

## C. 研究結果

- ①移植後長期生存患者の約4割に高フェリチン血症を認め、この群において肝機能障害が有意に多かった。
- ②急性および慢性GVHDは高フェリチン血症と相関は認めなかった。
- ③血清フェリチン値とNTBI値との間には高い相関を認めた。

## D. 考察

血清フェリチン値は、鉄過剰、炎症、腫瘍、肝疾患等の多くの病態で高値を示し、移植後において必ずしも鉄過剰症の指標とはいえない可能性があるが、本研究により血清フェリチン値と鉄過剰症の直接のマーカーであるNTBI値との間には高い相関を認めたことより、血清フェリチン値は鉄過剰症の指標として有用であると考えられた。移植後長期生存患者の約4割に高フェリチン血症を認め、この群において肝機能障害が有意に多かった。移植後鉄過剰症における内分泌障害や感染症等のリスクにつき更なる検討が必要である。また移植後鉄過剰症に対する鉄キレート剤の安全性及び有効性につき検討が必要である。

## E. 結論

血清フェリチン値とNTBI値との間には高い相関を認めた。移植後においても血清フェリチン値は鉄過剰症の指標として有用であると考えられた。移植後の鉄過剰症を示す患者においては、肝機能障害が有意に多かった。

## F. 健康危険情報

該当なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Takami A, Espinoza JL, Onizuka M, Ishiyama K, Kawase T, Kanda Y, Sao H, Akiyama H, Miyamura K, Okamoto S, Inoue M, Ohtake S, Fukuda T, Morishima Y, Kodera Y, Nakao S. A

single-nucleotide polymorphism of the Fcγ receptor type IIIA gene in the recipient predicts transplant outcomes after HLA fully matched unrelated BMT for myeloid malignancies. *Bone Marrow Transplant*;46: 238-243. 2011

- 2) Miyawaki S, Ohtake S, Fujisawa S, Kiyoi H, Shinagawa K, Usui N, Sakura T, Miyamura K, Nakaseko C, Miyazaki Y, Fujieda A, Nagai T, Yamane T, Taniwaki M, Takahashi M, Yagasaki F, Kimura Y, Asou N, Sakamaki H, Handa H, Honda S, Ohnishi K, Naoe T, Ohno R. A randomized comparison of 4 courses of standard-dose multiagent chemotherapy versus
  - 3) courses of high-dose cytarabine alone in postremission therapy for acute myeloid leukemia in adults: the JALSG AML201 Study. *Blood*;117:2366-2372. 2010
  - 4) Murase M, Nishida T, Onizuka M, Inamoto Y, Sugimoto K, Imahashi N, Murata M, Miyamura K, Kodera Y, Inoko H, Naoe T. Cytotoxic T-lymphocyte antigen 4 haplotype correlates with relapse and survival after allogeneic hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant*. 2010
  - 5) Inamoto Y, Miyamura K, Okamoto S, Akiyama H, Iida H, Eto T, Morishima Y, Kawa K, Kikuchi A, Nagatoshi Y, Tanaka J, Ashida T, Hirokawa M, Tsuchida M, Mori S. Disease stage stratified effects of cell dose in unrelated BMT for hematological malignancies: a report from Japan marrow donor program. *Bone Marrow Transplant*. 2010
  - 6) Kroger N, Miyamura K, Bishop MR. Minimal residual disease following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*;17:S94-100. 2010
- ・ Imahashi N, Ohashi H, Arita K, Kitamura K,

- Takahashi T, Ozawa Y, Miyamura K. Acute lymphoblastic leukemia of male-recipient origin demonstrating female karyotype after cord blood transplantation. *J Clin Oncol*; 28:e750-752. 2010
- 7) Ohtake S, Miyawaki S, Fujita H, Kiyoi H, Shinagawa K, Usui N, Okumura H, Miyamura K, Nakaseko C, Miyazaki Y, Fujieda A, Nagai T, Yamane T, Taniwaki M, Takahashi M, Yagasaki F, Kimura Y, Asou N, Sakamaki H, Handa H, Honda S, Ohnishi K, Naoe T, Ohno R. Randomized study of induction therapy comparing standard-dose idarubicin with high-dose daunorubicin in adult patients with previously untreated acute myeloid leukemia: the JALSG AML201 Study. *Blood*;117:2358-2365. 2010
- 8) Nishiwaki S, Inamoto Y, Sakamaki H, Kurokawa M, Iida H, Ogawa H, Fukuda T, Ozawa Y, Kobayashi N, Kasai M, Mori T, Iwato K, Yoshida T, Onizuka M, Kawa K, Morishima Y, Suzuki R, Atsuta Y, Miyamura K. Allogeneic stem cell transplantation for adult Philadelphia chromosome-negative acute lymphocytic leukemia: comparable survival rates but different risk factors between related and unrelated transplantation in first complete remission. *Blood*;116:4368-4375. 2010
- 9) Nishiwaki S, Miyamura K, Kato C, Terakura S, Ohashi K, Sakamaki H, Nakao S, Harigae H, Kodera Y. Impact of post-transplant imatinib administration on Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukaemia. *Anticancer Res*;30:2415-2418. 2010
- Ishikawa Y, Kiyoi H, Watanabe K, Miyamura K, Nakano Y, Kitamura K, Kohno A, Sugiura I, Yokozawa T, Hanamura A, Yamamoto K, Iida H, Emi N, Suzuki R, Ohnishi K, Naoe T. Trough plasma concentration of imatinib reflects BCR-ABL kinase inhibitory activity and clinical response in chronic-phase chronic myeloid leukemia: a report from the BINGO study. *Cancer Sci*;101:2186-2192. 2010
- 10) Nishiwaki S, Terakura S, Yasuda T, Imahashi N, Sao H, Iida H, Kamiya Y, Niimi K, Morishita Y, Kohno A, Yokozawa T, Ohashi H, Sawa M, Kodera Y, Miyamura K. Outcome of allogeneic bone marrow transplantation from unrelated donors for adult Philadelphia chromosome-negative acute lymphocytic leukemia in first complete-remission. *Int J Hematol*;91:419-425. 2010
- 11) Imahashi N, Inamoto Y, Seto A, Watanabe K, Nishiwaki S, Yanagisawa M, Shinba M, Yasuda T, Kuwatsuka Y, Atsuta Y, Kodera Y, Miyamura K. Impact on relapse of corticosteroid therapy after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for acute myeloid leukemia. *Clin Transplant*; 24:772-777. 2010
- 12) Inamoto Y, Murata M, Katsumi A, Kuwatsuka Y, Tsujimura A, Ishikawa Y, Sugimoto K, Onizuka M, Terakura S, Nishida T, Kanie T, Taji H, Iida H, Suzuki R, Abe A, Kiyoi H, Matsushita T, Miyamura K, Kodera Y, Naoe T. Donor single nucleotide polymorphism in the CCR9 gene affects the incidence of skin GVHD. *Bone Marrow Transplant*;45:363-369. 2010
- 13) Imahashi N, Miyamura K, Seto A, Watanabe K, Yanagisawa M, Nishiwaki S, Shinba M, Yasuda T, Kuwatsuka Y, Terakura S, Kodera Y. Eosinophilia predicts better overall survival after acute graft-versus-host-disease. *Bone Marrow Transplant*;45:371-377. 2010

## 2. 学会発表

- 1) Tatsunori Goto, Emi Yokohata, Daisuke Koyama,

Koichi Onodera, Aika Seto, Keisuke Watanabe,  
Nobuhiko Imahashi Shokichi Tsukamoto,  
Yukiyasu Ozawa, Koichi Miyamura.  
Hyperferritinemia among long survivors  
after allogeneic hematopoietic stem cell  
transplantation. The 72<sup>nd</sup> Annual Meeting of  
Japanese Society of Hematology Yokohama  
2010.9

2) Aika Seto, Emi Yokohata, Daisuke Koyama,  
Koichi Onodera, Tatsunori Goto, Keisuke  
Watanabe, Nobuhiko Imahashi, Shokichi  
Tsukamoto, Haruki Sato Yukiyasu Ozawa,  
Koichi Miyamura, Masahumi Ito. High-risk  
group with esophageal carcinoma after  
allogeneic hematopoietic stem cell  
transplantation. The 72<sup>nd</sup> Annual Meeting of  
Japanese Society of Hematology Yokohama  
2010.9

3) 小山大輔、横畠絵美、小野寺晃一、後藤辰徳、  
瀬戸愛花、渡邊慶介、小澤幸泰、伊藤雅文、宮  
村耕一 同種造血幹細胞移植後における自己  
免疫性肝炎型肝合併症～同種造血幹細胞移植  
肝生検例の臨床的・病理学的検討～ 第33回日  
本造血細胞移植学会於：松山 平成23年3月

4) 後藤辰徳、横畠絵美、小山大輔、小野寺晃一、  
瀬戸愛花、渡邊慶介、小澤幸泰、宮村耕一 当  
院における同種造血幹細胞移植後長期生存者  
におけるQOLの検討 第33回日本造血細胞移  
植学会 於：松山 平成23年3月

5) 小澤幸泰、横畠絵美、小山大輔、小野寺晃一、  
後藤辰徳、瀬戸愛花、渡邊慶介、宮村耕一 40  
から55歳におけるFludarabine+Melphalanと  
CY/TBI前処置による非血縁者間骨髄移植の成  
績の比較検討  
第33回日本造血細胞移植学会 於：松山 平  
成23年3月

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

# 厚生労働科学研究費補助金（医療技術実用化総合研究事業）

## 分担研究報告書

Campath-1Hを用いた再生不良性貧血患者に対する非血縁者間移植の実施

研究分担者 千葉 滋 筑波大学大学院 人間総合科学研究科 教授

研究要旨：医師主導治験である「再生不良性貧血に対するアレムツズマブを用いた同種造血幹細胞移植療法の安全性及び有効性の検討」の分担施設となり、再生不良性貧血患者に対するCampath-1Hを用いた非血縁者間移植を行う患者選定を試みた。しかし、登録を試みようとしている時期に登録待ちの状態が続き、また登録可能になった時期には選択基準に合う患者が得られないなど、治験参加のタイミングが合わなかった。

今回の医師主導治験では、非血縁者間移植の場合、血清レベル照合でHLAが完全一致していることが条件とされていた。しかし移植適応があるにも関わらず、この条件を満たす非血縁者ドナーが見つからない患者は依然として少なからず存在する。今後はよりHLA合致度の低い非血縁者ドナーからの移植が検討される必要があると思われた。

一方、新たな移植片の開拓も求められることが痛感された。臍帯血造血幹細胞増幅技術開発は、その一端である。我々はこれまでに、免疫不全マウスへの移植実験などにより、臍帯血中の造血幹細胞および未分化造血前駆細胞の試験管内増幅が可能であることを示してきた。この知見に基づいて、筑波大学附属病院内に設置された細胞プロセッシング・ファクトリー（CPF）での臨床試験用GMP基準書の作成を行い、製品標準書と製造管理・衛生管理・品質管理の3基準書においてGMP 関連書式の整備を筑波大学CPFでの使用に適した形式として整備した。

### A. 研究目的

Campath-1Hを用いた再生不良性貧血患者に対する非血縁者間移植の実施を目的とした。一方、これに合致する候補者が見いだされない時期に、移植片の安定確保に向けて取り組むため、造血幹細胞増幅技術の開発を行うことも副次的な目的とした。

### B. 研究方法

医師主導治験である「再生不良性貧血に対するアレムツズマブを用いた同種造血幹細胞移植療法の安全性及び有効性の検討」の分担施設となった。治験参加候補者を収集するため、県内の関係施設から移植適応のある再生不良性貧血患者情報を得た。移植適応のある再生不良性貧血で、HLA一致血縁ドナーがいない者はすべて候補者として適格基

準に照らした。

一方、Notch受容体の可溶性リガンドであるDelta1-Fcを用いて臍帯血を培養して幹細胞を増幅し、別ユニットのフレッシュな臍帯血と同時に移植を行うことで、生着に必要な細胞数が確保し難い臍帯血を安全に利用することを可能にする、という臨床プロトコールに向けた基盤整備を行った。

### （本研究における倫理面への配慮）

医師主導治験の計画について、改めて筑波大学附属病院臨床研究倫理委員会に諮り承認を得た。

### C. 研究結果

医師主導治験である「再生不良性貧血に対するアレムツズマブを用いた同種造血幹細胞移植療法



の安全性及び有効性の検討」の分担施設となり、2名の再生不良性貧血患者について試験参加について検討した。しかし、1名は移植を行うべき時期に登録待ちの状態が続いており、医師主導治験に参加ができなかったため、Campath-1Hを用いた移植は実施できなかった。他の1名はHLAが合致する非血縁者ドナーが見いだされず、結局臍帯血移植を行った。

一方、臍帯血幹細胞の増幅技術については、GMPグレードの細胞製剤を製造することが可能な様に改編作業を行い、GMP作業に関わる書式整備を迅速に整備した。一方、理研細胞バンクより入手し融解後に分離したヒト臍帯血CD133陽性細胞を3週間培養後の総細胞数の増加率は、Delta1-Fcの有無に左右されなかった。しかし、混合コロニー形成細胞総数は、Delta1-Fc非存在下では3週間の培養では変化しなかった。一方、Delta1-Fc存在下では3週間の培養で約100倍に増加した。

#### D. 考察

本事業がその一部として行われた医師主導治験では、非血縁者間移植の場合、血清レベル照合でHLAが完全一致していることが条件とされていた。しかし移植適応があるにも関わらず、この条件を満たす非血縁者ドナーが見つからない患者は依然として少なからず存在する。今後はよりHLA合致度の低い非血縁者ドナーからの移植が検討される必要があると思われた。

一方幹細胞増幅関連では、臨床用に採取され凍結された臍帯血を用いた検討で、過去に実験用に採取された臍帯血を用いて行った結果を完全に際限することができた。

#### E. 結論

医師主導治験である「再生不良性貧血に対するアレムツズマブを用いた同種造血幹細胞移植療法の安全性及び有効性の検討」の分担施設となった。治験に参加することでCampath-1Hを用いた再生不良性貧血患者に対する非血縁者間移植を行おうとしたが、登録がかなわなかった。

一方、我々が開発した臍帯血造血幹細胞増幅についての基盤技術に基づいて、臨床研究を行う準備を行った。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Kozuma Y, Sawahata Y, Takei Y, Chiba S, Ninomiya H. Procoagulant properties of microparticles released from red blood cells in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Br J Haematol*, in press
- 2) Sakata-Yanagimoto M, Sakai T, Miyake Y, Saito TI, Maruyama H, Morishita Y, Nakagami-Yamaguchi E, Kumano K, Yagita H, Fukayama M, Ogawa S, Kurokawa M, Yasutomo K, Chiba S. Notch2 signaling is required for proper mast cell distribution and mucosal immunity in the intestine. *Blood* 117(1):128-134, Jan 6, 2011
- 3) Taoka K, Okoshi Y, Sakamoto N, Takano S, Matsumura A, Hasegawa Y, Chiba S. A nonradiation-containing, intermediate-dose methotrexate regimen for elderly patients with primary central nervous system lymphoma. *Int J Hematol* 92(4):617-623, Nov, 2010.
- 4) Miyake Y, Okoshi Y, Machino T, Chiba S. Treatment of central nervous system lymphoma in rats with intraventricular rituximab and serum. *Int J Hematol* 92(3):474-480, Oct, 2010
- 5) Doki K, Homma M, Hori T, Tomita T, Hasegawa Y, Ito S, Fukunaga K, Kaneko M, Chiba S, Sumida T, Ohkohchi N, Kohda Y. Difference in blood tacrolimus concentration between ACMIA and MEIA in samples with low haematocrit values. *J Pharm Pharmacol* 62(9):1185-1188, Oct, 2010
- 6) Sugimoto K, Maekawa Y, Kitamura A, Nishida J, Koyanagi A, Yagita H, Kojima H, Chiba S, Shimada M, Yasutomo K. Notch2 signaling is

required for potent anti-tumor immunity in vivo. *J Immunol* 184(9):4673-4678, May 1, 2010

- 7) Nakahara F, Sakata-Yanagimoto M, Komeno Y, Kato N, Uchida T, Haraguchi K, Kumano K, Harada Y, Harada H, Kitaura J, Ogawa S, Kurokawa M, Kitamura T, Chiba S. Hes1 immortalizes committed progenitors and plays a role in blast crisis transition in chronic myelogenous leukemia. *Blood* 115(14):2872-2881, Apr 8, 2010

## 2. 学会発表

- 1) Nagata Y, Sanada M, Yoshida K, Nakaya T, Matsubara A, Obara N, Ishiyama N, Miyawaki S, Takita J, Chiba S, Shih L-Y, Koefler HP, Ogawa S. Profiling of multiple gene mutations in myelodysplastic syndromes using high-throughput resequencing combined with barcode labeling. The American Society of Hematology 52nd Annual Meeting. 4-7 Dec, 2010 (Orlando, USA)
- 2) Yoshida K, Sanada M, Nagata Y, Kawahata R, Kato M, Matsubara A, Takita J, Mori H, Ishiyama K, Ishikawa T, Miyawaki S, Obara N, Chiba S, Ogawa S: Whole exome analysis of myelodysplastic syndromes using next-generation resequencing technology. The American Society of Hematology 52nd Annual Meeting. 4-7 Dec, 2010 (Orlando, USA)
- 3) Sakata-Yanagimoto M, Chiba S. Notch signaling as a mediator of myeloid differentiation and leukemic transformation. 第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会合同大会. 7-10 Dec, 2010 (神戸)
- 4) Chiba S, Distinct roles of Notch signaling and Hes-1 on hematopoietic cell differentiation fate. Notch and Stem Cells. 3-6 Oct, 2010 (Athens, Greece)
- 5) Nishikii H, Nakamura N, Kondou Y, Kojima M,

Takizawa J, Hasegawa Y, Okoshi Y, Suzukawa K, Yokoyama Y, Obara N, Sakata-Yanagimoto M, Noguchi M, Aoki M, Andou K, Chiba S. Retrospective analysis of BCL2+DCBCL in the rituximab era: multi-center analysis. 第72回日本血液学会総会. 24 - 26 Sep, 2010 (横浜)

- 6) Taoka K, Okoshi Y, Suzukawa K, Takano S, Matsumura A, Hasegawa Y, Chiba S. Outcome of methotrexate-based chemotherapy without whole-brain-irradiation in elderly PCNCL. 第72回 日本血液学会総会. 24 - 26 Sep, 2010 (横浜)

## G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし



### Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表



## 研究成果の刊行に関する一覧表

### 書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
宮本敏浩, 赤司浩一	白血病幹細胞に対する治療	直江知樹	血液疾患 最新の治療 2011-2013	南江堂	東京	2010	32-36
Yokoyama Y, Nishikii H, Chiba S,	Hematopoietic differentiation from embryonic stem cells.		"Embryonic Stem Cells"	INTECH	Viena	2011	in press

### 雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Tanimoto T, Uchida N, Kodama Y, Teshima T, Taniguchi S.	Safety of workers at the Fukushima Daiichi nuclear power plant.	Lancet			2011
Masuoka K, Uchida N, Ishiwata K, Takagi S, Tsuji M, Yamamoto H, Seo S, Matsuno N, Wake A, Makino S, Yoneyama A, Taniguchi S.	What is the upper age limit for performing allo-SCT? Cord blood transplantation for an 82-year-old patient with AML.	Bone Marrow Transplant	46	619-620	2011
Araoka H, Baba M, Takagi S, Matsuno N, Ishiwata K, Nakano N, Tsuji M, Yamamoto H, Seo S, Asano-Mori Y, Uchida N, Masuoka K, Wake A, Taniguchi S, Yoneyama A.	Monobactam and aminoglycoside combination therapy against metallo-beta-lactamase-producing multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa screened using a 'break-point checkerboard plate'.	Scand J Infect Dis.	42	231-233	2010
Nakasone H, Kanda Y, et al.	Prophylactic impact of tyrosine kinase inhibitor administration after allogeneic stem cell transplantation on the incidence and severity of chronic graft versus host disease in patients with Philadelphia chromosome-positive leukemia.	Leukemia	24	1236-1239	2010

Kako S, <u>Kanda Y</u> , et al.	A decision analysis of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for adult patients with Philadelphia chromosome-negative acute lymphoblastic leukemia in first remission who have an HLA-matched sibling donor.	Leukemia	25	259-265	2010
Nakasone H, <u>Kanda Y</u> , et al.	Association between serum high-molecular-weight adiponectin level and the severity of chronic graft-versus-host disease in allogeneic stem cell transplantation recipients.	Blood	117(12)	3469-3472	2011
Ishiyama K, Okumura H, Yamazaki H, Kondo Y, Waseda Y, Kotani T, Takami A, <u>Nakao S</u> .	Intensive chemotherapy for a relapsed ALL patient who received living-donor lobar lung transplantation	Bone Marrow Transplant	In press		2011
Espinoza JL, Takami A, Onizuka M, Kawase T, Sao H, Akiyama H, Miyamura K, Okamoto S, Inoue M, Ohtake S, Fukuda T, Morishima Y, Koderia Y, <u>Nakao S</u> .	A single nucleotide polymorphism of IL-17 gene in the recipient is associated with acute GVHD after HLA-matched unrelated BMT	Bone Marrow Transplant	In press		2011
Ohata K, Espinoza JL, Lu X, Kondo Y, <u>Nakao S</u> .	Mycophenolic Acid inhibits natural killer cell proliferation and cytotoxic function: a possible disadvantage of including mycophenolate mofetil in the graft-versus-host disease prophylaxis regimen	Biol Blood Marrow Transplant	17	205-213	2011
Numata A, <u>Miyamoto T</u> , Ohno Y, Kamimura T, Kamezaki K, Tanimoto T, Takase K, Henzan H, Kato K, Takenaka, K, Fukuda T, Harada N, Nagafuji K, Teshima T, Akashi K, Harada M, Eto T.	Long-term outcomes of autologous PBSCT for peripheral T-cell lymphoma: retrospective analysis of the experience of the Fukuoka BMT group.	Bone Marrow Transplant	45	311-316	2010
Oku S, Takenaka K, Kuriyama T, Shide K, Kumano T, Kikushige Y, Urata S, Yamauchi T, Iwamoto C, Shimoda HK, <u>Miyamoto T</u> , Nagafuji K, Kishimoto J, Shimoda K, Akashi K.	JAK2 V617F uses distinct signalling pathways to induce cell proliferation and neutrophil activation.	Br J Haematol	150	334-344	2010

Mori Y, Nagasaki Y, Kamezaki K, Takenaka K, Iwasaki H, Harada N, <u>Miyamoto T</u> , Abe Y, Shimono N, Akashi K, Teshima T.	High incidence of false-positive Aspergillus galactomannan test in multiple myeloma.	Am J Hematol	85	449-451	2010
Mori Y, <u>Miyamoto T</u> , Nagafuji K, Kamezaki K, Yamamoto A, Saito N, Kato K, Takenaka K, Iwasaki H, Harada N, Abe Y, Teshima T, Akashi K.	High incidence of HHV6-associated encephalitis/myelitis following a second unrelated cord blood transplantation.	Biol Blood Marrow Transplant	16	1596-1602	2010
Kikushige Y, Shima T, Takayanagi S, Urata S, <u>Miyamoto T</u> , Iwasaki H, Takenaka K, Teshima T, Tanaka T, Inagaki Y, Akashi K.	TIM-3 is a promising target to selectively kill acute myeloid leukemia stem cells.	Cell Stem Cell	7	708-717	2010
Inamoto Y, <u>Miyamura K</u> , Okamoto S, Akiyama H, Iida H, Eto T, Morishima Y, Kawa K, Kikuchi A, Nagatoshi Y, Tanaka J, Ashida T, Hirokawa M, Tsuchida M, Mori S.	Disease stage stratified effects of cell dose in unrelated BMT for hematological malignancies: a report from Japan marrow donor program.	Bone Marrow Transplant.	Epub ahead of print		2010
Ohtake S, Miyawaki S, Fujita H, Kiyoi H, Shinagawa K, Usui N, Okumura H, <u>Miyamura K</u> , Nakaseko C, Miyazaki Y, Fujieda A, Nagai T, Yamane T, Taniwaki M, Takahashi M, Yagasaki F, Kimura Y, Asou N, Sakamaki H, Handa H, Honda S, Ohnishi K, Naoe T, Ohno R.	Randomized study of induction therapy comparing standard-dose idarubicin with high-dose daunorubicin in adult patients with previously untreated acute myeloid leukemia: the JALSG AML201 Study.	Blood	117	2358-2365	2010
Nishiwaki S, Inamoto Y, Sakamaki H, Kurokawa M, Iida H, Ogawa H, Fukuda T, Ozawa Y, Kobayashi N, Kasai M, Mori T, Iwato K, Yoshida T, Onizuka M, Kawa K, Morishima Y, Suzuki R, Atsuta Y, <u>Miyamura K</u> .	Allogeneic stem cell transplantation for adult Philadelphia chromosome-negative acute lymphocytic leukemia: comparable survival rates but different risk factors between related and unrelated transplantation in first complete remission.	Blood	116	4368-4375	2010
Sakata-Yanagimoto, M, Sakai T, Miyake Y, Saito TI, Maruyama H, Morishita Y, Nakagami-Yamaguchi E, Kumano K, Yagita H, Fukayama M, Ogawa S, Kurokawa M, Yasutomo K, <u>Chiba S</u> .	Notch2 signaling is required for proper mast cell distribution and mucosal immunity in the intestine.	Blood	117 (1)	128-134	2011

Sugimoto K, Maekawa Y, Kitamura A, Nishida J, Koyanagi A, Yagita H, Kojima H, Chiba S, Shimada M, Yasutomo K.	Notch2 signaling is required for potent anti-tumor immunity in vivo.	J Immunol	184 (9)	4673-4678	2010
Nakahara F, Sakata-Yanagimoto M, Komeno Y, Kato N, Uchida T, Haraguchi K, Kumano K, Harada Y, Harada H, Kitaura J, Ogawa S, Kurokawa M, Kitamura T, Chiba S.	Hes1 immortalizes committed progenitors and plays a role in blast crisis transition in chronic myelogenous leukemia.	Blood	115 (14)	2872-2881	2010



#### IV. 研究成果の刊行物・別刷



## 6

## 白血病幹細胞に対する治療

宮本敏浩, 赤司浩一

## 1 白血病幹細胞とは

腫瘍組織は多種多様な細胞集団から構成されているが、腫瘍細胞中のごく一部の細胞のみが、免疫不全マウスに移植すると腫瘍を再現しうることが示された。この概念は急性骨髄性白血病 (acute myelogenous leukemia : AML) において初めて証明され、これらの細胞が白血病幹細胞 (leukemic stem cell : LSC) として定義されている。

白血病幹細胞は正常造血幹細胞と同様に、自己複製能と分化能を有することで、白血病を構成する多様な白血病細胞集団を供給する。AML を構成する大多数の白血病芽球はきわめて速いスピードで増殖し、細胞分裂を繰り返しているため、抗癌薬に対する感受性が高く、初回の寛解導入療法により 70 ~ 80% と高率に寛解を得る。しかし寛解後に、引き続き強化療法を繰り返し施行しても、治療終了後や治療過程において白血病細胞の再増殖を認めて再発することがある。その結果、標準リスク群 AML においても 5 年無病生存率は約 30 ~ 40% に留まることが現状である。

これは正常造血幹細胞と同様に、白血病幹細胞は増殖速度が遅く細胞周期静止期にあるため抗癌薬への感受性が低く死滅せずに残存し、さらには抗癌薬耐性を獲得して白血病再発へ結びつくと想定されてきた。すなわち、AML の治療成績の向上には、白血病幹細胞自身を標的としたより有効な治療法の開発が求められ、そのためにも白血病幹細胞の特定とその細胞特性の解明が必要である。以下では、白血病幹細胞を標的とした新規治療法開発の例を解説する。

## 2 白血病幹細胞に特異的に発現する表面抗原

## a. 白血病幹細胞の純化

1997 年 Dick らは、免疫不全マウスにヒト

AML 細胞を移植し、ヒト白血病を再構築させる異種移植の実験系を確立した<sup>1)</sup>。マウスに白血病を再構築させうる細胞集団として同定されたのは、正常造血幹細胞の表面抗原と同一の CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup>細胞分画内で、ここに白血病幹細胞活性が濃縮されていた (図 1)。

さらに白血病幹細胞を純化する試みが行われてきたが、白血病幹細胞の表現型および機能性は正常造血幹細胞ときわめて類似しているため、2つの幹細胞群を区別することは困難であった。しかし近年のマルチカラー・フローサイトメトリー技術の進歩により、CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup>細胞をさらに細分画することが可能となり、白血病幹細胞をさらに多次元の複数の抗体で標識して、正常造血幹細胞と微妙に異なる表面形質の発現パターンの差異を識別する試みがなされていく。現時点においては、正常の造血幹細胞と白血病幹細胞の表面形質は CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup>HLA-DR<sup>-</sup>CD71<sup>-</sup> に関しては同一であり、CD90 (Thy-1) と CD117 (Kit) は正常の造血幹細胞に発現しているが、白血病幹細胞には発現していないと報告されている (図 2)。

## b. 造血幹細胞と白血病幹細胞との識別

AML に対する分子標的療法として、ヒト化抗 CD33 抗体に抗腫瘍性抗生物質を結合した gemtuzumab ozogamicin の有効性が示されている。CD33 は骨髄球系細胞に広く発現する糖蛋白で、造血幹細胞にはその発現は弱陽性または認められないと報告されている。一方、AML の CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup>細胞は CD33 を発現しており、この CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup>CD33<sup>+</sup>細胞分画は高率にマウスに白血病を再現させうることを報告し、白血病幹細胞を標的とした治療の可能性が示された<sup>2)</sup>。

また、正常の CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup>細胞には発現していない、または発現が弱い CD123 (IL-3R)<sup>3)</sup>、CLL-1 (C-type lectin-like molecule-1)<sup>4)</sup>、CD96<sup>5)</sup> 等の表面抗原が、AML の CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup>

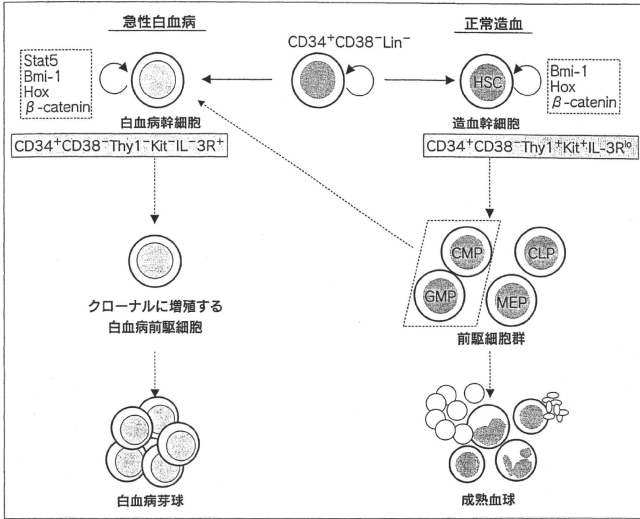


図1 正常造血幹細胞システムと白血病幹細胞システム  
 白血病発症には、自己複製能を有する造血幹細胞が白血病幹細胞化する場合と、分化の方向性が決定した前駆細胞が自己複製能を再獲得して白血病幹細胞システムを形成する場合とがある。

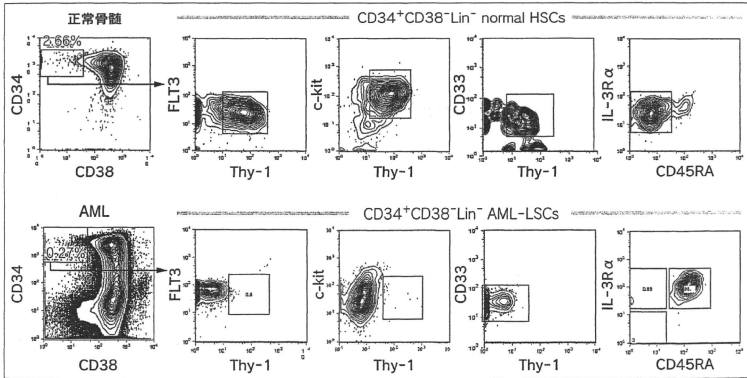


図2 正常骨髄および急性骨髄性白血病骨髄の幹細胞分画の表面抗原  
 造血幹細胞は、骨髄中の  $CD34^+CD38^-Thy-1^+Kit^+CD33^{lo}FLT3^+IL-3R^0CD45RA^-Lin^-$  分画に濃縮して存在する。一方、白血病幹細胞は  $CD34^+CD38^-Lin^-$  細胞内で、 $Thy-1^-CD33^+FLT3^+IL-3R^0CD45RA^+$  の異なる表現形質を示す。また、CLL-1 や CD96 が高発現していることも報告されている。  
 (Bonnet D, et al : Nat Med 3 : 730-737, 1997)

細胞には発現しており、これらの抗原陽性で純化した CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup>細胞分画は白血病幹細胞活性が高いことが報告されている。CD123 に関して、ジフテリア毒素と IL-3 を結合させた蛋白が *in vitro* で AML 細胞を選択的に抑制し、*in vivo* においても免疫不全マウスへの AML の生着抑制効果、また、AML 細胞の生着後の腫瘍量の減少にも効果が示されており、臨床応用が期待されている<sup>6)</sup>。CLL-1 は接着分子で、その詳細な機能は明らかではないが、白血病幹細胞に発現する分子のひとつである。抗 CLL-1 抗体は、白血病幹細胞への直接的な傷害効果は認められていないが、細胞表面から細胞内へ取り込まれる現象が見られており、抗腫瘍性抗生物質を結合するなどの工夫により、殺細胞効果を持つ抗体製剤への開発が期待できる<sup>4)</sup>。

このように、造血幹細胞と白血病幹細胞とを識別する表面抗原を標的とすることで、より効率的な治療法の開発が期待できる。

CD47 はマクロファージ系の貪食細胞表面に発現する SIRPA (signal-regulatory protein alpha) のリガンドで、CD47 と SIRPA の結合により貪食シグナルを抑制する。CD47 は、正常造血幹細胞と比べて AML 幹細胞に高発現しており、また AML 細胞における CD47 発現レベルと予後とが逆相関することが明らかにされている<sup>7)</sup>。すなわち、CD47 の高発現により、白血病細胞が貪食されることから回避することで、白血病発症および維持に関与することが示唆される。CD47 に対するモノクローナル抗体により CD47-SIRPA の結合を阻害させると、AML 細胞は貪食され、かつ免疫不全マウスへの白血病幹細胞の生着が阻害されるが、正常造血幹細胞では影響されないことが報告された<sup>7)</sup>。

以上から、今後は AML における CD47 特異的な標的治療の開発が可能かもしれない。

### 3 白血病幹細胞のニッチと接着因子

正常造血幹細胞と同様に、白血病幹細胞も“白血病ニッチ”と呼ばれる微小環境を必要とし、その場で自己複製や生存に必要なシグナルを伝達され、自己の未分化性を維持することが想定されて

きた。

#### a. VLA-4, CXCR4

Matsunaga らは、接着因子 VLA-4 陽性群 AML において、有意に寛解導入率は低く再発率は高いことを報告している<sup>8)</sup>。彼らは、マウスモデルを用いて抗 VLA-4 抗体と抗癌薬の併用の有効性を検討したところ、抗 VLA-4 抗体の併用療法群のほうが、抗癌薬単独群よりもきわめて良好な治療成績を得ている<sup>8)</sup>。

Rombouts らは、白血病細胞のマウスへの移植において、接着因子 CXCR4 を高発現する AML では容易に生着が得られ、CXCR4/SDF-1 シグナルにより細胞分化が抑制されて白血病細胞の生存を促進させることを報告した<sup>9)</sup>。また、ヒト白血病細胞を移植したマウスに、抗癌薬やチロシinkinase 阻害薬に CXCR4 アンタゴニスト (AMD3100, AMD3465) を併用投与することで治療効果が改善することが報告されている<sup>10,11)</sup>。すなわち、CXCR4 を高発現する白血病細胞は、骨髄ストローマ細胞との接着により細胞死から免れ、そのため予後不良となることと推測される。

#### b. CD44

白血病幹細胞に接着因子 CD44 が高発現していることが報告され、CD44 に対する抗体療法の有効性が示唆されている<sup>12,13)</sup>。CD44 に対する抗体の投与は、正常な造血幹細胞の生着には影響を与えないが、ヒト AML 細胞の分化を誘導するとともに、免疫不全マウスへの生着を阻害した。さらに CD44 欠損マウス由来の造血幹細胞に白血病特異的遺伝子である *BCR-ABL* キメラ遺伝子を導入した場合、経静脈的移植では生着が得られず、直接骨髄内に注入した場合のみ生着することが示された<sup>13)</sup>。すなわち、*BCR-ABL* を発現している白血病幹細胞は、骨髄へのホーミングと生着に関して CD44 に対する依存性が正常な造血幹細胞よりも高いことが明らかとなった。

これらの結果により、CD44 は白血病幹細胞に対する抗体療法の有力な標的候補と期待される。

#### c. 骨髄ニッチへの接着

Ishikawa らは、T 細胞、B 細胞の欠損に加えて NK 細胞活性を著しく低下させた NOD/SCID/*γc*<sup>null</sup> (NOG) マウスを開発し、種々の疾患モデルとしてのヒト化マウスを作製している<sup>14,15)</sup>。

NOG マウス骨髄に生着したヒト白血病細胞の分布を検討したところ、白血病 CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup>細胞は、造血幹細胞ニッチである骨髄両端の骨皮質と接する場所に存在し、大多数が細胞周期静止期に留まっていた。さらに白血病を発症したマウスに抗癌薬 cytarabine (Ara-C) を投与したところ、大多数の白血病細胞は死滅するにもかかわらず、白血病幹細胞である CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup>細胞の約 70 ~ 80% は骨芽細胞周辺で生存していた。

これらの実験により、白血病幹細胞は骨髄ニッチに接着することで静止期に留まり未分化性を維持し、抗癌薬に対して抵抗性を獲得することが示された。白血病幹細胞を支持するニッチの細胞学的特性の詳細な解明、および接着因子に修飾を加えることによって、dormant な白血病幹細胞をニッチから遊離させる新たな治療法の開発が可能になるかもしれない。

#### 4 白血病幹細胞で機能する自己複製機構

白血病幹細胞は正常造血幹細胞と表面抗原が類似していることから、造血幹細胞が白血病化の最標的候補であることが想定されてきた。また、造血幹細胞の能力として既に獲得している自己複製機構が、白血病幹細胞の自己複製能として巧みに利用されれば、造血幹細胞レベルで白血病化する可能性も高まる。実際に、ホメオボックス遺伝子 *HoxB4* や *HoxA9*、 $\beta$ -catenin-Wnt シグナル系、ポリコム遺伝子群 *Bmi1* など、正常造血幹細胞の自己複製能に重要な役割を担う因子として同定されているが、AML においてこれらの遺伝子の過剰発現が子孫不良因子としても報告されている<sup>16,17)</sup>。また種々の動物実験モデルにおいても、これらの遺伝子群のキメラ遺伝子や過剰発現により、白血病が発症することが報告されている<sup>16,18)</sup>。

白血病幹細胞の自己複製能を阻害する薬剤は、正常造血幹細胞も阻害する可能性は免れない。したがって白血病幹細胞を選択的に死滅させるには、直接の治療標的となる白血病幹細胞の自己複製や生存に関与する分子の同定が必要である。以下に解説するように、正常と白血病幹細胞の自己複製機構の異同を明らかにすることで、健全な造

血幹細胞に影響を及ぼすことなく、白血病幹細胞を特異的に分子標的とする治療法の開発が可能となるかもしれない。

#### a. PTEN

白血病など多くの腫瘍細胞において不活化されている phosphatase and tensin homolog (PTEN) に関して、正常造血幹細胞と白血病幹細胞の自己複製に大きな相違を認める報告がなされた<sup>19,20)</sup>。PTEN は、PI3 キナーゼ経路を不活化することで、細胞の生存増殖を真に制御する癌抑制遺伝子である。成体マウスにおいて PTEN の欠失を誘導すると、骨髄増殖性疾患様の病態を呈した後に、引き続き急性白血病へと移行した。PTEN 欠失マウスで、造血幹細胞分画は一時的には増殖するものの、その後は迅速に減少し、多系統の造血再構築機能も喪失した。PTEN 欠失マウスから造血幹細胞分画を純化し、マウスへ移植しても造血再構築機能は認めず、また白血病も発症しなかった。これに対して白血病または PTEN 欠損マウスの骨髄全体を移植すると、高頻度でマウスは白血病を発症した。さらに、PTEN 欠損マウスでは、PTEN の下流エフェクターの mTOR を阻害する rapamycin の投与により白血病性幹細胞は死滅するが、正常な造血幹細胞の機能は回復することが示された<sup>19)</sup>。

この結果は、正常な造血幹細胞の維持には PTEN が必要で、白血病幹細胞には不要であることを示している。この差を標的として rapamycin などの mTOR 阻害薬を用いると、正常造血幹細胞を傷害せずに白血病幹細胞を取り除くことが可能であるかもしれない。

#### b. NF- $\kappa$ B

NF- $\kappa$ B は炎症性刺激に関与する転写因子であり、AML 白血病幹細胞においては恒常的に活性化されるが、正常造血幹細胞では活性化されていない。NF- $\kappa$ B の活性化を抑制するプロテアソーム阻害薬は、正常造血幹細胞には影響せず、AML CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup>細胞にアポトーシスを誘導することが示された<sup>21)</sup>。

また、NF- $\kappa$ B の阻害法として、I $\kappa$ B キナーゼの阻害も考えられる。通常、NF- $\kappa$ B は、その阻害蛋白質 I $\kappa$ B と結合して抑制されているため、I $\kappa$ B を不活化する I $\kappa$ B キナーゼを阻害すると

NF- $\kappa$ B が抑制される。parthenolide は I $\kappa$ B キナーゼ阻害活性を持ち、AML 幹細胞に選択的にアポトーシスを誘導することが示されており、今後の展開に期待される<sup>20)</sup>。

## 5 白血病幹細胞を標的とした治療法の開発

白血病を構成する白血病幹細胞以外の大多数の白血病芽球は限定された分裂能しか持たず、いずれはアポトーシス死するので、理論的には白血病幹細胞のみを死滅させれば白血病を治癒に導くことは可能と考えられる。しかし、白血病幹細胞は正常造血幹細胞と表面抗原や機能が酷似しているために、正常造血幹細胞を阻害することなく、白血病幹細胞を選択的に死滅させる薬剤の開発が必要である。そのためには、正常造血幹細胞と白血病幹細胞で微妙に異なる表面抗原、白血病幹細胞においてのみ活性化している分子、機能する自己複製機構の異同を明らかにすることが重要である。

## 文 献

- Bonnet D, et al : Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nat Med* 3 : 730-737, 1997
- Taussig DC, et al : Hematopoietic stem cells express multiple myeloid markers : implications for the origin and targeted therapy of acute myeloid leukemia. *Blood* 106 : 4086-4092, 2005
- Jordan CT, et al : The interleukin-3 receptor alpha chain is a unique marker for human acute myelogenous leukemia stem cells. *Leukemia* 14 : 1777-1784, 2000
- van Rhenen A, et al : The novel AML stem cell associated antigen CLL-1 aids in discrimination between normal and leukemic stem cells. *Blood* 110 : 2659-2666, 2007
- Hosen N, et al : CD96 is a leukemic stem cell-specific marker in human acute myeloid leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 104 : 11008-11013, 2007
- Hogge DE, et al : The efficacy of diphtheria-growth factor fusion proteins is enhanced by co-administration of cytosine arabinoside in an immunodeficient mouse model of human acute myeloid leukemia. *Leuk Res* 28 : 1221-1226, 2004
- Majeti R, et al : CD47 is an adverse prognostic factor and therapeutic antibody target on human acute myeloid leukemia stem cells. *Cell* 138 : 286-299, 2009
- Matsunaga T, et al : Interaction between leukemic-cell VLA-4 and stromal fibronectin is a decisive factor for minimal residual disease of acute myelogenous leukemia. *Nat Med* 9 : 1158-1165, 2003
- Rombouts EJ, et al : Relation between CXCR-4 expression, Flt3 mutations, and unfavorable prognosis of adult acute myeloid leukemia. *Blood* 104 : 550-557, 2004
- Nervi B, et al : Chemosensitization of acute myeloid leukemia (AML) following mobilization by the CXCR4 antagonist AMD3100. *Blood* 113 : 6206-6214, 2009
- Zeng Z, et al : Targeting the leukemia microenvironment by CXCR4 inhibition overcomes resistance to kinase inhibitors and chemotherapy in AML. *Blood* 113 : 6215-6224, 2009
- Jin L, et al : Targeting of CD44 eradicates human acute myeloid leukemic stem cells. *Nat Med* 12 : 1167-1174, 2006
- Krause DS, et al : Requirement for CD44 in homing and engraftment of BCR-ABL-expressing leukemic stem cells. *Nat Med* 12 : 1175-1180, 2006
- Ishikawa F, et al : Development of functional human blood and immune systems in NOD/SCID/IL2 receptor  $\gamma$  chain<sup>tm</sup> mice. *Blood* 106 : 1565-1573, 2005
- Ishikawa F, et al : Chemotherapy-resistant human AML stem cells home to and engraft within the bone-marrow endosteal region. *Nat Biotechnol* 25 : 1315-1321, 2007
- Lessard J, et al : Bmi-1 determines the proliferative capacity of normal and leukaemic stem cells. *Nature* 423 : 255-260, 2003
- Simon M, et al : Constitutive activation of the Wnt/ $\beta$ -catenin signalling pathway in acute myeloid leukaemia. *Oncogene* 24 : 2410-2420, 2005
- Thorsteinsdottir U, et al : Overexpression of the myeloid leukemia-associated *Hoxa9* gene in bone marrow cells induces stem cell expansion. *Blood* 99 : 121-129, 2002
- Yilmaz OH, et al : Pten dependence distinguishes haematopoietic stem cells from leukaemia-initiating cells. *Nature* 441 : 475-482, 2006
- Zhang J, et al : PTEN maintains haematopoietic stem cells and acts in lineage choice and leukaemia prevention. *Nature* 441 : 518-522, 2006
- Guzman ML, et al : Preferential induction of apoptosis for primary human leukemic stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 99 : 16220-16225, 2002
- Guzman ML, et al : An orally bioavailable parthenolide analog selectively eradicates acute myelogenous leukemia stem and progenitor cells. *Blood* 110 : 4427-4435, 2007

## Safety of workers at the Fukushima Daiichi nuclear power plant

The 9.0 magnitude earthquake and following tsunami on March 11, 2011, destroyed many coastal cities in the northeastern part of Japan.<sup>1</sup> It swamped emergency generators at the Fukushima Daiichi nuclear power plant operated by the Tokyo Electric Power Company in Fukushima prefecture, disabling the cooling systems.<sup>2</sup> Since these catastrophic events, hundreds of nuclear workers have been trying to remove the radioactive water from the tsunami-ravaged nuclear compound and restart the regular cooling systems for the overheated nuclear fuel.<sup>3</sup>

On March 15, the Japanese Government announced that the permissible cumulative radiation exposure for nuclear workers was increased to 250 mSv per year from 100 mSv per year. The purpose of this increase seems to be merely to extend the time nuclear workers could legally spend in a radioactive area. On April 12, the Nuclear and Industrial Safety Agency of Japan decided to raise the severity level of the crisis to 7—the highest level and equal to the 1986 disaster at Chernobyl in the former Soviet Union. We emphasise the need to predict potential scenarios in Fukushima and to prepare medical care providers for how to respond in cases of accidental high radiation exposure, since this operation is estimated to take months to years.

Generally, rapidly dividing cells, such as intestinal-tract and haemopoietic cells, are most vulnerable to radiation.<sup>4</sup> Radiation accidents can result in localised or whole-body exposure and in internal or external deposition of radioactive materials. On March 24, three workers at the Fukushima nuclear power plant were exposed accidentally to high localised radiation while standing in contaminated water.<sup>5</sup> Fortunately, this

accident did not cause major injuries, but the danger of a future accidental radiation exposure is not passed, since there has been a series of serious aftershocks even this April.

A clinically significant haemopoietic syndrome can occur after whole-body doses of 2 Gy or higher as a result of bone-marrow depression. If the haemopoietic cells are not completely damaged, a recovery phase can be enhanced through use of haemopoietic growth factors. In cases of radiation exposure of more than 5 Gy, haemopoietic stem-cell rescue is essential. Indeed, in the Chernobyl disaster in 1986, nine patients who were exposed to high levels of radiation underwent intraosseous injections of allogeneic bone-marrow cells.<sup>6</sup> In the radiation accident at a nuclear fuel processing plant in Tokaimura, Japan, in 1999, two victims received allogeneic stem-cell transplantation.<sup>2,8</sup> However, allogeneic stem-cell transplantation has major limitations, such as time-consuming donor searching, graft failure, graft-versus-host disease (GVHD), or profound immune suppression after transplantation, despite the reduced mortality associated with recent techniques.<sup>7</sup>

On March 25, we proposed the collection and storage of autologous peripheral-blood stem cells (PBSCs) for the nuclear workers in Fukushima in case of accidental major radiation exposure.<sup>19</sup> This scheme has several advantages. First, autologous PBSC transplantation does not cause GVHD, which further exacerbates gut injury mediated by radiation exposure. Second, it does not require immunosuppressants, which make radiation victims more susceptible to severe infections. Third, PBSCs can induce more rapid haemopoietic recovery than can haemopoietic growth-factor support alone or bone-marrow cells. Fourth, they are easy to store by cryopreservation. Fifth, the short-term and long-term safety of this PBSC-collecting procedure has

been confirmed in a large number of healthy donors for patients with haematological cancers.<sup>11</sup> Finally, long-term autologous PBSC banking might also have a therapeutic role for possible leukaemia in future, because radiation is a well known carcinogen in the long term.

Several important limitations of this scheme should also be noted. Autologous PBSC transplantation is not a perfect strategy to treat radiation victims; it can rescue injury of bone marrow only, but not other tissues, such as gastrointestinal tract, skin, or lung. Additionally, there are adverse events for healthy individuals by administration of mobilising agents and apheresis procedures.<sup>12</sup> Another concern must be medical costs, but several pharmaceutical companies offer donations for this scheme and the financial burden is alleviated.

On March 29, the Japan Society for Haematopoietic Cell Transplantation released a statement that "107 transplant teams are standing by to collect and store haemopoietic stem cells from the peripheral blood for workers who are striving to restrain the radiation."<sup>13</sup> The European Group for Blood and Marrow Transplantation also announced that this plan makes sense and more than 50 hospitals in Europe have agreed to help the workers if required. On the other hand, several experts have stated their objections to this scheme.<sup>14,15</sup> The Nuclear Safety Commission of Japan, an advisory panel made up of non-government experts, reportedly stated that there is no need to collect and store autologous PBSCs. The reasons given are the physical and psychological burden for nuclear workers, no consensus among international authoritative bodies, and no sufficient agreement among the Japanese public.<sup>16</sup>

The nuclear power industry of Japan is facing its worst-ever crisis. Not only the Japanese people but also people all over the world have a sense of distrust towards the industry, which is seen as insufficiently transparent in terms of



Published Online  
April 15, 2011  
DOI:10.1016/S0140-6736(11)60519-9

information disclosure. Furthermore, the officials and authorities related to the industry seem to be reluctant to admit the seriousness of the problem to protect the industry's reputation as much as possible. However, the most important mission is to save the nuclear workers' lives and to protect the local communities. Such an approach would be the industry's best defence: if a fatal accident happened to the nuclear workers, the nuclear power industry of Japan would collapse. It would also cause serious damage to the industry and the nuclear power policy all over the world. Therefore, we should prioritise support for the nuclear workers' health.

The process to completely shut down the reactors in Fukushima is expected to take years. The risk of accidental radiation exposure will thus accumulate for the nuclear workers and banking of their autologous PBSCs will become increasingly important. A judgment of right or wrong on this scheme must be determined from the standpoint of the nuclear workers and their families, not from a point of view of cost-benefit balance in ordinary times. Toranomon Hospital in Tokyo is ready to harvest and bank autologous PBSCs for the nuclear workers upon request.

We declare that we have no conflicts of interest.

\*Tetsuya Tanimoto, Naoyuki Uchida, Yuko Kodama, Takanori Teshima, Shuichi Taniguchi  
tetanimot@yahoo.co.jp

Cancer Institute, Japanese Foundation for Cancer Research, Koto Ward, Tokyo 135-8550, Japan (TTa); Department of Hematology, Toranomon Hospital, Tokyo, Japan (NU, ST); Institute of Medical Sciences, University of Tokyo, Tokyo, Japan (YK); and Department of Medicine and Biosystemic Science, Kyushu University Hospital, Fukuoka, Japan (TTe)

- 1 The Lancet. Japan: health after the earthquake. *Lancet* 2011; **377**: 968.
- 2 Butler D. Radioactivity spreads in Japan. *Nature* 2011; **471**: 555-56.
- 3 Tabuchi H. Japanese workers braved radiation for a temp job. *New York Times* April 10, 2011. <http://www.nytimes.com/2011/04/10/world/asia/10workers.html?src=me&ref=homepage> (accessed April 10, 2011).
- 4 Mettler FA, Voelz GL. Major radiation exposure—what to expect and how to respond. *N Engl J Med* 2002; **346**: 1554-61.

- 5 Martin A. No. 3 cool pump test-run readied. *Japan Times Online*. March 24, 2011. <http://search.japantimes.co.jp/member/member.htm?mode=getarticle&file-no=20110324x2.html> (accessed April 10, 2011).
- 6 Klymenko SV, Belyi DA, Ross JR, et al. Hematopoietic cell infusion for the treatment of nuclear disaster victims: new data from the Chernobyl accident. *Int J Radiat Biol* 2011; published online March 16. doi:10.3109/09553055.2011.560995.
- 7 Hirama T, Tanosaki S, Kandatsu S, et al. Initial medical management of patients severely irradiated in the Tokai-mura criticality accident. *Br J Radiol* 2003; **76**: 245-53.
- 8 Chiba S, Saito A, Ogawa S, et al. Transplantation for accidental acute high-dose total body neutron- and gamma-radiation exposure. *Bone Marrow Transplant* 2002; **29**: 935-39.
- 9 Gooley TA, Chien JW, Pergam SA, et al. Reduced mortality after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *N Engl J Med* 2010; **363**: 209-101.
- 10 Taniguchi S. Health care planning for nuclear workers. *MIRC Mail Magazine* March 25, 2011. <http://medg.jp/mr/2011/03/vol85.html#more> (accessed April 10, 2011).
- 11 Siddiq S, Pamphilon D, Brunskill S, et al. Bone marrow harvest versus peripheral stem cell collection for hemopoietic stem cell donation in healthy donors. *Cochrane Database Syst Rev* 2009; **3**: CD006406.
- 12 Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. The statement from Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation (JSHCT) on recent earthquake disaster and subsequent nuclear power plant accident in Japan. <http://www.jshct.com/english/> (accessed April 10, 2011).
- 13 Pulsipher MA, Chitphakdithai P, Miller JP, et al. Adverse events among 2408 unrelated donors of peripheral blood stem cells: results of a prospective trial from the National Marrow Donor Program. *Blood* 2009; **15**: 3604-11.
- 14 Fujita A. Interview with Dr. Robert Gale. *Asahi-shinbun* March 29, 2011. <http://asapra.asahi.com/blog/kochiraipital/entry/H09QXUMx> (accessed April 10, 2011).
- 15 Sample 1. Japanese officials consider cell transplants for nuclear workers. *The Guardian* March 29, 2011. <http://www.guardian.co.uk/world/2011/mar/29/japan-cell-transplants-nuclear-workers?INTCMP=SRCH#history-link-box> (accessed April 10, 2011).
- 16 Anon. "No need for hematopoietic stem cell harvesting" by Nuclear and Industrial Safety Agency. *Sankei-shinbun* April 3, 2011. <http://sankei.jp.msn.com/politics/news/110403/plc11040301310001-n1.htm> (accessed April 10, 2011).

## LETTER TO THE EDITOR

# What is the upper age limit for performing allo-SCT? Cord blood transplantation for an 82-year-old patient with AML

*Bone Marrow Transplantation* (2011) 46, 619–620;  
doi:10.1038/bmt.2010.159; published online 28 June 2010

Since morbidity and mortality associated with hematologic malignant diseases in elderly patients is higher than that in younger patients,<sup>1</sup> elderly patients are less likely to be candidates for allo-SCT, due to the facts that they are more likely to have comorbid organ conditions, either clinically or subclinically, which results in a higher rate of procedure-related mortality,<sup>2</sup> and that they are less likely to have HLA-matched related donors available, as siblings also tend to be elderly.

The development of reduced-intensity (RI) conditioning for transplants, which results in less toxicity and depends largely on GVL effects rather than high-dose therapy to eliminate leukemic cells, has been shown to allow elderly patients to undergo allo-SCT.<sup>3–5</sup> The use of umbilical cord blood transplantation (UCBT) for adults has been increasing due to the potential advantage of rapid availability and the lower risk of GVHD, thus permitting less stringent HLA matching.<sup>4,5</sup> RI-UCBT for adults, mostly elderly patients, has been increasingly reported and shown to be applicable.<sup>6,7</sup> However, there has been no clear description on the upper age limit of receiving allo-SCT, and it varies among institutes at this moment. We report here an 82-year-old man with refractory AML who had successfully treated with RI-UCBT.

The patient was diagnosed as AML (M5b) with adverse risk karyotype (46, XY, -7, +8) and complicated with disseminated intravascular coagulation (DIC). Although DIC was resolved soon after remission induction therapy consisted of idarubicin and cytarabine, and the patient achieved hematological remission, the disease subsequently progressed with lung infiltration and systemic skin tumor formation (Figure 1a). Immunohistochemical analysis of skin tumor showed positive for CD45, myeloperoxidase, and CD68 consistent with leukemic cell infiltration. Skin and lung infiltration was refractory to following high-dose Ara-C-containing chemotherapy. At 4 months after diagnosis of AML, following careful discussion and consent among the patient, his family and transplant staff, he received an RI-UCBT using two antigen- and three allelismismatched CB in August 2007. His Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) performance status was 2, and HCT-CI score was 1. The preparative regimen consisted of i.v. fludarabine 25 mg/m<sup>2</sup> daily for 5 days (total dose 125 mg/m<sup>2</sup>), i.v. melphalan 40 mg/m<sup>2</sup> daily for 2 days (total dose 80 mg/m<sup>2</sup>) and 4 Gy of TBI fractionated by 2. GVHD prophylaxis consisted of tacrolimus by continuous infusion and 15 mg/kg twice daily of oral mycophenolate mofetil

from day -1. CB unit contained  $2.5 \times 10^7$  per kg of total nucleated cells and  $0.98 \times 10^5$  per kg of CD34+ cells before cryopreservation. G-CSF 300 µg/m<sup>2</sup> was administered from day 1 until neutrophil engraftment. On day 14, the patient developed erythema, fever (39 °C) and diarrhea, and was diagnosed as having preengraftment immune reactions (PIR).<sup>8</sup> The symptoms disappeared immediately after initiation of methylprednisolone 0.5 mg/kg for 3 days. There was no episode of bacterial infection during neutropenia. ANC recovered to  $0.5 \times 10^9$  per liter on day 25, and platelet count reached  $2.0 \times 10^9$  per liter on day 64. Complete donor-cell chimerism was confirmed on day 27 by BM analysis using short tandem repeat-PCR method. Human herpesvirus-6 limbic encephalitis developed on day 17, which was successfully managed with foscarnet. The regimen-related toxicities observed were mucositis (grade 2), nausea (grade 2), renal dysfunction (grade 2) and diarrhea (grade 1), according to the National Cancer Institute Common Toxicity Criteria version 3.0. Acute GVHD of grade III (gut: stage 2) on day 46 was observed, but successfully managed with oral bclomethasone dipropionate. He finally achieved CR in BM, and his lung lesion and skin tumors also disappeared (Figure 1b). He was discharged from hospital on day 123 after RI-UCBT. To our surprise, his level of performance status got improved thereafter, almost as score 1 measured by ECOG PS scoring system, and returned to his work in 1 month after discharge. In the meantime, chronic GVHD of limited type developed, which was managed without treatment. One year after RI-UCBT, unfortunately, his disease relapsed and he died from disease progression 1 month later.

This remarkable case told us two important issues. First, some, may be not all, patients older than 80 years still can tolerate RI-UCBT. TRM has been shown to be correlated with several factors including age, or more comprehensively, the number of coexisting comorbidities.<sup>9</sup> According to our previous report, those older than 54 years showed cumulative incidence of TRM reaching to approximately 50%, and most of TRM occurred early period post-UCBT.<sup>10</sup> This patient had also faced life-threatening events, such as PIR or viral encephalitis, and was successfully managed by corticosteroid and foscarnet. In allo-SCT settings, there are always several factors that cannot be modulated intentionally, and there may have been good coincidences for him to reach this successful outcome. Nevertheless, this case strongly claims higher age should not be the single determinant of not performing allo-SCT. Second, the most powerful antileukemic activity was observed with RI-UCBT. Although, the patient had finally disease relapse, it was obvious that only RI-UCBT sufficiently suppressed leukemic cells and gave him a