Kim SW, Tanimoto TE, Hirabayashi N, Goto S, Kami M, Yoshioka S, Uchida T, Kishi K, Tanaka Y, Kohno A, Kasai M, Higuchi M, Mori S, Fukuda T, Izutsu K, Sao H, Ishikawa T, Ichimohe T, Takeuchi K, Tajima K, Tanosaki R, <u>Harada M</u> , taniguchi S, Tobinai K, Hotta T, Takaue Y	Myeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for non-Hodgkin lymphoma: a nationwide survey in Japan.	Blood	108	382-389	2006
Sugimori C, Yamazaki H, Feng X, Mochizuki K, Kondo Y, Takami A, Chuhjo T, Kimura A, Teramura M, Mizoguchi H, Omine M, <u>Nakao S</u>	Roles of DRB1*1501 and DRB1*1502 in the pathogenesis of aplastic anemia.	Experimental Hematology	35	13-20	2007