

術とされており、本手法を用いて、造血移植後の罹患率、死亡率の高い CMV、EBV、AdV の3ウイルスを対象に CTL 生成を行った。

#### C. 研究結果

EBV(LMP2, EBNA1, BZLF1), CMV(pp65, IE6), AdV(penton, hexon)の overlapping peptide を用いて刺激し、さらに IL-4, IL-7 で培養することにより(合計 12 日前後)特異的 T 細胞を得た。細胞は個別抄録が示すように CD3 が 95%以上であり、また CD4 が優位となる。現時点では 5 名にて解析しているが CD4/CD8 比率はドナーによっても大きく異なっている。大半の細胞は CD45RO+CD62L+CCR7+の central memory 分画にあり、一部が effector memory 分画であることが明らかになっている。それぞれの細胞は細胞内 IFN $\gamma$  染色および ELISPOT アッセイで特異的 T 細胞の存在が明らかになっており、合計するとほぼ 35%程度が特異的 T 細胞、一方その他が非特異的 T 細胞という結果であった。日本での臨床応用の際の規制対応も見越して無血清培養系での、同方法での CTL 生成を安定して行えることについても確認した。

#### D. 考察

今後はこれらの CTL の異種反応や細胞傷害活性を確認し、さらに対象ウイルスを HHV6 と BKV を加えた5種類に拡大する予定である。また、実際に特異的な CTL が得られたかどうかの検証には、HLA 拘束性についての検討が必要であり、現在 ELISPOT 法を用いた検討の開始を目指している。一方で、日本における CTL バンク整備については、幅広い分野との意見交換とコンセンサス形成、支援を得ることが重要と考えている。

#### E. 結語

3 ウイルス特異的 T 細胞の樹立方法をほぼ確立した。樹立した細胞についてはその性格を明らかにし、抗原特異的に細胞傷害活性があるという証左を得つつある。無血清化や IL-4, IL-7 の低濃度化、気密容器の使用など、現実的な対応策についても検討にはいり、ほぼ条件が確立しつつある。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Kumaki S, Sasahara Y, Kamachi Y, Muramatsu H, **Morio T**, Goi K, Sugita K, Urabe T, Takada H, Kojima S, Tsuchiya S, Hara T. B-cell function after unrelated umbilical cord blood transplantation using a minimal-intensity conditioning regimen in patients with X-SCID. *Int J Hematol.* 98: 355-60,,2013.
2. 森尾友宏、宮坂あかね、小野敏明、落合 央、藤田由利子、高橋 聡. 移植後ウイルス感染に対する多ウイルス特異的 CTL 療法. *The Japanese Journal of Pediatric Hematology Oncology* 50 (3): 335-340,2013.

F. 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 難治性疾患等克服研究事業  
(免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業 移植医療研究分野)

凝固・線溶系を介した造血回復促進法および組織再生促進法の開発、新規 GVHD 治療法の開発  
に関する研究

研究分担者 服部 浩一  
所属 東京大学 医科学研究所

研究要旨

臍帯血移植の合併症の一つである GVHD の病態解明と治療法の開発は、各種幹細胞移植成立上の最重要課題に挙げられている。本研究は、GVHD 病態における線溶系因子群の機能解明を主な目的とし、これらを標的とした新規分子療法、免疫システム制御の新戦略開発までをその範疇としている。今年度の研究で、研究者らは、新しい線溶阻害剤の GVHD 治療での有用性を見出し、GVHD 病態において血液凝固・線溶系の果たす役割を示唆した。

A. 研究目的

本研究では、造血幹細胞移植前処置後の組織再生、及びその副作用である難治性免疫性炎症性疾患-GVHD 病態における凝固・線溶系因子群の機能解析とこれを基礎とした新規分子療法の開発を目的とする。

B. 研究方法

近交系 C57BL/6 マウスの脾細胞及び骨髄細胞を、全身放射線照射後の F1 ハイブリッドである (C57BL/6/BALB/c)F1 へと輸注し、急性 GVHD のモデルマウスを作製する。ここに昨年度までの神戸学院大学との共同研究で、新しく開発された線溶系阻害剤 Y0-2 を連日投与する群とその溶媒投与群を作製し、血液、脾臓、骨髄等の病理組織標本の作製とその免疫特殊染色、各種組織細胞表面マーカーの発現、血中の各種 GVHD 関連サイトカイン濃度、MMP、線溶系酵素活性等を精査し、放射線照射、前処置の影響を含めた急性 GVHD の病態における線溶系の機能解析、また線溶系を標的とした GVHD の分子療法の有効性、そして骨髄組織再生への影響を探る。またこれら GVHD モデルマウスに対し、

マウス由来の腫瘍細胞の移植を施行し、移植片対腫瘍/白血病 (GVT/GVL) 効果への影響を探る。

さらに昨年に続いて、各種幹細胞移植後で急性及び慢性 GVHD と診断された患者について、経時的に血中の一般検査所見、各種サイトカイン濃度、MMP、線溶系酵素活性、血液・組織中の各種組織細胞表面マーカーの発現等を精査し、急性 GVHD の重症度、臨床所見、造血組織再生と線溶系との関連性を明らかにする。

C. 研究結果

今年度までの研究で、研究分担者らは、急性 GVHD 患者の血液中において、発症初期からその病勢に応じて、血液凝固・線溶系の亢進が認められ、これに伴って、GVHD の病態形成に関与する各種生体分子の細胞外ドメイン分泌を制御する MMP の活性化と TNF- $\alpha$ 、Fas-ligand やインターロイキン受容体等の炎症性、アポトーシス誘導サイトカインの血中濃度の上昇が誘導されることを明らかにした。今年度の研究で、代表者らは、放射線照射を伴った F1 ハイブリッド

のマウスモデルにおける急性及び慢性 GVHD の誘導に成功し、急性 GVHD マウスモデルの血液中においても同様の MMP の活性化とサイトカイン血中濃度増加が認められること、さらに MMP 阻害剤、加えて MMP 活性を上流から制御する線溶系因子プラスミンの活性阻害剤の投与により、GVHD によって形成される各種臓器中の組織病変、脾臓、末梢血中のリンパ球構成、症状・重症度が、有意に改善することを明らかにした。また、プラスミン阻害剤そのものには、造血系細胞の増殖作用、組織再生促進作用は認められなかった。なお本研究成果については現在論文投稿中である。

これに加え研究者らは、ポルトガルがん研究所との共同研究において、線溶系によって細胞動員が制御される CD11b 陽性の細胞分画のうち、Jagged2 陽性の細胞が、腫瘍微小環境を構成し、腫瘍細胞の動態を制御していることを明らかにした。

#### D. 考察

急性 GVHD の病態において、凝固・線溶系因子の動態が MMP 活性、炎症性サイトカイン分泌を通じ、その重症度や病勢に深く関与していることが示唆された。またプラスミン阻害剤による線溶系活性の抑制は、MMP 活性を起点とした生体の組織再生と傷害とのバランスを制御する可能性を有しており、新しいタイプの抗炎症、免疫制御療法としての期待も担っている。MMP 阻害剤は、欧米での臨床治験で明らかとなったその深刻な副作用から、臨床応用の道が事実上閉ざされた状況になっており、本研究は、これに代わる新たな分子標的薬開発の基礎研究としても重要な役割を果すものと考えている。また今年度の研究で、プラスミン阻害

剤そのものには、細胞増殖、組織再生を促進する作用は認められなかったことから、炎症性サイトカインの分泌、及びアポトーシス誘導の阻害により、組織傷害を抑制し、最終的に骨髄組織の再生に寄与するとの考えに至った。このことは、研究者らの造血因子の分泌が、線溶系亢進によってむしろ促進すること、さらに骨髄組織の再生を促進するとの昨年度までの実験結果と合致している。今後の研究で、プラスミンの阻害が、組織再生自体の抑制にどの程度影響しているか、また薬剤の至適投与量や安全性についても慎重に精査する必要があると考えられた。

また共同研究によって得られた成果については、線溶系の活性調節が、腫瘍細胞動態制御に関与すること、そして GVT/GVL 効果修飾の可能性を示唆したものと言えよう。

#### E. 結論

血液凝固・線溶系因子の活性は、急性 GVHD 病態の形成に関与しており、プラスミン阻害剤による線溶系の活性抑制は、GVHD の新たな治療法として期待出来る。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Caiado F, Carvalho T, Rosa I, Remedio L, Costa A, Matos J, Heissig B, Yagita H, Hattori K, da Silva JP, Fidalgo P, Dias Pereira A, Dias S. Bonemarrow-derived CD11b+Jagged-2+ cells promote epithelial to mesenchymal transition and metastization in colorectal cancer. *Cancer Res.*2013 ;73(14)4233-46

##### 2. 学会発表

1. 宗像慎也、田代良彦、小見山博光、島津浩、佐藤亜紀、西田知恵美、坂本一博、Heissig Beate、服部浩一: プラスミン阻害剤による炎症性腸疾患に対する腸

- 管上皮保護と再生促進作用、第 13 回日本再生医療学会、京都国際会館、京都、2014. 3. 5 ポスター
2. Yousef Salama、西田知恵美、Gritli Ismael、Duoaa Dhari、Salita Eiamboonsert、中内啓光、Heissg Beate 服部浩一：EGFL7 recruits quiescent HSCs into active cell cycle and expands HSCs、13 回日本再生医療学会、京都国際会館、京都、2014. 3. 6 ポスター
  3. A Sato, C Nishida, S Takahashi, A Tojo, H Nakauchi, B Heissig, K Hattori “ Plasmin inhibitor prevents acute graft-versus-host disease ”第 75 回日本血液学会学術集会 2013.10.12 札幌芸文館 札幌市 口演
  4. 西田知恵美, B Heissig, 服部浩一, 『造血微小環境における MT1-MMP と造血因子の発現調節』第 9 回麒麟塾, 2013. 7. 14 東京 口演
  5. K Hattori “ Protease activation triggers the process of tissue regeneration ” The 8 th International Symposium of the Institute Network. 2013.6. 28 芝蘭会館、京都市 (招待講演) 口演
  6. 宗像慎也、B Heissig、服部浩一『炎症性腸疾患における血液凝固・線維素溶解系の機能解明について』第 13 回東京大学生命科学シンポジウム、2013. 6. 8、東京大学、東京都、ポスター
  7. 島津浩、B Heissig、服部浩一『血球貪食症候群における血液線維素溶解系からの機能解析』第 13 回東京大学生命科学シンポジウム、2013. 6. 8 東京大学、東京都、ポスター
  8. A Sato, B Heissig, K Hattori, “Pharmacological Targeting of Plasmin Prevents Inflammatory Diseases Like Septic Shock and Acute Graft-versus-host Disease” XIVth International Workshop Molecular & Cellular Biology of Plasminogen Activation, 6.6.2013 University of Notre Dame Indiana USA poster
  9. D Douaa, M Koizumi, K Kusubata, C Nishida, K Hattori, B Heissig “The expansion of Mesenchymal Stem Cell by the fibrinolytic system involves a crosstalk with endothelial cells”平成 25 年度東京大学医科学研究所成果発表会、(第二位)2013.5.31 東京 ポスター
  10. 島津浩、D Douaa, S Yousef, 宗像慎也、佐藤亜紀、Ismael G、西田知恵美、B Heissig, 服部浩一“Pharmacological targeting of plasmin prevents macrophage activation syndrome in mice”平成 25 年度東京大学医科学研究所成果発表会(第一位)2013.5.31 東京、ポスター
  11. 宗像慎也、田代良彦、島津浩、西田知恵美、イスマエルグリツリ、佐藤亜紀、小泉摩季子、楠畑かおり、小見山博光、坂本一博、宮田敏男、ハイジツヒベアテ、服部浩一『PAI-1 阻害剤による血管新生及び組織再生促進療法』第 113 回日本外科学会定期学術集会、2013.4.11、福岡 ポスター
- G. 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 難治性疾患等克服研究事業  
(免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業 移植医療研究分野)  
「適応拡大に向けた臍帯血移植の先進化による成績向上と普及に関する研究」  
研究分担者報告書

臍帯血バンクの将来構想に関する研究

研究分担者 高梨美乃子

所属 日本赤十字社血液事業本部

研究要旨

本邦の非血縁者間造血細胞移植の46%が臍帯血移植であった(2013年)。将来にわたって安定的な臍帯血の供給を実現するために、現在の臍帯血バンクの課題を整理する。造血幹細胞移植のための法律が施行され、本邦の臍帯血バンクは大きな転換期を迎えている。次年度に活動するために臍帯血供給事業者としての許可を得る必要がある。採取現場の体制については長期的展望が必要である。品質管理においては海外の情報を収集しつつ議論する事が必要である。

A. 研究目的

将来にわたって安定的な臍帯血の供給を実現するために、現在の臍帯血バンクの課題を整理する。

B. 研究方法

以下の論点について情報を収集した:(1) 臍帯血バンクの規模、(2) 臍帯血バンクの組織、(3) 臍帯血バンクの集約と採取協力施設の広域化、(4) 臍帯血採取施設への支援、(5) 臍帯血の品質管理、(6) 国際化。

C. 研究結果

(1) 本邦は世界の他地域に比べて HLA 型が偏っており、約 2000 本保存で HLA-A, B, DR 座 4/6 適合の臍帯血が約 100%の症例で得られ、約 10,000 本保存で 5/6 適合の臍帯血が約 96%の症例で得られると計算されている。2014 年初頭の検索可能臍帯血数は 18,000 本前後で推移している。(2) 臍帯血バンク活動自体は利潤を生まず、近年に 4 カ所の臍帯血バンクが事業を停止するに至った。「移植に用いる造血幹細胞の適切な提供の推進に関する法律」が施行され、各バンクは責任体制も含

めた評価を受けている。(3) 臍帯血バンクは比較的人口密度の高い都市圏に位置し、臍帯血採取施設は全国に 100 程しかない。臍帯血バンクの統合に伴い日本赤十字社関東甲信越さい帯血バンクの採取施設には従来の東京都内に加えて神奈川県と宮城県とが加わったが、効率と採取施設拡大のバランスについての評価を行う必要がある。(4) 全国に約 100 カ所の採取協力施設しかなく、数万人の妊婦さんを対象とする協力推進のための広報を大規模に行う事はできない状況がある。本邦の臍帯血移植患者は大多数が成人であるために保存細胞数基準を上げる必要があり、採取現場のモチベーション維持はより困難になると推測される。今後は同意数、採取数、搬送数など採取現場の状況を把握する必要も示されているので採取現場の作業量は増加すると考えられる。(5) 本邦の公的臍帯血バンクは、長年にわたり凍結臍帯血検体を配布して多施設評価試験を行ってきた。今年度の評価でも CV 値は許容できる結果であった。施設数の減少もあり、本邦の検査結果はかなり安定し

てきたと考えられる。(6) 米国は輸入する臍帯血は国際的な認証を得ているバンクから、との条件を課した。これまでのところ国際的な(欧米の)認証制度を活用するかについての議論はされていない。

#### D. 考察

(1) 成人男性に使用可能な細胞数の臍帯血を最低 2,000、できれば 10,000 を公開できる、というのが第一目標である。小児については、多少細胞数が低くても保存公開し、HLA 5/6 適合以上を目標としてバンクサイズを考える必要がある。(2) 各臍帯血バンクは国の評価を受け、次年度からは新体制となる。(3) 提供者の裾野の拡大は臍帯血バンクの課題であるが、採取施設の拡大は搬送体制によって制限されている。時間、搬送費用、広域化の意義についての議論が必要である。(4) 採取協力施設の活性化のためには広報活動が必須である。採血推進活動を大きく転換する必要がある。安定した採取体制のためには長期的な展望が必要である。(5) 品質には組織の責任体制、機器管理、衛生管理など多くの要素が含まれる。新たな法整備のもとで、より綿密な管理が行われると期待される。(6) 現状の管理基準には本邦独自のものもあり、将来の臍帯血の国際的な流通にあたっては障害となる可能性もある。

#### E. 結論

2012 年 9 月には初めて造血幹細胞移植のための法律が制定公布され、その施行に対応して本邦の臍帯血バンクは大きな転換期を迎えている。品質管理においては海外の情報を収集しつつ議論する事が必要である。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Pamphilon D, Selogie E, McKenna D,

Cancelas-Peres JA, Szczepiorkowski ZM, Sacher R, McMannis J, Eichler H, Garritsen H, Takanashi M, van de Watering L, Stroncek D, Reems JA. Current practices and prospects for standardization of the hematopoietic colony-forming unit assay: a report by the cellular therapy team of the Biomedical Excellence for Safer Transfusion (BEST) Collaborative. *Cytotherapy* 2013;15(3):255-262.

2) Yamaguchi R, Takanashi M, Ito M, Ogawa A, Hashimoto M, Ishii Y, Mazda T, Tadokoro K, Nakajima K, Minami M. Plasticizer concentration in cord blood cryopreserved with DMSO. *Bone Marrow Transplant.* 2014;49(1):157-158.

3) van der Meer PF, Reesink HW, Panzer S, Wong J, Ismay S, Keller A, Pink J, Buchta C, Compennolle V, Wendel S, Biagini S, Scuracchio P, Thibault L, Germain M, Georgsen J, Bégué S, Dernis D, Raspollini E, Villa S, Rebullia P, Takanashi M, de Korte D, Lozano M, Cid J, Gulliksson H, Cardigan R, Tooke C, Fung MK, Luban NL, Vassallo R, Benjamin R. Should DEHP be eliminated in blood bags? *Vox Sang.* 2014;106(2):176-195.

##### 2. 学会発表

G. 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 難治性疾患等克服研究事業  
(免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業 移植医療研究分野)  
研究分担者報告書

成人難治性血液悪性腫瘍に対する非血縁者間臍帯血移植の有効性に関する研究

研究分担者 宮村耕一 名古屋第一赤十字病院血液内科・部長

研究要旨：臍帯血移植は本邦において HLA 適合同胞ドナーのいない患者における同種造血幹細胞移植ソースとして近年急速に普及し非血縁者間骨髄移植をしのぐ勢いである。これは東大医科学研究所の骨髄破壊的前処置による優れた成績およびわが国のレジストリーデータの後方視的解析により急性白血病では骨髄と臍帯血は同等の成績であったことが背景となっている。しかし、その両者は移植片の性質、供給方法が全く異なり、これらの科学的な比較は後方視的研究では困難である。そこで我々は、移植をすると決断してから一定の時期までに骨髄移植ドナーが見つかった場合は骨髄移植を、見つからない場合臍帯血移植を行うことにする前方視的臨床試験を計画し遂行中である。

A. 研究目的

成人難治性血液悪性腫瘍に対する非血縁者間臍帯血移植の有効性と現状の問題点を明らかにする。

B. 研究方法

非血縁者間臍帯血移植と非血縁者間骨髄移植との前方視的な比較を行うため、再発高リスク白血病患者で同種造血幹細胞移植の適応と考えられルニも関わらず、血縁ドナーの得られなかった症例を前方視的に登録し、臍帯血移植の有用性を検討するものである。登録症例の大半は非血縁骨髄移植ドナーが得られ、非血縁骨髄移植となるが、これらの症例は付随研究に移行し、後に臍帯血移植施行例と比較し、真の有用性を検討する試験計画となっている。

C. 研究結果

成人難治性血液悪性腫瘍に対する非血

縁者間臍帯血移植の有効性を検討する

ために、全国 45 施設が参加して臨床第Ⅱ相試験を実施している。予定本登録症例数 60 例のうち、2013 年 11 月末で仮登録 192 例、本登録 49 例である。登録期間は、2014 年 12 月 31 日までを予定し、現在症例登録を継続している。モニタリング検討会(2012 年 12 月 1 日開催)を行い、効果安全性評価委員に報告され、試験継続可、プロトコル修正不要との判断されたことを確認した。

D. 考察

成人難治性血液悪性腫瘍に対する非血縁者間臍帯血移植の有効性に関する研究(第Ⅱ相試験)の仮登録症例中、本登録して臍帯血移植を実施することができた症例は約 25%と少なかった。しかしながら、本登録できなかつた症例の約半数が非血縁者間骨髄移植を実施しており、無作為化比較試験ではないが、今後、HLA 一致

血縁ドナーがない場合の代替ドナーとしての臍帯血の位置付けを明らかにすることができると考えている。症例登録の進捗状況はほぼ予定どおりであり、2014年12月末までに完遂できるものと見込んでいる。

#### E. 結論

「成人難治性血液悪性腫瘍に対する非血縁者間臍帯血移植の有効性に関する研究（第Ⅱ相試験）」を完遂させ、HLA一致血縁ドナーに代わる幹細胞ソースとしての臍帯血の位置づけを非血縁骨髄ドナーとの比較において明らかにするため、研究を進めている。

#### F. 研究発表

##### 論文発表

1. Tanaka J, Morishima Y, Takahashi Y, Yabe T, Oba K, Takahashi S, Taniguchi S, Ogawa H, Onishi Y, Miyamura K, Kanamori H, Aotsuka N, Kato K, Kato S, Atsuta Y, Kanda Y. Effects of KIR ligand incompatibility on clinical outcomes of umbilical cord blood transplantation without ATG for acute leukemia in complete remission. *Blood Cancer J*. 2013 Nov 29;3:e164. doi: 10.1038/bcj.2013.62.
2. Kanda J, Nakasone H, Atsuta Y, Toubai T, Yokoyama H, Fukuda T, Taniguchi S, Ohashi K, Ogawa H, Eto T, Miyamura K, Morishima Y, Nagamura-Inoue T, Sakamaki H, Murata M. Risk factors and organ involvement of chronic GVHD in Japan. *Bone Marrow Transplant*. 2014 Feb;49(2):228-35. doi:

10.1038/bmt.2013.151. Epub 2013 Sep 30.

3. Kurosawa S, Yakushijin K, Yamaguchi T, Atsuta Y, Nagamura-Inoue T, Akiyama H, Taniguchi S, Miyamura K, Takahashi S, Eto T, Ogawa H, Kurokawa M, Tanaka J, Kawa K, Kato K, Suzuki R, Morishima Y, Sakamaki H, Fukuda T. Changes in incidence and causes of non-relapse mortality after allogeneic hematopoietic cell transplantation in patients with acute leukemia/myelodysplastic syndrome: an analysis of the Japan Transplant Outcome Registry. *Bone Marrow Transplant*. 2013 Apr;48(4):529-36. doi: 10.1038/bmt.2012.172. Epub 2012 Sep 10.
  4. Kanda J, Ichinohe T, Kato S, Uchida N, Terakura S, Fukuda T, Hidaka M, Ueda Y, Kondo T, Taniguchi S, Takahashi S, Nagamura-Inoue T, Tanaka J, Atsuta Y, Miyamura K, Kanda Y; Donor/Source Working Group and HLA Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. Unrelated cord blood transplantation vs related transplantation with HLA 1-antigen mismatch in the graft-versus-host direction. *Leukemia*. 2013 Feb;27(2):286-94. doi: 10.1038/leu.2012.203. Epub 2012 Jul 18.
- G. 知的財産権の出願・登録状況  
なし

## 臍帯血移植の至適前処置に関する研究

研究分担者 谷口修一 国家公務員共済組合連合会虎の門病院血液内科・部長  
研究協力者 山本久史 国家公務員共済組合連合会虎の門病院血液内科・医員

研究要旨：本邦での臍帯血移植は骨髄移植に比べて高齢患者に行われる傾向があり、前処置の毒性軽減が求められ、多くの方法が臨床現場で用いられているが、その至適化は依然として課題として残っている。我々が開発した FluBu4Mel 法は、生着、移植関連死亡、再発さらには移植後生存の観点から安全かつ有効な方法であることが示唆された。

### A. 研究目的

Fludarabine/iv Busulfan(12.8mg/kg) (FluBu4) は、毒性を軽減した骨髄破壊的前処置として、末梢血や骨髄を用いた移植において、近年急速に普及しつつある前処置である。一方、FluBu4 を用いた臍帯血移植においては、高い生着不全率が報告されている。当院における後方視的な解析では、FluBu に TBI もしくは Melphalan を加えることで安定した臍帯血生着が得られること、また FluBu4-based レジメンは高齢者ハイリスク集団に対しても、NRM を増やすことなく再発率を低下させる可能性が示唆された。上記結果に基づき、現在当院において高齢者非寛解期骨髄系腫瘍を対象として、FluBu4 に Melphalan(80mg/m<sup>2</sup>) を加えた新規前処置を用いた臍帯血移植の Pilot Study が進行中である。本研究の目的は、FluBu4Mel を用いた臍帯血移植の安全性および有効性を検証することである。

### B. 研究方法

当院で施行した FluBu4Mel を用いた臍帯血移植 52 例を後方視的に解析した。本研究は当院の医学研究倫理審査委員会の承認のもと実施した。

### C. 研究結果

対象 52 例の年齢中央値は 59(19-70) 歳、HCT-CI は 3(0-6) score であった。原疾患は AML 44 例、CML 5 例、MDS(RAEB-II) 3 例で、全例が非寛解期での移植であった。移植前処置として Fludarabine(125-180mg/m<sup>2</sup>) + ivBusulfan(12.8mg/kg) + Melphalan(80mg/m<sup>2</sup>) を用い、全例で単一臍帯血を輸注した。51 例中 46 例で好中球生着が得られ、累積好中球生着率は 90.2% であった。生着不全 5 例の内訳は、3 例が原病の早期再発、2 例が早期非再発死亡であり、拒絶はなかった。また生着例全例で移植後 28 日以内に全血および T cell 共に完全ドナー型キメリズムが得られた。2 年非再発死亡(NRM)および再発の累積発症率は、

それぞれ 23.9%, 20%であった。生存例の観察期間中央値は移植後 851 (391-2386) 日で、2 年全生存率および無増悪生存病率は、共に 56.5%であった。

#### D. 考察

本解析では、FluBu4Me1 レジメンを用いた臍帯血移植において、高い臍帯血生着率が得られること、また高齢者非寛解期骨髓系疾患に対しても NRM を増やすことなく再発率を低下させ、優れた生存率が得られる可能性が示唆された。FluBu4Me1 を用いた臍帯血移植の安全性および有効性に関する前向き試験を検討中である。

#### E. 結語

FluBu4Me1 レジメンは安全でかつ有効な臍帯血移植前処置になりうる可能性が示された

#### F. 研究発表

論文発表

1. *Matsuno N\**, Yamamoto H, *Watanabe N*, Uchida N, Ota H, Nishida A, Ikebe T, Ishiwata K, Nakano N, Tsuji M, Asano-Mori Y, Izutsu K, Masuoka K, Wake A, Yoneyama A, *Nakauchi H*, **Taniguchi S**. Rapid T-cell chimerism switch and memory T-cell expansion are associated with pre-engraftment immune reaction early after cord blood transplantation. *Br J Haematol* 2013; **160**(2): 255-8.

学会発表

1. Hisashi Yamamoto, Naoyuki Uchida, Kousei Kageyama, Daisuke Kaji, Sachie Wada, Aya Nishida, Hikari Ota, Kazuya

Ishiwata, Shinsuke Takagi, Masanori Tsuji, Go Yamamoto, Yuki Asano-Mori, Koji Izutsu, Atsushi Wake, **Shuichi Taniguchi**. A novel reduced-toxicity myeloablative conditioning using full-dose busulfan and melphalan for cord blood transplantation provides durable engraftment and remission without increasing non-relapse mortality in advanced myeloid malignancies. ASH 2013.

2. Hisashi Yamamoto, Shinsuke Takagi, Naoyuki Uchida, Kousei Kageyama, Daisuke Kaji, Sachie Wada, Aya Nishida, Hikari Ota, Kazuya Ishiwata, Masanori Tsuji, Go Yamamoto, Yuki Asano-Mori, Koji Izutsu, Atsushi Wake, **Shuichi Taniguchi**. Severe pre-engraftment immune reactions induce hemophagocytic syndrome and subsequent engraftment failure after cord blood transplantation. APBMT 2013.
3. Hisashi Yamamoto, Naoyuki Uchida, Hikari Ota, Daisuke Kaji, Kazuya Ishiwata, Masanori Tsuji, Yuki Asano-Mori, Go Yamamoto, Koji Izutsu, Shigeyoshi Makino, **Shuichi Taniguchi**. Anti-HLA antibodies against HLA-C, -DP, -DQ adversely affect engraftment in HLA-mismatched cord blood transplantation; possible implication of unrecognized donor-specific antibodies. ACTO 2013.

G.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 難治性疾患等克服研究事業  
(免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業 移植医療研究分野)  
研究分担者報告書

移植成績の解析と臨床試験の支援・遂行に関する研究

研究分担者 山口拓洋  
所属 東北大学大学院医学系研究科

研究要旨

移植領域においては、治療や共変量の反応変数への影響を調べる際に Cox の比例ハザードモデルなどの回帰モデルが用いられることが多い。これらのモデルでは、共変量が線形で効いてくるという強い仮定を必要とする。従ってこの仮定が適切でない場合には、それぞれの共変量の特質を考慮しその影響を適切に評価するためのモデリングが必要になってくる。本研究では、スプライン関数を応用した方法の利用を提案する。

A. 研究目的

多くの移植研究において、治療や共変量の反応変数への影響を調べる際に回帰モデルが用いられる。これらのモデルでは、共変量が線形で効いてくるという強い仮定を必要とする。従ってこの仮定が適切でない場合には、それぞれの共変量の特質を考慮しその影響を適切に評価するためのモデリングが必要になってくる。ここでは、共変量の影響の線形性の仮定を緩めて、スプライン関数を用いてノンパラメトリックに共変量の効果を推定する方法を考える。

B. 研究方法

以下では、説明のため共変量は 1 つとして議論を進める（拡張は容易である）。

$m$  次の区分多項式 (piecewise polynomial) で、節点 (knot) で  $m-1$  階導関数が連続なものを  $m$  次のスプライン関数と呼び、滑らかな関数を表現する方法として広く用いられている。任意のスプライン関数の記述の仕方として、以下の 2 つがよく用いられる。

・切断べき関数による表現

節点  $t_1, t_2, \dots, t_K$  をもつ  $m$  次のスプライン関数  $S(x)$  は、一意に次式で与えられる。

$$S(x) = p_m(x) + \sum_{i=1}^K c_i (x - t_i)_+^m$$

ここで、 $p_m(x)$  は  $m$  次の多項式、 $c_i$  はパラメータである。また、 $(x - t_i)_+^m$  は切断べき関数 (truncated power function) と呼ばれ、

$$(x - t_i)_+^m = \begin{cases} (x - t_i)^m & (x > t_i) \\ 0 & (x \leq t_i) \end{cases}$$

である。この表現は、スプライン関数を理解するには便利な方法であるが、パラメータを求める際に用いる連立方程式が極めて悪条件なものとなることなどの理由からあまり利用されていない。

・B スプラインによる表現

任意のスプライン関数  $S(x)$  は、同じ次数の B スプラインの線形結合で一意に与えられる。

$$S(x) = \sum_{j=1}^d \alpha_j B_j(x)$$

ここで、 $B_j(\cdot)$ が B スプライン、 $\alpha_j$ がパラ

メータを表す。B スプラインとはある特定の区間では正、残りの区間では 0 をとり、また、全軸上で積分が 1 になるように規格化されたスプライン関数であり、スプライン関数属の基底を形成するものである。実際の計算において B スプラインを用いることにより、スプライン関数の安定した推定が可能となる。

スプライン関数の次数としては、近似としての精度や計算量との兼ね合いから、また、視覚的な問題などから 3 次が用いられることが多い。3 次スプライン関数は、

データ点  $(x_1, y_1), \dots, (x_n, y_n)$  を補間する場合に用いられる一定の条件を満たした関数の中で、2 階導関数の 2 乗ノルムを最小化するという意味で最も滑らかな関数であることが知られている。また、データ点の平滑化を行う場合、用いる関数を選択する際の基準として

$$\sum_{i=1}^n \{y_i - f(x_i)\}^2 + \lambda \int \{f^{(2)}(x)\}^2 dx$$

を最小化する  $f(\cdot)$  を用いる方法が 1 つとして挙げられる ( $\lambda$  は平滑化パラメータ)。上式の最初の項は推定値のあてはまりの良さを測っており、2 番目の項は滑らかさに対するペナルティーを与えている。この解は一意的に存在し、節点を  $x_1, x_2, \dots, x_n$  に持つ 3 次の (自然) スプライン関数であることがわかっている (smoothing spline)。このような性質も、3 次スプライン関数を用いる理由となっている。

以上のスプライン関数を用いた予後因子解析を行っている先行研究等について調査を行った。

### C. 研究結果

・制限付き 3 次スプライン関数の適用

Durrleman and Simon (1989) は、非ホジキン悪性リンパ腫の患者の生存に対する年齢の影響を比例ハザードモデルを用いて検討しており、 $S(x)$  として 3 次スプライン関数を適用している。ただし、 $x < t_1$ 、 $t_K < x$  では関数が線形になるよう制限を加えることで、

$$S(x) = \sum_{i=0}^{K-2} \beta_i x_i,$$

ただし、

$$x_i = (x - t_i)_+^3 - (x - t_{K-1})_+^3 (t_K - t_i) / (t_K - t_{K-1}) \\ + (x - t_K)_+^3 (t_{K-1} - t_i) / (t_K - t_{K-1})$$

$$i = 1, \dots, K - 2, x_0 = x,$$

となり、線形性を仮定した通常の場合と同様にパラメータの推定が行えるよう工夫している (restricted cubic spline)。

解析には、1971-5 年に NCI 主導で行われた NHL Pathologic Classification Project (全 1175 例) のうちの DL-IBL リンパ腫の患者 310 例のデータを用いている。

・制限付き 3 次スプライン関数を用いたベースラインハザードのモデル化

Herndon and Harrell (1990, 1995) は、冠状動脈疾患の患者の生存に対する共変量の影響を、ベースラインハザードに制限付き 3 次スプライン関数をあてはめた比例ハザードモデルを用いて検討しており、さらに、時間依存性共変量 (心筋梗塞の発作の有無) を扱えるよう拡張している。

・ B スプラインの適用

Gray (1992, 1994) は乳ガンの再発に対する共変量の影響を以下の比例ハザードモデルを用いて検討している。

$$\log \lambda(t; \underline{x}_i, \underline{z}_i) = \log \lambda_0(t) + \underline{\beta}^T \underline{x}_i + \eta(\underline{z}_i)$$

ただし、 $\underline{x}_i = (x_{i1}, \dots, x_{ip})^T$ 、

$$\underline{z}_i = (z_{i1}, \dots, z_{is})^T、\quad \eta(\underline{z}_i) = \sum_{j=1}^s f_j(z_{ij})、$$

$$f_j(z) = \theta_{j0}z + \sum_{k=1}^{M+2} \theta_{jk} B_{jk}(z)、\quad \underline{x}_i (p \times 1) \text{ と}$$

$\underline{z}_i (s \times 1)$  は個人  $i$  の共変量ベクトルで、そ

の要素はそれぞれ効果の線形性が仮定できる共変量、スプライン関数  $f_j(\cdot) (j = 1, \dots, s)$  を用いてモデル化を行う

共変量を表す。  $B_{jk}(\cdot)$  は 3 次の B スプライン

関数であり、  $M$  はスプライン関数の節点

の数である。  $\underline{\theta}_j = (\theta_{j1}, \dots, \theta_{j, M+2})^T$ 、

$$\underline{\eta} = (\underline{\beta}^T, \theta_{10}, \underline{\theta}_1^T, \dots, \theta_{s0}, \underline{\theta}_s^T)^T \text{ とし、この}$$

モデルの部分尤度を  $l(\underline{\eta})$  で表すと、パラメ

ータ  $\underline{\eta}$  はペナルティー付き尤度

$$l_p(\underline{\eta}) = l(\underline{\eta}) - \frac{1}{2} \sum_{j=1}^s \lambda_j \int \{f_j^{(2)}(z)\}^2 dz$$

を最大化することによって得られる。これは、ある行列  $P_j$  を用いて

$$l_p(\underline{\eta}) = l(\underline{\eta}) - \frac{1}{2} \sum_{j=1}^s \lambda_j \underline{\theta}_j^T P_j \underline{\theta}_j$$

と書き直せる。

解析には、Eastern Cooperative Oncology

Group が行ったエントリー期間が 1978-87 年である乳ガンの術後療法に関する 6 つの臨床試験に参加した患者 2404 例 (うち 1116 例再発) のデータを用いている。関心のある共変量は、診断時における腋窩リンパ節転移陽性の数、原発癌の大きさ、エストロゲンレセプターの状況、エントリー時の年齢、閉経状況、BMI の 6 つである。各試験における治療法の違いは、層別比例ハザードを用いることで対処している (層の数は 15、範囲は 67-270 例)。

Sleeper and Harrington (1990) は胆汁性肝硬変のデータに対し B スプラインを用いて同様のモデル化を行っているが、ペナルティーを付けない尤度を最大化することによって、パラメータを推定している (regression spline)。

#### D. 考察

スプライン関数を用いた方法は、共変量が線形で効いてくるという強い仮定を必要としないため、予後因子解析、特に、カットポイントの決定などに有用と考えられる。今後の移植データへのさらなる適応が臨まれる。

#### E. 結論

移植データの予後因子解析における、スプライン関数を用いた回帰モデルの適応について検討した。

#### F. 研究発表

1. 論文発表  
特になし
2. 学会発表  
特になし

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

## IX. 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

発表者名	論文タイトル名	発表雑誌	巻号	ページ	出版年
Konuma T, Kato S, Ooi J, Oiwa-Monna M, Ebihara Y, Mochizuki S, Yuji K, Ohno N, Kawamata T, Jo N, Yokoyama K, Uchimaru K, Tojo A, <u>Takahashi S.</u>	Impact of sex incompatibility on the outcome of single-unit cord blood transplantation for adult patients with hematological malignancies.	Bone Marrow Transplant.	17.Feb	doi: 10.1038/bmt.2014.10. [Epub ahead of print]	2014
Konuma T, Kato S, Ooi J, Oiwa-Monna M, Yuji K, Ohno N, Kawamata T, Jo N, Yokoyama K, Uchimaru K, Tojo A, <u>Takahashi S.</u>	Comparable long-term outcome of unrelated cord blood transplantation with related bone marrow or peripheral blood stem cell transplantation for patients aged 45 years or older with hematologic malignancies after myeloablative conditioning.	Biol Blood Marrow Transplant.		in press	2014
Konuma T, Kato S, Ooi J, Oiwa-Monna M, Ebihara Y, Mochizuki S, Yuji K, Ohno N, Kawamata T, Jo N, Yokoyama K, Uchimaru K, Tojo A, <u>Takahashi S.</u>	Effect of ABO Blood Group Incompatibility on the Outcome of Single-Unit Cord Blood Transplantation after Myeloablative Conditioning.	Biol Blood Marrow Transplant.	20	577-592 doi: 10.1016/j.bbmt.2013.12.563. [Epub ahead of print]	2013
Konuma T, Kato S, Ooi J, Oiwa-Monna M, Ebihara Y, Mochizuki S, Yuji K, Ohno N, Kawamata T, Jo N, Yokoyama K, Uchimaru K, Asano S, Tojo A, <u>Takahashi S.</u>	Single-Unit Cord Blood Transplantation after Granulocyte Colony-Stimulating Factor-Combined Myeloablative Conditioning for Myeloid Malignancies Not in Remission.	Biol Blood Marrow Transplant.	20	396-401 doi: 10.1016/j.bbmt.2013.12.555. [Epub ahead of print]	2013
Konuma T, Kato S, Oiwa-Monna M, Tojo A, <u>Takahashi S.</u>	Pretransplant hyperferritinemia has no effect on the outcome of myeloablative cord blood transplantation for acute leukemia and myelodysplastic syndrome.	Ann Hematol.	93	1071-72 doi:10.1007/s00277-013-1932-9	2014
Tanaka J, Morishima Y, Takahashi Y, Yabe T, Oba K, <u>Takahashi S.</u> , Taniguchi S, Ogawa H, Onishi Y, <u>Miyamura K.</u> , Kanamori H, Aotsuka N, Kato K, Kato S, Atsuta Y, Kanda Y.	Effects of KIR ligand incompatibility on clinical outcomes of umbilical cord blood transplantation without ATG for acute leukemia in complete remission.	Blood Cancer J.	3	e164; doi: 10.1038/bcj.2013.62.	2013
Mae H, Ooi J, <u>Takahashi S.</u> , Kato S, Kawakita T, Ebihara Y, Tsuji K, Nagamura F, Echizen H, Tojo A.	Acute kidney injury after myeloablative cord blood transplantation in adults: the efficacy of strict monitoring of vancomycin serum trough concentrations.	Transpl Infect Dis.	15	181-186 doi:10.1111/tid.12038	2013

Mori T, Tanaka M, Kobayashi T, Ohashi K, Fujisawa S, Yokota A, Fujita H, Nakaseko C, Sakura T, Nannya Y, <u>Takahashi S</u> , Kanamori H, Kanda Y, Sakamaki H, Okamoto S; Kanto Study Group for Cell Therapy.	Prospective multicenter study of single-unit cord blood transplantation with myeloablative conditioning for adult patients with high-risk hematologic malignancies.	Biol Blood Marrow Transplant.	19	486-91 doi: 10.1016/j.bbmt.2012.12.007. Epub 2012 Dec 16	2013
Kumaki S, Sasahara Y, Kamachi Y, Muramatsu H, <u>Morio T</u> , Goi K, Sugita K, Urabe T, Takada H, Kojima S, Tsuchiya S, Hara T.	B-cell function after unrelated umbilical cord blood transplantation using a minimal-intensity conditioning regimen in patients with X-SCID.	Int J Hematol.	98	355-60,	2013
森尾友宏、宮坂あかね、小野敏明、落合央、藤田由利子、高橋 聡	移植後ウイルス感染に対する多ウイルス特異的CTL療法	The Japanese Journal of Pediatric Hematology Oncology	50(3)	335-340	2013
Caiado F, Carvalho T, Rosa I, Remedio L, Costa A, Matos J, Heissig B, Yagita H, <u>Hattori K</u> , da Silva JP, Fidalgo P, Dias Pereira A, Dias S	Bone marrow-derived CD11b+Jagged-2+ cells promote epithelial to mesenchymal transition and metastization in colorectal cancer	Cancer Res	73 (14)	4233-46	2013
Kawada H, Kaneko M, Sawanobori M, Uno T, Matsuzawa H, Nakamura Y, Matsushita H, <u>Ando K</u> .	High concentrations of L-ascorbic acid specifically inhibit the growth of human leukemic cells via downregulation of HIF-1 $\alpha$ transcription.	PLOS ONE,	8(4),	e2717 doi:10.1371/journal.pone.0062717	2013
Ibrahim AA, Yahata T, Takanashi T, Hiyama K, Onizuka M, Dan T, van Ypersele de Strihou C, Miyata T, and <u>Ando K</u> .	Inhibition of plasminogen activator inhibitor type-1 activity enhances rapid and sustainable hematopoietic regeneration.	Stem Cells	Oct 24.	1577	2013
Miyamoto M, Onizuka M, Machida S, Toyosaki M, Amaki J, Aoyama Y, Kawai H, Sato A, Hayama N, Ogawa Y, Kawada H, <u>Ando K</u> .	ACE deletion polymorphism is associated with a high risk of non-infectious pulmonary complication after stem cell transplantation.	Int J Hematol,	99(2):	175-83,	2013
Suzuki N, Yamazaki S, Yamaguchi T, Okabe M, Masaki H, Takaki S, <u>Otsu M</u> , Nakauchi H.	Generation of engraftable hematopoietic stem cells from induced pluripotent stem cells by way of teratoma formation.	Mol Ther	21(7)	1424-31	2013

Saka K, Kawahara M, Teng J, <u>Otsu M</u> , Nakauchi H, Nagamune T	Top-down motif engineering of a cytokine receptor for directing ex vivo expansion of hematopoietic stem cells.	J Biotechnol	168(4)	659-65	2013
Kon A, Shih LY, Minamino M, Sanada M, Shiraishi Y, Nagata Y, Yoshida K, Okuno Y, Bando M, Nakato R, Ishikawa S, Sato-Otsubo A, Nagae G, Nishimoto A, Haferlach C, Nowak D, Sato Y, Alpermann T, Nagasaki M, Shimamura T, Tanaka H, Chiba K, Yamamoto R, Yamaguchi T, <u>Otsu M</u> , Obara N, Sakata-Yanagimoto M, Nakamaki T, Ishiyama K, Nolte F, Hofmann WK, Miyawaki S, Chiba S, Mori H, Nakauchi H, Koeffler HP, Aburatani H, Haferlach T, Shirahige K, Miyano S, Ogawa S.	Recurrent mutations in multiple components of the cohesin complex in myeloid neoplasms.	Nat Genet	45(10)	1232-7	2013
Nakajima-Takagi Y, Osawa M, and <u>Iwama A</u> .	Manipulation of hematopoietic stem cells for regenerative medicine.	Anat Rec	297	111-120	2014
Miyagi S, Koide S, Saraya A, Wendt GR, Oshima M, Konuma T, Yamazaki S, Mochizuki-Kashio M, Nakajima-Takagi Y, Wang C, Chiba T, Kitabayashi I, Nakauchi H and <u>Iwama A</u> .	The Tif1 $\beta$ -Hp1 system maintains transcriptional integrity of hematopoietic stem cells.	Stem Cell Reports	2	145-152	2014
Muto T, Sashida G, Oshima M, Wendt GR, Mochizuki-Kashio M, Nagata Y, Sanada M, Miyagi S, Saraya A, Kamio A, Nagae G, Nakaseko C, Yokote K, Shimoda K, Koseki H, Suzuki Y, Sugano S, Aburatani H, Ogawa S, and <u>Iwama A</u> .	Concurrent loss of Ezh2 and Tet2 cooperates in the pathogenesis of myelodysplastic disorders.	J Exp Med	210	2627-2639	2013
Pamphilon D, Selogie E, McKenna D, Cancelas-Peres JA, Szczepiorkowski ZM, Sacher R, McMannis J, Eichler H, Garritsen H, <u>Takanashi M</u> , van de Watering L, Stroncek D, Reems JA.	Current practices and prospects for standardization of the hematopoietic colony-forming unit assay: a report by the cellular therapy team of the Biomedical Excellence for Safer Transfusion (BEST) Collaborative	Cytotherapy	15(3)	255-262	2013
Yamaguchi R, <u>Takanashi M</u> , Ito M, Ogawa A, Hashimoto M, Ishii Y, Mazda T, Tadokoro K, Nakajima K, Minami M.	Plasticizer concentration in cord blood cryopreserved with DMSO.	Bone Marrow Transplant	49(1)	157-8	2014
van der Meer PF, Reesink HW, Panzer S, Wong J, Ismay S, Keller A, Pink J, Buchta C, Compennolle V, Wendel S, Biagini S, Scuracchio P, Thibault L, Germain M, Georgsen J, Bégué S, Dermis D, Raspollini E, Villa S, Rebullia P, <u>Takanashi M</u> , de Korte D, Lozano M, Cid J, Gulliksson H, Cardigan R, Tooke C, Fung MK, Luban NL, Vassallo R, Benjamin R.	Should DEHP be eliminated in blood bags?	Vox Sang.	106(2)	176-195	2014

<p>Kanda J, Nakasone H, Atsuta Y, Toubai T, Yokoyama H, Fukuda T, Taniguchi S, Ohashi K, Ogawa H, Eto T, <u>Miyamura K</u>, Morishima Y, Nagamura-Inoue T, Sakamaki H, Murata M.</p>	<p>Risk factors and organ involvement of chronic GVHD in Japan.</p>	<p>Bone Marrow Transplant.</p>	<p>,Feb;49(2):.</p>	<p>228-35, doi: 10.1038/bmt.2013.151. Epub 2013 Sep 30</p>	<p>2014</p>
<p>Matsuno N, Yamamoto H, Watanabe N, Uchida N, Ota H, Nishida A, Ikebe T, Ishiwata K, Nakano N, Tsuji M, Asano-Mori Y, Izutsu K, Masuoka K, Wake A, Yoneyama A, Nakauchi H, <u>Taniguchi S</u>.</p>	<p>Rapid T-cell chimerism switch and memory T-cell expansion are associated with pre-engraftment immune reaction early after cord blood transplantation</p>	<p>Br J Haematol</p>	<p>160(2)</p>	<p>255-8</p>	<p>2013</p>

## X. 研究成果の刊行物・別刷

## ORIGINAL ARTICLE

## Impact of sex incompatibility on the outcome of single-unit cord blood transplantation for adult patients with hematological malignancies

T Konuma<sup>1</sup>, S Kato<sup>1</sup>, J Ooi<sup>2</sup>, M Oiwa-Monna<sup>1</sup>, Y Ebihara<sup>1</sup>, S Mochizuki<sup>1</sup>, K Yuji<sup>1</sup>, N Ohno<sup>1</sup>, T Kawamata<sup>1</sup>, N Jo<sup>1</sup>, K Yokoyama<sup>1</sup>, K Uchimarui<sup>1</sup>, A Tojo<sup>1</sup> and S Takahashi<sup>1</sup>

Donor–recipient sex incompatibility has been associated with transplant outcomes in allogeneic hematopoietic SCT. Such outcomes might be because mHA encoded by Y chromosome genes could be immunological targets for allogeneic T cells and B cells to induce GVHD, GVL effect and graft failure. However, its effect on the outcome of cord blood transplantation (CBT) is yet to be clarified. We retrospectively analyzed 191 adult patients who received single-unit CBT after myeloablative conditioning for malignant disease in our institute. In multivariate analysis, male recipients with female donors had a higher incidence of extensive chronic GVHD (hazard ratio (HR) 2.97,  $P=0.02$ ), and female recipients with male donors had a lower incidence of platelet engraftment (HR 0.56,  $P=0.02$ ) compared with female recipients with female donors as the reference. Nevertheless, there was no increase in mortality following sex-incompatible CBT. These data suggested that donor–recipient sex compatibility does not have a significant impact on survival after myeloablative CBT for hematological malignancies.

*Bone Marrow Transplantation* (2014) 49, 634–639; doi:10.1038/bmt.2014.10; published online 17 February 2014

**Keywords:** cord blood transplantation; sex incompatibility; H-Y antigens; minor histocompatibility antigens; graft-versus-host disease

## INTRODUCTION

Several studies have reported associations between donor–recipient sex incompatibility and outcomes following allogeneic hematopoietic SCT (allo-HSCT).<sup>1,2</sup> In the setting of sex-mismatched allo-HSCT, male-specific mHA (H-Y) encoded by Y chromosome genes could be immunological targets for allogeneic female T cells and B cells to induce GVHD, GVL effect and graft failure. However, most of these studies analyzed patients receiving HLA-compatible transplants using BM or mobilized peripheral blood as a stem cell source for allo-HSCT.<sup>3–8</sup>

Cord blood transplantation (CBT) from an unrelated donor has recently been utilized as an alternative transplant method for adult patients without HLA-compatible, related or unrelated donors.<sup>9–13</sup> As the majority of patients receive an HLA-mismatched cord blood unit, the impact of HLA mismatch on the outcome in CBT has been analyzed extensively.<sup>14–19</sup> However, there have been no reports detailing the effect of sex incompatibility on the outcomes after CBT. In this study, we retrospectively analyzed whether donor–recipient sex incompatibility affects the outcomes of myeloablative CBT in 191 adult patients with hematological malignancies in our institute.

## PATIENTS AND METHODS

## Patients and transplant procedures

This retrospective study included data from 191 adult patients who underwent unrelated first allogeneic transplantation using single-unit CBT at The Institute of Medical Science, The University of Tokyo,

between August 1998 and February 2013. Donor–recipient sex compatibility was categorized as follows: CBT from female donor to female recipient (F→F), CBT from female donor to male recipient (F→M), CBT from male donor to female recipient (M→F) and CBT from male donor to male recipient (M→M). All patients received 12 Gy TBI-based myeloablative conditioning regimens and cyclosporin (3 mg/kg/day) with or without short-term MTX (15 mg/m<sup>2</sup> on day 1 and 10 mg/m<sup>2</sup> on days 3 and 6) as a GVHD prophylaxis, and cord blood units were selected as previously reported.<sup>12,13</sup> The institutional review board of the Institute of Medical Science, The University of Tokyo approved this study. This study was conducted in accordance with the declaration of Helsinki.

## End points and statistical analysis

The primary study end point was GVHD. Both acute GVHD (aGVHD) and chronic GVHD (cGVHD) were graded according to the previously published criteria.<sup>20,21</sup> The incidence of aGVHD was evaluated in all engrafted patients, whereas the incidence of cGVHD was evaluated in engrafted patients surviving for > 100 days. Secondary end points were OS, relapse, TRM, and neutrophil and platelet engraftment. OS was defined as the time from the date of transplantation to the date of death or last contact. Relapse was defined by morphologic evidence of disease in peripheral blood, BM or extramedullary sites. TRM was defined as death during a remission. Neutrophil engraftment was defined as the first of three consecutive days during which the absolute neutrophil count was at least  $0.5 \times 10^9/L$ . Platelet engraftment was defined as the first of seven consecutive days with a platelet count of  $20 \times 10^9/L$  or higher without platelet transfusion.

Baseline patient and transplant characteristics were compared using the chi-square test for categorical variables and the Kruskal–Wallis test for

<sup>1</sup>Department of Hematology/Oncology, The Institute of Medical Science, The University of Tokyo, Tokyo, Japan and <sup>2</sup>Department of Hematology/Oncology, Teikyo University School of Medicine, Tokyo, Japan. Correspondence: Dr T Konuma, Department of Hematology/Oncology, The Institute of Medical Science, The University of Tokyo, 4-6-1, Shirokanedai, Minato-ku, Tokyo 108-8639, Japan.

E-mail: tkonuma@ims.u-tokyo.ac.jp

Received 27 September 2013; revised 2 December 2013; accepted 2 December 2013; published online 17 February 2014