

造血幹細胞移植合同班会議

厚生労働科学研究費補助金 免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業

「同種造血幹細胞移植成績の一元化登録と国際間の共有およびドナーとレシピエントの QOL を視野に入れた成績の向上に関する研究」班

日時：平成 20 年 6 月 7 日（土） 13 時 15 分-14 時 15 分

場所：愛知県がんセンター国際医学交流センター（ホール）

◇研究代表者挨拶 谷口 修一（虎の門病院）

1. 小児血縁ドナー権利擁護と家族の意思決定援助に関する研究計画

土田 昌宏（茨城県立こども病院）

2. 成人長期生存例の QOL に関わる因子の抽出とその対策に関する研究

山下 卓也、秋山 秀樹（東京都立駒込病院）

3. 血栓性微小血管障害の診断と治療法の確立に関する研究

原 雅道（愛媛県立中央病院）

4. 造血幹細胞移植後長期生存例の QOL の検討

森 毅彦（慶應義塾大学医学部）

5. ステロイド不応性急性移植片宿主病に対する早期二次治療介入の検討

豊嶋 崇徳（九州大学病院遺伝子・細胞療法部）

6. 造血細胞移植後の微生物モニタリング:高感度多項目迅速低価格微生物検出システムの開発と臨床

森尾 友宏（東京医科歯科大学大学院）

7. 白血病関連抗原を標的とした移植片対腫瘍効果増強の試み

近藤 恭夫、中尾 眞二（金沢大学医薬保健研究域医学系）

8. HLA 不一致造血幹細胞移植における NIMA 効果の再評価

一戸 辰夫（京都大学医学部附属病院）

9. HLAhaplomini 移植多施設共同試験進捗状況

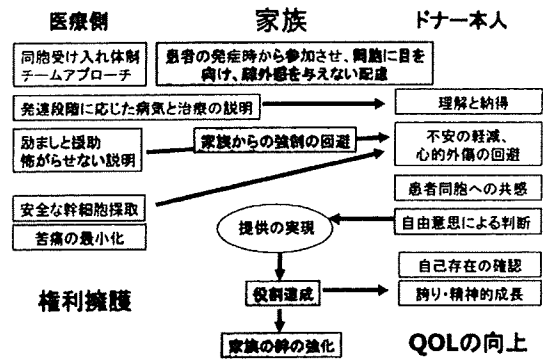
小川 啓恭（兵庫医科大学内科学講座）

厚生労働科学研究 同種造血幹細胞移植成績の一元化登録と国際間の共有
 およびドナーとレシピエントのQOLを視野に入れた成績の向上に関する研究
 谷口 修一 班長 2008年第1回研究会

小児血縁ドナーの権利擁護と家族の意思決定援助に関する研究一計画

茨城県立こども病院小児血液腫瘍科
 土田昌宏・他
 2A病棟骨髓移植センター看護チーム
 臨床心理士、チャイルドライフスペシャリスト

小児ドナーの権利擁護とQOL向上とは



背景:小児血液学会・小寺班・加藤班における研究

- 小児血液学会「小児ドナーの権利擁護のための倫理指針」について移植施設へ2回調査し、浸透は十分でなかった。
- 茨城県立こども病院においてチームアプローチを実践した。
- 小児血液学会から説明ツールとしてドナーセットが配布された。

チームアプローチ(1)

茨城県立こども病院での取り組み

- 医師からドナー候補へ説明
 - 患者の病氣と治療
 - 移植について、
 - 骨髓採取とリスク
 - HLAの意味
- 看護師・CLS
 - 保護者よりドナーの性格など事前情報収集(聞き取り)
 - 医師の説明に同席しドナーの納得度の評価
 - ドナー候補者へ採取入院の生活について説明、病棟案内。
- 病棟保育士
 - 「幼少、若年ドナー候補者」の不安の観察と援助(病院は怖くない、楽しい!)
 - 説明時と入院時に医師の説明に同席しドナー候補者の年齢に応じた納得度、不安の評価。

チームアプローチ(2)と結果

■ 小児専門臨床心理士:

医師からの骨髄提供の必要性とリスク説明後、(または同意確認後)に学童以上のドナーに、病棟から離れた場所で家族の同席なしでインタビューし、理解度と不安の評価を行う。
特に不安は表出されることが重要である。チームに報告する。
チームで提供の是非と必要な援助について情報交換する。

■ 結果

- 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(4例)
ほぼ消極的に同意したとみなせた(1例)
必ずしも同意しているとはみなせなかった(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。
理解した上での同意に疑問がみられた(4例)
解釈: 自己の役割と不利益を客観的に理解し、利他行為による家族全体がえる結果を判断するまでに精神的に成熟していないと思われる。

結果: チームアプローチに対する両親の評価 (移植実施後)

- 同胞を説得してでも提供を求めたい気持ちがあるものの、自分がドナーになった方が楽という葛藤があった。
- ドナーに目を向ける必要性をあらためて認識した。
- チームアプローチを高く評価。
- 年齢に応じた対応を希望する。
- 医師と初対面でドナーへ説明するのは疑問。
- 患者の再発などをドナーがどう受け止めるか心配。

考案: 小児ドナーの権利擁護を徹底するために

- 臨床試験、治験におけると同様
小児集団における医薬品の臨床試験に関するガイダンスICH*E11
International Conference on Harmonization (ICH) Guidelines
ドナー本人に健康上の利益が全くない。
- 各施設において原点にもどってドナー選択基準と権利擁護に関する計画書を作成し倫理委員会の審査をうけるべきである。
小児の倫理、臨床及び心理社会的な問題について精通している専門家が出席。
理解力に応じたインフォームドアセント・コンセント
危険の最少化(ドナーの年齢、健康基準、幹細胞採取法基準: 学会ガイドライン)
苦痛の最少化(採血、検査、骨髄採取手技、鎮静、鎮痛の方法)
各段階における心理的援助の具体的方法と評価方法について。

発展研究の課題と計画

- 小児血液学会小児ドナー倫理指針の浸透は進んでいるか?(再調査必要)
理念提示型で具体性が欠けていた。
 - 説明ツールの開発と有用性の評価。
 - チームアプローチの全国的な推進、専門的にかかわる看護師の養成、臨床心理士の関与促進。
 - 各施設においてドナー権利擁護の計画書の作成と倫理審査を実現。
- 患者診断時より小児同胞ドナー候補者にも参加できるように援助する。
 - 具体的計画の立案と実行

成人長期生存例のQOLに関わる因子の抽出とその対策に関する研究

東京都立駒込病院血液内科

秋山秀樹 山下卓也

腎障害

- ・免疫抑制剤による移植後早期の腎障害
- ・抗生剤他による腎障害
- ・移植終了後、長期間がたってからの障害
 - 放射線腎障害 TBI
 - 免疫抑制剤の長期投与による腎障害
 - 高血圧、糖尿病の合併
 - 移植前からの腎障害の増悪

図1

5年目でCr 1.2mg/d以上の症例

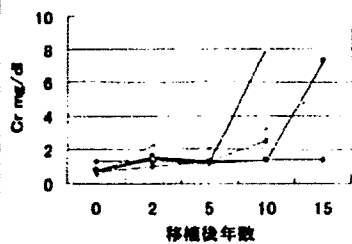
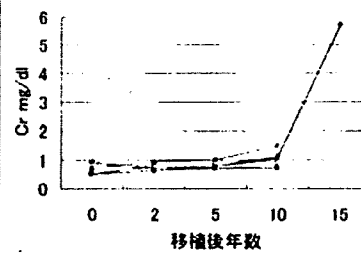
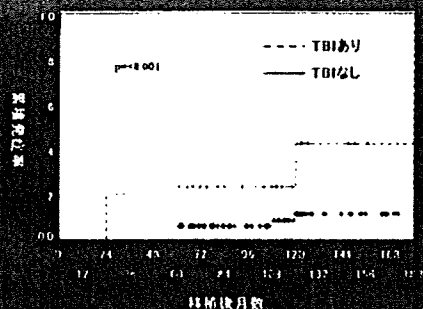


図2

5年目でCr 1.2mg/d以下、蛋白尿陽性症例



TBIの有無による慢性腎機能障害発症率



移植患者の長期予後

- ・悪性腫瘍
- ・腎臓障害
- ・糖尿病
- ・高血圧
- ・合併症その他
- ・これらのある指標にしたがって、コントロールしていく必要がある
- ・そのための調査と今後の症例の検査内容、治療内容の統一をはかる

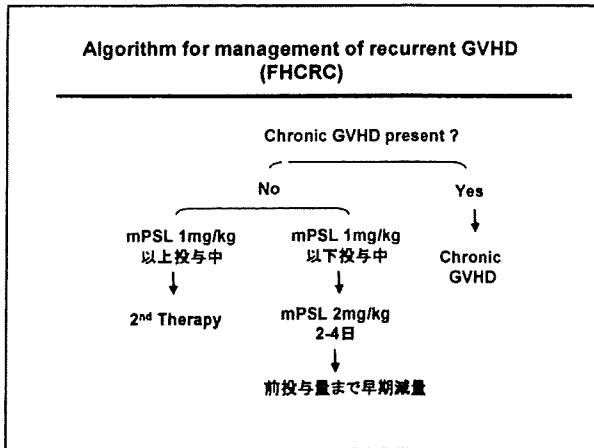
- ・ JALSOGにて調査を検討(2004)、実施せず。
- ・ 学会での調査が望ましい。
- ・ 単研究の位置付け、学会での調査のパイロットか？
- ・ 単研究参加施設のみ？
- ・ 調査の卒

- ### 調査項目(案)
- ・ 2年目と5年目の
 - 移植前、血圧
 - 血糖
 - クレアチニン、BUN、AST、ALT、AP、GTP、T-bil
 - 空腹時血糖、コレステロール、TG、LDLコレステロール
 - 尿白分画
 - 移植前、尿白
 - HCG、HbLVF(移植終了後の血液データでも可)
 - その他
 - 服薬状況

- ### 調査項目(案)
- ・ 5年目時点、ならびに5年目以降での合併症と臓器障害の程度
 - 腎障害(理由)
 - 糖尿病
 - 高血圧
 - 痛風
 - 高脂血症
 - 悪性腫瘍
 - 呼吸器障害

- ### 調査項目(移植関連)(案)
- ・ 施設、症例番号
 - ・ 移植時年齢、性
 - ・ 診断名
 - ・ 移植年
 - ・ 移植種類(血縁者、非血縁者)
 - ・ 細胞種類(BM, PBSC)
 - ・ 急性GVHD、慢性GVHDの程度
 - ・ 生存、死亡(生存期間年、月まで)

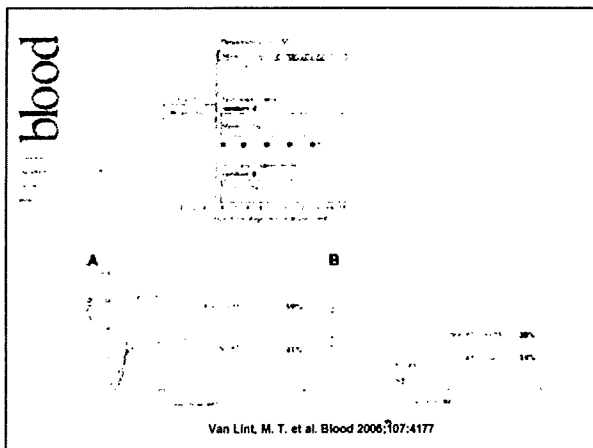
- ### 今後の動き
- ・ プロトコールの作成委員募集
 - ・ 参加施設の募集
 - ・ 調査の実施、結果解析
 - ・ メール 秋山まで hakiyama@ciek.jp



Therapy for steroid-refractory acute GVHD -physician's choice-

	Adult	Pediatric
ATG/ALG	32%	17%
MMF	20%	13%
Il-2 inhibitors	14%	15%
TNF inhibitors	9%	27%
Steroid-pulse	7%	15%
Others	18%	14%

Lee: J Clin Oncol 2008



Etanercept + mPSL as initial therapy for acute GVHD

	Steroids alone	Etanercept plus mPSL	P
Overall, no. (%)	33/99 (33)	42/61 (69)	< .001
Skin	32/68 (47)	30/37 (81)	< .001
Liver	3/15 (20)	6/9 (67)	.03
GI	21/44 (48)	29/37 (78)	.005

Levine. Blood 2008;111: 2470

2nd therapy for acute GVHD

	Skin	Gut	Liver	
Infliximab	70%	75%	25%	Couriel
Etanercept	51%	64%	40%	Busca

Infliximab

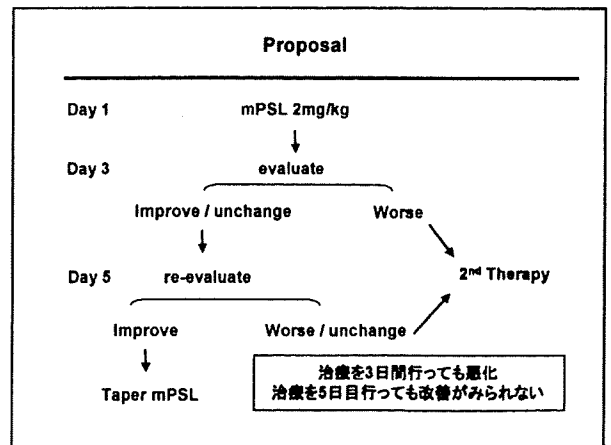
- IV (腸), 初期治療より15日, 3rd (2nd pulse), 無効, 6日後死亡
- IV (腸), 初期治療より56日, 4th (2nd pulse, 3rd MMF), 一時下痢減少, 27日後死亡

Etanercept

- IV (皮膚, 腸), 初期治療より6日, 3rd (2nd pulse), Basiliximabと併用, 一時有効, 120日後死亡
- IV (腸), 初期治療より56日, (2nd pulse, 3rd MMF), 一時下痢減少, 27日後死亡

Basiliximab+MMF

- III (皮膚, 腸), 初期治療より13日, 2nd, 一時下痢減少, 73日後死亡
- III (腸), 初期治療より22日, 2nd, 改善, 1470日生存中
- III (腸), 初期治療より11日, 3rd (2nd pulse), 無効, 5日後死亡
- III (腸), 初期治療より100日, 3rd (2nd pulse), 一時改善, 336日後死亡



造血細胞移植後の微生物モニタリング:高感度多項目迅速低価格微生物検出システムの開発と臨床研究

東京医科歯科大学大学院・医歯学総合研究科・発生発達病態学分野
同・医学部附属病院・細胞治療センター

森尾友宏

造血細胞移植後二次性免疫不全状態での日和見感染症は、移植の成否に直接関与する重要な合併症の1つである。予防的対策を講じることが何よりも重要であるが、微生物の包括的高感度迅速モニタリングによる病原体の同定→迅速かつ適切な化学療法を開始が肝要である。検出システムはまた、各施設において簡便かつ低価格に実施可能という要件を満たす必要がある。

私たちの施設では、難治疾患研究所ウイルス治療学分野清水則夫先生らが開発した高感度網羅的迅速ウイルス検査システムを用いて、核酸抽出からデータ出力まで2時間以内に、20項目程度のウイルスを、3000円以内で測定するシステムを用いて、移植後ウイルス解析を行ってきた。

145名の造血細胞移植後患者の解析では、血液ではEBV, CMV, HHV6, HHV7, BKV, AdVなどが、尿ではBKV>AdV>CMV>JCV>HHV6などが、便ではCMV, AdV, Norovirusなどが問題になることを明らかにしてきた。2種類以上の病原体の検出も稀ではなく、骨髄移植・末梢血幹細胞移植後検体では血液で18.2%、尿で23.3%にて、臍帯血移植後にはそれぞれ5.4%, 11.8%で、複数ウイルスが検出されることが明らかになった。コピー数から実際に病態に関与しているか判定可能な場合もある一方、数種類の微生物が混在する状況ではどの微生物が感染症の主体か判断に迷う場合も経験する。

現在はヘルペス属ウイルス8種類(HSV1, HSV2, VZV, EBV, CMV, HHV6, HHV7, HHV8)、ポリオーマウイルス(BKV, JCV)、ParvovirusB19, HBVに加え、RNAウイルスとしてレトロウイルス4種類とHCVを迅速定性判定できるシステムが稼働しており、検出されたウイルスについてはリアルタイムPCR測定にて定量可能である。ウイルスではさらに、HAV, HEV, GBVなどの肝炎ウイルス、AdV, Norovirus, Metapneumovirus, RS virus, Coxsackie virusなどがラインアップに加わっている。真菌・原虫では*Pneumocystis jiroveci*, *Candida*, *Aspergillus*, *Toxoplasma*, *Cryptosporidium*を測定すると共に、細菌感染及び真菌感染の一時スクリーニングとしての16S rRNA, 18SrRNAの検出系も立ち上げている。

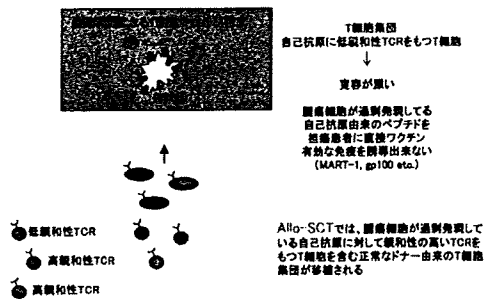
第二世代の微生物検出システムとして、直接半定量化が可能な固相化プレート網羅的PCR法の検証を進めているところであり、さらに共同研究の枠組みの中で、非PCR系であるマイクロビーズ高感度蛍光測定システムの開発にも着手している。

今までの造血細胞移植後高感度多項目迅速ウイルス測定は、当施設での移植症例のモニタリング及び、検査依頼のあった施設での症例の解析にとどまっており、臨床経過やデータが収集された前向き研究は行われてこなかった。いくつかの条件が揃えば、最終的には臨床研究として進められるべき領域であるが、そのためには移植形態や疾患を勘案した上で、どのシステムでどの程度までの微生物を網羅していくべきかの議論が重要と考えている。

白血病関連抗原を標的とした 移植片対腫瘍効果増強の試み

金沢大学大学院医学系研究科細胞移植学
近藤恭夫, 中尾真二

腫瘍細胞は患者のT細胞性免疫を再構成させる



背景

GvL 効果:

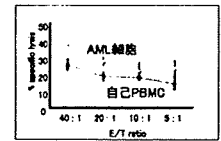
ドナー由来のT細胞が、白血病細胞上の抗原を認識して白血病細胞を傷害する。

標的抗原:

1. 同種抗原 (MHC, mHA)
2. 白血病関連抗原 (LAAs; Leukemia-associated antigens)
 - 1) Shared antigen → LAAsに対して機能的結合性が高いCTL
 - ・ 過剰発現している自己抗原
 - ・ 組織分化抗原
 - ・ CT (cancer-testis) 抗原
 - 2) Unique antigen
 - ・ 腫瘍特異的変異ペプチド

CDK (cyclin-dependent kinase) 2由来 HLA-A2402拘束性ペプチドはLAAsである

- 白血病細胞の80%はCDK2タンパクを過剰発現している。
- CDK2由来の2つの自己抗原ペプチド (CDK2₁₅₈, CDK2₁₇₈) はHLA-A2402分子によって提示される。
- HLA-A2402陽性健康者のPBMCからCDK2ペプチド特異的CTLを誘導出来る。
- HLA一致血縁者同移植ドナーの末梢血から誘導したCDK2ペプチド特異的CTLは、CDK2タンパクを過剰に発現している患者由来白血病細胞を特異的に傷害する。



Allo-SCTドナーのT細胞は、正常細胞と白血病細胞におけるCDK2由来ペプチド(自己抗原由来LAAs)の発現量の違いを認識して白血病細胞を特異的に傷害するCTLに分化しうる。

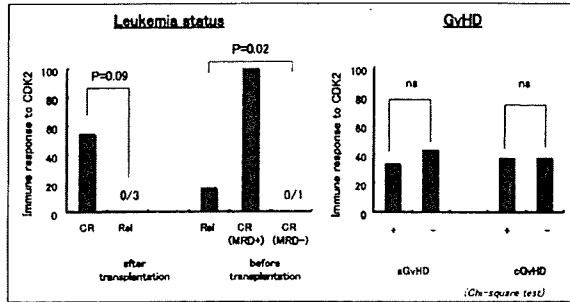
患者背景

Characteristic	No. of Patients (n=17)
Median Age (range)	49 yrs (17-67)
Male: female	8:9
Diagnosis	
AML	6
MDS	1
ALL	2
CMML	1
NHL	4
MM	1
RCC	2
Disease Status at Transplant	
Remission (CR)	8
Non-CR	9
Partial Remission	3
Refractory to Therapy	6
Graft Source	
BM/PBMC/ CB	8:3:6
Sibling Donor	5
HLA-Matched	5
HLA-Mismatched	0
Unrelated Donor	12
HLA-Matched	7

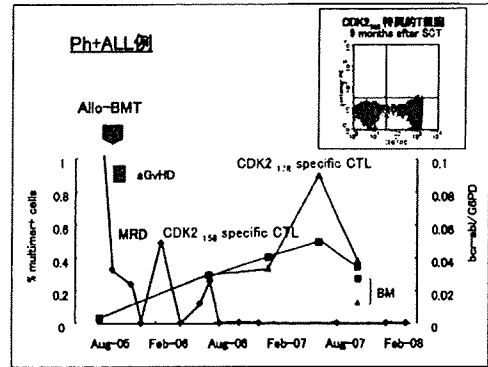
Allo-SCT後寛解を維持している12例中7例においてドナー由来CDK2特異的CTLが誘導されている

UPN	disease	HLA-A	graft	aGvHD /cGvHD	outcome	estimate time point after SCT	% CDK2 ₁₅₈ -CTL before SCT	% CDK2 ₁₅₈ -CTL after SCT	% CDK2 ₁₇₈ -CTL before SCT	% CDK2 ₁₇₈ -CTL after SCT
1	AML(M0)	24/24	CB	0/Ex	Rw	4				
2	AML(M0)	24/24	BM	1/-	Rw	4				
3	AML(M2)	24/32	BM	0/-	CR	73	0.19	0.48		
4	AML(M2)	24/31	BM	0/Ex	CR	32	0.71	0.5		
5	AML(M2)	24/24	PB	0/Ex	CR	9	1.02			
6	AML-TLD	24/2	CB	0/-	Rw	13				
7	RAER2	24/24	BM	0/Ex	CR	18				
8	CMML	24/32	BM	1/-	CR	18	0.13	0.14		
9	Ph-ALL	24/24	PB	1/-	CR	10	0.29	0.3		
10	T-ALL	24/24	BM	0/Ex	CR	9				
11	MCL	24/32	CB	1/-	CR	16				
12	MCL	24/2	CB	0/-	CR	4			0.1	
13	DLBCL	24/32	BM	0/Ex	CR	14				
14	DLBCL	24/2	CB	1/-	CR	15				
15	RCC	24/28	CB	0/-	MR	27				
16	RCC	24/24	PB	0/Ex	MR	19				
17	MM	24/24	BM	0/-	CR	9	0.87	0.76		

CDK2特異的CTLの誘導と GvL効果, GvHDとの関係



MRDとドナー由来CDK2特異的CTLの誘導



考察

- Allo-SCT時にMRDを有する血液悪性腫瘍患者では、移植時に残存する腫瘍細胞が健常ドナーナイーブCD8T細胞を刺激して、移植後CDK2ペプチド特異的CTLを誘導している可能性が示唆される。
- 健常ドナー由来のCDK2ペプチド特異的CTL前駆細胞は、移植後早期であってもわずかな抗原提示によってCTLに分化し得る。
- Allo-SCT後にCDK2由来のペプチドをワクチンとして血液悪性腫瘍患者に投与することによって、GvL効果を誘導できる可能性がある。

検討課題

1. Allo-SCT前にMRDが検出されるHLA-A24陽性血液悪性腫瘍例を対象として、移植後CDK2ペプチド特異的CTLの出現とGvL効果との間に関連があるかどうかを多施設で検討する。
2. Allo-SCT前にMRDが検出されないHLA-A24陽性ハイリスク血液悪性腫瘍例を対象として、CDK2ペプチドを用いたワクチン療法の早期臨床試験を行う。

対象

- Allo-SCTが予定されている血液悪性腫瘍患者。
- HLA-A24陽性。
- Allo-SCT前に評価可能なMRDを有する。

方法

ドナー末梢血単核細胞と、移植前及び移植後3, 6, 9, 12ヶ月後の末梢血単核細胞中のCDK2ペプチド特異的CTLをmultimer assayを用いて検出し、MRDの推移と移植後CDK2ペプチド特異的CTLの出現との間の関連性を明らかにする。

新しい造血幹細胞移植技術の開発に関する研究

6月7日(土)

14:15~15:15

1. マウスモデルを使った造血幹細胞の静脈内と骨髄内輸注法の比較..... 14:15-14:25
岡山大学 血液・腫瘍内科
品川克至、前田嘉信

2. 同種造血幹細胞移植後において生じる難治性 CMV 感染症に対する.....14:25-14:35
CMV 抗原特異的 CTL を用いた治療の安全性に関する臨床第 I 相試験
名古屋大学医学部大学院医学系研究科小児科学
高橋義行、谷ヶ崎博、小島勢二

3. 骨髄内造血細胞移植後の生着・免疫学的再構築促進等を目的とした、.....14:35-14:45
ex vivo 増殖ドナー活性化 T 細胞輸注療法(活性化 CD4-DLI など)の開発
東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・発生発達病態学分野
同・医学部附属病院・細胞治療センター
森尾友宏

4. 選択的移植片対腫瘍反応(GvTR)の誘導.....14:45-14:55
愛知県がんセンター研究所・腫瘍免疫学部
赤塚美樹・鳥飼宏基

5. 新しい骨髄移植方法の安全性と有効性に関する検討.....14:55-15:05
京都大学医学部附属病院血液・腫瘍内科
一戸辰夫(4分間)
大阪赤十字病院 血液内科
三浦康生(6分間)

6. 新しい造血幹細胞移植技術の開発に関する研究計画.....15:05-15:15
関西医科大学病理学第一講座
池原 進

マウスモデルを使った造血幹細胞の静脈内と骨髄内輸注法の比較

岡山大学 血液・腫瘍内科 品川克至、前田嘉信

1、臍帯血移植後の血球回復に対する影響

臍帯血移植(CBT)は、HLA が不一致でも移植可能でありことから、同胞あるいは骨髄バンクに適切なドナーが存在しない患者への第三の移植細胞源として急速に拡大しつつある。一方、生着不全が多いことと血球回復までの期間が長期化することが臨床的に克服課題として重要である。近年、Ikehara らの骨髄内移植 (IBM-BMT) は、生着率の向上と GVHD 抑制の両面から注目されている。我々は、CBT の欠点を骨髄内移植 (IBM-CBT) によって克服可能であるかをマウスモデルを使って検討したい。

我々は late fetal and newborn mice を用いたマウス CBT モデルにて、通常の BMT に比べ血球回復までの期間が長期化することを確認しているが、このマウスモデルを使い IBM-CBT によって

- 1) 血球回復までの期間が従来の静脈内へ輸注 (iv-CBT) より短期化するか
- 2) 造血に必要な細胞数が iv-CBT より少なくすむか

を検討したい。評価には可能な限り IVISimaging system を使って定量化したい。

2、Idiopathic pneumonia syndrome (IPS)に対する影響

IPS は、移植後に広汎な肺胞障害を生じて発症する予後不良な肺合併症の総称である。原因として感染症は否定的であり、ドナー免疫担当細胞の関与が考えられている。ドナー免疫担当細胞を含む造血幹細胞は、静脈内輸注 (iv-BMT) 後、多くが肺へ一旦トラップされる。それに対し骨髄内移植 (intra-BMT) は肺へトラップされるドナー免疫担当細胞が少ないと考えられる。

我々は、マウス BMT モデルにて、通常の iv-BMT に比べ intra-BMT 後の IPS 発症が抑制されるかを検討したい。

同種造血幹細胞移植後において生じる難治性 CMV 感染症に対する CMV 抗原特異的 CTL を用いた治療の安全性に関する臨床第 I 相試験

名古屋大学医学部大学院医学系研究科小児科学

高橋義行、谷ヶ崎博、小島勢二

1. 目的：造血幹細胞移植後の免疫抑制状態において生じる難治性 CMV 感染症に対する CMV 抗原特異的 CTL を用いた治療の安全性を評価すること。

2. CMV 抗原特異的 CTL の増殖（名古屋大学医学部附属病院内細胞調整室にて行う）

1) 造血幹細胞移植ドナーより 20-50ml 採血し、末梢血単核球(PBMC)の分離を行う。

2) 1) で調整した PBMC に CMV 抗原ペプチド、IL-2 添加し培養用バッグにて CMV 抗原特異的 CTL の誘導を行う。

3) 1) で調整した PBMC の一部に OKT3、IL-2 添加し、末梢血 T 細胞 (抗原提示 T 細胞) の調製を行う。

4) 3) で調整した抗原提示 T 細胞にエピトープペプチドを加えペプチドパルス抗原提示 T 細胞を調整する。

5) 2) で誘導した CMV 抗原特異的 CTL を回収し、等量のペプチドパルス抗原提示 T 細胞を加え、培養する。MHC-tetramer 陽性細胞数が 2×10^7 個を下回る場合、3)4) の過程を繰り返す。

3. 対象患者選択基準

・血縁者間造血幹細胞移植後の CMV 感染症で

1) 肺炎、胃腸炎、網膜炎、脳炎、あるいは肝炎の症状・所見を有し、PCR あるいは CMV アンチゲネミアが検出されるもの、あるいは、

2) 持続する発熱があり、PCR あるいは CMV アンチゲネミアが検出され、その他の病原体による感染症が否定的であるもの

・上記感染症に対し、Ganciclovir 及び・または Foscarnet にて 2 週間治療した時点で

1) CMV コピー数が 3000 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あるいは

3) CMV コピー数または CMV 抗原陽性細胞数が 1/10 以下に低下したものの CMV 感染症の症状が改善しない場合

4. 投与方法、投与量、投与期間

・ CMV 抗原特異的 CTL 2×10^5 /kg から投与を開始する。重篤な有害事象が見られなければ、1 週間おきに 1 回の割合で 3 倍ずつ増量し、合計 3 回まで投与する (2 回目 ; 6×10^5 /kg, 3 回目 ; 18×10^5 /kg)。抗 CMV 効果がみられた場合は投与細胞数を増量せず、その細胞数を 3 回目まで継続投与する。

5. 目標症例数：解析可能な難治性 CMV 感染症 5 例とする。

6. 有害事象の評価を行い報告する。

**骨髓内造血細胞移植後の生着・免疫学的再構築促進等を目的とした、
ex vivo 増殖ドナー活性化 T 細胞輸注療法（活性化 CD4-DLI など）の開発**

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・発生発達病態学分野

同・医学部附属病院・細胞治療センター

森尾友宏

骨髓内造血細胞移植においても、治療成績の向上のために様々な工夫がなされている。その1つが、ドナーリンパ球輸注(DLI)の併用であるが、ヒトにおいて生着や移植後再発予防に寄与するリンパ球亜群については未だ明らかではない。また骨髓内臍帯血移植においては、DLIの併用が行えず、生着促進や、移植後日和見感染症、再発などの状態での対応策が必要な状況である。

造血細胞移植後の生着不全、日和見感染症、再発に対しては *ex vivo* 増殖ドナー活性化 CD4T 細胞輸注療法（活性化 CD4-DLI）が有効であることが、探索的臨床研究から明らかになりつつある。この方法は、臍帯血移植にも応用が可能であり、また CD4T 細胞のみならず CD8T 細胞、全リンパ球の増殖も可能である。

本研究では、骨髓内造血細胞移植における *ex vivo* 増殖ドナー活性化 T 細胞輸注療法の役割を明らかにし、最終的にはその安全性と有効性を検証したいと考えている。

選択的移植片対腫瘍反応 (GvTR) の誘導

赤塚美樹・鳥飼宏基

(愛知県がんセンター研究所・腫瘍免疫学部)

1. 造血細胞特異的新規マイナー抗原の同定

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。日本人に应用可能な mHag として我々がこれまでに同定した ACC-1Y, ACC-2, ACC-6, ACC-1C および新規の拘束性 HLA アリルを同定した HA-1 を含めると、非血縁移植例の約 40% がこれらを標的とした免疫療法の対象となる。同胞間では遺伝的背景の近さから、この 2/3 弱が対象となるに過ぎず、依然として日本人患者へ応用しやすい新規 mHag の同定が必要と考えられる。

昨年度までの研究で、従来の連鎖解析法・発現クローニング法に加えて、HapMap データリソースを応用した新規 mHag 同定法を塚本・小川誠司博士との共同研究で開発したので、今後は本法を第一選択として用い、迅速な mHag を同定して行く予定である。

2. 免疫療法の基礎的検討

mHag 特異的細胞 T 細胞を用いた免疫療法が本研究課題の最終目標であるが、細胞療法に必要な培養液の確保、医薬品である IL-2 の必要性など、細胞療法ベースの臨床研究を行う環境は必ずしも容易ではない。

ペプチドワクチンは欧米および国内で、固形癌に対する免疫療法として十年以上臨床試験・研究で投与されてきており、その安全性はほぼ示され、またアジュバントの改良などで有効例も報告されつつある。我々は世界でもっとも頻用されているアジュバントとして Montanide を使用した mHag のワクチンの臨床研究を開始しているが、今後さらに効率の良いアジュバント (細胞も含め) および投与法を検討し臨床へのトランスレーションを行う予定である。

①mHag は MHC 拘束性に提示され、また mHag をコードする SNP に種間で差があるため、ACC-1 の免疫原性は HLA-A24 トランスジェニックマウスがあってもテスト出来ない。他方、HA-1 抗原はヒトと同じ場所にマウスでも SNP (ただしコードするアミノ酸はヒトと異なる) があり、HLA-A*0201 トランスジェニックマウスでモデル実験が可能である。

予備的実験では、Montanide アジュバントを用いた場合、HA-1^H ペプチド特異的 CTL の誘導が可能であった。HLA-A*0201 トランスジェニックマウスは繁殖に難があり、現在 C57BL/6 マウスとモデル抗原を用いて、アジュバントの検討を行っている。

また我々は過去に、セントラルメモリー形質をもつ ACC-1 特異的 CTL が末梢血より骨髄中により多く存在することを報告しており、今後マウスを用いて骨髄内にペプチドワクチンを投与する意義について検討する予定である。

②マイナー抗原ワクチン臨床試験の現状： 過去 1 年半で、49 症例がマイナー抗原タイピングを受け、うち 34 例がドナーとペアでタイピングを受けた。9 ペアで現在準備の済んでいる mHag ペプチドである ACC-1 (HLA-A*2402), ACC-2 (HLA-B*4403/B*4402), HA-1 (HLA-A*0201/A*0206) いずれかの mHag で GVL 方向の不適合を認めた。これらのうち、再発例と再発ハイリスク例について、ワクチン投与の準備を行っている。

新しい骨髄移植方法の安全性と有効性に関する検討

分担研究者 一戸 辰夫 京都大学医学部附属病院 血液・腫瘍内科
研究協力者 三浦 康生 大阪赤十字病院 血液内科

1) 灌流法による骨髄採取の安全性に関する医師・ドナーの意識調査

自動灌流採取装置を用いた骨髄採取がドナーに与える身体的影響に関して、医学的安全性の見地から検討が必要と認識されている事項に関して、日本骨髄移植推進財団認定採取施設を対象とするアンケートにより調査する。また、本研究班の分担研究者が所属する施設において骨髄採取を受ける血縁ドナー候補者を対象として、灌流法による骨髄採取の臨床試験に参加すると仮想した場合の身体的問題に関しての意識調査を実施する。

2) 間葉系幹細胞の薬物的機能賦活による骨髄内骨髄移植後の生着促進に関する研究

サラセミア症例を対象に実施された骨髄内骨髄移植の経験から (Int J Hematol 2007; 85: 73-77)、本移植法のヒトへの応用時には、造血機能回復の遅延が問題となる可能性が示唆されている。間葉系幹細胞 (以下 MSC) は、骨細胞、脂肪細胞、筋細胞、神経細胞への多分化能を示す組織幹細胞であるが、体外で増幅した自家 MSC の経静脈内投与を行うことにより、大量化学療法後の造血機能の回復が促進される可能性や (Koç ON, J Clin Oncol 2000; 18: 307)、同種移植後の生着不全例に対して、同種造血幹細胞 (HSC) と同一ドナー由来 MSC を同時に移植することによって、生着が促進される可能性 (Le Blanc K, Leukemia 2007; 21:1733) が報告されている。このように、MSC は現在未知の機序により、造血幹細胞の増幅・分化を促進する機能を有している可能性があるが、同種 HSC と同種 MSC の同時移植は再発を増加させるという報告もあり (Ning H, et al. Leukemia 2008; 22:593)、体外で増幅した MSC を臨床応用するに当たっては、他の細胞治療と同様に医学的・倫理的な問題を解決する必要がある。

そこで、本研究においては、移植片に含まれる MSC の機能を薬物によって賦活化することにより、骨髄内骨髄移植時における同種 HSC の増幅と分化を促進して移植後の生着を促進するとともに、MSC の repairing cell (修復細胞) としての機能を有効に利用することにより、移植前処置後の臓器障害修復の促進も可能とすることを目標とする。

具体的な研究内容としては、

- ①MSC の機能賦活候補分子の同定
- ②MSC の機能賦活候補分子の in vitro での作用の検討
- ③MSC の機能賦活候補分子の動物モデルを用いた作用の検討
- ④機能賦活候補分子によって処理された MSC が HSC の増幅・分化・腫瘍化に及ぼす影響の検討を予定する。

新しい造血幹細胞移植技術の開発に関する研究計画

関西医科大学病理学第一講座

池原 進

[I] 新しい骨髄移植方法を用いた難病の病因解析：

IBM-BMT と IV-BMT を用いて、有効性を比較

<造血幹細胞異常症>

- 1) 関節リウマチ (RA) のモデル：SKG マウス (Treg[↓])
RA の発症を予防 (投稿中) 並びに治療可能 (投稿予定)
- 2) 自己免疫性膵炎のモデル：WBN/Kob ラットを用いて膵炎を予防 (Clin. Exp. Immunol. 152: 1-12, 2008)。
- 3) Crohn 病のモデル (SAM/Yit マウス)
- 4) Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) のモデル (G93A mutant SOD1 Tg マウス)
- 5) 心筋症のモデル (dsg^{-/-}: sarcoglycan gene deletion マウス)

<間葉系幹細胞異常症>

骨粗鬆症、肺気腫は、MSC disorders (J. Autoimmunity 30: 108-115, 2008)

Age-associated diseases：動脈硬化症 (SAMP1), II 型の糖尿病 (db/db),

アルツハイマー病 (SAMP10),

Metabolic syndrome (ob/ob)

[II] 新しい骨髄移植方法を用いた悪性腫瘍の治療

- 1) DLI の併用：CD4⁺細胞除去 DLI (CD4⁻DLI)：
(Stem Cells 23:365-370, 2005; Stem Cells 25: 385-391, 2007)
- 2) 動物とヒトとの比較
- 3) DLI とペプチドワクチン療法等の併用
- 4) 胸腺移植の併用

[III] 灌流法の改良法の開発：サルとヒトの剖検症例を用いて

[IV] 骨髄内骨髄移植の改良法の開発

Collagen gel (CG)

[V] 最善の Conditioning regimen の決定：サルからヒトへ

- 1) MSC の補充
- 2) ATG の頻回投与
- 3) CD4⁺-DLI

[VI] 感染症の予防と対策

ア. 動物実験：サルからヒトへ

イ. 臨床研究

高感度多項目迅速微生物モニタリングシステムを用いて、日和見感染症の発生頻度、ウイルスの検出頻度、その種類などの基礎的データを集める。

[VII] 新しい骨髄移植方法に関する臨床プロトコルの作成と臨床研究の実施

- 1) Phase I Study：今年中
- 2) Phase I/II Study のためのプロトコール（現在作成中）

免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業「組織適合性に基づく非血縁同種造血幹細胞移植の成績向上に関する研究」班（H20-免疫-一般-014）

平成20年度 第1回班会議 プログラム

2008年6月7日（土）午後3時15分～午後4時15分

会場 愛知県がんセンター国際医学交流センター メインホール

1. 研究班の目的と研究課題 (5分)
主任研究者 森島泰雄 : 愛知県がんセンター中央病院
2. 全ゲノム関連解析による造血幹細胞移植の遺伝学的背景の模索 (10分)
小川誠司 : 東京大学病院「がんゲノミクスプロジェクト」
3. 非血縁者間骨髄移植におけるHLAハプロタイプ解析 (10分)
森島聡子 川瀬孝和 : 愛知県がんセンター研究所 腫瘍免疫 疫学予防部
柏瀬貢一 : 東京都赤十字血液センター
森島泰雄 : 愛知県がんセンター中央病院
4. NK細胞受容体およびサイトカイン遺伝子多型と非血縁者間造血細胞移植成績 (10分)
屋部登志雄 柏瀬 貢一 : 東京都赤十字センター
川瀬孝和 松尾恵太郎 : 愛知県がんセンター研究所 疫学予防部
森島泰雄 : 愛知県がんセンター中央病院
5. HLA不適合移植における免疫反応のin vitro解析 (10分)
村田 誠 : 名古屋大学 血液内科
6. 造血幹細胞移植における遺伝的背景の検討—同胞間移植症例を中止に— (10分)
鬼塚真仁 : 東海大学血液内科
猪子英俊 : 東海大学分子生命科学
7. 非HLA因子と造血幹細胞移植後GVHD, 拒否、感染、薬物副作用等の関連に関する研究 (10分)
佐治 博夫 : NPO HLA研究所

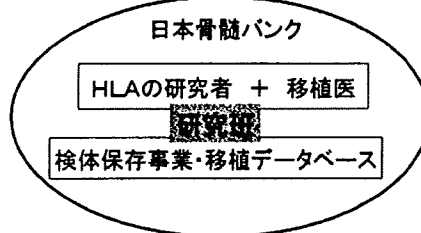
免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業
(H20-免疫一般-014) 第1回研究会議 2008.6.7

組織適合性に基づく非血縁同種造血幹細胞移植の成績向上に関する研究

主任研究者 森島泰雄 (愛知県がんセンター中央病院)
分担研究者 猪子英俊 (東海大学医学部 分子遺伝学)
笹月健彦 (国立国際医療センター)
屋部登志雄 (東京都赤十字血液センター)
小川誠司 (東京大学 血液内科)
村田 誠 (名古屋大学 血液内科)

研究協力者の先生方
JMDDP

日本骨髄バンク発足とともに厚生労働省研究班が発足



当初目的
患者とドナーのHLA型(遺伝子型)と、移植後の成績との関連を調べることで、どのHLA適合ドナーを選択したらよいかを見出す

これまでの成果

日本骨髄バンク 8000症例(H18年まで)
臨床データ(99%) 保存検体事業 約7000ペア

- 第1期(440例): HLA-A, Bの違いが生存を悪くする DRB1は影響しない。
1996年 → HLA-A, B DNAタイピングの導入 [NEJM]
- 第2期(1298例): HLA-C+HLA-DRB1の違いも生存を悪くする。
2000年 → HLA-C(オプション確認検査) [BLOOD]
- 第3期(2423例): HLA-C不適合の中でもNK細胞レセプターの不適合が生
2002年 存を悪くする
- 第4期(2500例): 移植片対白血病効果 [BBMT]
2006年 急性リンパ性白血病でHLA-C不適合
慢性骨髄性白血病でHLA-DPB1不適合
- 第5期(5210例): HLA型不適合の組み合わせのなかに、許容できない組
2007年 み合わせ(と許容できる組み合わせ)がある [BLOOD]
→ 選択ドナーが拡大する可能性

直ちに移植の臨床(ドナー選択、GVHD予防)とバンクのHLA検査に導入

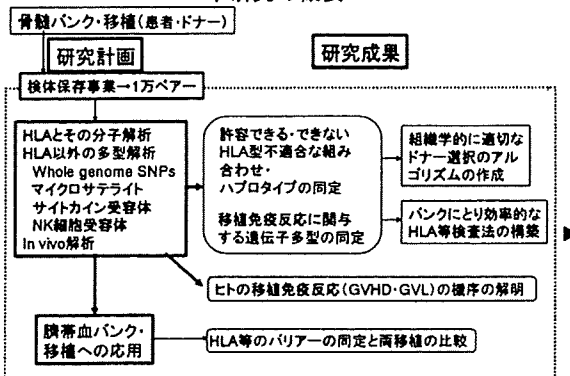
HLA座不適合と移植成績

Cox hazard modelによる多変量解析

不適合HLA座*	%	重症GVHD		移植後の死亡	
		起こり易さ	P	起こり易さ	P
HLA-A **	13	1.41倍	<0.001	1.31倍	<0.001
HLA-B **	6	1.50倍	<0.001	1.30倍	0.001
HLA-C	29	1.93倍	<0.001	1.25倍	<0.001
HLA-DRB1**	20	1.08倍	0.424	1.03倍	0.624
HLA-DQB1	23	1.10倍	0.315	1.08倍	0.195
HLA-DPB1	66	1.25倍	0.031	1.11倍	0.021

**HLA血清型適合

本研究の概要



研究テーマ(1) 組織適合度に基づくドナー選択

リスク(A-GVHD, 生存)

+++ HLA-A HLA-B HLA-Cw(KIR2DLリガンド)
++ HLA-Cw(KIR2DLリガンド適合)
+(+) HLA-DR(血清型)
- HLA-DRB1

+++ GVHD許容できないHLA型不適合組み合わせ 16組

~ ~ + 許容できるHLA型組み合わせ
許容できるHLAハプロタイプ

GVL(白血病再発抑制)効果

+ + HLA-Cw HLA-DPB1 HLA型不適合な組み合わせ?
- HLA-A HLA-B HLA-DRB1

非血縁者間末梢血幹細胞移植・膵膵血移植での検証