

201322035A

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)

新たな造血幹細胞移植法の開発：生着効率の向上を目指して

平成 25 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 村田 誠

平成 26 年 (2014) 年 3 月

目次

I. 総括研究報告

新たな造血幹細胞移植法の開発：生着効率の向上を目指して-----	1
名古屋大学医学部附属病院 血液内科	村田 誠

II. 分担研究報告

放射線非照射による骨髄非破壊的前治療を用いた骨髄内臍帯血移植法の開発 -----	9
名古屋大学医学部附属病院 血液内科	村田 誠

間葉系幹細胞を用いたステロイド不応性急性 GVHD に対する細胞治療法の開発 -----	12
自治医科大学医学部 内科学講座血液学部門	小澤 敬也

臍帯血を洗浄せずに用いる骨髄内臍帯血ミニ移植の研究 -----	14
兵庫医科大学 内科学講座血液内科	小川 啓恭

「新たな造血幹細胞移植法の開発：生着効率の向上を目指して」に関する研究 -----	17
北海道大学大学院医学研究科 血液内科学分野	豊嶋 崇徳

同種造血幹細胞移植後合併症における HMGB1-RAGE 系の関与の検討 -----	20
岡山大学病院 血液・腫瘍内科	前田 嘉信

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 -----	23
------------------------------	----

IV. 研究成果の刊行物・別刷 -----	25
--------------------------	----

I . 総括研究報告

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）

総括研究報告書

新たな造血幹細胞移植法の開発：生着効率の向上を目指して

研究代表者 村田 誠

名古屋大学医学部附属病院 血液内科 講師

研究要旨

造血幹細胞移植における生着効率の向上を目指して、解凍した臍帯血を直接骨髄内へ移植する骨髄内臍帯血移植の臨床試験を実施している。また移植時に間葉系幹細胞を併用する移植法を開発している。移植後免疫応答に関する基礎的解析を行っている。

研究分担者

村田 誠 名古屋大学医学部附属病院
血液内科 講師
小澤敬也 自治医科大学医学部内科学
講座血液学部門 教授
小川啓恭 兵庫医科大学内科学講座血
液内科 教授
豊嶋崇徳 北海道大学大学院医学研究
科血液内科学 教授
前田嘉信 岡山大学病院血液・腫瘍内
科 助教

られている。本研究班では、生着効率の向上を目指した新しい造血幹細胞移植法の開発を行う。

具体的には、骨髄非破壊的前治療を用いた非血縁臍帯血移植において、解凍した臍帯血を直接骨髄内へ移植する移植法の臨床試験を実施し、その安全性と有効性を確認する。この試験に成功すれば、臍帯血移植における生着不全を減らすことができるとともに、細胞数による制約が弱まり HLA 適合度のより高いユニットの選択が可能になり、GVHD 発症率が低下することも期待される。この移植法を骨髄移植や末梢血幹細胞移植に応用すれば、必要移植細胞数すなわち採取量を減らすことができ、その結果ドナーに掛かる負担を軽減することが可能になる。

もう一つ、骨髄内移植法の開発とは別に、間葉系幹細胞を併用する移植法の開発を行う。これまで海外では、移植時に間葉系幹細胞を静注する臨床試験が行われたが、明確な生着促進効果を確認できていない。しかし研究分担者の小澤らは、移植時に間葉系幹細胞

A. 研究目的

我が国における同種造血幹細胞移植件数は年間約 3400 件（平成 23 年）となり、10 年前と比べて約 2 倍に増えた。この間、同胞数は減少し非血縁ドナーからの移植が 3 分の 2 を占めるに至った。また、患者は高齢化し骨髄非破壊的前治療が多く用いられるようになった。これら非血縁ドナー、骨髄非破壊的前治療はいずれも生着不全の危険因子である。取り分け非血縁臍帯血移植において生着不全は約 2 割の頻度で発症し、生着効率向上の工夫が強く求め

を骨髄内注入することで生着効率が高まることを、サルを用いた実験で証明している[Exp Hematol,37:1250,2009]。この結果をもとに、間葉系幹細胞併用移植の開発基盤を作る。将来には骨髄内臍帯血移植と間葉系幹細胞輸注の併用も期待される。

B. 研究方法

1. 成人血液悪性疾患に対する減量強度前治療を用いた骨髄内臍帯血移植法の臨床試験（村田、豊嶋、前田）

対象は減量強度前治療による同種臍帯血移植の適応となる成人血液悪性疾患患者で、かつ選択基準（HLA-A, B, DR 血清型 4/6 以上一致、かつ凍結時の臍帯血有核細胞数が 2.0×10^7 /患者体重 kg 以上）を満たす臍帯血ユニットが得られる患者。主として、フルダラビン+シクロフォスファミドによる前治療法と、短期メソトレキセート+タクロリムスによる GVHD 予防法を用いる。骨髄穿刺針を局所麻酔下で腸骨に穿刺し、解凍洗浄した臍帯血を注入する。試験デザインは臨床第 II 相試験で、主要評価項目は移植後 60 日の生着生存率、予定登録数は 22 例。安全性への配慮として、生着不全、生着前早期死亡、骨髄内輸注に伴う grade 4 以上の有害事象の発生患者数で規定した試験早期中止基準を設定し、独立した効果安全性評価委員会を設置した。またモニタリングを定期開催し、その結果に基づき必要に応じて監査も適宜実施する。尚、全ての参加施設で倫理審査委員会の承認を得て実施する。

2. 臍帯血を洗浄せずに用いる骨髄内臍帯血ミニ移植の臨床試験（小川）

対象は初回臍帯血移植の適応となる 55～70 歳の血液悪性疾患患者で、かつ骨髄線維症を有しない患者に限る。フ

ルダラビン+シクロフォスファミド+放射線全身照射による前治療法と、シクロスポリン+MMF による GVHD 予防法を用いる。試験デザインは臨床第 I/II 相試験で、安全性を評価する第 I 相試験は 10 例、有効性を評価する第 II 相試験は 30 例の登録数を予定している。

3. その他の施設における骨髄内臍帯血移植（村田）

上記の他に、単施設で骨髄内臍帯血移植を試みている施設があり、これらの施設における研究の進捗状況を把握する。

4. 造血幹細胞移植における間葉系幹細胞の臨床応用（村田、小澤）

日本ケミカルリサーチ社による多施設第 I/II 相臨床試験「同種造血幹細胞移植後に発症した標準治療抵抗性の急性 GVHD に対する JR-031 投与の第 I/II 相試験」（治験調整医師：小澤敬也）の評価を行う。対象はステロイド不応性の grade II 以上急性 GVHD を呈した患者 14 例で、間葉系幹細胞（開発名：JR-031） 2×10^6 個/kg を週 2 回、4 週間投与した。

5. 移植後免疫応答に関する基礎的解析（村田、豊嶋、前田）

マウス移植モデルを用いて、移植後免疫応答に関する基礎的解析を行った。

C. 研究結果

1. 成人血液悪性疾患に対する減量強度前治療を用いた骨髄内臍帯血移植法の臨床試験

平成 25 年度に 4 例実施し、これまでの試験実施症例数は計 17 例となった。他施設で実施した際にも、臍帯血ユニットの解凍、洗浄、濃縮や、骨髄内への注入などは問題なく実施できた。今年度中に発生した至急報告義務のある有害事象は 2 例で、1 例は生着不全、1 例は生着不全等を除く移植前治療開始

から移植後 60 日までのすべての死亡。いずれも通常の臍帯血移植後に一定の頻度で起こりうる事象であり、効果安全性評価委員によりその後の試験継続は可と判断された。2013 年 7 月 7 日にモニタリング検討会を行った。また解凍した臍帯血を洗浄する際に用いる洗浄バッグの改良を、製造元のニプロ株式会社と共同で進めている。

2. 臍帯血を洗浄せずに用いる骨髄内臍帯血ミニ移植の臨床試験

既に第 I 相試験（10 例）を終えており、解凍した臍帯血を洗浄せずに直接骨髄内へ輸注することの安全性を確認した。現在は有効性を検討する第 II 相試験を多施設共同研究として実施中。現時点で 26 例の登録が終了している。

3. その他の施設における骨髄内臍帯血移植の試み

単施設で骨髄内臍帯血移植を実施している施設に、実施状況の情報提供を依頼した。

4. 造血幹細胞移植における間葉系幹細胞の臨床応用

既に第 I/II 相臨床試験（14 例）を終えており、間葉系幹細胞投与による輸注毒性、異所性組織形成は認めず、有害事象の多くは同種造血幹細胞移植後に一般的に認められるものであった。

14 例中 13 例で奏功（CR or PR）が得られた。また grade III の 5 例中、2 例で CR、2 例で PR が得られた。

5. 移植後免疫応答に関する基礎的解析

RAGE 欠損マウスを使用したマウス急性 GVHD の系で、致死率に WT マウスと有意な差を認め、HMGB1-RAGE 系が GVHD に関与していることが明らかとなった。今後はそのメカニズムを明らかにするため抗原提示細胞と組織損傷について検討を行う予定。

骨髄非破壊的前処置後に拒絶を来す

マスク移植モデルで、移植 3 週間後に一過性かつ著明な T リンパ球増加がみられること、ドナーの樹状細胞を除去することによりレシピエント T 細胞の増殖を抑制し、ドナー造血が促進されることが明らかとなった。さらに実際に骨髄非破壊的前処置で臍帯血移植を受けた患者 24 例で解析したところ、拒絶例 7 例中 4 例の末梢血で移植 3 週間後のレシピエントリンパ球の一過性増殖がみられたが、生着例 17 例では同様の変化は観察されなかった。

D. 考察

生着不全を来した患者の多くは死に至ることから、生着効率の高い新しい移植法の開発が望まれている。本研究では、放射線を用いない骨髄非破壊的前治療による骨髄内臍帯血移植法の臨床試験を進めており、開発に成功すれば生着率の高い、放射線性二次癌のない、小児成長障害の少ない、治療関連合併症の少ない臍帯血移植法が確立されるものと期待される。一方、骨髄移植では 1000ml 近くに及ぶ骨髄液を必要とし、ドナーに全身麻酔下での骨髄採取術を強いる。また末梢血幹細胞移植では 5 日間の G-CSF 投与とアフエレーシスをドナーに強いる。骨髄内移植法や間葉系幹細胞を用いた新しい移植法を骨髄移植や末梢血幹細胞移植に応用することができれば、生着に必要な移植細胞数を減らすことができ、ドナーに掛かる身体的・精神的負担が軽減され、ドナー拡大も期待できる。

E. 結論

引き続き、臍帯血を洗浄した上で移植する骨髄内臍帯血移植と、洗浄しないで移植する骨髄内臍帯血移植の両試験を推進していく。同時に、間葉系幹

細胞を用いた新しい移植法の開発基盤を整備する。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

論文発表

<研究代表者：村田 誠>

1. Murata M, Nakasone H, Kanda J, Nakane T, Furukawa T, Fukuda T, Mori T, Taniguchi S, Eto T, Ohashi K, Hino M, Inoue M, Ogawa H, Atsuta Y, Nagamura-Inoue T, Yabe H, Morishima Y, Sakamaki H, Suzuki R. Clinical factors predicting the response of acute graft-versus-host disease to corticosteroid therapy: an analysis from the GVHD Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 19(8): 1183-9, 2013.
2. Murata M, Nishida T, Taniguchi S, Ohashi K, Ogawa H, Fukuda T, Mori T, Kobayashi H, Nakaseko C, Yamagata N, Morishima Y, Nagamura-Inoue T, Sakamaki H, Atsuta Y, Suzuki R, Naoe T. Allogeneic transplantation for primary myelofibrosis with BM, peripheral blood or umbilical cord blood: an analysis of the JSHCT. *Bone Marrow Transplant.* 2013 Nov 25. [Epub ahead of print]
3. Yasuda T, Ueno T, Fukumura K, Yamato A, Ando M, Yamaguchi H, Soda M, Kawazu M, Sai E, Yamashita Y, Murata M, Kiyoi H, Naoe T, Mano H. Leukemic evolution of donor-derived cells harboring IDH2 and DNMT3A mutations after allogeneic stem cell transplantation. *Leukemia.* 28(2): 426-8,

2014.

<研究分担者：小澤敬也>

1. Muroi K, Miyamura K, Ohashi K, Murata M, Eto T, Kobayashi N, Taniguchi S, Imamura M, Ando K, Kato S, Mori T, Teshima T, Mori M, Ozawa K. Unrelated allogeneic bone marrow-derived mesenchymal stem cells for steroid-refractory acute graft-versus-host disease: a phase I/II study. *Int J Hematol.* 98(2): 206-13, 2013.
2. Tsukahara T, Ohmine K, Yamamoto C, Uchibori R, Ido H, Teruya T, Urabe M, Mizukami H, Kume A, Nakamura M, Mineno J, Takesako K, Riviere I, Sadelain M, Brentjens R, Ozawa K. CD19 target-engineered T-cells accumulate at tumor lesions in human B-cell lymphoma xenograft mouse models. *Biochem Biophys Res Commun.* 438: 84-9, 2013.
3. Uchibori R, Tsukahara T, Mizuguchi H, Saga Y, Urabe M, Mizukami H, Kume A, Ozawa K. NF- κ B activity regulates mesenchymal stem cell accumulation at tumor sites. *Cancer Res.* 73(1): 364-72, 2013.

<研究分担者：小川啓恭>

1. Ikegame K, Kato R, Fujioka T, Okada M, Kaida K, Ishii S, Yoshihara S, Inoue T, Taniguchi K, Tamaki H, Soma T, Ogawa H. Detection of donor-derived CMV-specific T cells in cerebrospinal fluid in a case of CMV meningoencephalitis after cord blood stem cell transplantation. *Int J Hematol.* 97: 287-90, 2013.
2. Kanda J, Atsuta Y, Wake A, Ichinohe

T, Takanashi M, Morishima Y, Taniguchi S, Takahashi S, Ogawa H, Ohashi K, Ohno Y, Aotsuka N, Onishi Y, Kato K, Nagamura-Inoue T, Kanda Y. Impact of the direction of HLA mismatch on transplant outcome in single unrelated cord blood transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 19: 247-54, 2013.

3. Fujioka T, Tamaki H, Ikegame K, Yoshihara S, Taniguchi K, Kaida K, Kato R, Inoue T, Nakata J, Ishii S, Soma T, Okada M, Ogawa H. Frequency of CD4(+)FOXP3(+) regulatory T-cells at early stages after HLA-mismatched allogeneic hematopoietic SCT predicts the incidence of acute GVHD. *Bone Marrow Transplant.* 48: 859-64, 2013.

4. Nakasone H, Onizuka M, Suzuki N, Fujii N, Taniguchi S, Kakihana K, Ogawa H, Miyamura K, Eto T, Sakamaki H, Yabe H, Morishima Y, Kato K, Suzuki R, Fukuda T. Pre-transplant risk factors for cryptogenic organizing pneumonia/bronchiolitis obliterans organizing pneumonia after hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 48: 1317-23, 2013.

<研究分担者：豊嶋崇徳>

1. Shimoji S, Kato K, Eriguchi Y, Takenaka K, Iwasaki H, Miyamoto T, Oda Y, Akashi K, Teshima T. Evaluating the association between histological manifestations of cord colitis syndrome with GVHD. *Bone Marrow Transplant.* 48(9): 1249-52, 2013.

2. Eriguchi Y, Uryu H, Nakamura K, Shimoji S, Takashima S, Iwasaki H, Miyamoto T, Shimono N, Hashimoto D,

Akashi K, Ayabe T, Teshima T. Reciprocal expression of enteric antimicrobial proteins in intestinal graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant.* 19(10): 1525-9, 2013.

3. Koyama M, Hashimoto D, Nagafuji K, Eto T, Ohno Y, Aoyama K, Iwasaki H, Miyamoto T, Hill GR, Akashi K, Teshima T. Expansion of donor-reactive host T cells in primary graft failure after allogeneic hematopoietic SCT following reduced-intensity conditioning. *Bone Marrow Transplant.* 49(1): 110-5, 2014.

<研究分担者：前田嘉信>

1. Maeda Y. Pathogenesis of graft-versus-host disease: innate immunity amplifying acute alloimmune responses. *Int J Hematol.* 98(3): 293-9, 2013.

2. Nishimori H, Maeda Y, Tanimoto M. Chronic graft-versus-host disease: disease biology and novel therapeutic strategies. *Acta Med Okayama.* 67(1): 1-8, 2013.

3. Sugiyama H, Maeda Y, Nishimori H, Yamasuji Y, Matsuoka K, Fujii N, Kondo E, Shinagawa K, Tanaka T, Takeuchi K, Teshima T, Tanimoto M. mTOR inhibitors permit regulatory T cell reconstitution and inhibit chronic GVHD. *Biol Blood Marrow Transplant.* 20(2): 183-91, 2014.

学会発表

<研究代表者：村田 誠>

1. Murata M, Nishida T, Taniguchi S, Ohashi K, Ogawa H, Fukuda T, Morishima Y, Nagamura-Inoue T, Sakamaki H, Atsuta Y, Suzuki R, Naoe T. Transplantation for primary

myelofibrosis using bone marrow, peripheral blood and umbilical cord blood: a retrospective analysis of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. The 39th Annual Meeting of the European Group for Blood and Marrow Transplantation, in London, UK. April 7-10, 2013.

2. Watanabe K, Terakura S, Goto T, Hanajiri R, Imahashi N, Shimada K, Nishida T, Tomita A, Murata M, Naoe T. Anti-CD20 chimeric antigen receptor transduced T cells can recognize very low antigen expression: determination of the lower threshold required to activate the CAR-T cells. The 55th Annual Meeting of the American Society of Hematology, in New Orleans, Louisiana. December 7-10, 2013.

3. Hanajiri R, Murata M, Sugimoto K, Murase M, Ohashi H, Goto T, Watanabe K, Imahashi N, Terakura S, Nishida T, Naoe T. Cord blood allograft rejection mediated by coordinated donor-specific cellular and humoral immune process. The 55th Annual Meeting of the American Society of Hematology, in New Orleans, Louisiana. December 7-10, 2013.

<研究分担者：小川啓恭>

1. Yamashita T, Taniguchi S, Fukuda T, Ogawa H, Morishima Y, Nagamura T, Sakamaki H, Atsuta Y, Takami A. Clinical outcomes of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with intravenous busulfan-based reduced-intensity conditioning for acute myeloid leukemia: A nationwide retrospective study from the adult AML working group of JSHCT. The 39th

EBMT annual meeting in 2013, 2013, 4.7-10, London, UK.

2. Tanaka J, Takahashi Y, Yabe T, Morishima Y, Oba K, Takahashi S, Taniguchi S, Ogawa H, Ohnishi Y, Miyamura K, Kato K, Kato S, Atsuta Y, Kanda Y. KIR-ligand incompatibility in the graft-versus-host direction did not affect outcomes of single umbilical cord blood transplantation without ATG for acute leukemia in complete remission: A Study From the HLA Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation (JSHCT). The 18th congress of European Hematology Association, 2013. 6.13-16, Stockholm, Sweden.

3. Kondo E, Mizuta S, Ito T, Ogawa H, Sakamaki H, Kato K, Morishima Y, Suzuki R, Suzumiya J. High dose chemotherapy with autologous stem cell support for Primary Mediastinal large B-cell Lymphoma: a retrospective analysis from the Adult Malignant Lymphoma Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation (JSHCT). The 12th International Conference on Malignant Lymphoma, 2013, 6.19-22, Lugano, Switzerland.

4. Ikegame K, Kaida K, Ishii S, Yoshihara S, Taniguchi K, Kato R, Inoue T, Okada M, Tamaki H, Soma T, Ogawa H. Transition of conditioning regimen in haplo-mini in connection with survival results. (一般口演) 第75回日本血液学会学術集会 2013.10 札幌.

<研究分担者：豊嶋崇徳>

1. Teshima T. Challenge to HLA barrier

in hematopoietic stem cell transplantation. 1st Hokkaido University Hospital and Seoul National University Hospital Joint Symposium. Seoul, Korea, 2013.12.13.

2. **豊嶋崇徳**：血液がんの新しい治療. 第 11 回 日本検査血液学会北海道支部総会. 2013 年 5 月 25 日. 札幌.

3. **豊嶋崇徳**：造血幹細胞移植の展望. 第 72 回 日本癌学会学術総会. 2013 年 10 月 4 日. 横浜.

<研究分担者：前田嘉信>

1. Fujiwara H, Maeda Y, Kobayashi K, Nishimori H, Matusoka K, Azuma M, Hideo Y, Chen L, Tanimoto M. Host tissue PD-1 pathway contribute to murine chronic graft-versus-host disease via Th1+Th17+ cells. The 55th Annual Meeting of the American Society of Hematology, in New Orleans, Louisiana. December 7-10, 2013.

2. Fujiwara H, Maeda Y, Kobayashi K, Nishimori H, Nishinohara M, Okamoto S, Matsuoka K, Kondo E, Fujii N, Shinagawa K, Tanimoto M. PD-1 pathway of donors and recipients modulate chronic graft -versus-host disease through Th1 and Th17 in mouse model. 第 36 回日本造血幹細胞移植学会総会. 2014 年 3 月 7～9 日. 沖縄.

H. 知的財産権の出願・登録状況

特許取得	なし
実用新薬登録	なし
その他	なし

II. 分担研究報告

放射線非照射による骨髄非破壊的前治療を用いた骨髄内臍帯血移植法の開発

研究分担者 村田 誠 名古屋大学医学部附属病院 血液内科 講師

研究要旨

非血縁臍帯血移植における生着率の改善を目的として、解凍した臍帯血を直接骨髄内へ移植する骨髄内臍帯血移植の臨床第 II 相試験を実施している。対象は骨髄非破壊的臍帯血移植の適応となる成人血液悪性疾患患者で、放射線非照射による前治療法を用いる。骨髄穿刺針を局所麻酔下で腸骨に穿刺し、解凍洗浄した臍帯血を注入する。主要評価項目は移植後 60 日の生着生存率。予定登録数は 22 例。今年度は 4 例実施し、総実施症例数は 17 例となった。臍帯血ユニットの解凍、洗浄、濃縮や、骨髄内への注入に伴う重篤な有害事象はこれまで発生していない。今年度中に発生した至急報告義務のある有害事象は 2 例あるが、いずれも効果安全性評価委員よりその後の試験継続は可と判断された。引き続き本臨床試験を進める。

A. 研究目的

非血縁臍帯血移植における生着不全は約 2 割の頻度で発症し、その多くは死に至る。そこで非血縁臍帯血移植における生着率の改善を目的として、解凍した臍帯血を直接骨髄内へ移植する骨髄内臍帯血移植の臨床第 II 相試験を開始した。

B. 研究方法

対象は骨髄非破壊的前治療による同種臍帯血移植の適応となる成人血液悪性疾患患者で、かつ選択基準 (HLA-A, B, DR 血清型 4/6 以上一致、かつ凍結時の臍帯血有核細胞数が 2×10^7 /患者体重 kg 以上) を満たす臍帯血ユニットが得られる患者。主として、フルダラビン＋シクロフォスファミドによる前治療法と、短期メソトレキセート＋タクロリムスによる GVHD 予防法を用いる。骨

髄穿刺針を局所麻酔下で腸骨に穿刺し、解凍洗浄した臍帯血を注入する。主要評価項目は移植後 60 日の生着生存率。予定登録数は 22 例。当初は単一施設で開始したが、現在は名古屋大学のほか、北海道大学、東北大学、新潟大学、金沢大学、岡山大学による多施設共同研究として実施している。全ての施設で倫理審査委員会の承認を得ている。

C. 研究結果

今年度はこれまでに 4 例実施し、総実施症例数は 17 例となった。臍帯血ユニットの解凍、洗浄、濃縮や、骨髄内への注入などは問題なく実施出来ている。今年度中に発生した至急報告義務のある有害事象は 2 例で、1 例は生着不全、1 例は生着不全以外による移植前治療開始から移植後 60 日までのすべての死亡。いずれも通常の臍帯血移植後に

一定の頻度で起こりうる事象であり、効果安全性評価委員によりその後の試験継続は可と判断された。2013年7月7日にモニタリング検討会を開催した。臍帯血洗浄バッグの改良を、製造元のニプロ株式会社と共同で進めている。

D. 考察

本移植法の開発に成功すれば、臍帯血移植における生着不全を減らすことができ、また細胞数による制約が弱まることで HLA 適合度のより高いユニットの選択が可能になり、GVHD 発症率が低下することが期待される。また骨髄移植や末梢血幹細胞移植に応用することで、必要移植細胞数すなわち採取量を減らすことができ、ドナーに掛かる負担を軽減することが可能になると期待される。

E. 結論

引き続き、放射線照射を用いない骨髄非破壊的骨髄内臍帯血移植の臨床試験を進める。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

論文発表

1. Murata M, Nakasone H, Kanda J, Nakane T, Furukawa T, Fukuda T, Mori T, Taniguchi S, Eto T, Ohashi K, Hino M, Inoue M, Ogawa H, Atsuta Y, Nagamura-Inoue T, Yabe H, Morishima Y, Sakamaki H, Suzuki R. Clinical factors predicting the response of acute graft-versus-host disease to corticosteroid therapy: an analysis from the GVHD Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell

Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 19(8): 1183-9, 2013.

2. Murata M, Nishida T, Taniguchi S, Ohashi K, Ogawa H, Fukuda T, Mori T, Kobayashi H, Nakaseko C, Yamagata N, Morishima Y, Nagamura-Inoue T, Sakamaki H, Atsuta Y, Suzuki R, Naoe T. Allogeneic transplantation for primary myelofibrosis with BM, peripheral blood or umbilical cord blood: an analysis of the JSHCT. *Bone Marrow Transplant.* 2013 Nov 25. [Epub ahead of print]

3. Yasuda T, Ueno T, Fukumura K, Yamato A, Ando M, Yamaguchi H, Soda M, Kawazu M, Sai E, Yamashita Y, Murata M, Kiyoi H, Naoe T, Mano H. Leukemic evolution of donor-derived cells harboring IDH2 and DNMT3A mutations after allogeneic stem cell transplantation. *Leukemia.* 28(2): 426-8, 2014.

学会発表

1. Murata M, Nishida T, Taniguchi S, Ohashi K, Ogawa H, Fukuda T, Morishima Y, Nagamura-Inoue T, Sakamaki H, Atsuta Y, Suzuki R, Naoe T. Transplantation for primary myelofibrosis using bone marrow, peripheral blood and umbilical cord blood: a retrospective analysis of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. The 39th Annual Meeting of the European Group for Blood and Marrow Transplantation, in London, UK. April 7-10, 2013.

2. Watanabe K, Terakura S, Goto T, Hanajiri R, Imahashi N, Shimada K, Nishida T, Tomita A, Murata M, Naoe T. Anti-CD20 chimeric antigen receptor

transduced T cells can recognize very low antigen expression: determination of the lower threshold required to activate the CAR-T cells. The 55th Annual Meeting of the American Society of Hematology, in New Orleans, Louisiana. December 7-10, 2013.

3. Hanajiri R, Murata M, Sugimoto K, Murase M, Ohashi H, Goto T, Watanabe K, Imahashi N, Terakura S, Nishida T, Naoe T. Cord blood allograft rejection mediated by coordinated donor-specific cellular and humoral immune process. The 55th Annual Meeting of the American Society of Hematology, in New Orleans, Louisiana. December 7-10, 2013.

H. 知的財産権の出願・登録状況

特許取得	なし
実用新薬登録	なし
その他	なし

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）
分担研究報告書

間葉系幹細胞を用いたステロイド不応性急性 GVHD に対する細胞治療法の開発

研究分担者 小澤敬也 自治医科大学医学部教授

研究要旨 間葉系幹細胞 (MSC) は、ステロイド不応性の重症急性 GVHD に対して効果があるものと考えられている。そこで、我が国で実施された急性 GVHD に対する MSC 治療の多施設第 I/II 相臨床試験の評価を行い、有効性を検討した。対象患者は 14 例で、9 例がグレード II、5 例がグレード III の GVHD を認めた。MSC 治療は、14 例中 13 例 (92.9%) で奏効し、8 例で CR、5 例で PR が得られ、その有効性が示唆された。MSC 投与の安全性に問題はなかった。但し、この試験はグレード II を含む非盲検試験であるため、今後、自然経過での改善が期待したいグレード III とグレード IV のステロイド不応性急性 GVHD 患者を対象とした第 II/III 相臨床試験の結果を評価する必要がある。

A. 研究目的

間葉系幹細胞 (MSC: mesenchymal stem/stromal cells) は、血管内投与を行うと組織傷害部位や炎症部位などに集積する性質があり、また免疫抑制作用があることから、ステロイド不応性の重症急性 GVHD に対して効果があるものと考えられている。ヨーロッパで実施された第 II 相臨床試験では、60~70%の有効性が認められたと報告されている。米国オサイリス社が実施した第 III 相臨床試験では、二次治療との併用という形で二重盲検試験が行われたが、MSC の有効性は確認されなかった。但し、肝 GVHD あるいは消化管 GVHD に限定してみると、MSC 併用群の方が良好な治療成績であった。そこで、JCR ファーマ株式会社により日本で実施された急性 GVHD に対する MSC 治療の多施設第 I/II 相臨床試験の評価を行い、有効性を検討した。本研究は、MSC を新たな造血幹細胞移植法の開発に役立てることを目的とする。

B. 研究方法

JCR ファーマ株式会社が実施した「同種造血幹細胞移植後に発症した標準治療抵抗性の急性移植片対宿主病 (急性 GVHD) に対する JR-031 投与の第 I/II 相試験」(治験調整医師:小澤敬也)について、その報告結果の評価を行った。

対象患者は、ステロイド不応性の重症急性 GVHD で、14 例のうち、9 例がグレード II、5 例がグレード III の GVHD であった。年齢は 4~62 歳 (中央値 52 歳)、男性 5 例、女性 9 例であった。MSC (開発名: JR-031) を 2×10^6 cells/kg を週 2 回、4 週間投与 (症例によってはさらに 4 週間継続) し、その他の二次治療は行わなかった。

(倫理面への配慮)

本研究は、既に実施された第 I/II 相臨床試験について、その結果の報告に基づいて MSC 治療の評価を行うものであり、倫理的な問題が生ずることはない。

C. 研究結果

MSC 投与 4 週間での効果判定では、14 例中 13 例 (92.9%) で奏効 (CR or PR) し、8 例で CR、5 例で PR が得られた。その中のグレード III の 5 例においては、2 例で CR、2 例で PR が得られた。6 ヶ月後の生存は 11 例 (78.6%) であった。MSC 投与による輸注毒性、異所性組織形成は認められず、有害事象のほとんどは造血幹細胞移植後に一般的に認められるものであった。

D. 考察

上述の臨床試験で重症急性 GVHD に対する MSC 治療の有効性と安全性が示唆されたが、グレード II を含む非盲検試験であるため、明確な結論を出すには至らなかった。二次治療を行わない対照群をおいた二重盲検試験を行うことはできないため、次の段階として、自然経過での改善が期待しがたいグレード III とグレード IV のステロイド不応性急性 GVHD 患者を対象とした第 II/III 相臨床試験を実施することになった。この試験で GVHD に対する MSC 治療の有効性が確認できれば、さらに移植片の拒絶を防ぎ、生着を促進する効果を期待した MSC 治療の臨床研究について検討することを考えている。このような MSC 併用造血幹細胞移植法は、特に臍帯血移植において有用性が期待され、骨髄内移植法への応用にも興味を持たれる。

E. 結論

重症急性 GVHD に対する MSC 治療の有効性が示唆された。将来的には、MSC 併用造血幹細胞移植法の有用性が期待される。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Muroi, K., Miyamura, K., Ohashi, K., Murata, M., Eto, T., Kobayashi, N., Taniguchi, S., Imamura, M., Ando, K., Kato, S., Mori, T., Teshima, T., Mori, M., and Ozawa, K.: Unrelated allogeneic bone marrow-derived mesenchymal stem cells for steroid-refractory acute graft-versus-host disease: a phase I/II study. *Int. J. Hematol.* 98(2): 206-213, 2013.
2. Tsukahara, T., Ohmine, K., Yamamoto, C., Uchibori, R., Ido, H., Teruya, T., Urabe, M., Mizukami, H., Kume, A., Nakamura, M., Mineno, J., Takesako, K., Riviere, I., Sadelain, M., Brentjens, R., and Ozawa, K.: CD19 target-engineered T-cells accumulate at tumor lesions in human B-cell lymphoma xenograft mouse models. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 438: 84-89, 2013.
3. Uchibori, R., Tsukahara, T., Mizuguchi, H., Saga, Y., Urabe, M., Mizukami, H., Kume, A., and Ozawa, K.: NF- κ B activity regulates mesenchymal stem cell accumulation at tumor sites. *Cancer Res.* 73(1): 364-372, 2013.

H. 知的所有権の出願・取得状況 (予定を含む)

なし

臍帯血を洗浄せずに用いる骨髄内臍帯血ミニ移植の研究
研究分担者 小川 啓恭 兵庫医科大学 内科学講座血液内科教授

研究要旨

臍帯血移植における、拒絶、生着不全という問題点を克服するための1つの方法として、骨髄内へ直接移植する骨髄内移植の有用性を検討した。高齢者にも適用できるようにするため、RISTの条件にし、幹細胞のlossを少なくするため、臍帯血を洗浄せずに用いることとした。第I相試験(10例)では、この手技の安全性を、第II相試験(30例)では、有用性を検討することにした。第I相試験は、すでに終了したが、骨髄内への移植に関して、問題となる合併症は認められなかった。10例中9例が生着し、ドナー由来の生着は速やかであった。そのため、現在、第II相試験を、多施設共同前方向試験の形で実施中である。骨髄内臍帯血ミニ移植は、臍帯血移植後の拒絶、生着不全を克服する手段と有用である可能性がある。

A. 研究目的

臍帯血移植は、コーディネート期間をほとんど必要とせず移植ができる、ドナー/レシピエント間のHLA不適合を許容できるなどの利点から、本邦では数多く施行されている。しかし、他の移植源に比べて、拒絶率が高い、移植後の造血能の回復が遅いという問題点が存在する。これらの問題点を解決するために、1) 複数臍帯血移植、2) 体外増幅臍帯血移植などの試みがなされているが、それぞれに問題点があり、臨床応用されるには至っていない。臍帯血移植の問題点の克服に向けて、我々は、骨髄内に直接臍帯血を移植する、骨髄内臍帯血移植を研究してきた。造血幹細胞移植において、通常、造血幹細胞は、患者の静脈内へ移植されてきた。しかし、動物実験によると、このように投与された造血幹細胞は、骨髄にまで到達するものは10%程度で、残りは、肺などの非造血組織にtrapされるということが示されてきた。そのため、世界的にも、骨髄内臍帯血移植の臨床研究がなされてきた。その主要なもの、イタリアのFrassoniらのグループのものと、米国ミネソタのBrunsteinらのグループのものであるが、前者が、生着率が向上したと報告したのに対して、後者はそれを否定する内容のものであった。その違いを明らかにするため、本研究では、reduced-intensity conditioning stem cell transplantation (RIST)のsettingで、骨髄内臍帯血移植を行い、その有用性を明らかにすることを目的とする。さらに、少ない幹細胞をできるだけ失うことなく、骨髄内へ移植するため、臍帯血を洗浄することなく、移植することとし、その有用性、安全性についても検討を加える。

B. 研究方法

- 1) 対象：安全性を検討する第1相試験は10例、有用性を検討する第2相試験は、30例の予定で実施する。
- 2) 患者選択：
 - a) 年齢：55-70歳の初回移植
 - b) 疾患：

- 1) 第1寛解期を除く急性白血病
- 2) Philadelphia染色(+)の急性白血病
- 3) 第1慢性期を除く慢性骨髄性白血病
- 4) 化学療法抵抗性非ホジキンリンパ腫
- 5) IPSS scaleでINT-2、あるいはhigh riskの骨髄異形成症候群

c) 他の条件：

- 1) HLA適合ドナーが、血縁内、あるいは骨髄バンクに得られない。
- 2) 骨髄線維症がない。
- 3) 移植方法：前処置は、fludarabine 40 mg/m² x 5日、cyclophosphamide 50 mg/kg x 1、TBI 3 Gyとした。臍帯血は、解凍後4つに分け、洗浄することなく、腸骨の4か所に分けて移植した。移植時、局所麻酔薬のみの使用で行った。GVHD予防は、cyclosporineとMMFで行った。

(倫理面への配慮)

「骨髄内臍帯血ミニ移植 臨床第I/II相試験」のプロトコールは、平成19年7月7日(第I相試験)と平成23年1月21日(第II相試験)に、兵庫医科大学の倫理委員会で承認を受けている。患者とドナーから、書面によるinformed consentを得た後、試験は実施された。移植の前処置が開始されるまでであれば、いつでも患者の自由意思で撤回することが可能であった。また、試験結果が公表される際は、患者個人が特定できないように、匿名化がなされるなど、ヘルシンキ宣言に基づいて、試験は実施された。

C. 研究結果

第1相試験は、急性骨髄性白血病 5例、急性リンパ性白血病 2例、骨髄異形成症候群 1例、悪性リンパ腫 2例の計10例の患者に対して、行われた。臍帯血を洗浄せずに骨髄内移植を行ったが、問題となる合併症は認められなかった。その内、9例でドナー由来の生着が得られた。好中球および血小板の生着日の中央値は、

それぞれ17日と41日であった。full chimerism達成の中央値は、T細胞分画で15日、顆粒球分画で、20日であった。II度以上の重症GVHDは、4例で認められた。結果として、2年で46.7%の生存率が得られた

(Biology of blood and Marrow Transplantation, 18; 633-639, 2012)。第1相試験の結果、洗浄することなく、骨髄内へ移植することの安全性が確認できたので、現在、有用性を検討する第2相試験 (n=30)を、多施設共同試験の形で実施中である。第II相試験(30例の予定)への参加施設は、兵庫医科大学以外に、成田赤十字病院、川崎医科大学と都立駒込病院である。現在、26例の登録が終了している。

D. 考察

Frassoni らの骨髄内臍帯血移植の臨床研究で、生着などに関して有用性が認められたが、Brunsteinらの研究では、それが否定的であった。その違いが生じた1つ理由として、骨髄内へ投与する volume に関して、前者が 5 ml であったのに対して、後者が 20 ml であったことが挙げられる。小さな骨髄内スペースに、投与される至適 volume が不明であるが、大量の volume の造血細胞を注入すると、骨髄内は血管網の豊富な組織であるので、すぐに骨髄外に出てしまうことが容易に想像される。我々は、Frassoni らに近く、1か所当り、6 ml の臍帯血を移植した。このことが良好な生着率に結びついた可能性があると考え。

E. 結論

臍帯血を洗浄することなく、骨髄内へ直接移植する、骨髄内臍帯血移植は、安全に施行可能であることが判明した。

F. 健康危険情報

現在までのところ、骨髄内へ移植する際の軽微な骨痛以外に、通常の臍帯血移植と合併症、副作用において変わりはなく、特記すべき有害事象は観察されていない。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ikegame K, Kato R, Fujioka T, Okada M, Kaida K, Ishii S, Yoshihara S, Inoue T, Taniguchi K, Tamaki H, Soma T, Ogawa H. Detection of donor-derived CMV-specific T cells in cerebrospinal fluid in a case of CMV meningoencephalitis after cord blood stem cell transplantation. *International Journal of Hematology*, 97: 289-290, 2013.
- 2) Morishita S, Kaida K, Yamauchi S, Wakasugi T, Yoshihara S, Taniguchi K, Ishii S, Ikegame K, Kodama N, Ogawa H, Domen K. Gender differences in health-related quality of life, physical

function and psychological status among patients in the early phase following allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Psychooncology*, 22: 1159-1166, 2013.

- 3) Kanda J, Atsuta Y, Wake A, Ichinohe T, Takanashi M, Morishima Y, Taniguchi S, Takahashi S, Ogawa H, Ohashi K, Ohno Y, Aotsuka N, Onishi Y, Kato K, Nagamura-Inoue T, Kanda Y. Impact of the direction of HLA mismatch on transplant outcome in single unrelated cord blood transplantation. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 19: 247-254, 2013.
- 4) Fujioka T, Tamaki H, Ikegame K, Yoshihara S, Taniguchi K, Kaida K, Kato R, Inoue T, Nakata J, Ishii S, Soma T, Okada M, Ogawa H. Frequency of CD4(+)FOXP3(+) regulatory T-cells at early stages after HLA-mismatched allogeneic hematopoietic SCT predicts the incidence of acute GVHD. *Bone Marrow Transplant*, 48: 859-864, 2013.
- 5) Kurosawa S, 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. Recent decrease in non-relapse mortality due to graft-versus-host disease and infection after allogeneic hematopoietic cell transplantation in non-remission acute leukemia. *Bone Marrow Transplantation*, 48: 1198-1204. 2013.
- 6) Morishita S, Kaida K, Yamauchi S, Sota K, Ishii S, Ikegame K, Kodama N, Ogawa H, Domen K. Relationship between corticosteroid dose and declines in physical function among allogeneic hematopoietic stem cell transplantation patients. *Support Care Cancer*, 21: 2161-2169, 2013.
- 7) Eguchi R, Kubo S, Ohta T, Kunimasa K, Okada M, Tamaki H, Kaji K, Wakabayashi I, Fujimori Y, Ogawa H. FK506 induces endothelial dysfunction through attenuation of Akt and ERK1/2 independently of calcineurin inhibition and the caspase pathway. *Cellular Signalling*, 25: 1731-1738, 2013.
- 8) Kawakami M, Taniguchi K, Yoshihara S, Ishii S, Kaida K, Ikegame K, Okada M, Watanabe S, Nishina T, Hamada H, Nakagawa M, Ogawa H. Irreversible neurological defects in the lower

- extremities after haploidentical stem cell transplantation: possible association with nelarabine. American Journal of Hematology, 88: 853-857, 2013.
- 9) Nakasone H, Onizuka M, Suzuki N, Fujii N, Taniguchi S, Kakihana K, Ogawa H, Miyamura K, Eto T, Sakamaki H, Yabe H, Morishima Y, Kato K, Suzuki R, Fukuda T. Pre-transplant risk factors for cryptogenic organizing pneumonia/bronchiolitis obliterans organizing pneumonia after hematopoietic cell transplantation. Bone Marrow Transplantation, 48: 1317-1323, 2013.
- 10) Kaida K, Ikegame K, Ikemoto J, Murata R, Irie R, Yoshihara S, Ishii S, Okada M, Inoue T, Tamaki H, Soma T, Fujimori Y, Kai S, Ogawa H. Soluble interleukin-2 receptor level on day 7 as a predictor of graft-versus-host disease after HLA-haploidentical stem cell transplantation using reduced intensity conditioning. International Journal of Hematology, in press.
2. 学会発表
- 1) Yamahista T, Taniguchi S, Fukuda T, Ogawa H, Morishima Y, Nagamura T, Sakamaki H, Atsuta Y, Takami A. Clinical outcomes of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with intravenous busulfan-based reduced-intensity conditioning for acute myeloid leukemia: A nationwide retrospective study from the adult AML working group of JSHCT. The 39th EBMT annual meeting in 2013, 2013, 4.7-10, London, UK.
- 2) Tanaka J, Takahashi Y, Yabe T, Morishima Y, Oba K, Takahashi S, Taniguchi S, Ogawa H, Ohnishi Y, Miyamura K, Kato K, Kato S, Atsuta Y, Kanda Y. KIR-ligand incompatibility in the graft-versus-host direction did not affect outcomes of single umbilical cord blood transplantation without ATG for acute leukemia in complete remission: A Study From the HLA Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation (JSHCT). The 18th congress of European Hematology Association, 2013. 6.13-16, Stockholm, Sweden.
- 3) Kondo E, Mizuta S, Ito T, Ogawa H, Sakamaki H, Kato K, Morishima Y, Suzuki R, Suzumiya J. High dose chemotherapy with autologous stem cell support for Primary Mediastinal large B-cell Lymphoma: a retrospective analysis from the Adult Malignant Lymphoma Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation (JSHCT). The 12th International Conference on Malignant Lymphoma, 2013, 6.19-22, Lugano, Switzerland.
- 4) 小川啓恭, 宮村耕一, 岡本真一郎. 本邦における同種造血幹細胞移植に用いる無菌室の実態調査. (一般口演) 第35回日本造血細胞移植学会総会 2013.3 金沢
- 5) 西田徹也, 竹中克斗, 森有紀, 大島久美, 谷口修一, 小川啓恭, 大橋一輝, 岩戸康治, 坂巻壽, 森島泰雄, 加藤剛二, 鈴木律朗, 福田隆浩. 同種造血幹細胞移植後サイトメガロウイルス感染症の傾向と危険因子の検討: 一元化データを用いた解析. 第35回日本造血細胞移植学会総会 2013.3 金沢
- 6) 石井慎一, 池亀和博, 海田勝仁, 岡田昌也, 井上貴之, 加藤るり, 玉置広哉, 藤盛好啓, 甲斐俊朗, 相馬俊裕, 小川啓恭. high risk悪性血液疾患患者に対する, 低容量ATGとステロイドを用いたHLA半合致ミニ移植の治療成績. (ポスターセッション) 第35回日本造血細胞移植学会総会 2013.3 金沢
- 7) Ikegame K, Kaida K, Ishii S, Yoshihara S, Taniguchi K, Kato R, Inoue T, Okada M, Tamaki H, Soma T, Ogawa H. Transition of conditioning regimen in haplo-mini in connection with survival results. (一般口演) 第75回日本血液学会学術集会 2013.10 札幌
- H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む)
なし

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）
研究分担者報告書

「新たな造血幹細胞移植法の開発：生着効率の向上を目指して」に関する研究

研究分担者 豊嶋 崇徳
北海道大学大学院医学研究科 血液内科学分野 教授

研究要旨

骨髄非破壊的前処置を用いたマウスの同種骨髄移植モデルを利用して、レシピエントの T 細胞の一過性の活性化・増殖によってドナー造血が拒絶される事を示した。同様に骨髄非破壊的前処置後に臍帯血移植を行った患者の末梢血でも、拒絶例ではレシピエント T 細胞の一過性の増殖が見られる事を示した。

A. 研究目的

臍帯血移植では、拒絶が起こりやすいが、近年、骨髄非破壊的移植前処置の使用によってさらに拒絶のリスクが増大している。拒絶のメカニズムを明らかにする事は、安全な臍帯血移植法を確立するために重要である。骨髄非破壊的移植前処置を使用した臍帯血移植後の生着不全のメカニズムを、マウスモデルおよび患者検体を用いて検討した。

B. 研究方法

骨髄非破壊性の前処置を用いたマウスの造血幹細胞移植モデルで、移植後の末梢血の白血球数、リンパ球数、キメリズムを経時的に解析した。拒絶を起こしたマウスのリンパ球の機能解析を行った。骨髄非破壊性前処置後に臍帯血移植を行った患者の、末梢血の白血球数、リンパ球数、キメリズム等を後方視的に解析した。研究に使用した試料および臨床情報に関しては匿名化を行い、個人情報保護に配慮した。

C. 研究結果

1. マウスの拒絶のモデルの作製を作製した：B6D2F1 マウス (H-2^{b/d}) に全身放射線照射 (6Gy または 10Gy) を行い、C57BL/6 マウスの骨髄細胞を 5x10⁶ 個輸注した。10Gy 照射したレシピエントでは、移植後速やかに白血球数が回復してドナー型の造血が生着したが、6Gy しか照射しなかったレシピエントでは、レシピエント型の白血球が残存するのみでドナー細胞は拒絶された。
2. 拒絶マウスの末梢血では、レシピエントの T リンパ球が移植 3 週間後に一過性かつ著明に増加していた。
3. 拒絶マウスの脾臓や骨髄内のレシピエント

T 細胞は活性化状態にあり IFN- γ を産生し、ドナー細胞に特異的な細胞傷害活性を持っていた。これらの細胞は、ドナーの造血幹細胞との共培養によってアポトーシスを誘導した。

4. ドナーの樹状細胞を除去する事により、レシピエント T 細胞の増殖を抑制し、ドナー造血が促進された。
5. 骨髄非破壊性前処置で臍帯血移植を行った患者 24 例を解析したところ、拒絶例 7 例中 4 例の末梢血で、移植 3 週間後のレシピエントリンパ球の一過性増殖が見られた。生着例 17 例では、同様の所見は見られなかった。

D. 考察：レシピエントの T 細胞とドナーの樹状細胞を抑制/除去することで拒絶の予防を行える可能性がある。移植後 3 週間目のレシピエントの T 細胞が増殖しているような拒絶例では、再移植の際の前処置を強めに設定する必要があるかもしれない。

E. 結論：骨髄非破壊的前処置後の拒絶は、ドナー樹状細胞によって活性化されたレシピエント T 細胞がドナー造血幹細胞を傷害する事によって引き起こされている。

F. 健康危険情報：特になし

G. 研究発表

1. 論文発表 別紙
2. 学会発表 別紙

H. 知的財産権の出願・登録状況：

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし