

平成18年度厚生労働科学研究ヒトゲノム・再生医療等研究事業
「骨髄等を利用した効率的な造血幹細胞移植の運用・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」班

血縁造血幹細胞ドナーの安全性に関する検討

一日本造血細胞移植学会同種末梢血幹細胞ドナーフォローアップ事業の
急性期有害事象総括報告、中長期中間報告並びに血縁造血幹細胞
ドナーフォローアップ事業の中間報告一

分担研究者：小寺良尚
日本造血細胞移植学会ドナー委員会
小寺良尚、浅野茂隆、池田康夫、加藤俊一、河敬世、神田善伸、
塩原信太郎、高上洋一、谷本光音、土肥博雄、中畑龍俊、
原田実根、三田村真、森島泰雄、山本一仁
2007,1,27~28, 東京

日本造血細胞移植学会同種末梢血幹細胞ドナー フォローアップ事業

事業期間：2000.4～2010.3
登録・30日報告。短期有害事象：2000.4～2005.3
中・長期フォローアップ：2001.4～2010.3

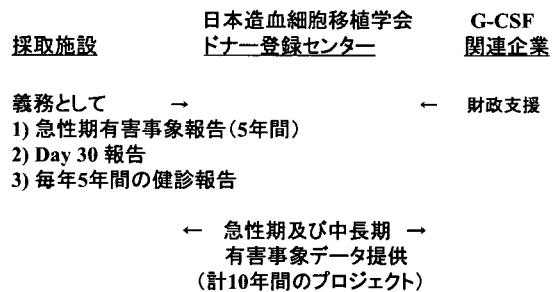
今回は2006年9月をもって、短期有害事象調査を終了としたので、
その最終報告を行うと共に、同時期までの中長期フォローアップ事業の
中間報告を行う。

背景と目的

同種末梢血幹細胞移植(PBSCT)は、2000年4月の健康保険適用以降
急速に普及してきている。

しかしながらこの時点で、我々はPBSCTドナーの安全性は必ずしも確立
されていないと考え、日本造血細胞移植学会を中心に、全ての末梢血
幹細胞ドナーの採取に関わる急性期及び中長期有害事象の実態を把
握し、もし発生した場合にはそれを速やかに情報伝達すると共に、それ
らに対する予防策を講じ、実施するシステムを構築した。

ドナーフォローアップシステムの仕組み



5年間の登録総数

(2006年9月登録最終締め切り日現在)

3,264 例 (74 例の2回提供数を含む)

233 診療科

Day 30 check報告数

2,882 例 (88.3%)

日本造血細胞移植学会 同種末梢血幹細胞ドナー適格基準

A. ドナー候補者は下記の疾患を有してはならない：

- 1) G-CSFに対するアレルギー
- 2) 妊娠
- 3) 高血圧、冠動脈疾患、脳血管障害、糖尿病、高脂血症
- 4) 脾腫
- 5) 血液学的異常
- 6) 間質性肺炎の既往
- 7) 癌の既往
- 8) 治療を必要とする心、肺、腎疾患
- 9) 自己免疫病
- 10) 肝疾患
- 11) 神経疾患

B. 原則として年齢は19-54歳であること

ドナーの適格基準充足状況

2000、4 - 2005、3

身体条件

適格基準を満たしていた： 98.0%

満たしていなかった： 2.0%

年齢条件

適格基準を満たしていた： 74.5%

満たしていなかった： 25.5%

日本造血細胞移植学会同種末梢血幹細胞ドナーフォローアップ事業

急性期有害事象

比較的重篤な急性期有害事象率:

49人 / 3,264人 = 1.5%

53件 / 3,264人 = 1.6%

A) 採取中又は採取後30日以内に発生した有害事象で比較的危害として緊急に採取施設より学会に報告されたもの:

48人、52件

B) 上記以外に、Day 30 check報告より学会が重篤と判定したもの:

1人、1件

急性期比較的重篤有害事象53件の内訳

明らかに重篤： 8 (3,264=0.25%)

肝質性肺炎 (2)、狭心症発作、くも膜下出血、胆石胆のう炎・痛風発作、静脈血栓症、後腹膜血腫、貧血

G-CSFに関連の可能性、一過性： 14 (3,264=0.42%)

肝機能異常 (11)、腹水・心嚢水・全身浮腫、血痰、食欲不振・悪心・嘔吐

アフェレーシスに関連の可能性、一過性： 31 (3,264=0.94%)

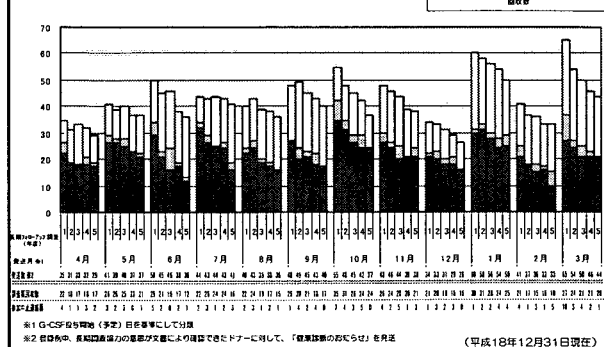
血小板減少 (1.8-6.6x10⁴/mL)(14)、発熱・感染 (6)、迷走神経反射 (2)、テタニー、胸部苦悶、四肢知覚低下、背部痛、下肢血腫、偏頭痛、椎間板ヘルニア、胃潰瘍、低酸素症

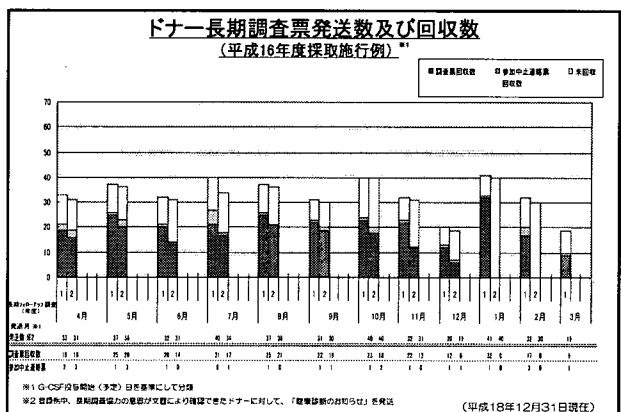
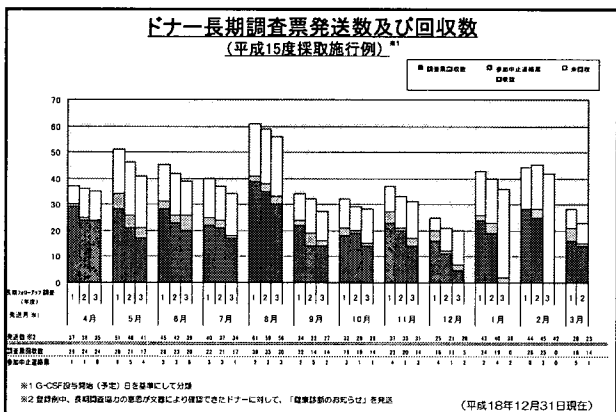
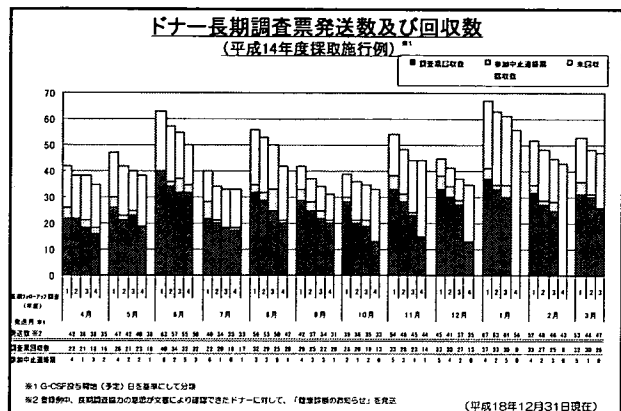
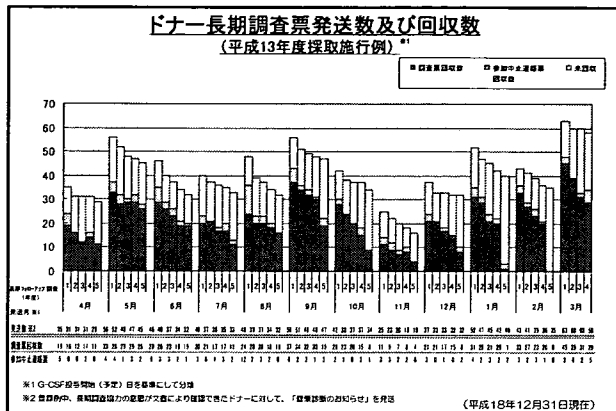
日本造血細胞移植学会同種末梢血幹細胞ドナーフォローアップ事業

中長期有害事象

ドナー長期調査票発送数及び回収数

(平成12年度採取施行例)*1





年次健診状況 (2006, 9現在)

2000年4月～2005年3月の5年間に提供したドナーの内
 同意を得て年次健診を実施した件数と一度以上受診した人数:
 4,566件(1,673人)
 (内、5年連続受診者数: 237人 × 5 = 1,185件)

年次健診実施率
 件数宛: $4,566 / 683 \times 5 + 717 \times 4 + 779 \times 3 + 604 \times 2 + 479$
 = 44.3%

人数宛: $1,673 / 683 + 714 + 779 + 642 + 479$
 = 50.7%

年次健診結果 (2001,4～2005,9)

(4,566件、1,673人、延べ件数で表示)

A. 健康上の問題なし : 3,880 (85.0%)
 B. 何らかの健康上の問題あり : 686 (15.0%)

- 提供前からあり : 165 (3.6%)
- 提供後発生し3.以外のもの : 240 (5.3%)
 - 明らかに一過性 : 52
 - 事故 : 7
 - 妊娠 : 11
 - 高血圧、糖尿病、他 : 53
 - 手術、精神神経疾患 : 117
- 提供後発生し2以外のもの : 281 (6.2%)
 - 非悪性腫瘍 : 267
 - 非血液系悪性腫瘍:(実数:10) 13 (0.3%)
 - 血液系悪性腫瘍 : 1 (0.02%)
 (骨髄増殖性疾患の急性転化例は1.に含まれるものとした)

比較的重篤な中長期有害事象率

42人 / 1,673 人 = 2.5%

年次健診で明らかになった中長期有害事象の内、比較的重篤と採取チーム又は学会ドナー登録センターで判定されたもの。1例を除き、全て前表のB-3群に属した。

中長期比較的重篤有害事象42人の内訳

血液学的悪性腫瘍:

急性骨髄性白血病 (1)

骨髄増殖性疾患の急性骨髄性白血病化 (1) *

その他の悪性腫瘍:

乳がん (6)、胃がん (1)、子宮がん (1)、

脳腫瘍 (1)、咽頭癌 (1)

非腫瘍性疾患: 甲状腺機能異常 (7)、子宮筋腫 (3)、

慢性関節リウマチ (2)、脳梗塞 (2)、

くも膜下出血 (1)、白内障 (1)、眼底出血 (1)、アトピー性

皮膚炎 (1)、葡萄膜炎 (1)、気管支喘息 (1)、糖尿病 (2)、

子宮内膜症 (1)、ITP (1)、全胎状奇胎 (1)、

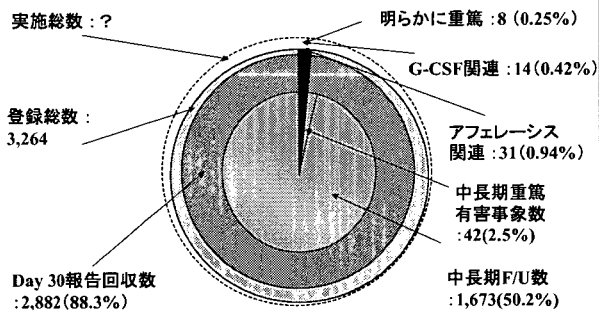
気胸 (1)、腸閉塞 (1)、不整脈 (1)、骨折 (1)

* : 提供前骨髄増殖性疾患

学会のドナー適格基準と急性期及び中長期有害事象発生との関係 (既提出分)

	急性期有害事象	中長期有害事象
適格基準を満たす	44 例	35 例
3,196 例	1.4%	1.1%
適格を基準を満たさない	3 例	0 例
66 例	4.5%	0%

血縁同種末梢血幹細胞ドナーフォローアップ事業サマリー (2006.9現在)



血縁造血幹細胞ドナーフォローアップ事業

2005.4~2006.12現在

登録状況

● 総登録数

1,263 例

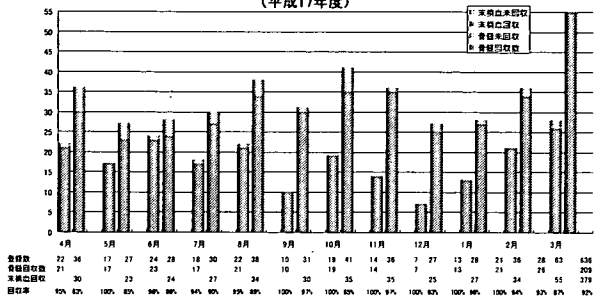
骨髄 480例(38%)

末梢血 783例(62%)

(平成18年12月31日現在)

造血幹細胞採取報告書種別回収数

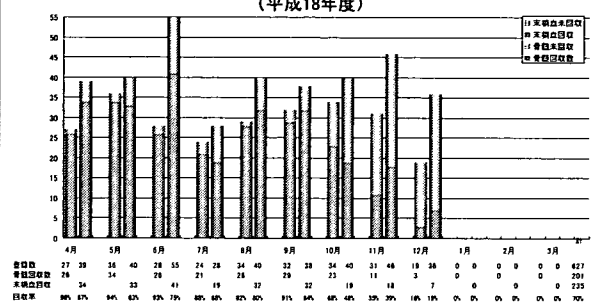
(平成17年度)



(平成18年12月31日現在)

造血幹細胞採取報告書種別回収数

(平成18年度)



(平成18年12月31日現在)

血縁ドナー有害事象報告例 (2006,11現在)

末梢血：10例

骨髄：2例

考 案 (1)

同種造血幹細胞ドナー事前登録システムは、提供に伴う急性期並びに中長期重篤有害事象の種類と頻度に付き、正確な情報をもたらしつつある。

本事業を通じ、末梢血幹細胞提供後一定数の急性期有害事象が発生することが明らかになったが、死亡もしくは後遺症を残すような事例は、わが国においては現在までのところ発生していない。これは提供の事前登録制一施設のドナー安全に対する自覚を新たにする一の成果の一つと考える。

考 案 (2)

ドナー適格基準の設定は、特に急性期の有害事象率を低減させる上で効果があったと考える。

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、同種造血幹細胞ドナー全て(骨髄、末梢血)を対象とする現行のシステムは意義あるものと考えられる。

血縁造血幹細胞移植ドナー保険の 適格基準と運用状況

名古屋大学医学部
造血細胞移植情報管理学
鈴木律朗、熱田由子、吉見礼美
造血細胞移植学会 ドナー委員会
小寺良尚

血縁造血幹細胞移植ドナー保険

2006年3月 スタート

「血縁ドナー登録」されていることが前提

- 血縁ドナーの総数を把握
- 合併症の発生状況を把握

造血幹細胞移植ドナーの 安全性確保と適格基準

骨髄ドナー

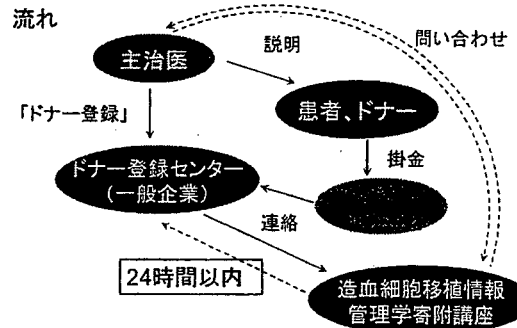
- 全身麻酔のため、麻酔科によるチェック機構が働く。
- 必要があれば、他科にコンサルト可能。

末梢血幹細胞ドナー

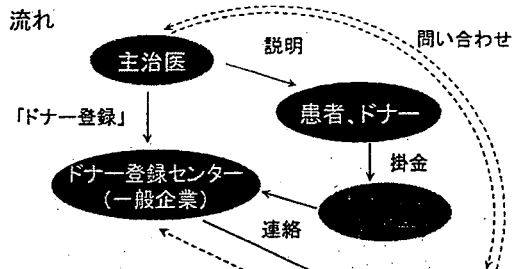
- 血液内科・小児血液科のみで実施。
- 他科のDr.もG-CSF投与時の事象には精通していない。

2000年、同種末梢血幹細胞移植ガイドライン制定。

造血幹細胞移植ドナー保険の開始



造血幹細胞移植ドナー保険の開始



「掛金」が払われないと、判定が始まらない。造血細胞移植情報
判定依頼が採取日に来ることも、しばしば。理学寄附講座

造血幹細胞移植ドナー保険の開始

★ 問題点

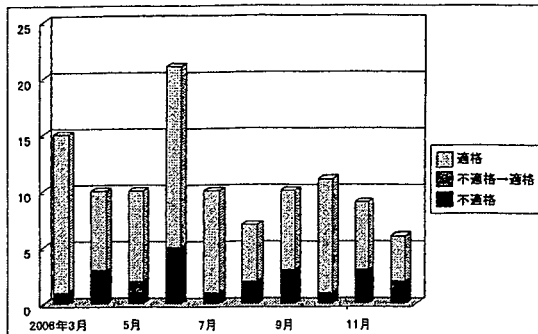
骨髄ドナー

- 明文化された「適格基準」が存在しない。
(保険の判定基準としては、判断の統一性が要求される)
- JMDPの基準では、血縁ドナーに適用困難な点がある。

HTLV-Iなど、感染症の伝播に関する事項・
悪性腫瘍の既往。

小児の基準がない。

適格・不適格の判定



不適格の事由

全件数	20件
肝機能検査異常(単独)	9件
高コレステロール血症	4件
甲状腺機能亢進・低下 (自己免疫疾患)	各1件
筋ジストロフィーCPK高値(BM)	1件
高Ca血症	1件
脳血管障害の既往(PB)	1件
痛風(PB)	1件
肝機能異常+薬物療法中の糖尿病 +一秒率低下(BM)	1件

判定で「不適格」の事例

【血液ドナーに関する情報】 以下の項目にチェックを入れて下さい

献血時の年齢	男 女	配偶者との関係	<input type="checkbox"/> 引退 <input type="checkbox"/> 引退 <input type="checkbox"/> 引退 <input type="checkbox"/> 引退
性別	男 女	配偶者との関係	<input type="checkbox"/> 引退 <input type="checkbox"/> 引退 <input type="checkbox"/> 引退 <input type="checkbox"/> 引退
ドナーに関する 確認事項	<input type="checkbox"/> 既往の疾病 (傷)と病歴 <input type="checkbox"/> 成人における体重 (男性: 45kg未満, 女性: 43kg未満) <input type="checkbox"/> 肝臓病 (肝臓の病変に認めらるる数値) $> 20 \text{ mEq/L}$, 総ビリルビン $> 1.0 \text{ mg/dL}$ <input type="checkbox"/> 胆石症 (総ビリルビン $> 1.0 \text{ mg/dL}$) <input type="checkbox"/> 胆嚢炎 <input type="checkbox"/> 胆管炎 <input type="checkbox"/> その他 ()		
妊娠中・産後中の疾患 (含胎児)	<input type="checkbox"/> 妊娠中・産後中の疾患 (胎児の病変に認めらるる) $> 20 \text{ mEq/L}$, $> 1.0 \text{ mg/dL}$ <input type="checkbox"/> 胆石症 (総ビリルビン $> 1.0 \text{ mg/dL}$) <input type="checkbox"/> 胆嚢炎 <input type="checkbox"/> 胆管炎 <input type="checkbox"/> その他 ()		
既往症	<input type="checkbox"/> 既往症 (既往症の病変に認めらるる) $> 20 \text{ mEq/L}$, $> 1.0 \text{ mg/dL}$ <input type="checkbox"/> 胆石症 (総ビリルビン $> 1.0 \text{ mg/dL}$) <input type="checkbox"/> 胆嚢炎 <input type="checkbox"/> 胆管炎 <input type="checkbox"/> その他 ()		
ドナー登録時の 確認事項	<input type="checkbox"/> 既往症 (既往症の病変に認めらるる) $> 20 \text{ mEq/L}$, $> 1.0 \text{ mg/dL}$ <input type="checkbox"/> 胆石症 (総ビリルビン $> 1.0 \text{ mg/dL}$) <input type="checkbox"/> 胆嚢炎 <input type="checkbox"/> 胆管炎 <input type="checkbox"/> その他 ()		

保険金支払い事例

「事故証明書」が必要 → 「学会の見解」欄

全身の有痛性の紅斑
→ 生検でSweet病 1件

事前のチェック項目では該当無く、
「適格性」判定はなし。

まとめ

- 血縁造血幹細胞移植ドナー保険制度がスタートして一年弱、まずまず順調な経過である。
 - 当初あった、明らかな不適格例は減少。
 - 肝機能・高コレステロール血症での不適格例は続いている。
- ドナーとしての医学的な可否と、保険の適格性は別問題であるので、留意して下さい。
- ドナー・患者への説明は、お早目に。(入金も)

米国の造血細胞移植をめぐる動向

ドナーのことでは、ありませんが...

- 近日中に、移植の成績登録が義務化の予定。
(登録しないと保険料が支払われなくなる。)
- 更に、移植成績も一定レベルを満たすことが要求される予定。

↑
背景に、患者団体からの要望がある。

国内初のヒト“灌流法”(Phase I Study)を実施して

関西医科大学 病理学第一講座
同 癌治療センター
池原 進

【はじめに】

マウス、ラットのみならず、サルを用いた大規模な動物実験の結果から、従来の骨髄移植方法（“吸引法”と“静脈内骨髄移植”）に代わって、新しい骨髄移植法（“灌流法”と“骨髄内骨髄移植”）の有用性が証明され、ヒトへの臨床応用の段階に入った。

昨年第一回“骨髄内骨髄移植研究会”で、先ず、“灌流法”の安全性をヒトで確認するためのPhase I Studyを開始することが承認され、学内の倫理委員会の承認と患者の同意を得て、この度、実施したので報告する。

【症例】

58才 男性

<既往歴>

- 10歳時：腸重積→手術
- 53歳時：肺結核、結核性リンパ節炎
- 57歳時：結核性リンパ節炎再発

<現病歴>

- 平成16年9月、非ホジキンリンパ腫（diffuse large B-cell lymphoma、Stage III B）と診断。病変部位は、頸部、両肺門、左鼠径部。骨髄浸潤なし。国際予後指標（IPI）は low-intermediate risk。R-CHOP8 コース施行しCR。
- 平成18年2月、急速に頸部リンパ節腫脹。生検にてdiffuse large B-cell lymphoma再発と診断（病変部位：両側頸部、左鎖骨上窩、右肺門）。骨髄浸潤なし。R-ESHAP3コース施行し2ndCR。
- 平成18年7月、R-ESHAP3コース施行後、自家末梢血幹細胞採取するもCD34陽性細胞は $2 \times 10^5/\text{kg}$ と採取不良。CPA2g/m²×2日を前治療として再度、幹細胞採取を試みるも白血球の十分な増加が得られず採取を断念。以上の結果、“Poor Mobilizer”症例と判断。
- 平成18年11月、頸部リンパ節腫脹およびsIL-2Rの増加を認め再発と診断。本臨床試験の同意が得られ、患者適格基準に適合したので、12月20日“灌流法”による自家骨髄採取を実施。術後、鎮痛剤は不要。出血も少なく輸血は不要。採取翌日も穿刺部疼痛や、出血もなし。入院中、胸部XP検査、血液検査、臨床所見に著変なく、12月22日退院。
- 平成19年1月6日よりサルベージ療法を開始中。

【灌流法】

<手技>

手術室において全身麻酔下、腹臥位にて被験者の両側腸骨より採取する。骨髄採取針は13Gのディスプレイザブル針（シーマン株式会社製）で、側孔のついていないものを用いる。

右側の上後腸骨棘から約1cmの部位に骨髄穿刺針（N1）を刺入する。次にN1から右腸骨稜結節側へ約3cm離れた部位に2本目の骨髄穿刺針（N2）を刺入する。骨髄穿刺針（N1）に生理食塩液30mlを吸引した注入用シリンジを装着する。骨髄穿刺針（N2）に採取側シリンジ（予めヘパリン加生理食塩液0.5mlを吸引）を装着する。N1のシリンジから生理食塩液30mlをゆっくり注入しながら、もう一方のN2のシリンジより、軽く吸引し骨髄液を採取する。肺塞栓のリスクを減少させるため、注入側シリンジに強く陽圧をかけないように留意する。また、吸引側シリンジに強く陰圧を加えると末梢血の混入が多くなるため、できるだけ軽く吸引する。

次に、骨髄穿刺針（N2）からさらに約3cm右腸骨稜結節側に、あらたに骨髄穿刺針（N3）を刺入する。骨髄穿刺針（N2）に注入用シリンジを、骨髄穿刺針（N3）に採取用シリンジを装着し、同様の

操作をおこなう。このとき骨髄穿刺針(N1)には内筒を挿入し、骨髄液の漏洩を防ぐ。以上の操作をN4まで行う。

本症例では、採取骨髄細胞数が少ないため、逆方向(N4→N3,N3→N2,N2→N1)からも生理食塩液を注入し、骨髄細胞を採取した(往復“灌流法”)。

次に、左側の腸骨でも同様の操作を行った。操作の実際は、videoで供覧する。

<採取結果>

- i) Total cell countは 2×10^6 (/ml) \times 400(ml) = 0.8×10^9 で通常の1/10の量であった。
- ii) そのうち、C34⁺/CD45⁺細胞は1.6%であった。
- iii) T細胞(CD4⁺ + CD8⁺)数は15%であった。但し、逆方向の方がややT細胞の%が多かった。
- iv) Hemopoietic Progenitor Cell Countに関しては、順方向と逆方向でCFU-GM/BFU-Eの比率が逆転していたが、逆方向では末梢血が混入した可能性が考えられた。
- v) 体重60kgとして、CFU-GM数は、 0.3×10^4 /kgで、健常ドナーの吸引法での値と比較すると1/10以下の採取量であったが、これは“Poor Mobilizer”の患者のためと考えられた。

<結論>

- 1) “Poor Mobilizer”の患者の腸骨を用いて、安全に灌流法が実施できた。
- 2) 両側4箇所ずつ計8箇所から採取し、1時間以内に終了した。
- 3) 術後の腰痛は認められず、麻酔から完全に覚醒後、歩行可能であった。
- 4) 末梢血の混入は、ほとんど無視できたので、赤血球やT細胞の除去は不要であった。
- 5) 出血がないため、輸血の必要もなかった。

[共同研究者]

第一内科：森，山本，藤田，福原

衛生：菌田

麻酔科：浅井，廣瀬，新宮

整形外科：串田，飯田

小児科：河崎，中野，金子

救急医学科：平川，中谷

第一病理：稲葉，足立，比舎，保坂，楨，崔雲，重松，津田，向出，三宅，上田，岡崎，福井，
溝上，坂口，小池，大前，西田，安藤，王，李，馮，崔文，宋，郭

平成18年度 第2回小寺班・加藤班合同班会議

WMDA Clinical WG 報告

慶應義塾大学医学部血液内科
岡本 真一郎

Long Term Effects of G-CSF in Healthy Donors

- The WMDA Board asked the CWG to discuss the currently available evidences that can be provided to donor registries for counseling of donors.
(Bennett CL et al: Brit J Haematol 2006; 135; 642-650)
- Long-term follow-up data from the NMDP, DKMS, JSHCT (related donor only), ABMDR, and EBMT (retrospective) were presented and discussed.
- A research project of the Anthony Nolan Trust that will assess possible genetic damage in stem cell donors compared with a healthy control was presented and discussed.

(Nagler A et al: Exp Hematol 2004; 32; 122-130)

Statement

Normal individuals are at risk for developing cancer, including leukemia, lymphoma or other blood diseases throughout their life time. Filgrastim stimulates normal blood cell growth. In some patients with cancer or abnormal blood cells, it has been shown to stimulate leukemic blood cells. It is unknown whether filgrastim increases or decreases an individual's risk of developing cancer. Based on available data from healthy people who have received filgrastim, no long-term risks have been found so far. The data being collected during follow-up will help establish if there are any positive or negative longterm effects from receiving filgrastim.

平成18年度 第2回小寺班・加藤班合同班会議

同種造血幹細胞移植後の長期生存例のQOL

慶應義塾大学医学部血液内科
岡本 真一郎

対象と方法

- 1983年から2001年までの間に、慶應義塾大学病院移植チームで同種造血幹細胞移植を受けた症例で、移植後5年以上生存した106例から、追跡不能となった4例を除いた102例を対象とした。
- 102症例に、移植後の健康および性に関する質問表と Medical Outcome Survey-Short Form 36を送付、無記名の返信用封筒にて回収し解析を行った。
- 回収率 84%

質問表の内容

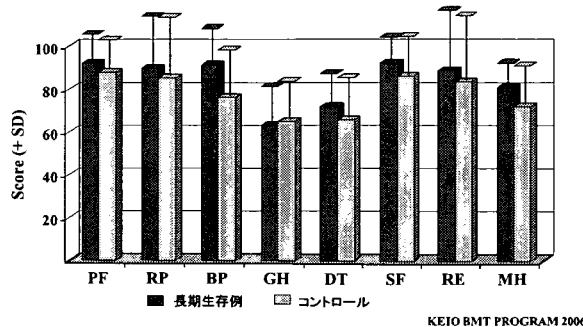
- 移植後の妊娠・分娩歴、現在の就労状態、経済的問題
- 現在の薬剤服用状況(免疫抑制剤・その他の薬剤)
- 現在抱えている症状、治療あるいは経過観察をする問題点(視聴覚系、口腔、内分泌系、骨・筋肉系、心・肺・血管系、消化器系、神経系、泌尿器科系、皮膚、二次性発癌)
- 移植5年以降の手術・入院歴
- 性に関する不安・不満

慶應義塾大学病院で同種造血幹細胞移植を受け5年以上生存した84人の患者さんの背景

- | | | |
|---------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|
| ● 性別
M : F = 43 : 41 | ● 疾患
慢性骨髄性白血病 : 28
急性骨髄性白血病 : 29
急性リンパ性白血病 : 11
骨髄異形成症候群 : 12
再生不良性貧血 : 2
その他 : 2 | ● 現在免疫抑制剤内服中
Yes : No = 11 : 73 |
| ● 年齢(Y)
15-29 : 12
30-39 : 23
40-49 : 21
50- : 28 | ● 現在免疫抑制剤以外の薬を内服中
Yes : No = 43 : 41 | |
| ● 幹細胞ソース
血縁者 : 50
非血縁者 : 34 | ● 疾患のリスク
標準リスク: 46
ハイリスク: 38 | |

KEIO BMT PROGRAM 2006

同種造血幹細胞移植後8年以上生存した成人症例のSF36 スコア (N=49)



同種造血幹細胞移植後5年以上生存した患者さんが申告した症状や医学的な問題点 (Self-related Problems) (N=84)

- 心・血管・肺の問題 (23%) : 高血圧(8%), 浮腫やむくみ(8%), 咳/労作時の息切れ(10%)
- 消化器系の問題(28%) : 胆石(5%), 肝障害・肝硬変(8%), 食欲低下・体重減少・太れない(12%), その他(11%)
- 精神・神経系の問題 (25%) : うつ状態(4%), 耳鳴り(7%), めまい(3%), 手足のしびれ(6%), 不安感(6%), 手足の震え(4%), 記名力低下・集中力低下(13%)
- 尿路系の問題 (10%) : 頻尿/尿漏れ(2%), その他(8%)
- 皮膚の問題 (31%) : 色素沈着(7%), 脱毛(7%), 皮膚乾燥感(7%), かゆみ(17%), その他(11%)

KEIO BMT PROGRAM 2006

同種造血幹細胞移植後5年以上生存した患者さんが申告した症状や医学的な問題点 (Self-related Problems) (N=84)

- 目の問題 (63%) : 白内障 (32%), 緑内障 (4%), ドライアイ (38%), 視力の低下 (4%)
- 口の問題 (26%) : 口の乾燥感 (13%), 味覚の異常 (5%), 口の痛み (14%), 虫歯 (6%)
- 内分泌系の問題 (24%) : 糖尿病 (6%), 甲状腺機能異常 (2%), 卵巣機能不全 (17%)
- 筋肉・骨格系の問題 (38%) : 大腿骨頭壊死 (6%), 骨そしょう症 (4%), 関節痛・関節のこわばり (8%), 筋力低下 (17%), 筋肉のつれ (20%)

KEIO BMT PROGRAM 2006

同種造血幹細胞移植後5年以上生存した患者さんが性に関して申告した症状や医学的な問題点 (Self-related Problems) (N=84)

- 性に関しての症状や問題点があると回答した症例数は35[41.6%]であった。その内訳は
 - ー 成功に関する問題 (17%)
 - ー 更年期の症状 (postmenopausal symptoms) (7%)
 - ー 性器の脆弱性 (7%)
 - ー 不妊 (14%)
 - ー 精神的問題 (6%)
 - ー その他 (4%)

KEIO BMT PROGRAM 2006

同種造血幹細胞移植後5年以上生存した患者さんのQOL (SF36) に影響を及ぼす因子を単変量解析で検討した (N=84)

● P<0.01 ○ P<0.05

負の方向に影響を受けるSF36のdomains

Factors	PF	RP	BP	GH	VT	RE	SF	MH
就労状態		○	○					
経済的問題	●	●			○	○		●
現時点での免疫抑制剤の内服	○		○					
性に関する問題	○	○	●		○			
口の問題	●	●	●	○	○	○		
筋肉・骨格系の問題	●	○	●	●	●			
内分泌系の問題	●	●						
消化管・肝臓の問題	○	●	○	●	●	●		
皮膚の問題	○	○		○	○	○		○
心臓・肺の問題	○		○					
精神・神経系の問題		○	●	●	○	○		●
目の問題			●					

同種造血幹細胞移植後5年以上生存した患者さんのQOL (SF36) に影響を及ぼす因子を多変量解析で検討した (N=84)

● 解析した因子

- 移植が施行された年度
- 移植時の年齢
- 現時点での配偶者/パートナーの有無
- 就労状況
- 現時点での免疫抑制剤内服の有無
- 現時点での経済的問題の有無
- 性に関する悩み
- 現時点での症状・医学的問題点
- 性別

● 解析方法

- ロジスティック回帰分析

KEIO BMT PROGRAM 2006

多変量解析で有意となった要因と影響を受けたSF36のドメインの関係

有意な要因	SF36のドメイン						
	PF	RF	BP	GH	VT	RE	MH
経済的問題	<0.001	0.028					0.02
口に関する問題		0.013	0.02				
内分泌系に関する問題		0.049					
精神・神経系に関する問題			0.01	0.01			0.03
筋肉・骨格系に関する問題				0.01	0.047		
皮膚に関する問題						0.006	

KEIO BMT PROGRAM 2006

結論

- 移植後5年以上の生存例全体では、SF36で評価したQOLは健常者と同等であった。
- しかし、29.7%の症例では、SF36で評価したQOLの1つ以上のdimensionが健常者対照と比較して低下していた。
- QOLを低下させる因子として内分泌系、筋・骨格系、精神・神経系、口腔、皮膚の症状・問題、加えて経済的問題などが明らかとなった。
- 移植後の長期生存者に関しては、これらを視野に入れたintervention/follow-upによってQOLの改善できる可能性がある。

厚生労働科学研究ヒトゲノム・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」班 班会議資料

非血縁者間骨髄移植における不適合 HLA 型の組み合わせの意義

川瀬孝和¹、柏瀬貢一²、松尾恵太郎³、森島泰雄⁴、小寺班組織適合性部会

1. 愛知県がんセンター腫瘍免疫学部、
2. 東京都赤十字血液センター検査部、
3. 愛知県がんセンター疫学予防部、
4. 愛知県がんセンター血液細胞療法部

当研究班の研究により非血縁者間造血幹細胞移植における、HLA-A,B,C,DR,DQ locus の臨床的重要性が明らかにされ (Sasazuki T et al. N Engl J Med 339:1177,1998 Morishima Y et al. Blood 99:4200,2002)、HLA 一部ミスマッチのドナー選択において有用な情報となっている。今後、ドナー選択の幅をさらに広げ、移植成績を向上させるために不適合 HLA 型の組み合わせの臨床的意義を明らかにする事が重要であると考えられた。今回我々は多変量解析の手法を応用し詳細な解析を試みた。

【方法】1993年1月より2005年末までの期間にJMDPを介し施行され、T細胞除去を行っていない非血縁者間造血幹細胞移植のうち、HLA-A,B,DR locus の血清型が一致した5210例を多変量解析(Cox regression model)の手法を用いてレトロスペクティブに解析した。さらに、Bootstrap法にてvalidationをおこなった。また、同様の解析手法を用い、不適合HLA分子において置換されるアミノ酸のうち急性GVHD発症のリスクを有意に上昇させる特定のアミノ酸の特定の部位(Position)を解析した。

【結果及び考察】重度の急性GVHD発症のリスクを有意に上昇させる17つのHLAアレルミスマッチコンビネーションを明らかにした。これらのミスマッチを幾つ有するかは重度の急性GVHD発症・移植後の予後に相関する事が明らかになった。今後のドナー選択において、このミスマッチコンビネーションを用いた方法は、これまでの各HLAローカスマスマッチの数をを用いた方法以上に有用である可能性があり今後の更なる検証が必要である。

HLA class Iにおいて特定のアミノ酸がposition 9、77、116、156で置換されることにより重度の急性GVHD発症のリスクを有意に上昇させることが明らかとなった。このデータは今後のHLA分子構造を元にした急性GVHD発症のメカニズム解明の重要な手掛かりとなる可能性がある。

全ゲノム関連解析による移植後合併症の発症に関与する遺伝子の探索

研究組織

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(主任研究者:小寺良尚)

日本科学技術推進財団 戦略的創造研究推進事業(CREST)
 豊知泉がんセンター 森島成雄・赤塚英樹
 九州大学 山本健
 京都大学 猪子実俊
 東京大学 小川誠司(研究代表) 南谷泰仁
 名古屋第一赤十字病院 小寺良尚・宮村謙一
 日本赤十字東京血液センター 佐竹 正博・柏田 賢一

2007/01/27-28 小寺班

背景

- GVHDは造血幹細胞移植の最も重篤な合併症の一つである
- GVHDの発症は、HLAやminor antigenのmismatchや、免疫応答に関与する遺伝子の機能に依存していると言われている。
- 現在の所、HLA以外の因子については十分な知見が得られておらず、臨床的にもHLAを合致させる程度の対策しか取られていない。
- HLAを合致させた非血縁者間移植においても 2割程度の患者に重症GVHDが発症しており、minor antigenの特定や、免疫応答遺伝子の関与についての更なる解明が必要である。

過去の報告(多型とGVHDとの関連)

- Minor antigen
 - HA-1のmismatch (NEJM 1996;334:281-5)
 - HA-8のmismatch (Br J Haematol 2003;123:671-75)
- 免疫応答遺伝子
 - Recipient IL-10promoter (NEJM 2003;349:23 2201-10)
 - Recipient TNF α (Blood 1999;94:3941-6)
 - Donor IL1R antagonist (BrJH 2001;113:807-13)
 - Recipient IFN γ IL6 (Blood 2001;98:1594-600)

Whole genome association study

GVHDに関与する従来の研究は、免疫応答に関連する数種類の遺伝子に標的を絞っていたため、高い検出力を期待できた。

↓
 少数のサンプルで十分。しかし、狙ったものしか捕まらない。

minor 抗原は免疫に関与している遺伝子であるとは限らないため、事前にtargetを絞ることは困難。そこで、全ゲノムの中から標的を探索する。



対象症例

- 造血器疾患に対して日本骨髄バンクを通じて非血縁者間骨髄移植を行った。
- HLA-A, B, Cw, DR, DQ locusがgenotype levelで完全一致している。
- GVHD予防としてCyA+MTX もしくはFK506+MTXを採用している。
- GVHDについてのデータが存在する。

→ 2058移植

方法

上記対象症例のドナー・患者両者のgenomeを、Affymetrix® GeneChip® mapping 500K set を用いて全ゲノムで約50万箇所のSNPsタイピングを行う。

↓
 Acute GVHD(grade II-IV)の発症の有無と、以下のパラメータとの相関を調べる。

- GVHD方向のmismatchの有無 → minor antigenの探索
 - ドナーのSNPsのアレル頻度 → ドナー側
 - 患者のSNPsのアレル頻度 → 患者側
- 免疫応答遺伝子の探索

Type I errorの壁

非常に多数(約500,000箇所)のSNPsを調べるため、その中には真の関連が無くとも、偶然大きな統計量を示すもの(false positive SNPs)もある。



真実の関連SNPsをfalse positive SNPsと区別するためにはまず、真の関連が無いという仮定の下で、統計量がどの程度大きな値をとるのかを知る必要がある。これを多数回のsimulationを行うことで調べる。(permutation test)

敵を知り己を知らば百戦危うからず (孫子)

Typing quality control

サンプル毎のquality

call rate 93%以上。

SNPs毎のquality

各SNPsにおいて

call rateが90%以上、

normal sampleのHardy-Weinberg 平衡の適合度検定 $p=0.001$ ($\chi^2=10.83$)

Preliminary result

					GVHD方向のmismatch数			
					0	1	2	
Grade 0, I versus II~IV, mismatch alleleの					GVHD(-)	271	2	0
					GVHD(+)	211	33	2

rank	SNP ID	Ch	χ^2	call rate	H
0	524484	8	35.81738	0.927517	0.1875
1	235342	10	30.88509	0.92257	0.553121
2	448154	13	30.80802	0.932455	0.285558
3	280694	11	30.09907	0.975855	0.184441
4	238137	12	28.96589	0.919275	1.078835
5	185338	6	28.39478	0.935288	1.615138
6	198470	3	27.88988	0.934102	1.48888
7	350785	4	24.52624	0.930807	0.338552
8	452241	7	24.50065	0.949929	0.114283
9	200598	11	24.19583	0.919775	0.317488
10	452510	1	23.82895	0.91598	0.236409
11	443545	6	23.47857	0.939044	0.23814
12	283203	10	23.3055	0.93575	0.028223

$\chi^2=35.61$
Mismatch allele 1個の odds ratio =21.2 (95% C.I. = 14.1-31.9)

付随的な解析項目

- GVHD発症に関与する多型
 - 免疫応答因子の探索
- その他の移植関連合併症に関与する多型
 - GVHD以外の移植合併症と多型
- 血液疾患発症に関与する多型
 - 健常ドナーと血液疾患患者で異なる多型

→ タイピングが終了すればデータ解析のみを追加することで実現できる。

Preliminary result

					alleleの有無		
					(-)	(+)	
Grade 0, I versus II~IV, donor SNPs					GVHD(-)	286	0
					GVHD(+)	219	65

rank	SNP ID	Ch	χ^2	call rate	H
0	178125	19	65.45775	0.938044	2.083937
1	190514	6	61.77782	0.924217	2.052824
2	161632	22	47.2874	0.920923	1.225207
3	31294	14	40.82471	0.965404	1.06895
4	208307	1	40.29508	0.927512	0.845178
5	224338	16	40.08896	0.90939	1.294859
6	210342	10	39.18518	0.92918	0.095765
7	191249	3	39.18518	0.942339	1.402882
8	180298	2	38.87823	0.931102	0.988172
9	216673	2	38.28814	0.911038	3.540224
10	206951	3	37.94129	0.92918	0.973749
11	393338	13	35.96851	0.950577	0.743919
12	168955	21	35.7544	0.927397	1.782895
13	98756	5	35.36713	0.947282	0.868571
14	144084	10	35.35468	0.927517	0.978823

$\chi^2=65.46$
odds ratio = ∞

問題点と課題

- GeneChip systemのtyping quality
- (minor 抗原の)HLA拘束性
- χ^2 統計量とcumulative incidenceの違い
- 候補因子の確認と、生物学的意味づけ

厚生労働科学研究ヒトゲノム、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幹細胞移植の運用、
 登録と臨床試験体制の確立並びにドナーの安全確保に関する研究」班
 平成18年度第2回研究会議 平成19年1月27日

NK細胞受容体KIR遺伝子型 と非血縁者間骨髄移植成績

東京都赤十字血液センター
 屋部登志雄、柏瀬貢一、平安恒幸

愛知県がんセンター
 松尾恵太郎、森島泰雄

小寺班組織適合性部会

背景

JMDPの解析では、
 NK細胞受容体KIRのリガンドであるHLA-C抗原上のエピトープ、
 C1,C2の患者、ドナー間の不適合は移植成績を悪化させる。
 (Morishima Y et al. Biol.Bone Marrow Transp. 2007, in press)

他グループからは異なる結果が報告されている。

目的

KIRリガンド不適合効果に影響する因子として以下を検討する

- 1、ドナー活性化型KIR遺伝子型と患者リガンド型組み合わせ
- 2、患者へのATG前投与

解析方法

今回の解析対象

JMDP 1993-2000年の移植症例
 造血性悪性疾患(SAA, HDは除外した)
 GVHD予防法として Cyclosporine と
 短期 Methotrexate を併用したもの
 患者へのATG前投与と群を加えた

統計解析(愛知県がんセンター松尾先生)

Cumulative Incidence
 Cox proportional hazard model

KIRリガンド適合性と移植成績

(Cox proportional hazard model による多変量解析)

	急性GVHDIII-IV		再発		全生存率	
	HR	p	HR	p	HR	p
HLA-C matched	1.00		1.00		1.00	
C-MM, KIR-L-MM	3.08	<0.001	1.27	0.403	1.93	<0.001
C-MM, KIR-L-M	2.00	<0.001	0.58	0.001	1.17	0.065
ATG(yes vs no)	0.56	0.047	1.01	0.957	1.23	0.158

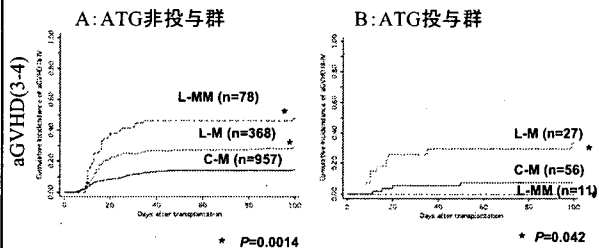
adjusted for HLA-A,-B,-DR, -DP,-DQ, age, donor age,
 donor-recipient sex pattern, disease, TBI and risk

KIRリガンド不適合は移植成績悪化(急性GVHD高く、全生存率低下)させる
 (森島論文と同じ結果)

ATG投与は急性GVHD発症を抑制する?

ATG 投与とKIR-L-MM効果(急性GVHD3-4)

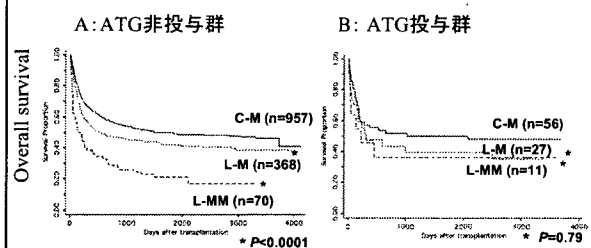
(Cumulative Incidence)



ATG非投与群ではKIR-L-MMで急性GVHD発症高いが
 ATG投与群では逆に急性GVHD発症抑制効果が示された

ATG 投与とKIR-L-MM効果(全生存率)

(Cumulative Incidence)



ATG非投与群ではKIR-L-MMで全生存率低いがATG投与群
 ではその効果は見られない

ATG 投与とKIR-L-MM効果 (多変量解析)

(HLA-C-mismatched pairs, n=476)

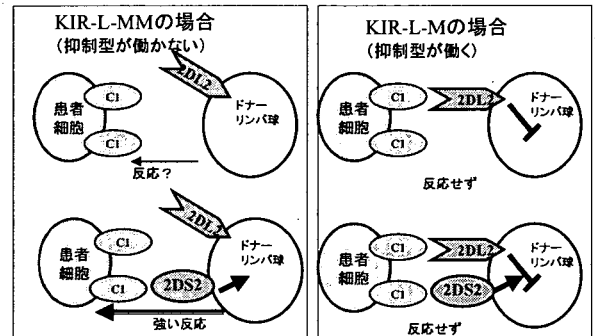
	aGVHD III-IV		aGVHD II-IV		OS	
	HR	p-value	HR	p-value	HR	p-value
KIR-L (MM vs M)	1.84	0.003	1.36	0.073	1.87	0.001
ATG (Yes vs no)	1.17	0.673	1.33	0.312	1.31	0.307
Interaction between KIR and ATG	NE	NE	0.19	0.032	0.67	0.423

adjusted for HAG, HBG, DRG, DQG, DPG, age, donor age, donor-recipient sex pattern, disease, TBI and risk.

KIR-L-MMは急性GVHD発症高め生存率を低下させる (単変量解析と同様)

KIR-L-MMとATG投与の組み合わせでは急性GVHD発症が低下した

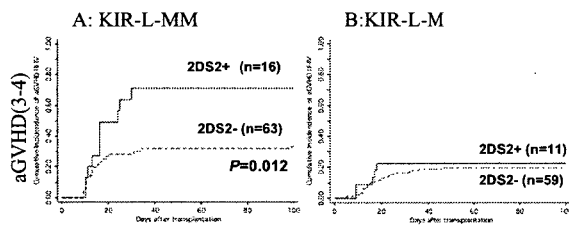
ドナー活性化KIR2DS2機能モデル



活性化KIRは抑制が働かないL-MMで機能しドナーリンパ球の反応を高めるのでは

ドナー2DS2とKIR-L-MM効果 (急性GVHD3-4)

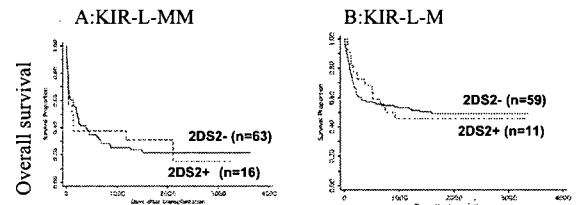
(Cumulative Incidence)



KIR-L-MMの時、ドナーKIR2DS2陽性では急性GVHD発症高い

ドナー2DS2とKIR-L-MM効果 (全生存率)

(Cumulative Incidence)



ドナーがKIR2DS2陽性、陰性で全生存率に有意な差はない

ドナー2DS2とKIR-L-MM効果 (多変量解析)

(HLA-C-mismatched and donor 2DS2-typed, n=150)

	aGVHD III-IV		OS	
	HR	p-value	HR	p-value
(model 1)				
KIR (MM vs M)	1.36	0.304	1.6	0.027
Donor KIR genotype (2S2 + vs -)	1.96	0.045	1.04	0.889
(model 2)				
KIR (MM vs M)	1.23	0.558	1.53	0.073
Donor KIR genotype (2S2 + vs -)	1.48	0.517	0.89	0.799
Interaction between KIR and 2S2	1.55	0.566	1.27	0.677

adjusted for HAG, HBG, DRG, DQG, DPG, age, donor age, donor-recipient sex pattern, disease, TBI and risk.

ドナーKIR2DS2は急性GVHD重症化の危険因子である

まとめ

KIRリガンド不適合の移植成績への効果には

- 1、ドナー活性化型KIR遺伝子
- 2、患者へのATG前投与

が強く影響していた。これらはJMDPと海外とでKIRリガンド不適合効果が異なることの一因であろう

KIRリガンド不適合の移植時には、ドナー活性化KIR遺伝子と患者リガンドとの組み合わせを考慮すること、およびATG前投与することにより成績が向上する可能性がある

配布資料

HLA-DNAタイピングの意義に関する研究

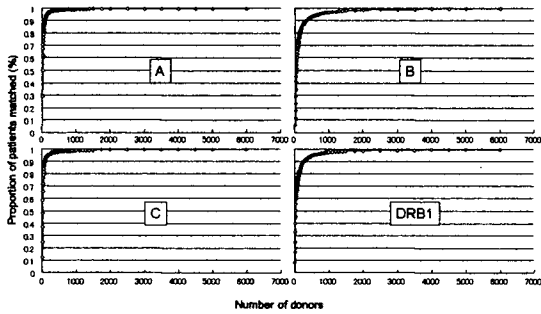
国立国際医療センター
 笹月健彦
 (代)九州大学生体防御医学研究所
 山本 健

Data set for calculation

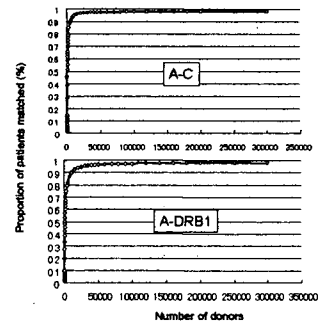
HLA-A	freq I	freq II	freq III	HLA-B	freq I	freq II	freq III	HLA-DRB1	freq I	freq II	freq V
0101	0.3	0.6	0.7	0702	7.0	3.5	5.7	0101	6.9	3.9	4.9
0201	11.1	10.7	10.9	1301	1.1	1.9	0.9	0301	f	f	0.2
0306	10.5	9.0	10.4	1501	7.4	9.4	7.2	0401	0.6	1.4	1.2
0207	3.9	2.9	3.4	1507	1.0	0.4	0.7	0403	2.9	3.9	3.0
0210	0.3	0.8	0.1	1511	0.2	1.0	1.0	0404	f	f	0.2
0301	0.3	0.6	0.8	1518	0.8	1.7	0.9	0405	14.1	13.2	15.5
1101	0.0	10.7	8.1	3501	7.8	8.8	8.8	0406	3.4	5.5	3.7
1102	f	f	0.1	3701	0.3	0.8	0.2	0407	0.5	0.4	0.4
2402	39.0	36.5	35.6	3901	2.7	4.0	4.0	0410	1.7	2.1	1.8
2501	5.8	11.3	9.6	3902	0.2	0.4	0.2	0602	3.7	5.5	5.0
2602	1.3	f	2.2	3904	0.1	0.2	0.2	0603	7.7	6.4	7.0
2603	2.8	1.9	2.1	4001	3.0	5.4	5.1	0601	15.2	13.8	12.4
3201	f	0.4	0.3	4002	7.9	8.4	8.2	1001	0.3	0.6	0.6
3101	7.0	6.9	7.7	4023	0.3	0.4	1.1	1101	1.3	3.7	2.9
3303	8.8	7.8	7.9	4006	5.7	4.8	5.5	1201	2.3	2.5	5.0
				4402	0.4	0.4	1.0	1202	1.4	2.1	2.7
				4403	8.1	6.7	6.9	1301	0.4	0.4	0.9
				4901	4.8	3.4	3.8	1302	7.0	5.6	5.3
				4901	1.8	5.5	2.7	1401	2.9	4.5	4.5
				5101	8.2	6.9	7.0	1403	1.3	0.8	1.6
				5102	f	0.2	0.1	1406	1.2	3.1	2.6
				5201	16.4	10.9	13.2	1409	0.5	2.1	1.4
				5401	8.9	7.1	6.5	1407	f	0.4	0.3
				5502	1.7	2.9	5.2	1412	f	0.2	f
				5901	0.7	0.4	1.0	1501	7.3	11.6	6.1
				5901	0.5	0.2	0.9	1502	15.5	8.9	8.7
				5401	2.1	1.7	1.7	1602	0.4	0.8	0.8
				6701	0.8	0.8	1.0				

Fig I: Morishima, et al. Blood, 2002, 99:2326-2483
 Fig II: Nagajima, et al. BMC Vol. 9 No. 1 3-32, 2001, No=516-523
 Fig III: Tanaka H, et al. Clinical Transplants 1996; 129-144, No=82
 Fig IV: Tokumaga K, et al. Immunogenetics 1997; 46(3) 199-205, No=114
 Fig V: Yasunobu M, et al. Tissue Antigens 1994; 44:166-173, No=916

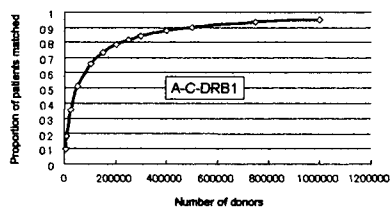
Cumulative proportion of patients with HLA-matched donor



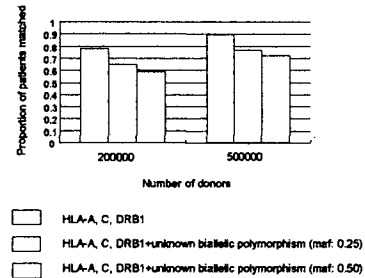
Cumulative proportion of patients with HLA-matched donor



Cumulative proportion of patients with HLA-matched donor



Effect of an additional biallelic polymorphic locus on proportion of patients with HLA-matched donor



厚生労働科学研究ヒトゲノム・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およびレシピエントの安全確保と QOL 向上に関する研究」班 平成18年度第二回
研究班会議

造血幹細胞移植関連遺伝子の探求

鬼塚真仁¹、島田誠子¹、菊地智樹²、猪子英俊³

東海大学血液内科、札幌医科大学病理学、東海大学分子生命科学

はじめに

我々は、分子遺伝学的手法によりドナーとレシピエントの遺伝子解析を行い、移植成績に影響を与える候補遺伝子の検索をおこなっている。現在、以下のテーマで研究を遂行中である。

1. 造血幹細胞移植後肺合併症と遺伝子多型性
2. HLA 関連分子の遺伝子多型と GVHD
3. 非古典的 HLA と造血幹細胞移植
4. 造血幹細胞移植関連候補遺伝子解析

1. 造血幹細胞移植後肺合併症と遺伝子多型性

組織の線維化に関与する ACE 遺伝子における Deletion/Insertion の多型が非感染性移植後肺合併症の発症に関連を認め報告してきた。すなわち、ACE D/D では ACE 血中濃度が高値になり Angiotensin I から II への変換がすすみ、Angiotensin II も高値となる。Angiotensin II は AT1 受容体を介して組織を線維化する。これまでに HLA 一致同胞間で発症した非感染性移植後肺合併症で例では 8/18 (44.4%) で D/D であり、非発症例での D/D の比率 12/101 (11.9%) を有意に上回っていた。骨髄移植財団を介した非血縁者間の造血幹細胞移植症例での検討では、ドナー・レシピエント両者で D/D を有している症例で肺合併症の発症が高率であった(現在論文化中)。

2. HLA 関連分子の遺伝子多型と GVHD

6q25 に存在する *RAET1* 遺伝子近傍のマイクロサテライトマーカーにおいて、ドナー・レシピエント間で多型が一致している症例で重症 GVHD の発症率が高率であった。現在ハプロタイプブロックを考慮した周辺の SNP を解析中であり、疾患関連遺伝子の探求をおこなっている。

4. 非古典的 HLA と造血幹細胞移植

非古典的 HLA クラス Ib の HLA-G は臓器移植における拒絶反応を防御する役割が指摘されており、HLA-G の発現はサイトカイン発現量、CTL の反応に影響する。現在我々は、造血幹細胞移植後合併症発症との関連性を検討中である。当施設では、非古典的 HLA class I 分子である HLA-G に関して、蛍光ビーズ法を用いた SSO 法を開発し、現在タイピング中である。しかし、近接した SNP を効果的にタ