

平成19年度 小寺班 第二回会議 2008年1月27日

自己免疫疾患に対する自己末梢血幹細胞移植

間質性肺炎を伴う強皮症に対する自己末梢血幹細胞移植

clinical results and analysis of immune reconstitution

九州大学病院 血液・腫瘍内科
感染症・免疫・膠原病内科

長藤宏司、塚本浩、原田実根

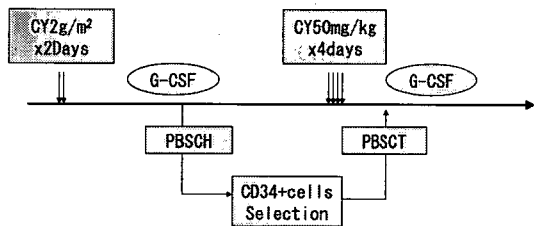
SSc/IPで、CD34陽性自己PBSCTを行った症例

| Patient No. | Sex | Age (years) | PS | mRSS | IP | anti-Sci-70 | Previous Treatment | Follow-up (months) |
|-------------|-----|-------------|----|------|----|-------------|--------------------|--------------------|
| 1 | F | 54 | 2 | 16 | + | + | St, CY | 68 |
| 2 | M | 55 | 2 | 15 | + | + | St | 60 |
| 3 | M | 58 | 2 | 31 | + | - | St, CY | 57 |
| 4 | F | 54 | 1 | 26 | + | + | St, CY | 55 |
| 5 | F | 53 | 1 | 28 | + | + | St | 52 |
| 6 | F | 48 | 2 | 32 | + | + | St, CY, CsA | 48 |
| 7 | F | 34 | 1 | 8 | + | - | - | 20 (Dead by PD) |
| 8 | F | 61 | 1 | 26 | + | + | St | 32 |
| 9 | F | 61 | 2 | 32 | + | + | St, CsA | 27 |
| 10 | F | 44 | 2 | 15 | + | + | St, CY | 23 |
| 11 | M | 53 | 1 | 7 | + | + | St, | 19 |

Mean±SD 52.3 ±7.5 21.5 ±9.0 median 48

PS, performance status; mRSS, Modified Rodnan skin score;
IP, interstitial pneumonia;
St, Corticosteroid; CY, Cyclophosphamide; CsA, Cyclosporin A As for Dec. 2007

High-dose Immune suppressive Therapy and Auto-PBSCT



CY: Cyclophosphamide PBSCH: peripheral blood stem cell harvest
PBSCT: peripheral blood stem cell transplantation

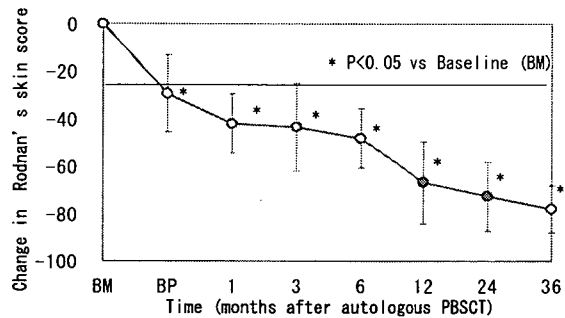
Number of reinfused cell and hematologic recovery

| Patient No. | Number of reinfused CD34+ cells (x10 ⁶ /kg) | Number of reinfused CD3+ cells (x10 ⁶ /kg) | ANC >0.5x10 ⁹ /l (day) | Platelet >50x10 ⁹ /l (day) |
|-------------|--|---|-----------------------------------|---------------------------------------|
| 1 | 8.4 | 0.33 | 9 | 20 |
| 2 | 4.9 | 0.27 | 9 | 10 |
| 3 | 2.2 | 2.95 | 10 | 12 |
| 4 | 2.1 | 1.71 | 11 | 16 |
| 5 | 7.2 | 3.00 | 13 (G-) | 9 |
| 6 | 4.0 | 2.35 | 11 | 11 |
| 7 | 9.1 | 1.03 | 13 (G-) | 14 |
| 8 | 3.0 | 0.32 | 17 (G-) | 17 |
| 9 | 4.2 | 0.13 | 13 (G-) | 13 |
| 10 | 4.9 | 0.0 | 17 (G-) | 10 |
| 11 | 1.3 | 0.26 | 12 (G-) | 14 |

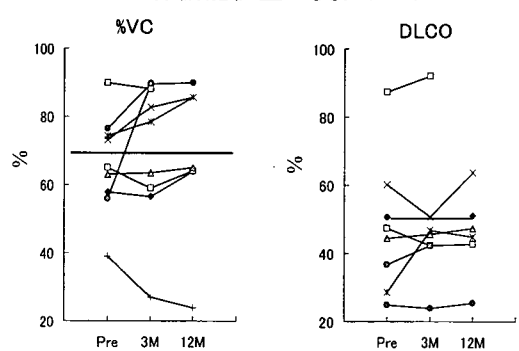
Mean±SD 4.7 ±2.6 1.1 ±1.2 12.3 ±2.6 13.3 ±3.2

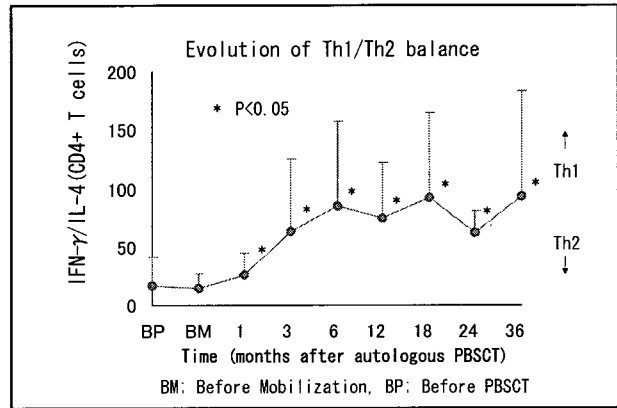
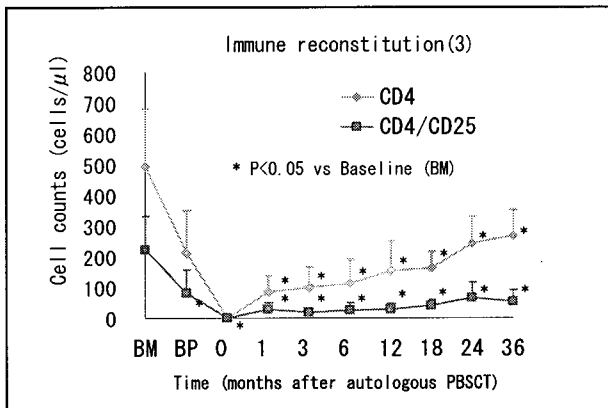
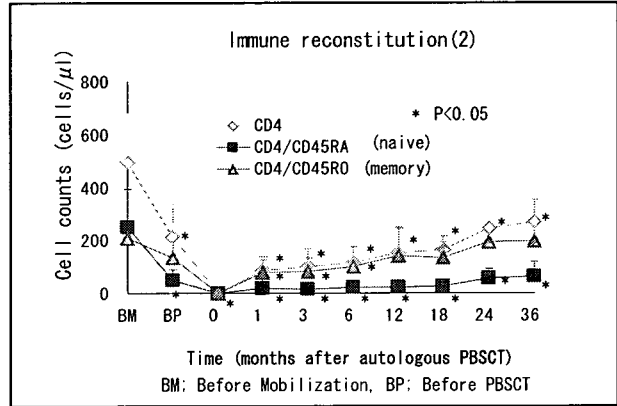
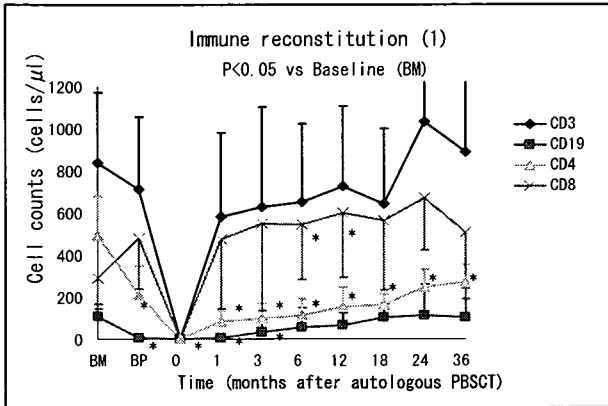
ANC, absolute neutrophil count; G(-), without G-CSF

Evolution of skin score



肺機能検査の変化(SSc)





| Toxicity | | |
|--------------------------|--------|-------------|
| Toxicity | Number | Grade (NCI) |
| ADV hemorrhagic cystitis | 2/11 | 3 |
| Herpes Zoster | 5/11 | 2-3 |
| Herpes Simplex | 1/11 | 2 |
| Bacterial pneumonia | 1/11 | 3 |
| Sepsis | 2/11 | 3 |
| CMV antigenemia | 6/11 | 1-2 |
| Cardiovascular | 4/11 | 2-4 |
| Hemorrhage | 2/11 | 3 |
| Pulmonary | 1/11 | 3 |
| Gastrointestinal | 11/11 | 1-2 |
| Hepatic | 8/11 | 1-3 |

NCI, National cancer institute; ADV, Adenovirus
CMV, Cytomegalovirus

自己免疫疾患に対する自己造血幹細胞移植

- 非可逆的な臓器障害が起きる前に施行する必要がある
- 移植関連合併症は、慎重な管理により克服可能であった
- 本治療の作用機序として、移植後に破綻した自己寛容が再構築されることよりも、高度の免疫抑制による可能性が高い

慢性GVHDにおける T_H17 細胞の役割の検討

前田 嘉信、谷本 光音

岡山大学医学部・歯学部附属病院
血液・腫瘍・呼吸器内科

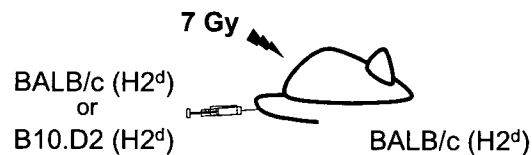
Th17 and autoimmune disease

- Komiyama et al. showed that disease progression of experimental autoimmune encephalomyelitis was severely attenuated in IL-17 knockout mice.
- Other autoimmune and allergic conditions: both collagen-induced arthritis and allergic airway hypersensitivity were suppressed in IL-17 deficient mice.

Chronic GVHD

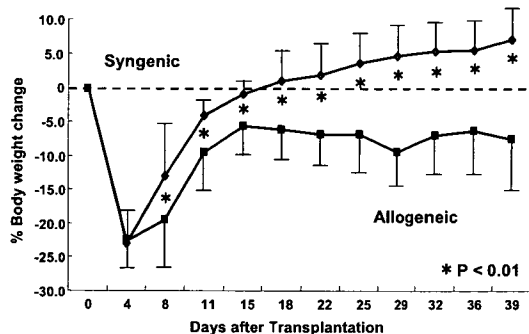
- Chronic GVHD remains the major cause of late death and morbidity after allogeneic HSCT.
- Complex and multiorgan disorder with features of autoimmunity and immunodeficiency
- There are few reports dealing with cytokine production in cGVHD and still controversial.
 - impaired Th1 and Th2 function in patients with severe cGVHD. (BMT 1995 14 695)
 - IL-6, TNF- and TGF- are associated to cGVHD. (Exp Hematol 2003 31 1044. BMT 1994 13 745. Transplantation 1999 67 59)

Bone marrow transplantation



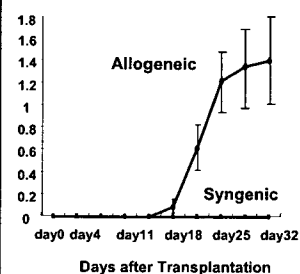
T-cell depleted Bone marrow: 8×10^6 cells
Spleen : 8×10^6 cells

Body Weight Change

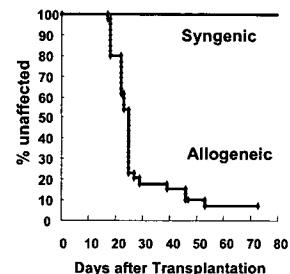


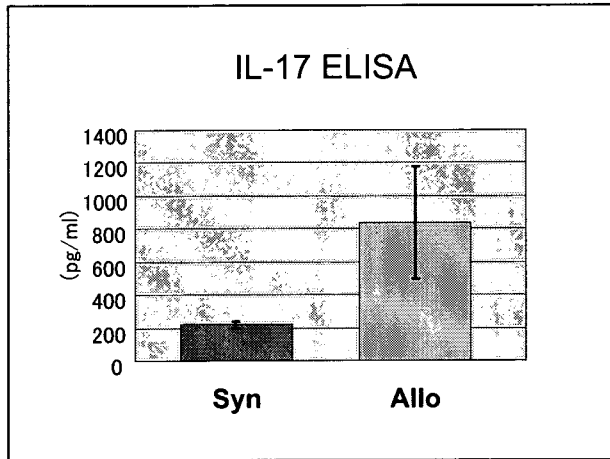
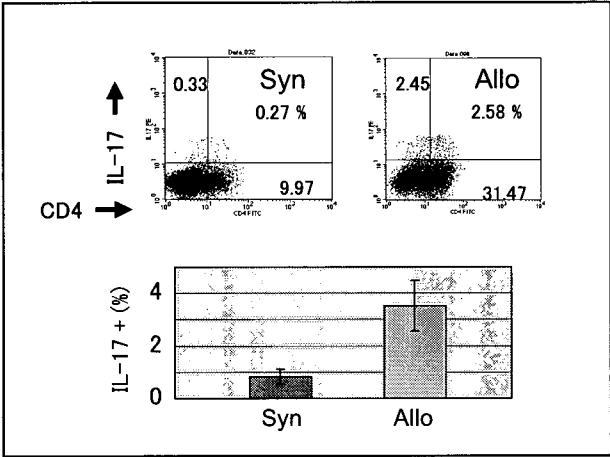
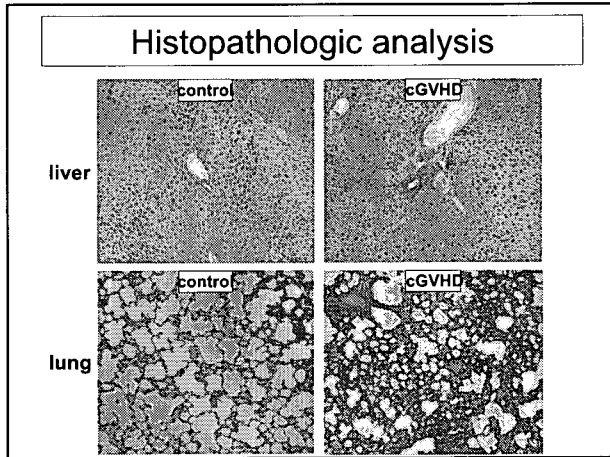
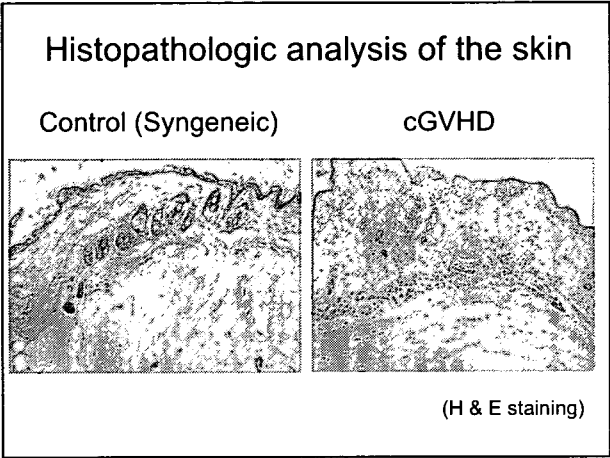
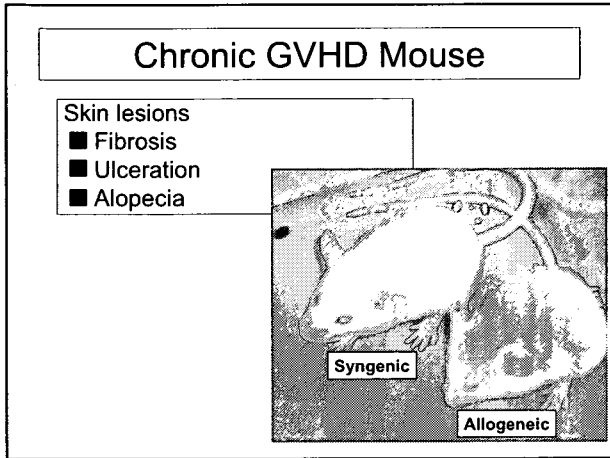
Chronic GVHD

Score of Chronic GVHD



Incidence of Chronic GVHD





Acknowledgement

University of Okayama
 Hisakazu Nishimori
 Koichiro Kobayashi
 Haruko Sugiyama
 Miyuki Kataoka
 Mitsune Tanimoto

University of Tokyo
 Yoichiro Iwakura

平成19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細胞移植の選別・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
2008年1月26-27日 於・東京医科歯科大学

造血幹細胞移植における 鉄代謝とHepcidinの動態

諫田 淳也¹, 水本智咲¹, 川端 浩¹, 一戸辰夫¹, 石川隆之¹,
土田秀行², 友杉直久², 内山 卓¹

1. 京都大学医学部附属病院 血液・腫瘍内科
2. 金沢医科大学総合医学研究所 先進医療研究部門/腎機能治療学

緒言 1

造血幹細胞移植において、移植前の鉄蓄積を示す指標 (フェリチン等) が、治療関連合併症や全生存率に、負の影響を及ぼすことは広く知られている。
また、移植後、輸血量とは無関係に鉄が蓄積し、フェリチンが上昇することや、鉄過剰蓄積により肝障害をきたし、肝GVHDとの鑑別を要する場合があることが報告されている。

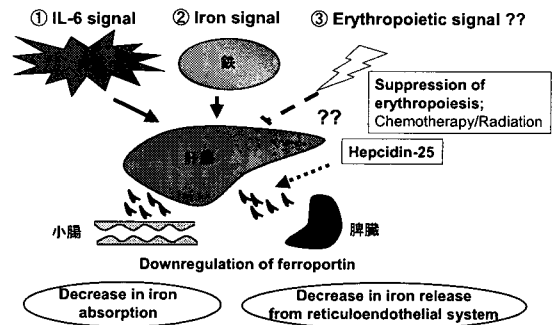
緒言 2

人体の鉄の動態はほぼ閉鎖回路であるため、鉄過剰蓄積を防ぐための厳密な生体内制御が想定されていたが、近年、ヘモクロマトーシスの原因遺伝子の研究により、肝臓で合成されるhepcidin-25が、鉄代謝制御の中心となる分子であることが示された。

また、hepcidin-25は、ELISA等による測定が不可能であったが、Mass Spectrometryを用いることにより、hepcidinを定量的に測定することがようやく可能となった。

鉄代謝とhepcidin

Hepcidinを制御する3つのシグナル



目的

今回、我々は、移植前後の鉄代謝のメカニズムを明らかにするため、造血幹細胞移植患者の移植前後のhepcidin-25を測定し、移植における鉄代謝とhepcidinの動態に関する検討を行った。

対象と方法

対象: 2006年6月から2007年7月までの間に、京都大学医学部附属病院血液腫瘍内科において成人造血器腫瘍に対して施行された、自家あるいは同種造血幹細胞移植 31 症例

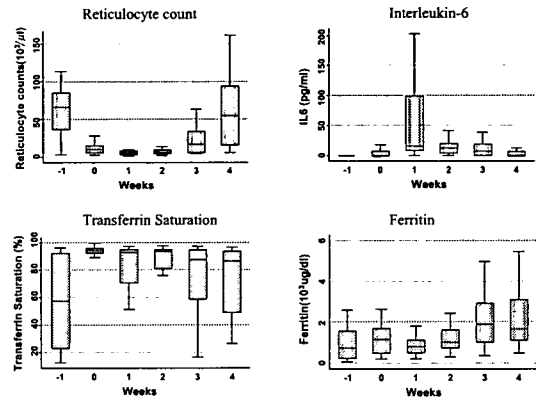
方法: hepcidin-25および鉄代謝に関連する因子を、移植1週前より移植後4週目まで、毎週測定した。
Hepcidin-25はLiquid Chromatography - tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS)を用いて定量的に測定した。

Patient and Transplant Characteristics

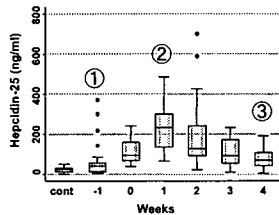
Hematopoietic stem cell transplantations@Kyoto University Hospital 2006.6-2007.7

| | | | |
|--------------------|------------|---------------------------------------|----|
| Median age (range) | 51 (23-63) | Intensity of Conditioning regimen | |
| | | Myeloablative | 17 |
| | | Reduced | 14 |
| Sex (F/M) | 15/16 | | |
| Diagnosis | | Stem cell source | |
| AML/MDS | 12 | Allogeneic | |
| MDS | 4 | BM | 18 |
| ALL | 2 | CB | 8 |
| ATL | 3 | Autologous | |
| Lymphoma | 9 | PB | 5 |
| MM | 1 | | |
| Disease status | | Usage of Hematopoietic growth factors | |
| CR | 16 | G-CSF | 15 |
| PR | 11 | EPO | 0 |
| NR | 1 | | |
| UT | 3 | | |

Sequential changes of each parameter

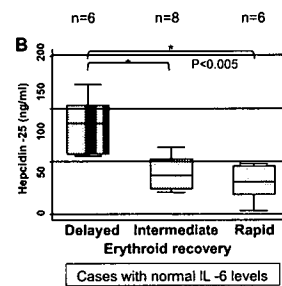


Sequential changes of serum hepcidin level



- ① 移植前: hepcidinは移植前より健常人と比較し高い傾向を示した。
→IL-6が正常の症例に限った場合、hepcidinとferritinは有意な相関を認めた ($r=0.5689$, $p=0.0041$)
- ② 移植後1週目: hepcidinはIL-6の動きと一致してpeakを示した。
→主にIL-6により制御を受けている可能性 + 造血障害?
- ③ 移植後4週目: hepcidinが高い値を示す症例が認められた。
→造血遅延の症例?

移植後4週目における赤芽球系回復とhepcidin-25の相関



hepcidin値は造血回復が遅延する群において有意に高かった。
→造血に関わる因子が、hepcidinを制御している可能性を示唆している。

結論および考察

1. SCT前後におけるhepcidinを含めた鉄代謝指標の変化が、今回の研究ではじめて明らかになった。
2. 移植前のhepcidin上昇は、輸血等の鉄蓄積によるものと考えられた。
3. さらなる移植後のhepcidin上昇は、IL-6や骨髓抑制に伴うものと考えられるが、こういったhepcidinの上昇により、逆に、網内系の鉄放出が抑制され、フェリチン上昇の原因となっている可能性がある。
4. 移植前の鉄蓄積状態を改善するためには、鉄キレート剤等による介入が必要と思われるが、その適応や効果判定にhepcidinが良い指標となるかもしれない。hepcidinの臨床的意義に関しては今後さらなる検討が必要である。

「慢性 GVHD に関連する遺伝子と遺伝子多型解析」

鬼塚真仁¹、豊崎誠子¹、猪子英俊²

1.東海大学血液内科、2.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. SNP 解析を用いた移植後合併症関連遺伝子の同定とその臨床応用に関する研究
2. ゲノムワイドな組織適合遺伝子の検索に関する研究

今回は、1.の造血幹細胞移植後合併症関連候補遺伝子解析の一環とする、慢性 GVHD の疾患関連遺伝子の研究成果を報告する。

1);自己免疫疾患関連遺伝子と慢性 GVHD

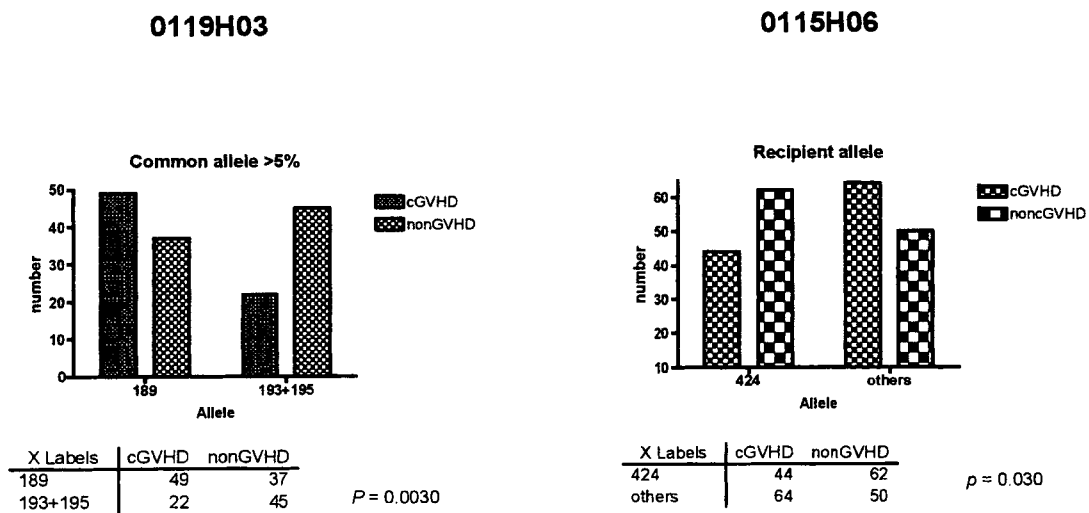
FCRL3 で最も強く自己免疫疾患発症と関連性が見いだされた SNP である-169C/T 多型性について慢性 GVHD の発症に関して検討した(1-3)。HLA 一致同胞間造血幹細胞移植症例 121 症例について検討した。レシピエントが C/C を持つ症例では 7/27 (25.9%)の慢性 GVHD 発症率であったのに対し、レシピエントが C/C 以外の遺伝子型では 47/85 (55.3%)と有意に高率に慢性 GVHD を発症していた。この結果を踏まえて、FCRL3 が 1q21-22 に存在する 5 種の FcR like family gene のなかで cGVHD 発症と最も関係しているのかどうかをマイクロサテライトマーカーを用いて、連鎖不平衡解析を行った。FCRL3 近傍の2つのマイクロサテライト多型 0119H03、0115H06 において、cGVHD 発症例と非発症例において Allele 頻度に有意差を認めた(Fig.1)。これ以外の設定したマイクロサテライトマーカーでは両者に有意差を認めなかった。FcR-like family gene において、最も cGVHD 発症に関与しているのは FCRL3 であると考えられる。

CTLA-4 は Grave's disease、橋本病、1型糖尿病といった自己免疫疾患関連遺伝子として Nature に報告された(4)。536 症例の HLA 一致同胞間同種造血幹細胞移植症例を対象に CTLA4 の 5 つの SNP が検討され、レシピエントにおいて SNP-CT60 で G allele を有する症例では再発により OS が有意に低下することが示された(5)。名古屋第一赤十字病院での HLA 一致同胞間同種造血幹細胞移植症例において、CTLA4 の遺伝子多型解析を行った。急性 GVHD 発症には関連を認めなかったが、慢性 GVHD 発症には+49、CT60 のレシピエント側の遺伝子多型性が関連していた。+49SNP では A を有する場合に有意に慢性 GVHD 発症率が高率であった($p = 0.0060$)。また CT60SNP においても A を有する場合に有意に慢性 GVHD 発症率が高率であった($p = 0.030$)。以上より、CTLA4は慢性 GVHD の疾患関連遺伝子であると考えられる。さらに、われわれの結果とほぼ同様の報告が 2007 年フランスより報告され、少なくとも2つのコホートで同様の結果が得られている(6)。

次に、自己免疫疾患関連遺伝子としてIL23R、IL17A、IL17Fについて慢性GVHDの発症と関連を検討した。レシピエントのIL17Fの遺伝子多型性のみが慢性GVHD発症に関連しCCの genotype で発症率が低かった ($p = 0.036$)。

1. Y. Kochi *et al.*, *Nat Genet* **37**, 478 (2005).
2. M. Shimada *et al.*, *British Journal of Haematology* **139**, 458 (2007).
3. *Nat Genet* **39**, 1329 (2007).
4. H. Ueda *et al.*, *Nature* **423**, 506 (2003).
5. A. Perez-Garcia *et al.*, *Blood* **110**, 461 (July 1, 2007, 2007).
6. M. Azarian *et al.*, *Blood* **110**, 4623 (December 15, 2007, 2007).

Fig. 1



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 型の組み合わせと aGVHD・GVL の関係

川瀬孝和(1) 山本 健(2) 笹月健彦(3) 森島泰雄(1)

1. 愛知県がんセンター 2. 九州大学生態防御研 3. 国際医療センター

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,DP locus の臨床的重要性が明らかにされ、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。また、最近の解析により不適合 HLA 型の組み合わせの臨床的意義が明らかとなり(Blood. 2007;110(7):2235-41)、ドナー選択の新たな選択基準となるものと期待されている。今後さらに移植成績を向上させるために不適合 HLA 型の組み合わせと GVL の関係についても明らかにする事が重要であると考えられた。今回我々は、HLA-A,B,C,DRB1,DQB1,DPB1 に関して不適合 HLA 型の組み合わせと GVL の関係について解析を試みた。

【方法】1993 年1月より 2005 年末までの期間に JMDP を介し施行された造血器悪性腫瘍(AML、ALL、CML、ML、MM)に対する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 4863 例を多変量解析(Competing Risks Regression model)の手法を用いてレトロスペクティブに解析した。

【結果及び考察】HLA-C と HLA-DP において再発のリスクを有意に下降させる HLA アリルミスマッチ コンビネーションが明らかとなった。特に HLA-DP では 6 つのコンビネーションが明らかとなった。これらのコンビネーションは aGVHD のリスクを有意に上昇させるコンビネーションとは異なっていたため、aGVHD のリスクを上昇させずに GVL を誘導しうる可能性が示唆され、更なる検証が必要である。また、HLA-C において、2つの再発のリスクを有意に下降させるアミノ酸の置換部位・種類が同定され、そのうちの1つは aGVHD を有意に上昇させるアミノ酸置換とは異なっていた。

NK受容体、サイトカイン遺伝子多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
柏瀬貢一、平安恒幸、三好佳名子、屋部登志雄

愛知県がんセンター中央病院
松尾恵太郎、川瀬孝和、森島泰雄

小寺班組織適合性部会

平成17-19年度解析項目

1. サイトカイン遺伝子多型

IL-10プロモーター領域多型の移植成績への影響

2. KIR遺伝子・HLAリガンド型適合性と移植成績

I: HLA-C-KIRリガンド不適合

II: ATG投与効果

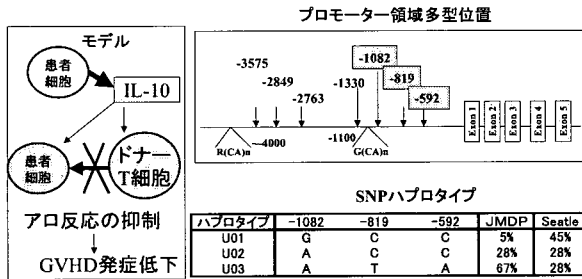
III: ドナー活性化型KIR遺伝子型 (2DS2, 3DS1)の影響

3. LILR遺伝子多型

GVHD発症との関連が推測されるHLA認識NK受容体LILRの日本人集団多型を調査し、移植成績との解析準備を完了

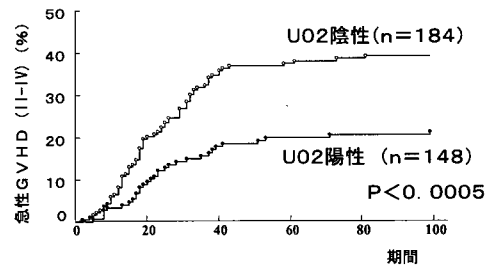
1. サイトカイン遺伝子多型

抑制型サイトカインでT細胞反応性を阻害するIL-10について解析をした
産生量を規定していると考えられるプロモーター領域多型を調べた



患者IL-10プロモーターSNPと急性GVHD (II-IV)

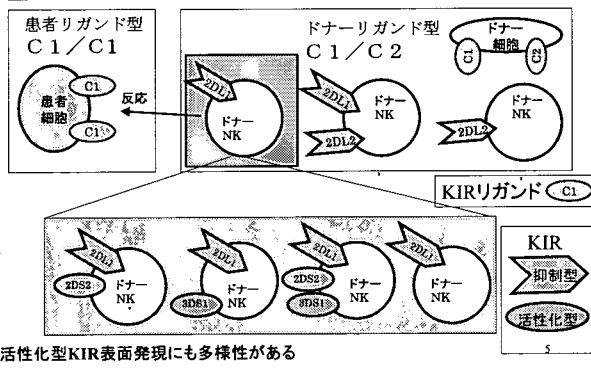
(HLA-6座アリル一致、C+M、no ATG、no TD移植332症例)



患者U2 (ACC)型 (IL-10高産生型?) は急性GVHD発症率低い

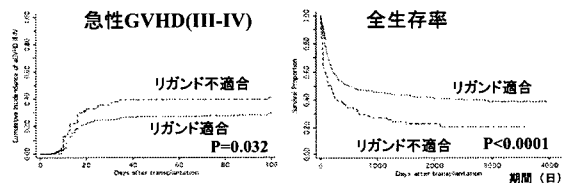
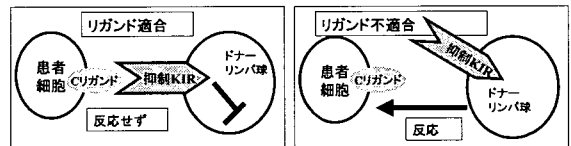
KIRリガンド不適合

患者のリガンドに対応する抑制型KIRを表面発現しないドナーNK細胞が存在する場合



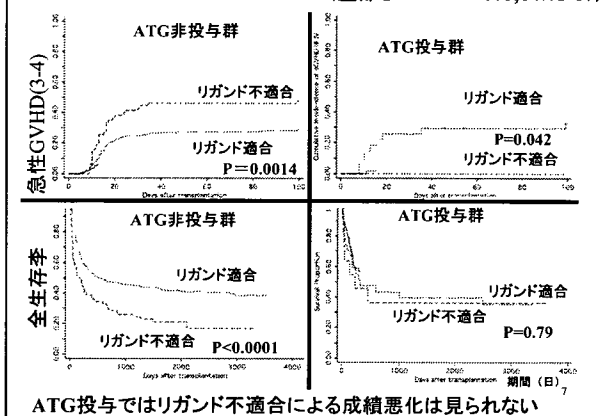
I. KIRリガンド不適合効果

(森島ら BBMT 2007;13:315-28)



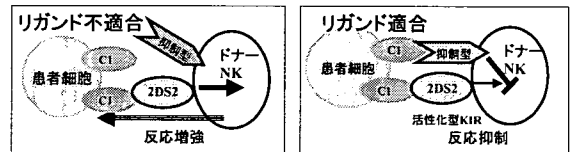
KIRリガンド不適合 (抑制型KIRが機能せずドナーNKが活性化) で成績悪化

II. ATG 投与の影響 (屋部ら BBMT 2008;14:75-87)

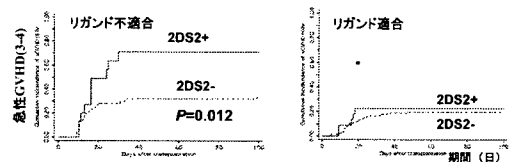


III. ドナー活性化型KIRの効果 (KIR2DS2)

(屋部ら BBMT 2008;14:75-87)



急性GVHD(III-IV)



KIRリガンド不適合時、ドナーKIR2DS2陽性で急性GVHD発症高い

III. ドナー活性化型KIRの効果 (KIR3DS1)

活性化型KIR3DS1とリガンドと推定されるHLA-Bw4I80の組み合わせが疾患感受性と関連することが報告されている。

HIV陽性者のAIDSへの進行抑制 (Martin, Nature Genetics 2002)
 HIV陽性者の日和見感染率低下 (Qi, PLoS Pathogens 2006)
 HCV陽性者のCarcinoma発症低下 (Lopez-Vazquez, J. Infect Disease 2005)
 強直性脊椎炎発症増加 (Lopez-Larrea, Arthritis Research Therapy 2006)
 Hodgkin's lymphoma発症抑制 (Besson, PLoS ONE 2007)

造血幹細胞移植への影響を検討するためにKIR3DS1とHLA-Bw4I80の組み合わせと成績の関連を調べた。

前述のようにKIRリガンド不適合では生存率が低いが、ドナーがKIR3DS1と陽性で患者がリガンドのBw4I80陽性の場合に生存率低下が見られない。ドナーNKが活性化して生存率低下を阻止する方向に機能したことが考えられる。

KIR解析のまとめ

- 1、HLA-C-KIRリガンド不適合移植で成績が悪化
- 2、ATG投与群はKIRリガンド不適合の悪化効果はない
- 3、ドナー活性化型KIRは種類により異なる効果
2DS2-急性GVHDの増悪化、3DS1-生存率低下阻止
- 4、KIR適合性から見たHLA適合性の検討が重要である

全ゲノム関連解析によるGVHD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)
愛知県がんセンター 森島泰雄・赤塚美樹
九州大学 山本健
筑波大学 猪子英俊
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・百村耕一
日本赤十字東京血液センター 佐竹 正博・相瀬 真一

2008/1/27 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。

対象症例

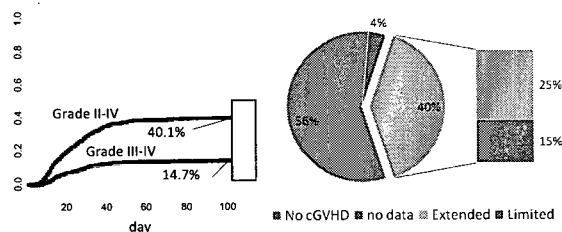
- 造血器疾患に対して日本骨髄バンクを通じて非血縁者間骨髄移植を行った。
- HLA-A, B, Cw, DR, DQ locusがgenotype levelで完全一致している。
- GVHD予防としてCyA+MTXもしくはFK506+MTXを採用している。
- 良質なgenome DNAとGVHDについてのデータが存在する。

→ 1615移植

GVHDの発症率

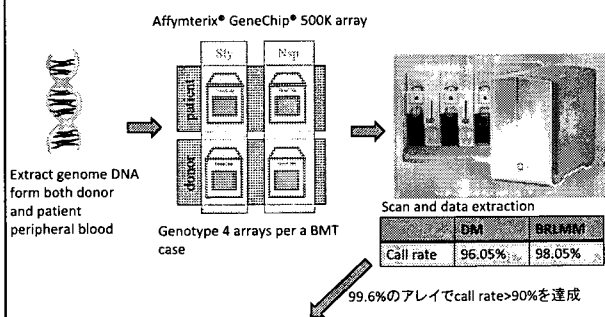
Cumulative incidence of Acute GVHD

chronic GVHD among day 100 survivors



作業の流れ

Part1: Genotyping



Part2: Data Analysis

GVHD方向のmismatchの有無

アレルの有無・数

| Patient | Donor | | | |
|---------|-------|----|----|----|
| | call | AA | Aa | aa |
| AA | - | - | + | |
| Aa | + | - | + | |
| Aa | + | - | - | |

| call | Donor/Patient | | |
|----------|---------------|----|----|
| | AA | Aa | aa |
| A allele | 2 | 1 | 0 |
| a allele | 0 | 1 | 2 |

Mismatch Allele

GVHD +

Number of Alleles

GVHD +

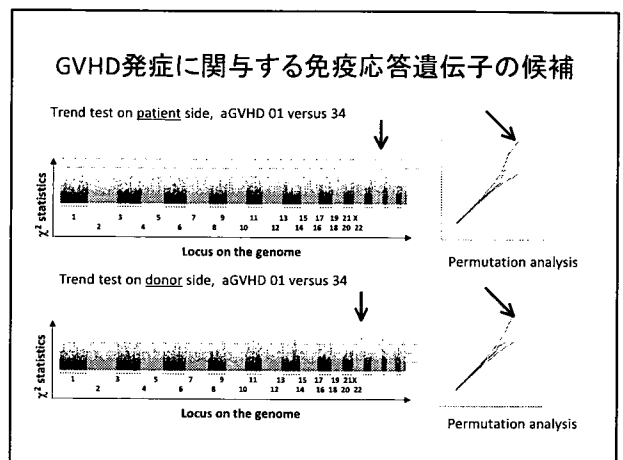
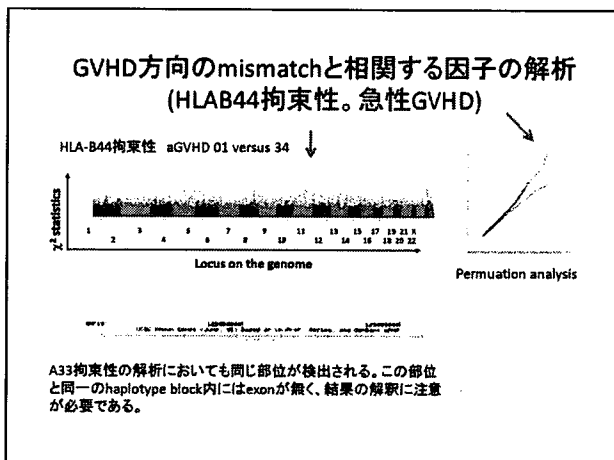
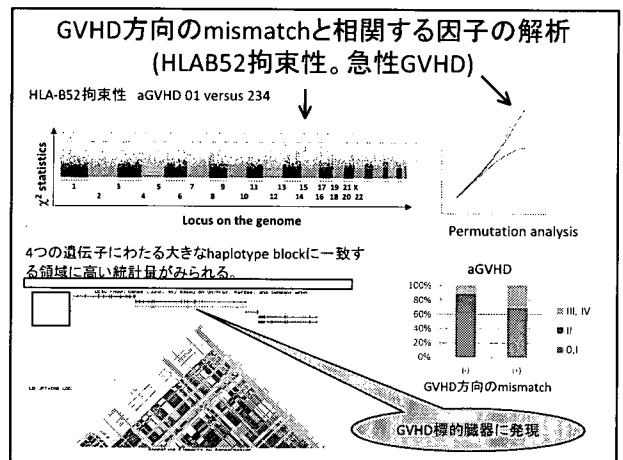
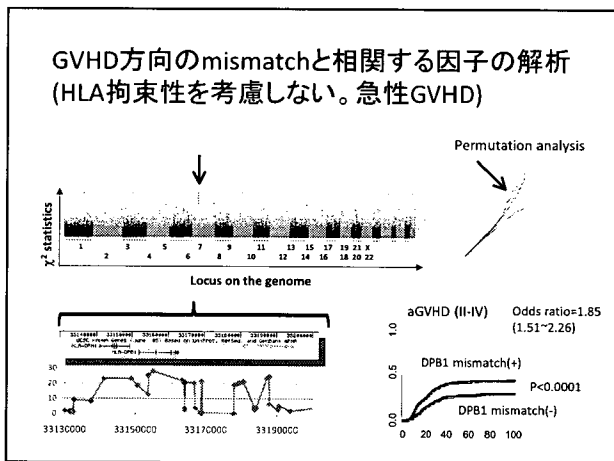
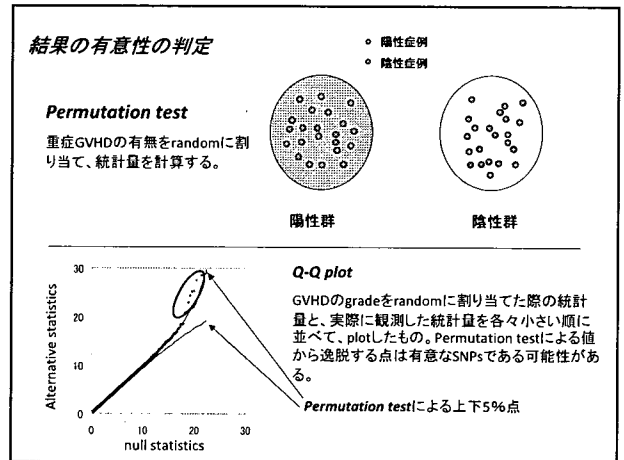
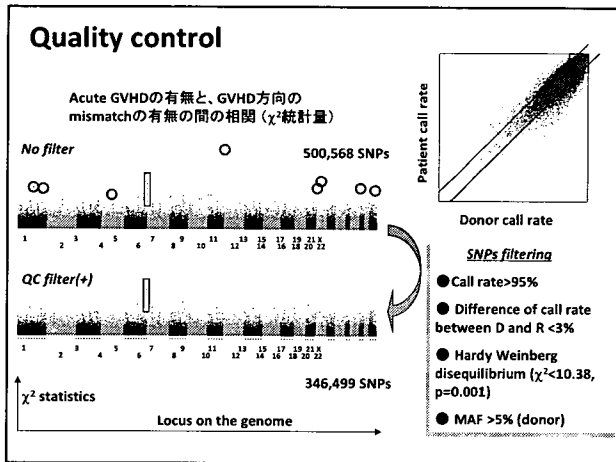
Search for mHags

Search for GVHD-regulator

Tally up the counts

Calculate the χ^2 statistics from the tables

ARMITAGE TREND TEST





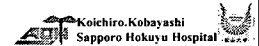
同種造血幹細胞移植時のTacrolimus血中濃度に及ぼすCYP3A5遺伝子多型の影響

札幌北楡病院 血液内科
小笠原正浩、小林直樹、笠井正晴

岡山大学医学部 血液・腫瘍内科
小林孝一郎

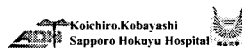
背景

- Tacrolimus (FK506) は移植後のGVHD予防のため広く用いられているが、治療域が狭く、血中濃度の個人差が大きい、有効性に幅があり、有害事象が生じやすい。
- FK506は主としてCYP3A4, 5により代謝されるため、酵素活性が血中濃度に影響を及ぼす。
- CYP3A4, 5には遺伝子多型が存在し、CYP3A5遺伝子intron3のA6986G一塩基多型(SNP)が遺伝子の発現や酵素活性に影響し、重要である。
- このSNPのA, G alleleはそれぞれCYP3A5*1, CYP3A5*3と呼ばれ、野生型(CYP3A5 *1/*1)は変異型(CYP3A5 3*/*3)に比べ遺伝子の発現が約40倍高い。

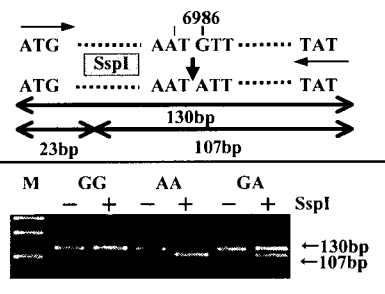


対象と方法

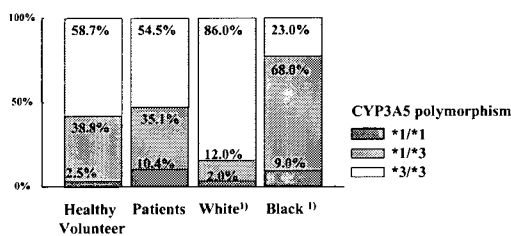
- 2000年から2005年まで当院で造血幹細胞移植を施行され、GVHD予防としてFK506を投与された77例を後方視野的に解析した。また、同意の得られた121名を健康人対照とした。
- FK506は移植day-1より、0.02あるいは0.03mg/kg/dを2分割あるいは24時間持続投与した。
- Fluconazole(400mg内服、静注)の予防投与をday-10より行った。
- CYP3A5一塩基多型はPCR-RFLP解析にて検出した。



PCR-RFLP genotyping for CYP3A5 polymorphism



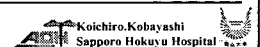
CYP3A5 genotype distribution in ethnic groups and HSCT patients



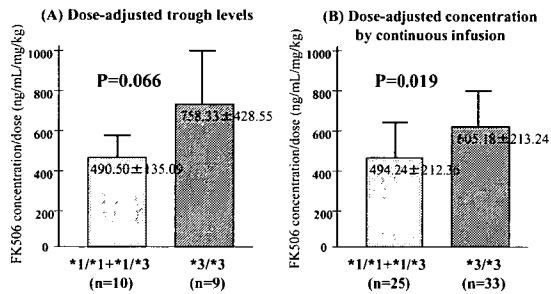
¹⁾ Macphee IA et al. Transplantation 74:1486,02

Patient Characteristics

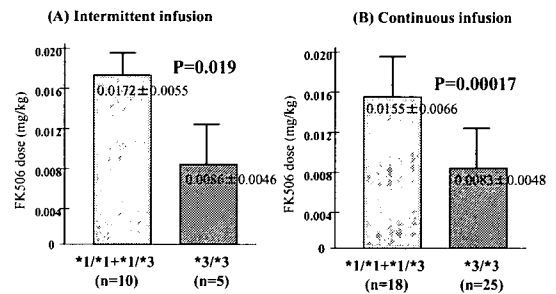
| | Total | *1/*1+*1/*3 | *3/*3 |
|----------------------|------------|-------------|-----------|
| Number (Male/Female) | 77(45/32) | 35(22/13) | 42(23/19) |
| Age | 37(16-63) | 41(19-63) | 37(16-61) |
| Body Weight | 57(40-100) | 58(40-100) | 56(41-86) |
| Disease | 0 | | |
| AML | 40 | 21 | 19 |
| ALL | 15 | 7 | 8 |
| CML | 10 | 5 | 5 |
| ML | 4 | 0 | 4 |
| MDS | 2 | 1 | 1 |
| ATLL | 2 | 1 | 1 |
| Others | 4 | 0 | 4 |
| HSCT source | 0 | | |
| R-BMT or PBSCT | 4 | 1 | 3 |
| UR-BMT | 59 | 26 | 33 |
| UR-CBT | 14 | 8 | 6 |
| Conditioning Regimen | 0 | | |
| CST | 53 | 23 | 30 |
| RIST | 24 | 12 | 12 |



CYP3A5 polymorphism and FK506 concentration (Post transplant day5-7)

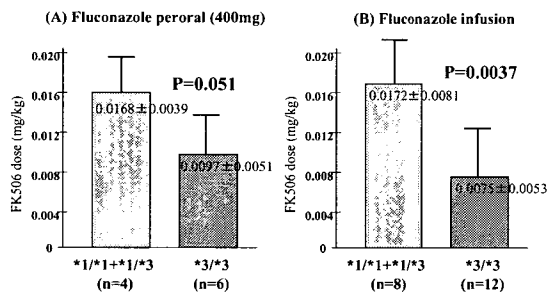


CYP3A5 polymorphism and FK506 dose required for target concentration (10-15ng/ml) (day 35-55)



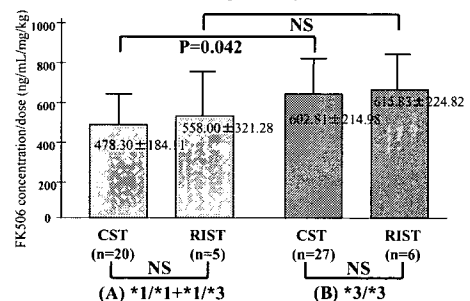
Influence of Fluconazole

CYP3A5 polymorphism and FK506 dose by continuous infusion required for target concentration (Post transplant day35-55)



Influence of conditioning (CST vs RIST)

CYP3A5 polymorphism and FK506 concentration (Post transplant day5-7)



Renal toxicity related to FK506

| CYP3A5 polymorphism | n=74 | Grade 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
|---------------------|--------------------|---------|---|---|---|---|
| *1/*1+*1/*3 | total 33 | 26 | 1 | 5 | 1 | 0 |
| | Intermittent IV 10 | 9 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | Continuous IV 23 | 17 | 0 | 5 | 1 | 0 |
| *3/*3 | total 41 | 23 | 6 | 8 | 1 | 3 |
| | Intermittent IV 9 | 4 | 1 | 1 | 0 | 3 |
| | Continuous IV 32 | 19 | 5 | 7 | 1 | 0 |

P=0.053 (comparing *1/*1+*1/*3 total vs *3/*3 total)
P=0.025 (comparing *1/*1+*1/*3 continuous IV vs *3/*3 continuous IV)

National Cancer Institute-Common Toxicity Criteria

結語

1. 造血幹細胞移植患者のFK506血中濃度はCYP3A5遺伝子多型に影響された。
2. 変異型は野生型に比べ、血中濃度が有意に高く、有効血中濃度(10~15ng/ml)を得るために必要なFK506投与量が少なかった。
3. Fluconazoleの予防投与による影響は少なく、移植前処置の影響もほとんどなかった。
4. FK506関連腎毒性は野生型に比べ変異型に有意に多く見られた。
5. CYP3A5遺伝子多型は適切なFK506投与量(特に初期)を決めるために有用であることが示唆された。

骨髓採取時に用いられるヘパリンの量について

研究者：秋山秀樹、日野雅之、骨髓移植財団ドナー安全委員会（骨髓移植推進財団ドナー安全委員会）

研究要旨

骨髓液の輸注に伴い、骨髓希釈液と抗凝固剤、主にヘパリンが患者に投与されることとなる。高用量のヘパリンの移植患者への投与は、血小板数の減少している時期でもあり、出血の危険が危惧される。このため、骨髓バンクを通じての移植においてどの程度のヘパリンが移植患者に投与されているかを検討した。対象は 2001 - 2007 年に骨髓バンクを通じて都立駒込病院で行われた非血縁者間骨髓移植 155 例と 2006 年 10 月から 2007 年 3 月までの 6 ヶ月間に骨髓バンクを通じて採取された骨髓液 445 例である。駒込病院では骨髓液中のヘパリン総量が 3 万単位以上のもの 9 例で、最高は 5 万単位であった。ヘパリン濃度としては 20 単位/ml 以上が 12 例、最高 35 単位/ml であった。輸注に伴う出血は認められていない。骨髓バンクの報告例では骨髓液中のヘパリン総量が 3 万単位以上のもの 11 例で、そのうち 3 万単位は 9 例、最高は 4 万単位であった。ヘパリン濃度としては 20 単位/ml 以上が 21 例、30 単位/ml 以上が 3 例であり、最高は 38.5 単位/ml であった。

骨髓採取マニュアル（第 3 版）において、「ヘパリンは通常 10-30 単位/ml 総量で用い、50 単位/ml 総量を超えないこと」と記載されているが、ヘパリンの添付文書においては「輸血の際の血液凝固の防止には、通常、血液 100ml に対して 400-500 単位を用いる」（ノボ・ノルディスク デンマーク）とあり、4-5 単位/ml 総量で対処可能であると考えられる。したがって、最終ヘパリン濃度は 10-15 単位/ml 総量で十分と考えられ、次期マニュアルの改訂時にヘパリン濃度について検討を加えることを提案する

A. 研究目的

骨髓液の輸注に伴い、骨髓希釈液と抗凝固剤、主にヘパリンが患者に投与されることとなる。前期の研究において希釈液についての問題を検討したが、後期では投与されるヘパリンの量について検討を加えた。

輸注直後の出血は副作用として報告されていないが、高用量のヘパリンの移植患者への投与は、血小板数の減少している時期でもあり、出血の危険が危惧される。

骨髓バンクを通じての移植においてどの程度のヘパリンが移植患者に投与されているかを検討するため骨髓移植推進財団への報告例を解析した。

B. 研究方法

2001 - 2007 年に骨髓バンクを通じて駒込病院で行われた非血縁者間骨髓移植における骨髓液に含まれるヘパリンの量を検討した。

さらに 2006 年 10 月から 2007 年 3 月までの 6 ヶ月間に骨髓バンクを通じて採取された骨髓液について、速報を基に骨髓液に含まれるヘパリン量を検討した。

（倫理面への配慮）骨髓バンク登録時には移植データの研究目的使用についての文書同意が得られている。使用した移植データは全て匿名化がなされており、個人は特定できない。

C. 研究結果

駒込病院での対象となったのは、移植 175 例中

データの欠落 20 例を除外した 155 例。骨髓液中のヘパリンが 3 万単位以上のもの 9 例で、そのうち 3 万単位は 6 例、最高は 5 万単位であった。ヘパリン濃度としては 20 単位/ml 以上が 12 例、最高 35 単位/ml であった。高用量のヘパリンのために 1 例で血漿除去が行われた。輸注に伴う出血は認められていない。

骨髓バンクの速報では報告例 467 例中データ欠損 22 例を除く 445 例が対象となった。

骨髓液中のヘパリンが 3 万単位以上のもの 11 例で、そのうち 3 万単位は 9 例、最高は 4 万単位であった。ヘパリン濃度としては 20 単位/ml 以上が 21 例、30 単位/ml 以上が 3 例であり、最高は 38.5 単位/ml であった。

D. 考察

骨髓採取マニュアル（第 3 版）において、「ヘパリンは通常 10-30 単位/ml 総量で用い、50 単位/ml 総量を超えないこと」と記載されている。しかしながら、こうした数字に確たる根拠があるわけではない。

一方、ヘパリンの添付文書においては「輸血の際の血液凝固の防止には、通常、血液 100ml に対して 400-500 単位を用いる」（ノボ・ノルディスク デンマーク）とあり、4-5 単位/ml 総量で対処可能であると考えられる。したがって、最終濃度は 10-15 単位/ml 総量で十分と考えられ、これまでの骨髓バンクのデータからも支持される数字と考える。

今回の情報を基に次期マニュアルの改訂時に

ヘパリン濃度について検討を加えることを提案すると共に、速報の形式もより報告しやすいように変更することを提案する。

E. 結論

最終ヘパリン濃度は10-15単位/ml総量で十分と考えられ、次期マニュアルの改訂時にヘパリン濃度について検討を加えることを提案する

F. 研究発表

1. 論文発表
 予定なし
2. 学会発表
 予定なし

G. 知的財産権の出願

なし

採取有核細胞数に関わる事項の検討

日本骨髄移植推進財団
医療委員会

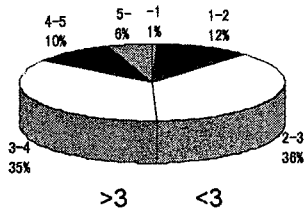
平成19年度厚生労働科学研究再生医療等研究事業 小寺班 平成20年1月27日

<解析内容>

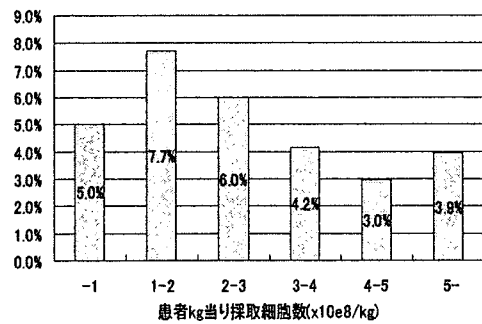
1. 採取細胞数が移植成績に及ぼす影響
2. 採取量がドナーへ与える影響
3. 採取細胞数に関わる要因
4. 非血縁者間骨髄移植を行った基本的データが利用可能な6125例を対象とした

採取細胞数

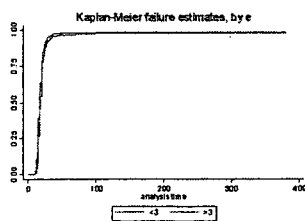
0.16 – 32.0 x 10⁸/kg



採取細胞数と生着不全の関係



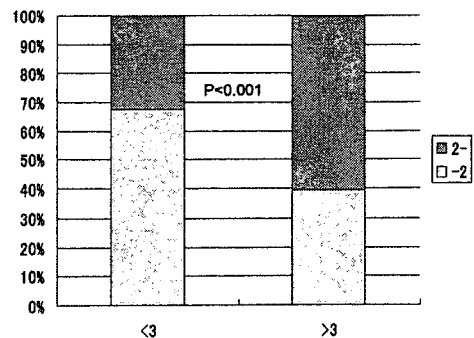
Net>500/ul



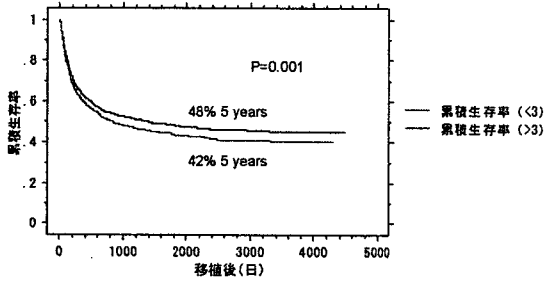
97% vs 98% @ d56 P<0.0001

中央値 19日 vs 18日 P<0.0001

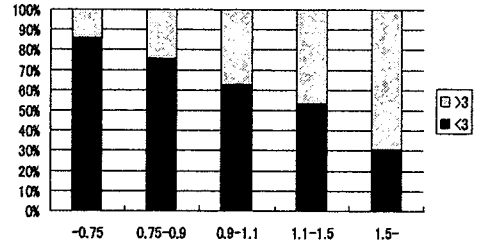
採取細胞数とaGVHD



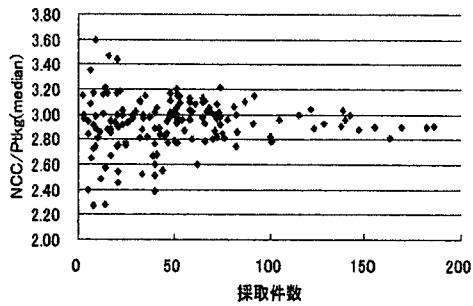
採取細胞数と生存率



ドナーと患者の体重比と採取細胞数



施設と採取細胞数



まとめ

- 採取細胞数は中央値 $2.9 \times 10^8/kg$ であった。
- 細胞数は血球数の回復、急性GVHD、生存率と有意な関係を認めたが、30日以内の早期死亡、慢性GVHDとの関連は認められなかった。
- ドナー-患者体重比は最も採取量に影響を与えていた。
- 術前ヘモグロビン値、性差は採取量に影響を与えていた。

まとめ

- 施設による差は認めるがこれが誤差の範囲である可能性があり、施設の採取経験数の多寡での傾向は認められず、現在の施設認定基準は適当であると考えられた。
- 採取上限量を少し超えるところまでは、術後検診時のヘモグロビン低下に影響を与えず、現在の採取上限基準は適当であると考えられた。

結語

- 現在のJMDPの施設認定基準、ドナー採取基準はドナー安全の観点から適切であると考えられた。
- 採取量により確保されるドナー安全と細胞数により規定される患者移植成績の双方の向上を図るためには、医療委員会、ドナー安全委員会のさらなる努力が必要である。

分担研究課題：小児ドナーの権利擁護とQOL向上に関する研究：総括報告

茨城県立こども病院 小児科 土田昌宏、小林千恵、加藤啓輔、小池和俊、2A病棟看護チーム、CLS
松井基子、臨床心理士 稲沼邦夫
東海大学再生医科学 加藤俊一、小児血液学会造血細胞移植委員会

目的:小児血液学会において作成した小児ドナーの権利擁護のための倫理指針を現場において実施浸透し、評価しさらに改善することを目的として取り組みを行った。
今回は、今研究班での総括報告を行う。

1, 平成14年4月20日 健常小児ドナーからの造血幹細胞採取に関する倫理指針が日本小児血液学会造血幹細胞移植委員会により提唱された。

同胞ドナーへの説明はHLA検査を行う前に行うべきである。両親の注意が患者に傾きやすいために同胞には潜在的に不安、孤独感、鬱状態、問題行動などが存在することが指摘されている。一方、両親の注意が同胞にも十分払われた場合には共感やいたわりの感情が養われるとの報告がある。医療チームとは独立して小児の心理専門家が各段階(HLA検査、造血幹細胞採取の説明、造血幹細胞採取の準備、造血幹細胞採取の実施後)で小児ドナーと関わるようなシステムを各施設で構築するのが望ましい。小児の心理専門家とは、小児心理士、自動精神科医、小児の権利擁護を専門とする弁護士等である。

2, 同年9月に学会所属移植施設91からアンケートが回収され、指針の浸透が不十分であることがわかった。

年齢が下がるにしたがって小児ドナーへの説明は医師単独で行っている傾向が把握された。倫理指針のうちHLA検査前の説明・同意が困難とする現場の意見が多く見受けられた。倫理指針が理念型に留まっている現状がある。

3, 平成18年 学会シンポジウムなどを開催しつつ、再度移植数の多い施設の看護師を対象に第2回アンケート調査を実施した。

結論：2006年時点で“倫理指針”の浸透・実践は1年半前2004年から進展していないものと考えられる。

問題点：移植チーム看護責任者へ指針の浸透が不十分(存在を知らない?)。看護責任者からのコメントが少なかった。移植に係わる医師看護師以外の職種の関与がやや増加するも依然少ない。ドナーへの説明同意に手順を決めていない施設が多い。造血細胞移植学会のドナー登録と移植学会ガイドライン作成をきっかけとして基本理念について、さらに各施設で議論を深める必要がある。

- 本質をついた重要なコメントが含まれていた「この倫理指針の文章は欧米における家族・親子関係の在り方をそのまま持ち込んでいるように感じます。子供は常に意識的・無意識的に親の期待に応えようとします。その傾向は特に日本では強いと思われます。親が否と思えば当然それは子供にも伝わります。それをまったく真空状態で子供に判断の一部を委ねるのは不可能あるいは酷かもしれません。子供個人としてではなく家族全体としての幸せ・家族の総意としての判断が重要で、現実的と考えます。」