

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

イピングするプローブの作成に苦慮し、難航している。近年、HLA-G の 3' UTR 領域に存在する 14bp の Deletion/Insertion が LPS 刺激による PBMCs の IL10 発現量に関与することが示された(1)。IL10 と GVHD 発症に関しては著明な事実であり、SSO 法による HLA-G タイピング決定の前に、3' UTR の多型を解析中である。

5. 造血幹細胞移植関連候補遺伝子解析

5-1; 自己免疫疾患関連遺伝子と慢性 GVHD

FCRL3 は FcR のホモログでありそのリガンドは不明であるが、自己免疫疾患の疾患関連遺伝子としてその関連性が示された(2)。最も強く自己免疫疾患発症と関連性が見いだされた遺伝子の-169C/T 多型性について慢性 GVHD の発症に関して検討した。HLA 一致同胞間造血幹細胞移植症例 112 症例について検討した。C/C を持つ症例では 7/27 (25.9%) の慢性 GVHD 発症率であったのに対し、C/C 以外の遺伝子型では 47/85 (55.3%) と有意に高率に慢性 GVHD を発症していた。現在、ほとんど解明されていない慢性 GVHD 発症のメカニズムに FCRL3 が関係している可能性を示唆する結果である。

5-2; マイクロサテライトマーカーを用いた造血幹細胞移植関連候補遺伝子解析

当施設ではマイクロサテライトマーカーを用いたゲノムワイドな疾患関連遺伝子の探索を行っている。しかしながら、きわめてヘテロな集団である造血幹細胞移植症例の解析では、その Power を維持するために非常に多数のサンプルが必要であり、また、多額の費用と時間を要する。そこで我々は、これまでに移植免疫学で関連が報告されている遺伝子について、造血幹細胞移植関連候補遺伝子として、今回、約 600 の遺伝子に対して 1500 のマイクロサテライトマーカーを設定し、移植後合併症との関連を検討する事とした。今年度は対象遺伝子の選定を行い、マイクロサテライトマーカーの設定とプローブ作成を行った。今後サンプル DNA の調節を行い、来年度より解析を開始する。

1. T. V. F. Hviid, R. Rizzo, L. Melchiorri, M. Stignani, O. R. Baricordi, *Human Immunology* **67**, 53 (2006).
2. Y. Kochi *et al.*, *Nat Genet* **37**, 478 (2005).

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
「骨髓、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 小寺良尚班長
第二回会議
2007年1月27日東京医科歯科大学特別講堂

小児同胞ドナーの骨髓提供 における臨床心理士の役割

茨城県立こども病院 臨床心理科 稲沼邦夫
小児科 土田昌宏

はじめに

- 当院では、同胞ドナー(候補)の骨髓提供において、医師や看護師、保育士、チャイルドライフスペシャリストとともに臨床心理士による心理的介入を行っている。
- 一般に同胞など血縁ドナー(候補)においては提供に葛藤を抱いた場合、それが表出されにくく、結果的にドナーの人権が擁護されないことが十分に考えられる。心理的介入の最大の目的は、心理カウンセリングにより骨髓提供に対する同胞ドナーの心理状態を把握し提供の意志を確認するとともに心理的負担の軽減を図ることにある。
- 今回8症例に対するドナー(候補)12例について実施した結果を検討したので報告する。

心理的介入の方法

- 心理的介入は、基本的に主治医や看護師から骨髓提供に関する説明がなされたあと、HLA検査前に、病棟から離れた心理外来室(外来ブースの個室)でドナー(候補)単独で個人面接(心理カウンセリング)により行った。

対象

| 患児ID | 性別 | 年齢 | 診断名 | 同胞ドナー(候補) | 年齢 |
|-------|----|----|-----------------------|-----------|----|
| 34793 | 男 | 10 | X連鎖リンパ増殖性疾患 | 姉 | 16 |
| | | | | 姉 | 14 |
| 35407 | 男 | 13 | 急性リンパ性白血病 | 兄 | 15 |
| 35290 | 女 | 13 | 急性骨髄性白血病 | 妹 | 10 |
| | | | | 妹 | 7 |
| 35764 | 女 | 13 | 肝炎後再生不良性貧血 | 姉 | 17 |
| 27305 | 女 | 4 | ダイヤモンドブラックファン貧血 | 姉 | 8 |
| 37180 | 女 | 10 | 再生不良性貧血 | 姉 | 16 |
| | | | | 兄 | 14 |
| | | | | 妹 | 7 |
| 37351 | 男 | 6 | 急性リンパ性白血病 | 姉 | 10 |
| 36619 | 女 | 6 | フィラデルフィア染色体陽性急性リンパ性白血 | 兄 | 8 |

結果

| 患児ID | 性別 | 年齢 | 同胞ドナー(候補) | 年齢 | 結果 |
|-------|----|----|-----------|----|---------------------|
| 34793 | 男 | 10 | 姉 | 16 | 葛藤あり・必ずしも同意したとはいえない |
| | | | 姉 | 14 | 葛藤あり・必ずしも同意したとはいえない |
| 35407 | 男 | 13 | 兄 | 15 | 葛藤やみられたが同意 |
| 35290 | 女 | 13 | 妹 | 10 | 葛藤あり・ほぼ消極的に同意 |
| | | | 妹 | 7 | 葛藤みられないが理解に疑問 |
| 35764 | 女 | 13 | 姉 | 17 | 葛藤みられたが同意 |
| 27305 | 女 | 4 | 姉 | 8 | 葛藤みられないが理解に疑問 |
| 37180 | 女 | 10 | 姉 | 16 | 葛藤みられたが同意 |
| | | | 兄 | 14 | 葛藤みられたが同意 |
| | | | 妹 | 7 | 葛藤みられないが理解に疑問 |
| 37351 | 男 | 6 | 姉 | 10 | 葛藤あり・必ずしも同意したとはいえない |
| 36619 | 女 | 6 | 兄 | 8 | 葛藤みられないが理解にやや疑問 |

結果のまとめ

- 10歳以上では提供への葛藤がみられた。
葛藤がありながらも同意したとみなせた例(4例)
ほぼ消極的に同意したとみなせた例(1例)
必ずしも同意しているとはみなせなかった例(3例)
- 8歳以下では明らかな葛藤はみられなかったが、理解自体に疑問がみられた。
同意に疑問がみられた例(4例)
- 具体例を提示
要旨のみ。「」内はドナーの言動、〈 〉内はこちらからの質問、
()内は言動補完。

葛藤がみられたが同意したとみなせた例

ID35764の同胞ドナー候補 17歳女子

- 〈ドナーに関する説明を受けて感じたこと〉「最初、ドナーときた(言われた)ときは正直言って怖かった。でも、今は説明を受けてやるしかないといった気持ち」
- 〈妹の病気については?〉「(再生)不良性貧血」
- 〈治療については?〉「移植と輸血と抗がん剤が入ると聞いた」
- 〈HLA検査は?〉「白血球(の型)が合うかどうかの検査」。もう済んだ。「妹を助けるために、納得して(やった)」。最初は(型が)合うとは思わなかった。「(合わない方がいいというの)多少はあった」。最初はやりたくなかった(ドナーになりたくなかった)。
- 〈やりたくなかった気持ちがやると変わった経緯は?〉「(急に泣き出し)妹の病気のことで母親がずっと泣いていた。それを見て自分ができるならと思うようになった(型一致が判明する前)」
- 〈親などに強いられたことは?〉「ない」
- 〈型があったと分かったときは?〉「うれしかったのと怖かったのと(複雑)だった」。怖い方が強かった
- 「でももうやるしかないという気持ちになった」
- 〈現在でも?〉「気持ちは変わっていない」。今はもういろんな先生から話を聞いて大丈夫と思っている
- 〈分からないこと、心配なことは?〉「特にありません」

葛藤がみられたが同意したとみなせた例

ID37180の同胞ドナー候補 14歳男子

- 〈妹の病気について〉「なんでなったのかなと」、「血が出たりすると危ない病気」
- 〈病名は〉「再生不良(性)貧血」、「お父さんがパソコンで調べてプリントアウトして読んだ」
- 〈治療は？〉「骨髄移植」
- 〈今日の説明を受けて〉「血を採って(型)が合えば入院し、合わなかつたら他のやり方で治すときいた」
- 〈説明は？〉「だいたい分かった」
- 〈採血は？〉「血はもう採った」、「嫌だったけど自分でやると決めた」、「でもできれば採られたくなかつた」
- 〈型は？〉「合えばいいと思う」
- 〈もし型があつたら？〉「入院して骨髄移植する、やりたい」、「今日聞いたのでは全身麻酔をして尻の上の方から採ると聞いた」
- 〈どうやって採る？〉「分からない」
- 〈何を採るの？〉「分かりません」
- 〈大丈夫？〉「多分、怖いからできればやらないが(型)が合ったらやるしかないと思う」、「(合わないで欲しいという気持ちは)全然ないわけではない」、「(割合でいうと)合っていて欲しいのが、合わないで欲しいのが2くらいかな」
- 〈不安は？〉「麻酔が不安」「採った後(僕の骨髄が)妹の中でちゃんと治してくれるかどうか」、「採った後の痛みも不安」

消極的にほぼ同意したとみなせた例

ID35290の同胞ドナー候補 10歳女子

- 〈姉の病気について〉「血液のガン」、「可哀想」、「骨髄移植するかも知れない」、「はじめはお母さんから聞いた、びっくりした、(どういうイメージ?)怖かつた」
- 〈本日の説明を受けて〉「(治療のためにまず)骨髄(の型)が合うかどうかを調べる」、「調べるために血を抜く」、「(説明を聞いて)結構よく分かつたけど、詳しくはよく分からない」
- 〈今日のHLA検査のための採血は？〉「少し怖いけど頑張る」
- 〈もし型があつて移植することになったら？〉「……」(返答に詰まり泣きそうな表情)、〈よく分からない？〉「うん」、「手術って言うのが……怖い、〈何となく嫌？〉「うん」
- 〈型が合わなかつたらいいと思う？〉「それはいい」
- 〈型があつたら？〉「(移植を)やる」、「怖いけど」
- 〈妹(7歳)は？〉「(型)が合っていて欲しいと思っていた、(そういう気持ちになれて)すごいと思った、自分には……」
- 〈分からないこと、心配なこと？〉「……」

必ずしも同意したとはみなせなかつた例

ID34793の同胞ドナー候補 16歳女子

- 〈弟の病気について〉「免疫が低くなってウィルスに負けやすいみたいなの病気、病名は聞いてない」
- 〈治療について〉「骨髄移植をするみたい、骨髄から健康な細胞をとって」
- 〈説明を受けて〉「ちょっと嫌だなという感じ」、「もし(型)が合つたら入院して注射などされるのが嫌だ」、「(母親から言われたときは)とりあえずいいよと言つたけど」、「弟の力にはなつてあげたいとは思ふけど」、「(説明は)内容的には分かつた」
- 〈今日のHLA検査目的の採血は？〉「それは大丈夫です」
- 〈もし型があつたら？〉「嫌だとは思ふ」、「でも自分が弟の立場だったらもつと嫌だろうし」、「助けてあげられるのに嫌だというのはわがままだと思うし」、「でも快いよといえるかどうか分からない、お母さんにはいいよと言つたけど」
- 〈不安は？〉「(型があつた場合)4日とか授業を休むのは嫌だ」、「もし合わなければ半分よかつたと思う自分があるし、半分は助けてあげられなくて申し訳ないと思う自分がある」

必ずしも同意したとはみなせなかつた例

ID37351の同胞ドナー候補 10歳女子

- 〈弟の病気についてどう思う？〉「嫌だ、なんかつまらない、(不安?)「うん」
- 〈病名は？〉「白血病」、「ものすごく大きい病気なんだと思う」、「弟も辛い自分も辛い」
- 〈今日病院に来た理由？〉「検査のため、白血病の型みたいな検査、移植するかもしれないから」
- 〈検査は？〉「型が合ってるかどうかの検査」
- 〈移植は？〉「麻酔かけて点滴つかけたりして、寝て骨髄を採り、それを移植すると聞いた、4日入院」
- 〈ドナーに関する説明を受けて〉「なんか怖い、(骨髄を)あげたいんだけど」、「(説明自体は)分かつた」
- 〈何が怖い？〉「何もかも」、「型があつて欲しいんだけど、ちょっと怖い、合っていない方がいいかどうか……よく分からない」
- 〈今日の採血は？〉「やってもいいけど注射が怖い」、「(でも注射よりも)もし型が合っていたらという方が怖い(かもしれない)」
- 〈型があつたら？〉「やっぱり移植するしかないかな」、「(頭で考えると)あげる(提供する)というのが強い、(でも気持ち的には)嫌だ、やりたくない」
- 〈嫌だという気持ちをも母に言った？〉「言っていない(廊下で待っている母を気にしながら)」
- 〈再度、一番怖いことは？〉「麻酔をかけて点滴打つて骨髄を採ることが怖い」、「眠っているから何やってるか分からないと言われてもやっぱり怖い」
- 〈今日の検査は？〉「検査(自体)はやってもいい」
- 〈検査の結果、型が合つたら？〉「ふるえちゃう、でも検査はやる」
- 〈他には？〉「ない」

理解自体に疑問がみられた例

ID27305の同胞ドナー候補 8歳女子

- 〈ドナーに関する説明を受けて感じたこと〉「……よく分からない」
- 〈妹の病気について〉「カテーテル……?」(?)「よく分からない」
- 〈治療について〉「よく分からない」
- 〈HLA検査は？〉「よく分からない」
- 〈今日は病院に何をしに来たの？〉「妹を助けるための検査」
- 〈どんな検査？〉「よく分からない」
- 〈妹を助けたら？〉「はい」
- 〈妹を助けるためにどうするの？〉「がんばるの」
- 〈どうしようふうに頑張るの？〉「よく分からない」
- 〈妹を助けるために入院することは聞いた？〉「聞きました」
- 〈入院してどうするの？〉「妹を助けるの」
- 〈再度 " "〉「(やっと思ひ出したよう)に腰のところに針を刺して、1、2、3と数えたらおしまいで次に自分に移す、寝てる間にやるの」
- 〈怖くない？〉「ちょっと心配」
- 〈心配事は？〉「妹の結果がどうなのか」(?)
- 〈他には？〉「ない」

考察

- 同胞ドナー(候補)の骨髄提供に対して少なからずあるとみられた心的葛藤を表面に出すことができたという意味で、医療者や家族から物理的に離れての臨床心理士による心理的介入は大いに意味があると考えられた。
- 同胞ドナー(候補)では比較的年齢が高い同胞に提供への葛藤がみられたが、これは成長とともにリスクも考えるようになるとみれば当然の反応と考えられる。
- 逆に低年齢児では表面上の葛藤はみられないが、その分理解の未熟さに起因する同意の信憑性が常に問題になる。
- 心理的介入の基本スタンスは、同胞ドナーの心的葛藤を表面に出させることにあり、最後の決断はドナーの意志に委ねている。
- しかしHLAが一致しているにも関わらず、心理的介入において骨髄提供の同意が得られていないとみなされた場合、以後の移植手続きをどう進めるか、その最終的な判断を誰がするのかなど、人権擁護との兼ね合いで多くの難問が課題としてあげられる。

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、末梢血等を利用した効率的な造血幹細胞移植の適用・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 第2回研究会議 (東京)
 平成19年1月26日、27日

造血幹細胞移植後CMV感染症、Adenovirus感染症に対する活性化CD4DLI療法に関する臨床第I-II相試験

東京医科歯科大学・院・発達病態小児科学分野
 同・医学部附属病院細胞治療センター 森尾女宏
 同・難治疾患研究所・フロンティア研究室ウイルス治療学 清水則夫

臨床研究の目的

血縁者間・非血縁間造血幹細胞移植後の難治性(薬剤抵抗性)CMV、Adenovirus感染症に対する治療としての活性化CD4DLI療法の有効性、安全性を評価する。

主たる評価項目

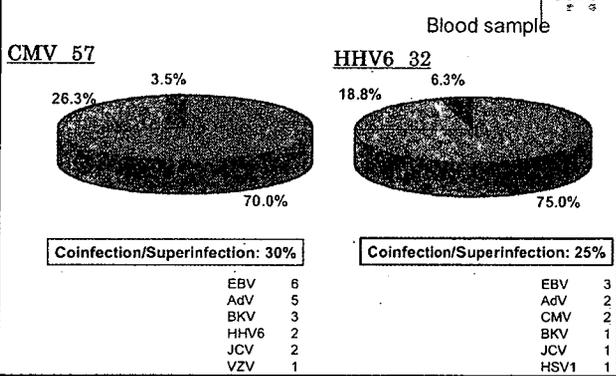
- CMV・Adenovirus リアルタイムPCR定量 (主評価項目)
- CMV抗原、(アデノウイルス抗原)
- 臨床症状
- 臨床所見
- 有害事象

治療目標、登録数

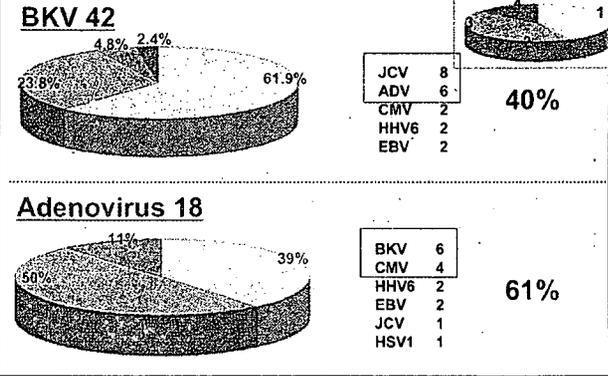
(治療目標)
 全症例の30%が最終投与2週後にCMVコピー数0、Adenovirusコピー数0となること。

(登録数)
 ・血縁間造血幹細胞移植後の難治性CMV、アデノウイルス感染症 それぞれ10症例
 ・非血縁間造血幹細胞移植後の難治性CMV、アデノウイルス感染症 それぞれ10症例

Coinfection/Superinfection when the indicated virus is detected



Concomitantly detected virus Urine samples from cystitis patients



プロトコルの問題点

- 複数以上のウイルスが検出される症例が多い。
- ウイルス量に変動があり、細胞投与前に一過性に陰性になることがある。
 (血中CMV、尿中AdV。多くは免疫学的再構築されずに再出現)
- ステロイドの減量・中止が困難。
- HLA2座不一致までという縛りが参加の支障になる可能性がある。
- 参加施設が限られている。

→ 平成18年9月21日
 プロトコル改訂

対象症例

CMV
 造血幹細胞移植*後のCMV感染症で診断時に:
 (1) CMVコピー数が3,000コピー/ml全血以上 あるいは
 (2) CMV抗原血症が10 /50,000細胞以上、かつCMVコピー数が測定限界以上
 DIHPG (Gancyclovir)及び/またはFoscarnetにて2週間治療した時点で
 CMVが検出され、症状が持続する

Adenovirus
 造血幹細胞移植*後のAdenovirus感染症で:
 診断後2週間経過した時点で
 (1) AdenovirusがPCR法で検量検範囲内に検出され、かつ
 (2) Adenovirus感染症の症状・所見が存在

*骨髄移植、末梢血幹細胞移植、臍帯血移植のいずれかを問わない。
 前処置の方法、GVHD予防方法などの種類を問わない。
 HLA不一致 座数(適合度)はこれを問わない。

活性化CD4DLI療法
 (5x10⁶/kg、2週ごとに2回)

被験者の除外基準 制限事項

登録標準(臨床検査値)

| | |
|---------------|---------------|
| AST/ALT | 施設基準値上限の20倍以下 |
| 総ビリルビン | 6mg/dl未満 |
| クレアチニン-クリアランス | 10ml/min以上 |
| EF | 50%以上 |
| PaO2 | 60mmHg以上 |
| PaCO2 | 60mmHg以下 |

併用薬剤

免疫抑制剤を使用している場合は可能な限り投与までに減量する
ステロイドの投与はこれを認める(ただし、Prednisoloneとして0.5mg/kgまで)。

感染症

以下の感染症以外の併存は可とする(ウイルスの検出は除外基準としない)。

- 1) 敗血症を含む重症細菌感染症
- 2) 重症真菌感染症(アスペルギルス肺炎、ムコール感染症など)
- 3) EBV-LPD
- 4) 薬剤抵抗性重症水痘感染症
- 5) 重症RSウイルス感染症
- 6) 麻疹

従って・Adenovirus感染症などにおけるBKVの検出は不適格としない。
・重症Adenovirus感染症や重症CMV感染症の併存は可能とする。

不適格症例はパイロット治療としてピックアップ

登録患者一覧

| No | 施設 | 原疾患 | 移植 | 対象感染症 | 合併感染症 | 不適格(1) | 不適格(2) | | |
|----|----------|---------------|------|------------|-------------|--------|--------------------|-------|------|
| 1 | JRCNFH | ALL-AML | U-BT | CMV | EBV | | 人工心臓 | ステロイド | 登録せず |
| 2 | KCGH | AL(Dysplasia) | E-BT | ADV cytome | CMV | | | | 登録せず |
| 3 | CMC-RMCH | BMS | E-BT | ADV cytome | EBV, HIV | | | | 登録せず |
| 4 | KCGH | CML | U-BT | ADV cytome | CMV | | HIV陽性 E (acute) | | 登録せず |
| 5 | KCGH | AML(M2) | U-BT | ADV cytome | EBV, MEV | 登録済ADP | HIV陽性 | | 登録せず |
| 6 | KCGH | AL(Dysplasia) | E-BT | ADV | EBV, CMV | 登録済ADP | | | 登録せず |
| 7 | JRCNFH | T-LL | U-BT | ADV | EBV | 登録済ADP | | | 登録せず |
| 8 | JRCNFH | ANL | E-BT | ADV | CMV | | | | 登録せず |
| 9 | JRCNFH | ALL | E-BT | CMV | | 登録済CMV | | | 登録せず |
| 10 | CMC-RMCH | CAEBV | E-BT | ADV | EBV, CMV | | | | 登録せず |
| 11 | CMH | MDS | U-BT | CMV | EBV | 登録済CMV | | | 登録せず |
| 12 | KCGH | Pt-ALL | E-BT | CMV | | | HIV陽性 | | 登録せず |
| 13 | CMC-RMCH | ALL | E-BT | Cytome | EBV | 登録済CMV | | | 登録せず |
| 14 | CMC-RMCH | Blas | E-BT | CMV | EBV | | 登録済CMV | | 登録せず |
| 15 | MDHC | T-ALL | U-BT | ADV | EBV, VZV | | | | 登録せず |
| 16 | KMUP | CCD | E-BT | VZV | Aspergillus | | | | 登録せず |
| 17 | KMUP | AML | E-BT | ADV | | | | | 登録せず |

2006-11からの登録患者

| No | 施設 | 原疾患 | 移植 | 対象感染症 | 合併感染症 | 不適格(1) | 不適格(2) | | |
|----|----------|-------------------|------|-------|---------|--------|----------------------|--|------|
| 18 | CMC-RMCH | Aplastic anemia | E-BT | CMV | EBV | | EBV, CD4 <5% | | 登録せず |
| 19 | CMC-RMCH | CAEBV PTEB-LPD | E-BT | | EBV | | CD4増減不安 | | 登録せず |
| 20 | CMC-RMCH | Fanconi anemia | E-BT | CMV | EBV-A19 | | | | 登録せず |
| 21 | JRCNFH | AML | U-BT | CMV | | | CMV感染 > 18 months | | 登録せず |

今後の取組み

プロトコル改訂

症例エントリーの依頼

UMIN Clinical Trials Registry

パイロットスタディの論文化

(2003年までに治療が行われた症例の追跡調査)

細胞治療センターの資源確保: 先進医療申請

培養コスト削減

Contributors

東京医科歯科大学・院・発達病態小児科学分野
 森尾友宏 (細胞治療センター)
 東京医科歯科大学腫瘍疾患研究所・フロンティア研究室ウイルス治療学
 清水則夫 (細胞治療センター)、水上美樹、渡邊 健
 東京医科歯科大学医学部附属病院細胞治療センター
 峯岸志津子、落合 央、舟木麻由美、星川あき子
 馬場佳子、竹部 礼、梶原道子(輸血部)
 茨城県立こども病院小児内科
 土田昌宏
 名古屋第一赤十字病院
 加藤剛二、小寺良尚
 神戸先端医療センター・再生医療研究部
 伊藤仁也
 リンフォテック
 馬場憲三、大隅一興、関根暉彬

「マイナー抗原を標的とした免疫療法の臨床試験の今後」

愛知県がんセンター研究所・腫瘍免疫学部 赤塚美樹

1. ACC-6 マイナー抗原の臨床応用性の検討

同種移植後に GVL 効果のみを有効に引き出すためには造血系細胞に特異的に発現するマイナー抗原 (mHag) を標的にすることの重要性が示されている。

前回の班会議で、HLA-B44 拘束性の mHag 特異的 CTL について抗原エピトープが同定されたことを報告した。抗原は 18 番染色体の q21.33 に存在する既報の EST にコードされていたが (ACC-6、特許申請済)、この遺伝子は HUGO により HMSD (Histocompatibility (Minor) Serpin Domain containing) と命名された。先に HMSD の発現は活性化した一部の血液系細胞と急性骨髄性白血病に強いことを示したが、self-renewal 能力のある白血病幹細胞での発現は不明であった。今回 ACC-6 に特異的な CTL が白血病幹細胞を傷害しうることを Common-γ chain knock-out NOD/SCID (NOG) マウスを用いて検討した。Medium ないしは同じ HLA-B44 拘束性を持つが、標的 mHag が異なる (ACC-2^D) CTL と共培養した AML(M2) の初発時白血病芽球 (CD34 ポジティブセレクション後) は NOG マウスに静注しても同等に生着し、末梢血にもヒト CD45+CD34+芽球が出現したが、ACC-6 特異的 CTL と共培養した場合は末梢血にも骨髄にも全く芽球は検出されなかった。以上より、ACC-6 は白血病幹細胞でも発現し、CTL の標的となりうることを示された。

全ゲノム解析法を用いた新規 mHag の同定も現在進行中であるが、まだエピトープの同定には至っていない。

2. 免疫療法の臨床試験の進捗状況

当センターにおける、養子免疫療法は昨年 5 月より再開したが、過去に登録された 1 例を除き新規症例はリクルートされていない。mHag の応用可能性がまだ 30%前後である上、症例の適格条件が厳格であることもリクルートを困難にしていると考えられる。

より多くの症例を対象 (ハイリスク造血器腫瘍全般、移植ドナーソースは問わず、拘束性 HLA と mHag の不適合が存在すれば、移植前・移植後・再発時いずれも登録可能) として、mHag ペプチド用いたワクチン療法の臨床試験のプロトコルを作成し、当センターのヒトゲノム・遺伝子倫理委員会の承認を受けた。GMP グレードで合成したペプチド (ACC-1, ACC-2, HA-1) は当センターの細胞調製施設内で溶解・フィルター滅菌後分注し、操作前後で分解やロスがないことを HPLC 法で確認した。症例は当センターで IC 取得後に試験を行うこととし、試験薬 (ペプチド) の配布は行わない。詳細は当センターのウェブページに掲載し、情報提供を行っている (<http://www.pref.aichi.jp/cancer-center/300/313/index.html>)。また並行して、これらのペプチドの CTL 誘導能をマウスモデルを用いて行う予定である。

同種骨髄移植と同種末梢血幹細胞移植の後方視的分析

-Retrospective analysis of JSHCT registry data-

Koji Nagafuji
Kyushu University Hospital
Keitaro Matsuo
Aichi Cancer Center Research Institute
Mine Harada
Kyushu University

白血病患者に対する HLA適合同胞末梢血幹細胞移植と骨髄移植の臨床成績に関する後方視的比較検討

日本造血細胞移植学会 全国調査データベースを使用した後方視的検討

下記基準を満たす874名を解析対象とする

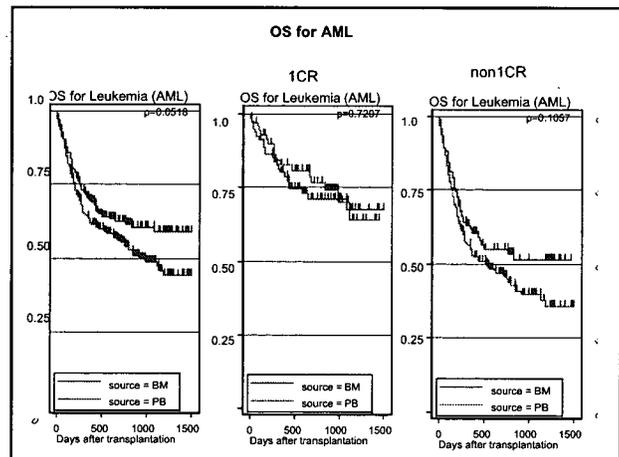
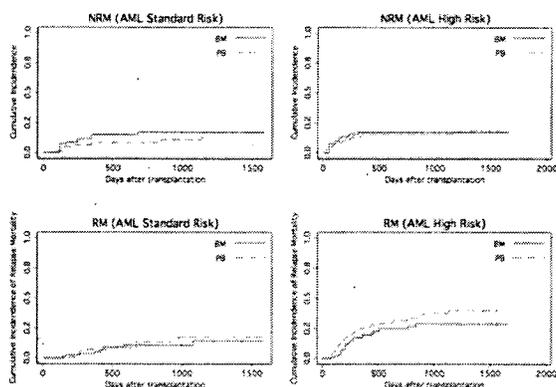
- 急性骨髄性白血病、急性リンパ性白血病、慢性骨髄性白血病
- HLA適合血縁ドナーより移植を実施
- 2000-2005年に移植を実施
- 年齢18歳以上

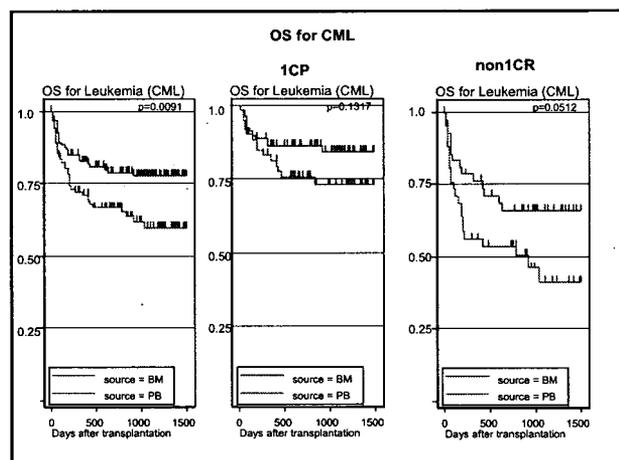
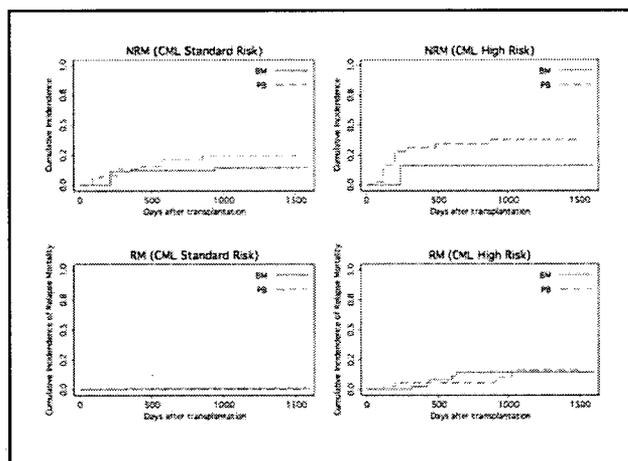
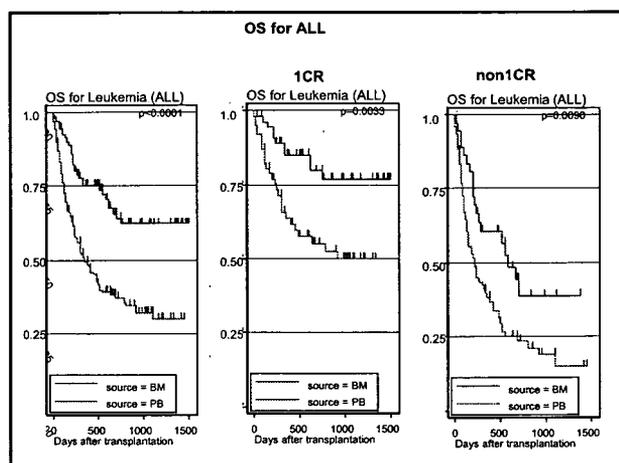
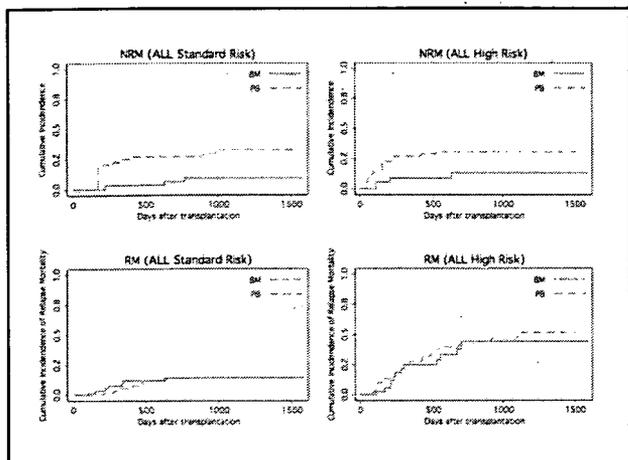
研究デザイン2

- 統計解析
 - 急性GVHD(II-IV度)、慢性GVHD(全症例、Extensive)、再発、全生存率、無病生存率を解析対象エンドポイントとする
 - 移植片の種類別にKaplan-Meier法に基づき生存率を算出する。移植片間の比較は、logrank testを用いる
 - 移植前の移植片選択に関する交絡因子をPropensity scoreとして集約し、多変量解析では層別化因子として用いる。
 - 多変量解析は比例ハザードモデルを用い、交絡因子を調整して、骨髄移植を基準とした場合に、末梢血幹細胞移植において何倍エンドポイントが起こりやすいかを示すハザード比を算出する。
 - 性、年齢、最終確認日などの基本情報が整っている症例

OS (with 95%CI)

| | SR BM | SR PB | HR BM | HR PB |
|----|---------------|---------------|---------------|---------------|
| 1Y | 84 (78-88) | 76 (70-82) | 64 (57-71) | 50 (44-56) |
| 2Y | 79 (73-84) | 70 (62-76) | 55 (47-62) | 41 (35-47) |
| 3Y | 77 (70-82) | 65 (57-72) | 53 (45-60) | 34 (28-40) |





メタ解析との比較 (相対危険度)

| | メタ解析 (J Clin Oncol 23:5074-87,2005) | 本解析 |
|--------------------|--|--------|
| 生存 | 0.87 | 1.47** |
| 無病生存 | 0.80* | 1.26 |
| 再発 | 0.71* | 0.98 |
| aGVHD(II-IV) | 1.14 | 1.86* |
| cGVHD(Ext) | 1.89** | 1.89** |
| Neutrophil engraft | 0.31** | 0.59** |
| Platelet engraft | 0.52** | 0.55** |

相対危険度が1より大きいとBMTの方がPBSCTより良好
*p<0.05, **p<0.01

まとめ

後方視的解析において、白血病に対するHLA適合同胞からの移植片としての骨髄と末梢血幹細胞の比較を行った。

早期生着を除く全てのエンドポイント(急性GVHD、慢性GVHD、再発、生存、無病生存)において、骨髄移植が末梢血幹細胞移植を上回った。

生存に関連する指標に関して昨年報告されたメタ解析の結果と全く逆の結果が認められた。後方視的な検討による交絡要因の影響の残存が考えられる。

影響を与えている交絡因子の同定が必要。また、前方視的研究が、やはり必要と考えられる。

平成18年度厚生労働科学研究プロジェクト「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」第2回会議
 2007年1月27-28日 於・東京医科大学

非遺伝母HLA抗原(NIMA)相補的血縁者間移植後の 遅発性合併症に関する調査

分担研究者: 一戸 辰夫

IPA/NIMA寛容の不確実性

- * マウスモデル:H-2Kb⇒H-2KdではNIMA寛容が成立。IPA寛容は証明されず。
(Andrassy et al. J 2003; Matsuoka et al. Blood 2006)
- * 上記以外の組み合わせでは?
- * 小寺班2000-2004年調査に登録された35例におけるIII度以上急性GVHD
発症リスク: IPA不一致>NIMA不一致
- * 小寺班NIMA相補的移植前向き臨床試験における急性GVHD重症度
(登録12例中11例で評価可能):

| 急性GVHD 重症度 | GVH方向の不一致 | | | |
|---------------|-----------|------|------|-----|
| | IPA | NIMA | 2Ag | 3Ag |
| 0 | ●●●● | ● | ●●●● | ● |
| 1 | ● | ● | ●● | ● |
| 2 | | ● | ● | |
| 3 | ● | ●●● | ● | ●●● |

NIMA相補的移植後遅発性合併症の調査意義

造血幹細胞移植が原疾患の根治による長期生存を目的とする
治療手段である以上、移植後長期生存者のQOLはひとつの
移植方法を評価する上での重要な指標である。

特に、免疫抑制剤への依存期間や生命予後に直結する臓器
合併症の出現リスクを知ることは、幹細胞ソースの選択基準
を考慮する上でもきわめて重要と考えられる。

TCDを用いないHLA複数抗原不一致移植後の遅発性合併症
や長期生存例QOLに関する詳細な報告は存在しない。

NIMA相補的血縁者間造血幹細胞移植後の 遅発性合併症に関する調査

- 2004年1月までに実施された小寺班研究に登録された35例中、前
回のF/U終了時点(02/2004)で生存中であった15例を対象として、
予備調査を実施中(「疫学研究に関する倫理指針」に準拠)。
- 2006年12月に参加11施設に調査票・説明同意文書を送付。
- 上記11施設以外にも参加可能な施設を募る予定。
- 2007年3月末ごろまでに回収を予定。

主な調査項目

- * 最終観察日における転帰・原疾患の状態
- * 最終観察日における免疫抑制剤投与の有無
- * 生存例のKPS(16歳未満の場合Lansky scale)
- * 慢性GVHDによる臓器障害の程度(NIH consensus development
projectによって提唱されているスコアリングシステムに準拠して、
皮膚・口腔・眼・消化管・肝臓・肺・関節/筋膜の最重症時の状態を
4段階で評価)。
- * 慢性GVHD以外の医療介入を要する移植関連合併症

FK506をGVHD予防に用いたNIMA相補的血縁者間移植: 臨床第I/II相試験の進捗状況

- ~2005年1月 第I相への登録が終了(仮登録12例、本登録10例)
 - 2006年2月~ 第II相への登録を開始
 - ~2007年1月 仮登録3例、本登録2例あり。
- 本登録2例のday 100 reportを回収済。
重篤な有害事象の発生なく、2例とも生存中。
- 平成19年度中に全登録例の長期観察報告書を回収の上で、効果安全性
評価委員会に試験の継続可否に関する検討を依頼予定。

「非遺伝母 HLA 抗原 (NIMA) 相補的血縁者間造血幹細胞移植後の 遅発性合併症に関する調査」に関する説明文書

1. 調査の背景と目的

現在、血縁者や骨髄バンクの中に適切なドナーを見出すことができない患者さんを対象として、HLA に複数の不一致が存在する血縁ドナーを用いた造血幹細胞移植が試みられることがありますが、その安全性や有用性は、まだ十分に確立したものではありません。

このような移植法のひとつとして、母子間免疫寛容という考え方にに基づき、患者さんとの HLA の違いが大きい場合にも、一部の血縁者はドナーとして選択可能とする「非遺伝母 HLA 抗原 (NIMA) 相補的血縁者間移植」という方法があります。これまでに実施された調査や、少数数の患者さんを対象とした臨床試験の結果では、「NIMA 相補的血縁者間移植」を行うと、一部の患者さんには移植後早期に重い合併症が発生する場合があります。大きな有害事象を経験されることなく 3 年以上の長期生存を得ることができてもいらいやることが明らかになってきました。しかし、現時点では、この方法で移植を受けた患者さんが、長期的にどのような合併症を経験されているかに関する知見が十分に蓄積されていないため、この移植法のリスクや有用性を十分に見極めるための情報が不足しているのが現状です。

そこで、今回、厚生労働科学研究「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」班では、過去に「NIMA 相補的血縁者間移植」を受けた患者さんを対象として、慢性移植片対宿主病（慢性 GVHD）などの遅発性合併症の実態に関する調査を実施することを計画いたしました。

2. 調査の方法

この調査は、日本国内で 2001 年 1 月 1 日以降に「NIMA 相補的血縁者間移植」を受けた患者さんのうち、移植後 1 年以上が経過している方を対象として実施されます。調査の方法は、移植を受けてから、一番最近の診察日までの「診療録（カルテ）」や検査結果を参考として、調査担当医師が、所定の調査票へ必要事項の記入を行い、その結果を研究事務局に集計して解析するという方法が用いられます。また、調査票に記載される医療情報は、主に、慢性 GVHD およびそれ以外の移植を受けてから比較的時間を経てから出現してくる合併症についての情報ですが、さらに具体的な内容をお知りになりたい方は、調査担当医師までお尋ね下さい。

3. 調査への参加によって予想される利益

この調査は、「NIMA 相補的造血幹細胞移植」の遅発性合併症をよりよく知ることにより、この移植法をどのような患者さんに対して選択するのが適切かを検討することや、将来この方法で移植を受ける患者さんにより適切な合併症対策を施すことを目的に実施されますが、その結果が現在のあなたの治療にすぐ役立つわけではありません。

4. 調査への参加によって予想される不利益

この調査に参加されることによって、あなたの身体に有害事象が発生する可能性はありません。

5. 個人情報保護の保証

この調査は、所定の調査票に記載された番号に基づいて匿名化して実施され、あなたの主治医が記録する調査票の中には、あなたの氏名や住所・電話番号などの個人情報を含まれておりません。また、調査で得られた結果は、厚生労働省研究班の会議や、学会、あるいは論文として発表されることがありますが、あなたを特定できる個人情報公表されることは決してありません。

6. 検査・薬剤等の費用負担

この調査にご協力いただくことにより、あなたに検査・薬剤などの費用負担が発生することはありません。

7. 謝礼

この調査にご協力いただいたり、特に謝礼のお支払いはいたしません。

8. 調査への参加・意思撤回の自由

この調査に参加されるかどうかは、あなたの自由なお考え（自由意思）に基づいてご決定下さい。また、一度調査への協力にご同意いただいた後でも、お考えが変わることがあれば、いつでもどのような理由でも、以後の治療上の不

「非遺伝性HLA抗原（NIMA）相補的血縁者間造血幹細胞移植後の 遅発性合併症に関する調査」への参加に関する同意文書

私は、本説明文書に記載のある調査研究について、調査担当医師より下記項目につき、口頭および
文書で説明を受け、これを十分に理解した上で、自由意思により本調査に協力することに同意いたしま
す。

- 本調査の意義と目的。
- 本調査の方法。
- 本調査への参加によって期待される利益。
- 本調査への参加によって予測される不利益。
- 個人情報情報の保護に関する事項。
- 本調査に参加することにより発生する費用負担の有無。
- 本調査に参加することによって得られる財金の有無。
- 本調査研究への参加の同意後にも、いつでも調査への参加をとりやめることができること。ま
た、調査への参加をとりやめた後も、一切、治療上の不利益を受けないこと。

(署名の前にチェックボックスで説明された内容を確認して下さい。)

同意年月日 年 月 日

署名 (本人氏名)

(代読者氏名*)

*本人が未成年者の場合のみ

[本人との関係

]

私は、厚生労働科学研究「NIMA相補的血縁者間造血幹細胞移植後の遅発性合併症に関する調
査」について、口頭および所定の文書による説明を行い、上記の被験者の自由意思によって、調査へ
の参加の同意が得られたことを認めます。

署名年月日 年 月 日

署名 (調査担当医師氏名)

(調査実施施設名)

(署名後、本人・調査担当医師が一部づつ保管のこと)

利益を一切受けることなく、調査への参加を取りやめることが可能です。

9・研究責任者およびその連絡先

この調査に関して、何かご不明な点がある場合や、さらに詳しい説明が必要
な場合には、いつでも下記の調査担当者・研究事務局責任者までご連絡下さい。

調査担当医師

氏名： _____

所属施設： _____

所属診療科： _____

職名： _____

連絡先電話番号： _____

研究事務局責任者 (この調査研究に関する責任者)

氏名： 一戸 辰夫

所属施設： 京都大学医学部附属病院

所属診療科： 血液・腫瘍内科

職名： 助手

連絡先電話番号： 075-751-3164 (夜間FAX送信可)

NIMA相補的血縁者間移植・運発性合併症調査票(1/4)

| | | |
|--|---|-----------|
| 施設名 | 症例登録番号 | 200 年 月 日 |
| 調査票記入医師 | 調査票記入日 | 200 年 月 日 |
| 最終観察日 | 200 年 月 日 | |
| 最終観察日における原疾患の状態 | <input type="checkbox"/> 寛解維持 <input type="checkbox"/> 再発後寛解 <input type="checkbox"/> 再発後非寛解 | |
| 最終観察日における転帰 | <input type="checkbox"/> 生存中 <input type="checkbox"/> 死亡 主な死因: <input type="checkbox"/> 再発 <input type="checkbox"/> GVHD <input type="checkbox"/> その他() | |
| 最終観察日におけるKarnofsky performance scale (KPS) (16歳未満の場合はLansky scale)に置き換えてご評価下さい | <input type="checkbox"/> 正常の生活が可能 <input type="checkbox"/> 100% 問題となる自覚症状を有さず、正常な活動が可能 <input type="checkbox"/> 90% 症状はあるが、正常の活動が可能 <input type="checkbox"/> 80% 努力をすれば正常の活動が可能 <input type="checkbox"/> 70% 自分のことはできるが、労働は不可能 <input type="checkbox"/> 60% 時々援助を受ければ自分の身の回りの世話が可能 <input type="checkbox"/> 50% 相当の生活援助と頻繁な医学的管理が必要 <input type="checkbox"/> 40%以下 | |
| 慢性GVHD* | <input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> 限局型 <input type="checkbox"/> 広範型 <input type="checkbox"/> 評価不能 <input type="checkbox"/> de novo <input type="checkbox"/> quiescent <input type="checkbox"/> progressive | |
| *慢性GVHDは最終観察日の状態ではなく、全経過を通じて出現した症状にてご評価下さい。 | | |
| 最終観察日における免疫抑制剤の使用 | <input type="checkbox"/> なし (最終投与日: 200 年 月 日) <input type="checkbox"/> あり 使用薬剤 <input type="checkbox"/> Cyclosporin <input type="checkbox"/> Tacrolimus <input type="checkbox"/> Mycophenolate mofetil <input type="checkbox"/> Prednisolone (<input type="checkbox"/> 0.5 mg/kg未満 <input type="checkbox"/> 0.5 mg/kg以上) <input type="checkbox"/> その他() | |
| 最終観察日における慢性GVHD以外の医療介入を要する移植関連合併症 | <input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり (概要を以下にご記載下さい) | |

厚生労働科学研究 ヒトケム・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(体前)の確立並びにドナー及びヒトケムの安全管理とGVHD向上に関する研究」班

NIMA相補的血縁者間移植・運発性合併症調査票(2/4)

慢性GVHD調査票(1)

| 標的臓器 | 重症度評価 |
|------|---|
| 皮膚 | <input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> 全体表面積の18%未満で硬化性皮膚病変なし <input type="checkbox"/> 全体表面積の19-50%、あるいは指でつまめる程度の硬化性病変が存在する 組織学的診断 <input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> 全体表面積の50%を越えている、あるいは指でつまめない程度の硬化性病変が存在する |
| 口腔 | <input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> 軽度の症状があるが、経口摂取への影響はほとんど認めない <input type="checkbox"/> 中等度の症状があり、経口摂取への影響が認められる 組織学的診断 <input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> 重篤な症状があり、経口摂取が大きく制限されている |
| 眼 | <input type="checkbox"/> 無症状 <input type="checkbox"/> ADLに影響を与えない程度のドライアイ(一日に必要な点眼回数が3回以内) <input type="checkbox"/> ADLに中等度の影響が見られるが、視力障害は認めない程度のドライアイ(一日に必要な点眼回数が3回を越える) 組織学的診断 <input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> ADLに重篤な影響が認められるドライアイ、眼症状のため労働不能/乾燥性角結膜炎による失明 |
| 消化管 | <input type="checkbox"/> 無症状 <input type="checkbox"/> 嚥下困難、食欲低下、嘔気、腹痛、下痢などの症状があるが体重減少は5%未満 <input type="checkbox"/> 上記の症状があり、5-15%の体重減少を伴う 組織学的診断 <input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> 15%を越えた体重減少を伴い、栄養補給のための医学的介入が必要である |

NIMA相補的血縁者間移植・遅発性合併症調査票(3/4)

慢性GVHD調査票(2)

| 標的臓器 | 重症度評価 |
|-------|--|
| 肝 | <input type="checkbox"/> 肝機能検査に異常を認めない <input type="checkbox"/> 正常上限2倍以内のT-Bil, ALP, AST, ALTの上昇 <input type="checkbox"/> 3 mg/dlを越えるが正常上限5倍以内のT-Bilの上昇; 正常上限の2倍を越えるが5倍以内のALP, AST, ALTの上昇 組織学的診断 <input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> 正常上限の5倍を越えるT-Bil, ALP, AST, ALTの上昇 |
| 肺 | <input type="checkbox"/> 無症状 <input type="checkbox"/> 階段を登った後に息切れを自覚する <input type="checkbox"/> 平地を歩いた後でも息切れを自覚する。 <input type="checkbox"/> 安静時にも息切れを自覚する 組織学的診断 <input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし (調査日直近の呼吸機能検査) |
| | <input type="checkbox"/> FEV1(1秒率) 80%以上 <input type="checkbox"/> FEV1(1秒率) 60-79% <input type="checkbox"/> FEV1(1秒率) 40-59% <input type="checkbox"/> FEV1(1秒率) 39%以下 <input type="checkbox"/> 未施行 |
| 関節・筋膜 | <input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> ADLに影響を与えない程度の四肢の伸展不良 <input type="checkbox"/> ADLに中等度の影響を与える程度の四肢の伸展不良または関節の拘縮または筋膜炎による紅斑 組織学的診断 <input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> ADLに高度の影響を与える拘縮(靴紐を結べない、自分では着衣が不可能) |

NIMA相補的血縁者間移植・遅発性合併症調査票(4/4)

慢性GVHD調査票(3)

| | |
|-----------------------|---|
| 食道狭窄・ウェブ | <input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり(治療介入を要さない程度) <input type="checkbox"/> あり(治療介入が必要) <input type="checkbox"/> 評価不能 |
| 心のう水 | <input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり(治療介入を要さない程度) <input type="checkbox"/> あり(治療介入が必要) <input type="checkbox"/> 評価不能 |
| 胸水 | <input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり(治療介入を要さない程度) <input type="checkbox"/> あり(治療介入が必要) <input type="checkbox"/> 評価不能 |
| 腹水 | <input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり(治療介入を要さない程度) <input type="checkbox"/> あり(治療介入が必要) <input type="checkbox"/> 評価不能 |
| ネフローゼ症候群 | <input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり(治療介入を要さない程度) <input type="checkbox"/> あり(治療介入が必要) <input type="checkbox"/> 評価不能 |
| 末梢神経障害 | <input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり(治療介入を要さない程度) <input type="checkbox"/> あり(治療介入が必要) <input type="checkbox"/> 評価不能 |
| 重症筋無力症 | <input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり(治療介入を要さない程度) <input type="checkbox"/> あり(治療介入が必要) <input type="checkbox"/> 評価不能 |
| 多発性筋炎 | <input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり(治療介入を要さない程度) <input type="checkbox"/> あり(治療介入が必要) <input type="checkbox"/> 評価不能 |
| 心筋症 | <input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり(治療介入を要さない程度) <input type="checkbox"/> あり(治療介入が必要) <input type="checkbox"/> 評価不能 |
| 心筋伝導障害 | <input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり(治療介入を要さない程度) <input type="checkbox"/> あり(治療介入が必要) <input type="checkbox"/> 評価不能 |
| 冠動脈病変 | <input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり(治療介入を要さない程度) <input type="checkbox"/> あり(治療介入が必要) <input type="checkbox"/> 評価不能 |
| 好酸球増多(>500/ μ l) | <input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> 評価不能 |
| 血小板減少(10万/ μ l未満) | <input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> 評価不能 |

母児間移植を行った
抗HLA抗体陽性慢性骨髄単球性白血病

—Flow PRA法による抗HLA抗体の推移—

京都府立医科大学血液・腫瘍内科、臨床検査部*
谷口 享子、稲葉 亨*、島崎 千尋

背景

・ 抗HLA抗体の存在と造血幹細胞移植の成績を明らかにした研究はみられない。しかし、HLA不一致移植である腎移植、心臓移植などでは、その存在が急性期や慢性期拒絶に関わっていることが知られている。

・ 移植適応の拡大に伴い、臍帯血移植や母児間移植、ハプロタイプ一致移植の機会が今後も増加していくことが予想され、造血幹細胞移植領域でもドナーやレシピエントに対する抗HLA抗体が移植成績に与える影響を明らかにしていくことが重要と思われる。

・ 抗HLA抗体陽性母児間移植において、rituximabの投与、血小板大量投与、造血幹細胞の大量投与により生着を得た症例を経験したので報告する。

症例 29 y.o. F

【現病】 CMML, MF

【既往歴】 H17年10月 卵管保存のため開腹手術
H17年12月 帯状疱疹

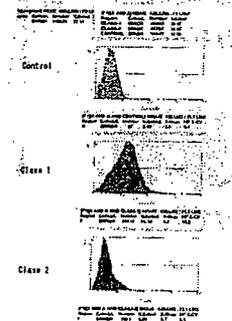
【家族歴】 母:高脂血症 父:高脂血症

【嗜好歴】 アルコール(-), タバコ(-),

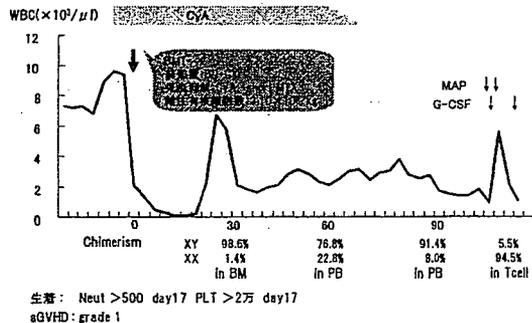
【現病歴】 平成17年7月, 下腿浮腫のため当院受診。WBC 137500(Neut. 32%, Eos. 16.5%, Bas 0.5%, Lym 4.5%, Mon. 13.5%, Met. 7.5%, Myel. 22.5%, Pro. 1.0%, Blast 2%), Hb 10.5, PLT 11.1×10^4 。骨髄は、hypercellularで、3系統形態異常あり、エステラーゼ陽性細胞20%、核型は 47, XX, t(9;12)(q34;q15), +21であり、CMMLと診断。HUなどで血球のコントロールを行い、2006年2月26日非血縁者間同種骨髄移植を予定した。移植前には血小板輸血不応となり抗HLA抗体は陽性であった。また同時期より骨髄はdry tapとなり、骨髄のMRI所見とあわせて、MFの合併と考えられた。

移植前抗HLA抗体スクリーニング

Flow cytometry 法



経過(1)

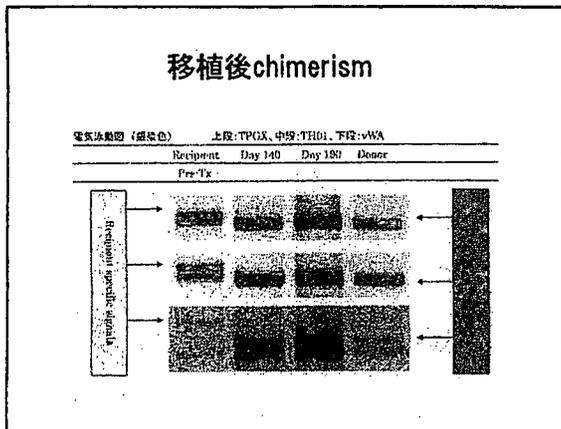
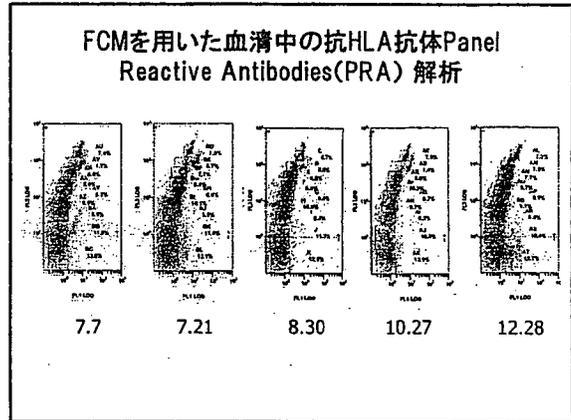
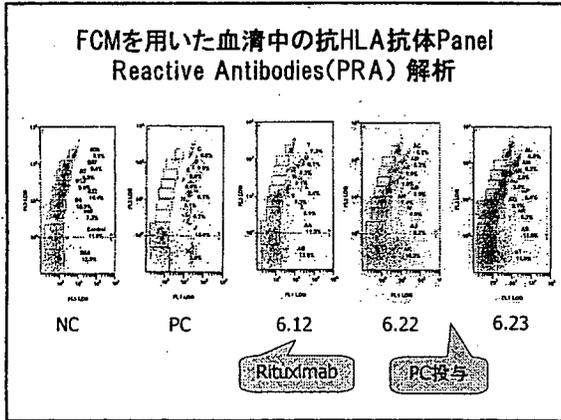
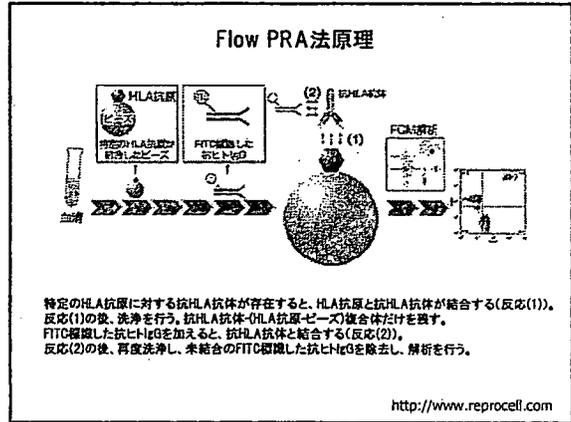
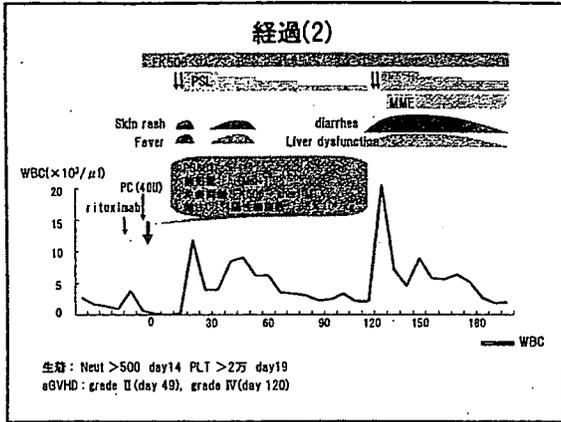


前処置、移植方法

Donor : 母
前処置 : Flu 25mg/m²+Mel 80mg/m²+TB(4Gy)
day -10 half dose rituximab
day -1 B52陽性ドナーよりPC輸血(40U)
輸注CD34陽性細胞数: 7.66×10^6 /kg

免疫抑制: FK + short MTX

| HLA | A | B | C | DR | 15 |
|-----------|--------------|--------------|--------------|--------------|---------------|
| mother | 24 (2402) | 54 (5401) | 52 (0102) | 12 (1202) | 9 (0901) |
| recipient | 24 (2402) | 54 (5401) | 59 (5901) | 1 (0102) | 9 (0901) |
| | | | | | 4.1 (0405) |



まとめ

- 抗donor HLA抗体陽性の患者に末梢血幹細胞移植を行い速やかに生存を得た。
- 移植前に抗体の除去目的にrituximabの投与と標的抗原陽性ドナーより大量血小板輸血を行い、その推移をFlow PRA法で観察した。本症例にて問題となったB52に対する抗体は血小板輸血の翌日には陰性化した。その他の抗体については、移植後残存していたが、day190にはほぼ消失した。
- 移植時に抗donor HLA抗体を有している患者に対し移植前のrituximab投与と血小板大量投与は抗体除去に有効であり、また移植も安全に行えた。

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
 「骨髓、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」第2回班会議
 2007年1月27-28日 於・東京医科歯科大学

FK506を用いた非血縁者間骨髄移植に におけるHLA座アリル型不一致の意義 ～単一施設における検討～

京都大学医学部附属病院 血液・腫瘍内科
 諫田淳也、一戸辰夫、石川隆之、内山 卓

緒言

従来、JMDPを介する非血縁者間骨髄移植(UBMT)のドナー選択では、*HLA-A*、*HLA-C*、*HLA-B*のアリル型適合性が重要と考えられてきたが、その根拠となる解析は、GVHD予防にcyclosporineを使用した移植例を主たる対象として行なわれたものである。

→FK506をGVHD予防に用いたUBMTにおいては、アリル型不一致が移植成績に与える影響が異なってくる可能性がある。

→最近、5,210例(cyclosporine使用例とFK506使用例をほぼ半数ずつ含む)を対象とする新たな解析が行なわれた結果、クラスI・クラスIIを問わず、特定のアリル型不適合の組み合わせ(nonpermissive or high-risk mismatch)が重症GVHDの発症リスクに強く関連していることが明らかにされた。

仮説: High-risk mismatchを避けること、FK506をGVHD予防に使用することにより、アリル型不一致非血縁ドナーの選択基準を拡大することが可能かもしれない。

目的・対象

今回、我々は、FK506を用いたUBMTにおいてドナー・レシピエント間におけるHLA遺伝子群のアリル型不適合が移植成績に与える影響を検討する一助とするため、1999年6月より2006年3月までの間に、京都大学医学部附属病院において成人造血腫瘍に対して施行されたUBMT症例のうち、GVHD予防法としてFK506を含むレジメンを用いた73例を対象として、*HLA-A*、*HLA-B*、*HLA-DRB1*のアリル型不一致の有無が急性GVHDの発症頻度および生存率に与える影響を後方視的に検討した。

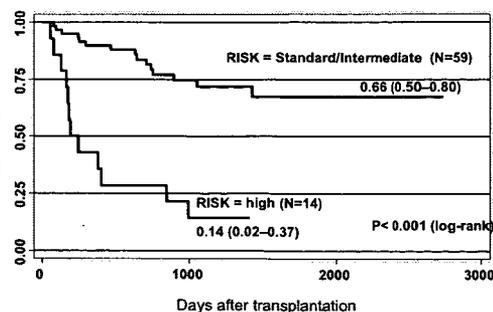
Patient Characteristics

UBMT with FK-based GVHD prophylaxis @Kyoto University Hospital 1999.6-2006.3

| | | | | |
|--------------------|--------------|---------------------------------|-------------------|----|
| Median age (range) | 43(19-66) | Conditioning Standard-intensity | 58 | |
| Sex (F/M) | 39/34 | Cy/TBI 10-12Gy+ α | 3 | |
| Diagnosis | 73 | Cy/TBI 10-12Gy | 43 | |
| | AML | 30 | MEL/TBI 12Gy | 6 |
| | ALL/LBL | 8 | Bu/Cy | 3 |
| | MDS | 8 | Others* | 3 |
| | Lymphoma | 10 | Reduced-intensity | 15 |
| CML | 7 | Flu/Bu/TBI 4Gy | 11 | |
| ATL | 7 | Flu/MEL/TBI 2Gy | 1 | |
| Others | 3 | Flu/MEL 140 | 3 | |
| Risk* | Standard | 34 | GVHD prophylaxis | |
| | Intermediate | 25 | FK506 alone | 3 |
| | High | 14 | FK506+MTX | 60 |
| | | | FK506+MTX+MMF | 10 |

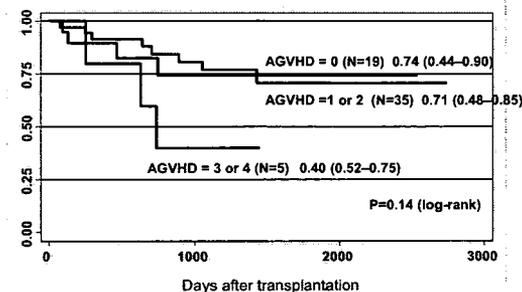
*Standard risk: leukemia in CR1, MDS in CR1, MPD in CP, non-treated MDS/MPD, NHL in CR1
 Intermediate risk: other risk group than standard and high risk
 High risk: leukemia in non-CR, CML in blastic phase, HL/NHL in non-CR

Effect of disease risk on overall survival after UBMT in hematologic malignancies



FK506-based GVHD prophylaxis was used in all transplants.

Effect of aGVHD on overall survival after UBMT in standard/intermediate risk hematologic malignancies



FK506-based GVHD prophylaxis was used in all transplants.

Patient Characteristics

HLA allelic-matched group vs allelic-mismatched group

Allelic mismatch (-) Allelic mismatch (+)

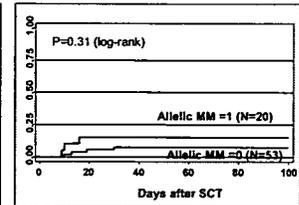
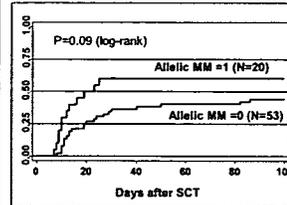
| | Allelic mismatch (-) | Allelic mismatch (+) | P-value |
|-----------------------|----------------------|----------------------|---------|
| Age | 42 (19-66) | 45 (20-56) | P=1.0 |
| Sex (F/M) | 28/25 | 11/9 | |
| Diagnosis | | | |
| Myeloid | 32 | 12 | P=0.65 |
| Lymphoid | 18 | 8 | |
| others | 3 | 0 | |
| Risk | | | |
| Standard/Intermediate | 42 | 17 | P=0.74 |
| High | 11 | 3 | |
| Conditioning | | | |
| Standard | 40 | 18 | P=0.21 |
| Reduced | 13 | 2 | |
| GVHD prophylaxis | | | |
| FK alone | 3 | 0 | P=0.64 |
| FK506+MTX | 42 | 18 | |
| FK506+MTX+MMF | 8 | 2 | |

Effect of allelic mismatch at HLA-A, -B, and DRB1 on the incidence of aGVHD

Cumulative incidence of acute GVHD by day 100

Grades 2-4 aGVHD:

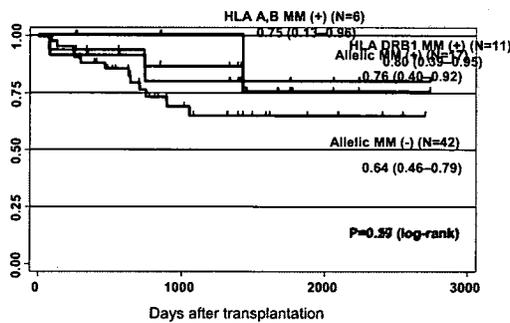
Grades 3-4 aGVHD:



Allelic MM(+) 0.60(0.40-0.81)
Allelic MM(-) 0.44 (0.32-0.59)

Allelic MM(+) 0.15(0.05-0.40)
Allelic MM(-) 0.08(0.03-0.19)

Effect of HLA allelic mismatch on overall survival after UBMT in standard/intermediate risk hematologic malignancies



FK506-based GVHD prophylaxis was used in all transplants.

Univariable and multivariable proportional hazard analysis of risk factors potentially associated with overall survival

| | | 単変量解析 | | 多変量解析 | |
|-------------------------------------|-----------------------|-------|------------|-------|------------|
| | | ハザード比 | 95%CI | ハザード比 | 95%CI |
| Allelic mismatch (HLA-A, -B, -DRB1) | mismatch (-) | 1 | | 1 | |
| | mismatch (+) | 0.5 | 0.19-1.34 | 0.63 | 0.19-2.09 |
| Risk | Standard/Intermediate | 1 | | 1 | |
| | High | 6.56 | 2.99-14.34 | 9.67 | 2.59-35.36 |
| Age | 1歳上昇 | 1 | | 1 | |
| | | 1.03 | 0.99-1.06 | 0.96 | 0.90-10.1 |
| aGVHD | Grade 0-2 | 1 | | 1 | |
| | Grade 3-4 | 2.34 | 0.88-6.21 | 2.08 | 0.56-7.66 |
| cGVHD | none or limited | 1 | | 1 | |
| | extensive | 3.24 | 1.29-8.12 | 2.62 | 0.91-7.52 |

List of type of HLA allelic mismatch and clinical outcome

| HVG vector Donor | GVH vector Recipient | Severity of aGVHD | TRM |
|------------------|----------------------|-------------------|-----|
| A*0207 | (A*0201) | 2 | No |
| A*0203 | A*0201 | 2 | No |
| A*0201 | (A*0206) | 0 | No |
| A*0207 | A*0218 | 2 | No |
| A*2603 | A*2601 | 0 | No |
| A*2601 | A*2603 | 1 | No |
| A*2601 | A*2607 | 0 | No |
| B*4002 | B*4008 | 4 | No |
| DRB1*0403 | DRB1*0401 | 1 | No |
| DRB1*0405 | DRB1*0401 | 3 | No |
| (DRB1*0405) | DRB1*0401 | 2 | No |
| DRB1*0403 | DRB1*0406 | 2 | No |
| DRB1*0405 | DRB1*0406 | 2 | No |
| DRB1*0803 | DRB1*0802 | 2 | No |
| DRB1*0803 | DRB1*0802 | 2 | No |
| DRB1*0802 | DRB1*0803 | 2 | No |
| DRB1*1401 | DRB1*1405 | 1 | No |
| DRB1*1401 | DRB1*1405 | 0 | No |
| DRB1*1502 | DRB1*1501 | 2 | No |
| DRB1*1502 | DRB1*1501 | 0 | No |

結論および考察

当科で実施されたUBMTの解析では、FK506を含んだGVHD予防を用いた場合、HLA-A, (-B), -DRB1のアレル型不一致の存在は、II度以上急性GVHDの発症率を増加させる傾向を認めたものの、III度以上急性GVHDの発症頻度や生存率には有意な影響を与えていなかった。

単一施設における少数例での検討であり、解析対象となったアレル型不一致のほとんどが最近同定された“high-risk mismatch”ではなかったことを考慮する必要があるが、FK506をGVHD予防に用いるUBMTにおいては、HLA 1座アレル型不一致非血縁者をドナーとして選択してもHLAアレル型一致ドナーを選択した場合とほぼ同等の移植成績が得られる可能性が示唆された。

厚労省小寺班

平成19年1月28日発表 研究報告書

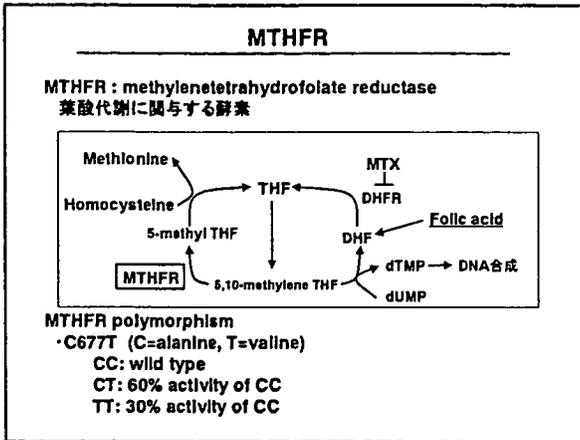
Yasuo Miura¹、Tatsuo Ichinohe²

1 Department of Hematology, Osaka Red Cross, Osaka 543-8555, Japan

2 Department of Hematology and Oncology, Kyoto University Graduate School of Medicine, Kyoto 606-8507, Japan

Identification of stem cells has contributed to the progress in the treatment of hematological diseases. Bone marrow, peripheral blood stem cells, umbilical cord blood are currently in clinical use as the resource of hematopoietic stem cells (HSCs) to treat intractable hematological diseases with HSC transplantation. We established an alternative HSC resource which is induced by bone marrow-derived mesenchymal stem cells (MSCs). Upon subcutaneous transplantation of MSCs with ceramic powder, host-derived hematopoietic cells are induced along with donor MSC-mediated bone formation. The hematopoietic cells express multiple lineage markers and show hematopoietic colony forming capability. Importantly, the hematopoietic cells are able to rescue lethally irradiated mice with successful engraftment in the bone marrow of recipients. In addition, MSC-mediated bones have property to function as bone marrow niches, which is confirmed by close association of osteoblasts with BrdU-long term retaining (LTR) HSCs and homing of systemically transplanted bone marrow cells to the niches. Platelet-derived growth factor (PDGF)-BB promotes the formation of MSC-induced hematopoietic cells and MSC-mediated bone marrow niches through up-regulated expression of b-catenin and N-cadherin.

The significance of our work is that it offers novel HSC resource functionally equivalent to the physiological hematopoietic cells and demonstrates contribution of PDGF receptor-mediated signaling pathway to the formation of MSC-induced hematopoiesis. In addition, the formation of MSC-induced hematopoietic cells including HSCs is accompanied with the formation of MSC-mediated bone and bone marrow niches, which is organized structurally toward physiological setting analogous to the bone marrow. Therefore, the novel MSC-induced HSCs are potential to be utilized clinically for an alternative resource for conventional HSC transplantation. Moreover, MSC-organized structure is potential to be applied as an organ (bone/marrow organ system (BMOS)) to transplant bone marrow niches with HSCs to the recipients, which may provide new insight into to the disease treatment with HSC transplantation.



**MTXをGVHD予防に用いた移植において
 活性低下型MTHFRが与える影響**

患者のMTHFR多型が与える影響

- ・677TT型患者では、急性GVHD (I-IV) の発症率が低い。
 (n=304 ; Roblen et al. *BBMT*. 2006)
- ・677TT型患者では、移植後早期の口腔粘膜障害が重症化する。
 (n=220 ; Ulrich et al. *Blood*. 2001)

ドナーのMTHFR多型が与える影響

- ・677TT型患者及び677CT型患者では、GVHD の発症が遅く、
 発症率も低い。
 (n=193 ; Murphy et al. *BMT*. 2006)

目的

同種造血幹細胞移植患者及びドナーにおけるMTHFR遺伝子の多型が移植の予後に与える影響を検討する。

対象

1987年から2006年までに名古屋大学医学部附属病院及び名古屋第一赤十字病院にて施行された同種移植症例

- ・ HLA一致同胞間
- ・ GVHD予防 : CsA+sMTX
- ・ 患者及びドナーのDNAが利用可能

Patient characteristics

| | |
|--------------------------------|----------------|
| Number (male/female) | 159 (90 / 69) |
| Median age, years (range) | 37 (15 - 62) |
| Disease | |
| AML | 48 (30%) |
| ALL | 26 (16%) |
| CML | 39 (25%) |
| MDS | 18 (11%) |
| 非腫瘍性疾病 | 16 (10%) |
| Others | 12 (8%) |
| Stem cell source | |
| BM | 120 (75%) |
| PB | 39 (25%) |
| Preconditioning regimen | |
| Myeloablative | 139 (87%) |
| Non-myeloablative | 20 (13%) |

Methods

Determination of MTHFR polymorphism
 PCR-RFLP

Statistical analysis
 χ²検定
 Kaplan-Meier法、log rank test
 Cox比例ハザードモデル

Variables

| | |
|----------------|---------------------------------|
| 患者MTHFR C677T | : TT vs CC/CT, TT/CT vs CC |
| ドナーMTHFR C677T | : TT vs CC/CT, TT/CT vs CC |
| 患者年齢 | : continuous |
| 移植年 | : continuous |
| 疾患 | : 非腫瘍性疾病 vs 腫瘍性疾病 |
| 腫瘍性疾患の病期 | : 進行期 vs 非進行期 |
| 幹細胞源 | : BM vs PB |
| 前処置 | : 骨髄破壊的 vs 非骨髄破壊的 |
| 急性GVHD | : grade I-IV vs 0, II-IV vs 0-I |

P value < 0.1の因子を多変量解析した。
 P value < 0.05を有意とした。

MTHFR genotype frequencies

| Genotype | CC | CT | TT |
|------------|----------|----------|----------|
| Recipients | 56 (35%) | 83 (52%) | 20 (13%) |
| Donors | 48 (30%) | 98 (62%) | 13 (8%) |

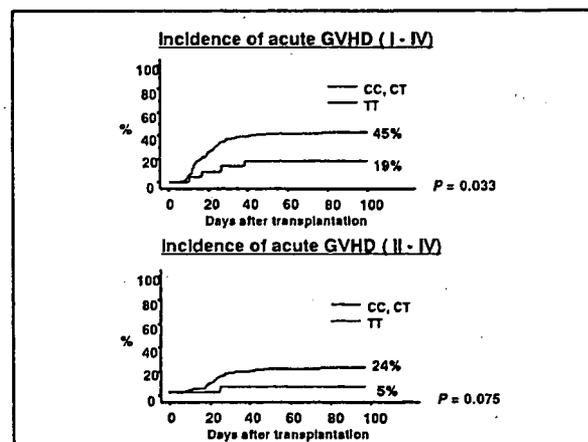
P = 0.1878

Significant factors for acute GVHD (I-IV)

| | RR | 95%CI | P value |
|--------------------|-------|---------------|---------|
| 患者MTHFR C677T : TT | 0.342 | (0.124-0.943) | 0.038 |
| 疾患 : 非腫瘍性疾患 | 0.216 | (0.053-0.884) | 0.033 |

Significant factor for acute GVHD (II-IV)

| | RR | 95%CI | P value |
|-----------|-------|---------------|---------|
| 幹細胞源 : BM | 0.342 | (0.121-0.968) | 0.043 |



Significant factor for relapse

| | RR | 95%CI | P value |
|----------------|-------|---------------|---------|
| 腫瘍性疾患の病期 : 進行期 | 2.298 | (1.170-4.516) | 0.016 |

Significant factors for RFS

| | RR | 95%CI | P value |
|--------------------------|-------|---------------|---------|
| Acute GVHD : grade II-IV | 2.177 | (1.193-3.972) | 0.011 |
| Higher patient age | 1.040 | (1.014-1.067) | 0.002 |

Significant factor for TRM

| | RR | 95%CI | P value |
|--------------------|-------|---------------|---------|
| Higher patient age | 1.069 | (1.025-1.115) | 0.002 |

Significant factors for OS

| | RR | 95%CI | P value |
|-------------------------|-------|---------------|---------|
| Higher patient age | 1.056 | (1.029-1.083) | <0.0001 |
| Acute GVHD : grade I-IV | 2.021 | (1.078-3.790) | 0.028 |

Discussion

1. 活性低下型MTHFRを持つ患者では、急性GVHDの発症率は低かった。
→そのメカニズムとして、MTXによる細胞内の葉酸拮抗作用がMTHFR活性低下により更に増強され、その結果GVHD抑制効果が強く出る可能性が考えられた。
2. MTXを用いない移植においてもMTHFRの多型は影響を及ぼすか？
→今までに報告はなく不明であり、今後の検討が望まれる。

Acknowledgements

名古屋大学大学院医学系研究科 血液・腫瘍内科学
寺倉 精太郎
直江 知樹

名古屋第一赤十字病院 血液内科
鬼塚 真仁 (現 東海大学)
稲本 賢弘
鍛塚 八千代
宮村 耕一
小寺 良尚