

# 総合研究報告書

## 灌流法により採取された骨髄細胞を用いた骨髄内骨髄移植療法：基礎から臨床へ

平成22～24年度 総合研究報告書

研究代表者 池原 進

平成25(2013)年 3月

### 研究事業（免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業）

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業灌流法により採取された骨髄細胞を用いた（免疫アレルギー疾患等予防・骨髄内骨髄移植療法）基礎から臨床へ）  
平成22～24年度 総合研究報告書 平成25年3月 研究代表者 池原 進

治療研究事業))総合研究報告書  
厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研

## 序

われわれがマウスを用いて開発した骨髄内骨髄移植法（IBM-BMT）は、造血幹細胞（HSC）の増殖・分化を促進するために必要なドナーの間葉系幹細胞（MSC）を効率よく補充する方法である。この方法をヒトへ応用するために、従来の吸引法（AM）に代わって灌流法（PM）をサルを用いて開発した。

この両者（IBM-BMT+灌流法（PM））の組合せによる新しい移植方法は、移植片対宿主病（GvHD）を発症しないだけでなく、ドナーに対してもレシipientに対しても負担を軽減する優れたもので、難治性の自己免疫疾患や加齢に伴って発症する種々の難病（Alzheimer 病や肺気腫など）にも強力な武器となりうるものと確信する。

今後の展望としては、ヒトへの臨床応用として、現在、灌流法+IBM-BMT の両技術のコンビネーションにおける安全性を最重点課題として、Phase I Study を開始した。安全性が確認されれば Phase II Study が実施できるように、臨床プロトコルを準備中である。新しい BMT の方法がヒトへ応用されるようになれば、骨髄ドナーの負担が軽減される。すなわち、骨髄穿刺針の穿刺部位が 8 カ所（従来の方法では 100 カ所以上）ですみ、麻酔から覚醒後には痛みも少なく、歩行可能である。それゆえ、骨髄バンクへの登録者が増加するし、たとえ、HLA が不一致でも新しい移植方法では GvHD も起こらず、生着が促進されるため、前処置も軽減され、患者の負担も少なくなる、新しい技術により、これまで不治の病であった種々の難病が根治されれば、患者にとってこれ以上の福音はない。

現在、ヒトへの応用を目指して本院の救命医学科と共同研究中で、脳死患者を用いて PM と AM との間の細胞採取量等を検討中である。

また、国内では、症例が少ないため、国外とも共同研究を検討中である。

3 年間の結果をまとめたので報告する。

平成 25 年 3 月

研究代表者 池 原 進





## 目 次

I.	研究班構成	- - - - -	7
II.	総合研究報告		
	灌流法により採取された骨髄細胞を用いた骨髄内骨髄移植療法：基礎から臨床へ	(池原 進)	- - - 11
III.	分担研究年度終了報告書		
	1. 同種移植後の再発白血病の治療法開発	(赤塚 美樹)	- - - 31
	2. 間葉系幹細胞を介する免疫再構築と造血制御についての研究	(一戸 辰夫)	- - - 39
	3. 灌流法により採取された骨髄細胞を用いた骨髄内骨髄移植療法の安全性、有用性を目指した研究	(小川 啓恭)	- - - 45
	4. ウイルス抗原特異的細胞傷害性 T 細胞による造血幹細胞移植後の難治性感染症の治療	(小島 勢二)	- - - 50
	5. 灌流法による骨髄採取の安全性と有用性の検討	(品川 克至)	- - - 53
	6. 灌流法による骨髄採取の安全性と有用性の検討	(野村 昌作)	- - - 57
	7. 臍帯血を用いた骨髄内移植療法の開発	(村田 誠)	- - - 59
	8. 新規造血幹細胞移植技術評価のための新規移植後モニタリングシステムの開発に関する研究	(森尾 友宏)	- - - 63
IV.	研究成果の刊行に関する一覧表	- - - - -	69
V.	学会発表に関する一覧	- - - - -	89
VI.	研究成果による特許権等の知的財産権の出願・登録状況	- - - - -	105
VII.	研究成果の刊行物・印刷	- - - - -	109



# I. 研 究 班 構 成





「灌流法により採取された骨髓細胞を用いた骨髓内骨髓移植療法：  
基礎から臨床へ」研究班

<区 分>	<氏 名>	<所 属>	<職 名>
研究代表者	池原 進	関西医科大学共同研究講座 (大塚製薬株式会社) 幹細胞異常症学	教 授
分担研究者	赤塚 美樹	藤田保健衛生大学医学部 血液内科	准教授
	一戸 辰夫	広島大学 原爆放射線医科学研究所 血液・腫瘍内科研究分野	教 授
	小川 啓恭	兵庫医科大学内科学 血液内科	教 授
	小島 勢二	名古屋大学大学院医学系 研究科・小児科学	教 授
	品川 克至	岡山大学医学部 血液・腫瘍内科	講 師
	野村 昌作	関西医科大学第一内科・ 同附属枚方病院血液腫瘍内科	教 授
	村田 誠	名古屋大学医学部附属病院 血液内科	講 師
	森 眞一郎	関西医科大学附属枚方病院・ 血液腫瘍内科	講 師
事務局	森尾 友宏	東京医科歯科大学・大学院・ 発生発達病態学分野	准教授
	李 銘	関西医科大学共同研究講座 (大塚製薬株式会社) 幹細胞異常症学	講 師

〒573-1010 大阪府枚方市新町二丁目5番1号

Tel: 072-804-2450

Fax: 072-804-2454

E-mail: liming@hirakata.kmu.ac.jp



## II. 総合研究報告



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））  
総合研究報告書

**灌流法により採取された骨髄細胞を用いた骨髄内骨髄移植療法：基礎から臨床へ**

研究代表者 池原 進 関西医科大学共同研究講座（大塚製薬株式会社）  
幹細胞異常症学 教授

**研究要旨**

同種骨髄移植(BMT)では GvHD 生着不全 T細胞の機能の回復が不完全などの重要な問題が山積している。新しい BMT の技術（灌流法[PM]+骨髄内骨髄移植法[IBM-BMT]）では、これらの問題が解決されるだけでなく、ドナーや患者さんの負担が軽減される。さらに、BMT の適用疾患が拡大されるため、多くの難病で苦しんでおられる患者さんにとって大きな福音となる。PM+IBM-BMT の新しい骨髄移植の技術は、申請者らが、世界で初めて開発したもので、他の追随を許さない。

本研究では、いかなる難病がこの新技術によって治療可能かをモデル動物で解析し、ヒトへ応用する（流れ図・添付[I]参照）。

臨床応用に関しては、倫理委員会の承認と患者さんの同意を得て、平成 18 年 2 月、PM に関する、Phase I Study を開始した。さらに、PM と IBM-BMT を組み合わせた Phase I Study を実施するための臨床プロトコルも、平成 22 年 3 月 9 日に承認された（承認番号：関医倫第 0745 号）。

動物を用いた基礎実験は臨床応用に関する研究と同時進行で実施している。新移植方法の安全性と有効性はすでにサルで実証済であるので、この新手法を用いた移植方法の適用疾患の拡大に向けて動物実験を行う。

骨髄内へ細胞を直接注入する方法(IBM)に関しては、臍帯血を腸骨内へ注入することが、世界中で広く実施されるようになってきているので、本班では、骨髄細胞の採取方法である PM の安全性のみならず、PM の利点を、従来の吸引法(AM)と比較検討する。特に、採取骨髄液中の赤血球と T細胞の混入度を、donor の同意を得て、同一人の左右の腸骨を用いて比較する。臨床プロトコルを作成し、倫理委員会へ承認を得るべく、資料を提出中である。

本年度からは臨床応用に重点を置き、国内の骨髄移植実施施設とも共同して Phase I から Phase II Study へと展開させる。

## 研究分担者

赤塚 美樹	藤田保健衛生大学医学部 血液内科 准教授
一戸 辰夫	京都大学医学部附属病院 血液・腫瘍内科 助教（H22 年度） 佐賀大学医学部附属病院 血液・腫瘍内科 准教授（H23-24 年度） 広島大学原爆放射線医科学研究所 血液・腫瘍内科研究分野 教授（現在）
小川 啓恭	兵庫医科大学内科学 血液内科 主任教授
小島 勢二	名古屋大学大学院医学系 研究科・小児科学講座 教授
品川 克至	岡山大学病院血液・ 腫瘍内科 講師
野村 昌作	関西医科大学附属枚方病院 血液腫瘍内科 教授（H24 年度）
村田 誠	名古屋大学医学部附属病院 血液内科 講師
森 眞一郎	関西医科大学附属枚方病院 血液腫瘍内科 講師（H22-23 年度）
森尾 友宏	東京医科歯科大学大学院 発生発達病態学分野 准教授

## A. 研究目的

本研究の目的は、HLA の barrier を越えた移植の際にも、拒絶反応や移植片対宿主反応（GvHR）が起こらない、革新的な移植方法（骨髄移植と臓器移植を含む）を開発することにある。

同種骨髄移植（BMT）では GvHD 生着不全 T細胞の機能の回復が不完全などの重要な問題が山積している。新しい BMT の技術（灌流法 [PM] + 骨髄内骨髄移植法 [IBM-BMT]）では、こ

れらの問題が解決されるだけでなく、ドナーや患者さんの負担が軽減される。さらに、BMT の適用疾患が拡大されるため、多くの難病で苦しんでおられる患者さんにとって大きな福音となる。PM+IBM-BMT の新しい骨髄移植の技術は、申請者らが、世界で初めて開発したもので、他の追隨を許さない（詳細は 8. を参照）。本研究では、いかなる難病がこの新技術によって治療可能かをモデル動物で解析し、ヒトへ応用する（流れ図・添付参照）。

臨床応用に関しては、倫理委員会の承認と患者さんの同意を得て、平成 18 年 2 月、PM に関する、Phase I Study を開始した。さらに、PM と IBM-BMT を組み合わせた Phase I Study を実施するための臨床プロトコールも、平成 22 年 3 月 9 日に承認された（承認番号：関医倫第 0745 号）。

動物を用いた基礎実験と臨床応用に関する研究は同時進行で実施する。新移植方法の安全性と有効性はすでにサルで実証済であるので、この新手法を用いた移植方法の適用疾患の拡大に向けて動物実験を行う。

骨髄内へ細胞を直接注入する方法に関しては、臍帯血を腸骨内へ注入することが、世界中で広く実施されるようになってきているが、本班では、先ず、Phase I Study を灌流法で実施し、灌流法の安全性のみならず、灌流法の利点を、従来の吸引法と比較検討している。特に、採取骨髄液中の赤血球と T細胞の混入度を、ドナーの同意を得て、同一人の左右の腸骨を用いて比較している。既に臨床プロトコールを作成し、倫理委員会の承認も得られている（平成 23 年 7 月 19 日に承認された。承認番号：関医倫第 1106 号）。問題点としては、灌流法のドナーが肥満体の場合に、骨髄針が腸骨のような扁平骨の骨髄腔内に上手に刺入できていない可能性をこれまでの症例で経験している。現在、このようなことが起こらないための対策として、整形外科医の指導の下で CT の造影や、将来は“ナビゲーション・システム”を開発し、誰に

でも容易に灌流法が実施できるように改善する予定である。

難病のモデル動物（主として、マウス、ラット等の小動物）の実験結果に基づいて、いかなる難病が新技術により治療可能かを明らかにし、ヒトへ応用する（流れ図・添付参照）。新技術によって、造血幹細胞（HSC）のみならず、間葉系幹細胞（MSC）も正常ドナーの細胞に置換可能なため、かなりの難病が治療可能と考えられる。また、神経難病（アルツハイマー病等）の治療に重点を置いて、骨髄や胎児肝に存在する ES-like cell を移植に利用する。さらに、胸腺移植を併用することによって治療可能な難病範囲の拡大を、はかる。

## B. 研究方法

[ 1 ] 造血幹細胞異常症の病因解析と治療法の確立（池原，品川，一戸，小川，野村，小島，村田）

RA のモデルマウス，自己免疫性膵炎のモデルラット，Crohn 病のモデルマウス，ALS のモデルマウス，心筋症のモデルマウス等を用いて、これらの病因が造血幹細胞の異常によるかを明らかにする。さらに、その治療法を確立する。

[ 2 ] 間葉系幹細胞異常症の病因の解析と治療法の確立（池原，一戸，品川，森尾，赤塚，森，野村，小島，村田）

研究代表者らは、骨粗鬆症や、肺気腫は、骨髄内骨髄移植により、治療だけでなく病気の transfer もできることを証明した(Stem Cells 24:2071,2006; Stem Cells 5:1356,2007)。従って、これらの疾患は間葉系幹細胞異常症であると考えられる(J. Hematother. Stem Res. 12: 643, 2003; J. Autoimmunity 30: 108, 2008)。さらに、加齢に伴って発症してくる疾患（II 型の糖尿病，アルツハイマー病，metabolic syndrome，動脈硬化症等）も間葉系幹細胞の

異常症ではないかという仮説に基づいて現在解析中である。

骨髄内骨髄移植によって、正常の MSC に置換し、難病が治療できるかを明らかにする。

[ 3 ] 難治性肺疾患の病因解析（品川，池原）

モデル動物を用いて、肺線維症，肺気腫，移植後肺障害（IPS）等の病因を明らかにし、根治療法を開発する。

[ 4 ] 新しい骨髄移植方法を用いた悪性腫瘍の治療。

DLI の併用（森尾，赤塚，品川，野村，村田，小島，池原）

研究代表者らは、マウスの系で、骨髄内骨髄移植に DLI を併用することによって、抗腫瘍効果と延命効果が得られることを見出した（Int.J.Oncol. 30:1309,2007）。さらに、Treg の除去、活性化した細胞傷害性 T 細胞の誘導、ペプチドワクチン等を併用することによって、癌の根治療法を開発する。

胸腺移植の併用（池原，赤塚，森尾，小島，品川）

マウスで、骨髄内骨髄移植に胸腺移植を併用することにより、著明な抗腫瘍効果が発揮できることを見出した（Immunology 126:552, 2008; Cancer Immunol. Immunother. 559: 1121, 2010）。この際、移植する胸腺は、third party の胸腺でも有効であることが判明しており（Transplantation 85: 1151, 2008）ヒトへの応用も期待できる。

[ 5 ] 臓器移植への応用（全員）

研究代表者らは、骨髄内骨髄移植を臓器移植（心，膵島，肝等）と併用すると、拒絶が起らないことを小動物の系で証明している。サルを用いてこれを証明し、ヒトへ応用する。

[ 6 ] Haploidentical BMT の系への応用 ( 池原 , 小川 , 一戸 , 野村 )

ウサギにおいて、MHC の不一致の系よりも haploidentical の系の方が、骨髄移植の成功率が高いことが判明した ( Transplant. Immunology 24: 33, 2010 ) ので、ヒトへの応用の前段階としてカニクイザルの系で確認する。

[ 7 ] 本年度は、加齢に伴って発症する

難病の治療法の開発に重点を置く ( 池原 ) 。 IBM-BMT に胸腺移植を併用すると、2 型の糖尿病のような疾患も治療できることが判明した ( J. Autoimmun. 35: 414-423, 2010 ) 。 したが、胸腺移植の併用により、他の難病、例えば、アルツハイマー病のような難病が治療可能かを検討する。

研究代表者らは、aging を規定しているのは、胸腺と骨髄中の MSC であることを見出ししており、加齢に伴って MSC がどのような変化を受けるかを明らかにする。

[ 8 ] ヒトへの応用 ( 全員 )

上記、動物実験の系で、安全性と有用性が確立されれば、ヒトへの応用を開始する。

臨床プロトコール、ドナー説明書、同意書の作成および UMIN のデータベースにその計画を登録している。

研究代表者の池原が開発した灌流法による骨髄採取の安全性と有用性の検討 ( 臨床第 I 相試験 : 関西医科大学倫理委員会承認済 ) を研究分担者の野村らによって、関西医科大学附属枚方病院 血液腫瘍内科にて実施する。

「灌流法による骨髄採取の安全性と有用性の検討」 ( 臨床第 I 相試験 )

目的 : 本臨床研究では、灌流法による骨髄採取の安全性と有効性を検討する ( 臨床第 I 相試験 ) 。 「灌流法による骨髄採取」については、これまでに 4 例、臨床研究が施行されているが安全性に問題はない。本研究では、健常人ドナーを対象とし再度評価を行います。

対象疾患 : HLA 適合または GVH 方向血清 3 抗原以内不適合血縁者 ( 初回移植と同一ドナーでもよい ) 。

適格条件、除外条件については、非血縁バンクドナーの基準に準ずる。

適格条件 : ドナーの適格基準

以下の全ての項目を満たす場合を適格とする。

- ・登録時年齢が 18 歳以上 54 歳以下。ただし 10 歳以上 18 歳未満、55 歳以上 65 歳未満のドナー候補者については、各施設の責任により慎重に適格性を判定した上でドナーとすることを可能とする

- ・ドナーはレシピエントの血縁であることが望まし。

- ・本臨床研究にドナーとして参加することに関して、文書による本人 ( 本人が未成年者の場合には、本人および代諾者 ) の同意が得られていること。

- ・登録前検査の結果、研究責任医師又は研究分担医師が「ドナー適格性判定基準」( 第 5 版、平成 19 年 4 月 1 日改訂 ) に準じ適切と判断する。

- ・除外条件 : ドナーの除外基準

以下のいずれかの項目に該当する場合は、本



臨床研究におけるドナーとしては不適格として除外する。

血栓症（深部静脈血栓・肺梗塞）の既往歴を有する者。

先天性および後天性凝固異常症を有する者。

肺塞栓チェック用紙で高リスク（15点以上）の者。

その他、研究責任医師又は研究分担医師が不適当と判断した者。

- ・年齢、性別：年齢は、18歳以上54歳以下
- ・性別は、男女いずれも可
- ・症例数：5例

### （倫理面への配慮）

灌流法に関する Phase I Study に関しては、倫理委員会の承認（関医倫第 613 号、平成 18 年 9 月 21 日承認）を得ている。

1 例目の症例に関しては、悪性リンパ腫の患者さんで、poor mobilizer を選択し、informed consent が得られたので、平成 18 年 12 月 25 日に実施した。患者さんは麻酔から覚醒後、腰痛もなく、歩行が可能であった（Int. J. Hematol. 93: 822-824, 2011）。

さらに、灌流法 + 骨髄内骨髄移植法に関する Phase I Study に関しても、臨床プロトコールが完成し、倫理委員会の承認（関医倫第 0745 号、平成 22 年 3 月 9 日）を得ている。

動物実験に関しても当大学の動物実験委員会の承認を得て実施している。

骨髄内へ細胞を直接注入する方法に関しては、臍帯血を腸骨内へ注入することが、世界中で広く実施されるようになってきているが、本班では、まず、Phase I Study を灌流法で実施し、灌流法の安全性のみならず、灌流法の利点を、従来の吸引法と比較検討している。特に、採取骨髄液中の赤血球と T 細胞の混入度を、ドナーの同意を得て、同一人の左右の腸骨を用いて比較している。既に臨床プロトコールを作成し、倫理

委員会の承認も得られている（平成 23 年 7 月 19 日に承認された。承認番号：関医倫第 1106 号）。

問題点としては、灌流法のドナーが肥満体の場合に、骨髄針が腸骨のような扁平骨の骨髄腔内に上手に刺入できていない可能性をこれまでの症例で経験している。現在、このようなことが起こらないための対策として、整形外科医の指導の下で CT の造影や、将来は“ナビゲーション・システム”を開発し、誰にでも容易に灌流法が実施できるように改善する予定である。

### C. 研究結果

同種骨髄移植（BMT）では GvHD 生着不全

T 細胞の機能の回復が不完全などの重要な問題が山積している。新しい BMT の技術（灌流法 [PM] + 骨髄内骨髄移植法 [IBM-BMT]）では、これらの問題が解決されるだけでなく、ドナーや患者さんの負担が軽減される。さらに、BMT の適用疾患が拡大されるため、多くの難病で苦しんでおられる患者さんにとって大きな福音となる。PM+IBM-BMT の新しい骨髄移植の技術は、申請者らが、世界で初めて開発したもので、他の追随を許さない。

本研究では、いかなる難病がこの新技術によって治療可能かをモデル動物で解析し、ヒトへ応用する（流れ図・添付 [I] 参照）。

臨床応用に関しては、倫理委員会の承認と患者さんの同意を得て、平成 18 年 2 月、PM に関する、Phase I Study を開始した。

さらに、PM と IBM-BMT を組み合わせた Phase I Study を実施するための臨床プロトコールも、平成 22 年 3 月 9 日に承認された（承認番号：関医倫第 0745 号）。

動物を用いた基礎実験と臨床応用に関する研究は同時進行で実施した。新移植方法の安全性と有効性はすでにサルで実証済であるので、この新手法を用いた移植方法の適用疾患の拡大に向けて動物実験を行った。

骨髓内へ細胞を直接注入する方法に関しては、臍帯血を腸骨内へ注入することが、世界中で広く実施されるようになってきているが、本班では、先ず、Phase I Study を灌流法で実施し、灌流法の安全性のみならず、灌流法の利点を、従来の吸引法と比較検討してした。特に、採取骨髓液中の赤血球とT細胞の混入度を、ドナーの同意を得て、同一人の左右の腸骨を用いて比較した。既に臨床プロトコールを作成し、倫理委員会の承認も得られた（平成 23 年 7 月 19 日に承認された。承認番号：関医倫第 1106 号）。問題点としては、灌流法のドナーが肥満体の場合に、骨髓針が腸骨のような扁平骨の骨髓腔内に上手に刺入できていない可能性をこれまでの症例で経験した。現在、このようなことが起こらないための対策として、整形外科医の指導の下で CT の造影や、将来は“ナビゲーション・システム”を開発し、誰にでも容易に灌流法が実施できるように改善する予定である。

難病のモデル動物（主として、マウス、ラット等の小動物）の実験結果に基づいて、いかなる難病が新技術により治療可能かを明らかにし、ヒトへ応用する（添付II参照）。新技術によって、造血幹細胞(HSC)のみならず、間葉系幹細胞(MSC)も正常ドナーの細胞に置換可能なため、かなりの難病が治療可能と考えられる。

また、神経難病(アルツハイマー病等)の治療に重点を置いて、骨髓や胎児肝に存在する ES-like cell を移植に利用した。さらに、胸腺移植を併用することによって治療可能な難病範囲の拡大をはかり、解析中である。

#### D. 考察・

新しい骨髓移植の方法(PM+IBM-BMT)が、ヒトへ応用されるようになれば、骨髓ドナーと患者さんの負担が軽減される。すなわち、従来の AM では 100 か所以上から 1ℓ 近くの液量を採取するため、自己血による輸血必要であるが、灌流法では、骨髓穿刺部位が 10 か所以内で済むため、輸血の必要もなく、麻酔から覚醒後には痛みも少なく、歩行可能である。それ故、麻酔時間も短縮されるため、導尿の必要もなくなる。骨髓バンクへの登録者が増加するし、たとえ、HLA が不一致でも、新しい移植方法では、GvHD も起りにくく、また、移植細胞の数が少なくても拒絶されにくく、前処置も軽減できるため、患者さんへの負担も少なくなる。移植後、造血機能やT細胞の回復が速やかであるため、感染症に対する危険も少なくなる。この方法が定着すれば、骨髓移植だけでなく、臓器移植にも利用できるため、これまでの移植医療を改革する画期的な発見と考える。

この新技術を用いることにより、これまで不治の病であった、種々の難病（厚労省指定以外の疾患をも含む）が根治できれば、患者さんにとって、これ以上の福音はない。厚労省の労働行政の種々の課題を解決する上にも多大な貢献をするものと考ええる。

#### E. 結論

我々が開発した新しい BMT の技術は、ヒト同種 BMT の主要な問題点を解決する革新的技術であり、HSC の異常に基づく白血病や自己免疫疾患のみならず、MSC の異常に伴って発症する疾患（アルツハイマー病，骨粗鬆症等）の根治療法の開発に直結する。ヒトへの応用を目指して、精力的にサルの実験を実施してきたが、新しい移植方法の安全性と有効性が確認できたので、倫理委員会の承認と患者さんの同意を得て、ヒトへの応用を開始した。

PM に関しては、既に Phase I Study を開始しており、PM+IBM-BMT についても、臨床応用を開始している。基礎的な研究としては、IBM-BMT の際、注入骨髄細胞の漏出を防ぐため、コラーゲン・ゲルで suspend する方法を申請者らは開発した (Stem Cells 26:2211, 2008)。この方法を用いることによって、ドナーの骨髄細胞 (HSC + MSC の両者) がレシピエントの骨髄腔内に効率良く注入され、骨髄内にどどまることが重要であることが明らかになった。さらにマグネットとマグネットビーズを用いて、注入局所に骨髄細胞が長くどどまる方法を開発した (Bone Marrow Transplantation 45: 993-999, 2010)。

IBM-BMT と胸腺移植の併用療法は加齢に伴って発症する疾患 (アルツハイマー病, 2 型の糖尿病等) にも有効であることが判明した (Neurosci. Lett. 465:36, 2009, J. Autoimmun. 35:414-423, 2010)。

加齢に伴って発症する難病には、免疫の異常が関与しており、骨髄内骨髄移植だけでなく胸腺の移植の併用が重要であることを明らかにした。GvHD や HvGR に関与しているのは、CD8 T 細胞ではなくて、CD4 T 細胞の方がむしろ重要な役割を演じていることを発見した (J. Immunology 190: 2976-2983, 2013)。

加齢に伴って発症する疾患は、骨髄の造血幹細胞よりも、むしろ、間葉系の幹細胞の異常に起因することを見出した (Cell Transplantation 2013 Feb 26. [Epub ahead of print])。

新しい骨髄移植の方法は国際的にもヒトへ応用しようという動きがあるが、現在まで、臍帯血を用いて、腸骨内へ注入しようとするものである。臍帯血中には、MSC が少量しか含まれないこと、また、血管の豊富な腸骨内への注入 (申請者らは脛骨内へ注入) は、注入した細胞が循環系へ移行し易いため、静脈内注入とそれ程変わらず、現在までは、顕著な効果は得られていない。新しい骨髄移植の方法 (PM+IBM-BMT) が、ヒトへ応用されるようになれば、骨髄ドナーと患者さんの

負担が軽減される。すなわち、従来の AM では 100 か所以上から 1ℓ 近くの液量を採取するため、自己血による輸血の準備が必要であるが、灌流法では、骨髄穿刺部位が 10 か所以内で済むため、輸血の必要もなく、麻酔から覚醒後には痛みも少なく、歩行可能である。それ故、骨髄バンクへの登録者が増加するし、たとえ、HLA が不一致でも、新しい移植方法では、GvHD も起りにくく、また、移植細胞の数が少なくても拒絶されにくく、前処置も軽減できるため、患者さんへの負担も少なくなる。造血機能や T 細胞の回復が速やかであるため、感染症に対する危険も少なくなる。この新技术を用いることにより、これまで不治の病であった、種々の難病 (厚労省指定以外の疾患をも含む) が根治できれば、患者さんにとって、これ以上の福音はない。また、骨髄内骨髄移植療法を施行するにあたって、申請者が開発した、「骨髄細胞の採取装置および骨髄針」、「骨髄ドリル」の特許も国内、国外において取得しており、国際的、社会的にも貢献出来るものとする。さらに、国内において、「骨髄針」に関しては、指定管理医療機器製造販売認証書も取っている。

新しい骨髄移植のヒトへの応用を目指して、研究分担者の野村教授、研究協力者の石井講師並びに研究協力者の整形外科の飯田教授、串田講師と共同研究を開始している。臨床応用に関しては、臨床プロトコールを変更し、倫理委員会の承認も得られている (平成 24 年 7 月 25 日に承認。承認番号: 関医倫第 1106 号)。現在、整形外科医の指導の下で CT や、「ナビゲーション・システム」の開発を目指しており、安全で容易に灌流法が実施できるように改善する予定である。

灌流法 (PM) を骨髄内骨髄移植法 (IBM-BMT) と併用することによって、ドナーの正常の造血幹細胞 (HSC) のみならず、間葉系幹細胞 (MSC) も正常ドナーの細胞に置換可能なため、かなりの難病が治療可能と考えられる。特に、神経難病 (アルツハイマー病等) の治療に重点を置

いて、骨髄や胎児肝に存在する ES-like cell を移植に利用する。さらに、胸腺移植を併用することによって治療可能な難病範囲の拡大を目指す。

動物を用いた基礎実験と臨床応用に関する研究は同時進行で実施している。新移植方法の安全性と有効性はすでにサルで実証済であるので、この新手法を用いた移植方法の適用疾患の拡大に向けて動物実験を行っている。

灌流法を用いた骨髄内骨髄移植法 (PM+IBM-BMT) は、これまでの 3 年間、厚生労働省の厚生労働科学研究費補助金からサポートを受けており、ヒトへの応用に全力を挙げており、今までに兵庫医科大学と関西医科大学との間で、倫理委員会の承認の上、2 例実施したが、その後、適応症例が中々見つからないので、今後は、関西医科大学の救命との共同研究で、脳死患者において灌流法と吸引法の比較を予定している。

臨床応用に関しては、症例数も少ないため十分な効果は上がっていない。

しかし、この新技術を用いることにより、これまで不治の病であった、種々の難病 (厚労省指定以外の疾患をも含む) が根治できれば、患者さんにとって、これ以上の福音はない。

厚労省の労働行政の種々の課題を解決する上にも多大な貢献をするものと考えている。

## F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) 池原 進. 新しい造血幹細胞採取方法 & 移植法 (骨髄内直接注入). 日本移植学会雑誌「移植」 45: 560-566, 2010.
- 2) Ikehara S. The future of stem cell transplantation in autoimmune disease. 38: 292-297, 2010. Review.
- 3) Imai Y, Adachi Y, Shi M, Shima C, Yanai S, Okigaki M, Yamashima T, Kaneko K, Ikehara S. Caspase inhibitor ZVAD-fmk facilitates engraftment of donor hematopoietic stem cells in intra-bone marrow-bone marrow transplantation. Stem Cells Dev. 19: 461-468, 2010.
- 4) Shima C, Adachi Y, Shi M, Imai Y, Okigaki M, Yanai S, Minamino K, Takahashi K, Ikehara S. The combination method using magnetic beads and a magnet helps sustain the number of donor BM cells after intra-BM injection, resulting in rapid hematopoietic recovery. Bone Marrow Transplant. 45: 993-999, 2010.
- 5) Vanella L, Kim DH, Asprinio D, Peterson SJ, Barbagallo I, Vanella Adipocyte lineage. Vanella L, kim DH, Asprinio D, Peterson SJ, Barbagallo I, Vanella A, Goldstein D, Ikehara S, Kappas A, Abraham NG. HO-1 expression increases mesenchymal stem cell-derived osteoblasts but decreases adipocyte lineage. Bone 46: 236-243, 2010.
- 6) Hoshino S, Inaba M, Iwai H, Ito T, Li M, Gershwin ME, Okazaki K, Ikehara S. The role of dendritic cell subsets in 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid-induced ileitis. J. Autoimmun. 34: 380-399, 2010.
- 7) Li Q, Hisha H, Takaki T, Adachi Y, Li M, Song C, Feng W, Okazaki S, Mizokami T, Kato J, Inaba M, Hosaka N, Maki M, Ikehara S. Transplantation potential of bone marrow stromal cells into

- undifferentiated high-grade pleomorphic sarcoma. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 136: 829-838, 2010.
- 8) Wang X, Hisha H, Mizokami T, Cui W, Cui Y, Shi A, Song C, Okazaki S, Li Q, Feng W, Kato J, Ikehara S. Mouse mesenchymal stem cell can support human hematopoiesis both invitro and in vivo: the crucial role of neural cell adhesion molecule. *Haematologica.* 95: 884-891, 2010.
  - 9) Yanai S, Adachi Y, Shi M, Shigematsu A, Shima C, Imai Y, Kwon AH, Ikehara S. Adult bone marrow cells can differentiate into hemopoietic cells and endothelial cells but not other lineage cells in normal growth and normal life. *Int. J. hematol.* 91: 213-218, 2010.
  - 10) Feng W, Cui Y, Zhan H, Shi M, Cui W, Guo K, Li Q, Song C, Zhang Y, Mori T, Gershwin ME, Abraham NG, Ikehara S. Prevention of premature ovarian failure and osteoporosis induced by irradiation using allogeneic ovarian/bone marrow transplantation. *Transplantation.* 89: 395-401, 2010.
  - 11) Hosaka N, Cui W, Zhang Y, takaki T, Inaba M, Ikehara S. Prolonged survival in mice with advanced tumors treated with syngeneic or allogeneic intra-bone marrow-bone marrow transplantation plus fetal thymus transplantation. *Cancer Immunol. Immunother.* 59: 1121-1130, 2010.
  - 12) Shigematsu A, Shi M, Okigaki M, Adachi Y, Koike N, Che J, Iwasaki M, Matsubara H, Imamura M, Ikehara S. Signaling from fibroblast growth factor receptor 2 in immature hematopoietic cells facilitates donor hematopoiesis after intra-bone marrow-bone marrow transplantation. *Stem cell Dev.* 19: 1679-1686, 2010.
  - 13) Okamoto N, Kushida T, Oe K, Umeda M, Ikehara S, Iida H. Treating Achilles tendon rupture in rats with bone-marrow-cell transplantation therapy. *J. Bone Joint Surg. Am.* 92: 2776-2784, 2010.
  - 14) Burt RK, Abinnun M, Farge-Bancel D, Fassas A, Hiepe F, Havrdova E, Ikehara S, Loh Y, Marmont du Haut Champ A, Voltarelli JC, Snowden J, Slavin S. *Science.* 328: 825-826, 2010.
  - 15) Kaplamadzhiev DB, Hisha H, Adachi Y, Ikehara S, Tonche AB, Boneva NB, Pyko IV, Kikuchi M, Nakaya M, Wakayama T, Iseki S, Yamashita T. Bone marrow-derived stromal cells can express neuronal markers by DHA/GPR40 signaling. *Biosci. Trends.* 4: 119-129, 2010.
  - 16) Cui Y, Nakamura S, Shi M, Feng W, Cui Y, nakamura S, Shi M, Feng W, CuiW, Guo K, Zhang Y, Ikehara S. A successful haploidentical bone marrow transplantation method in rabbits: perfusion method plus intra-bone marrow-bone marrow transplantation. *Transpl. Immunol.* 24: 33-39, 2010.
  - 17) Mito K, Sugiura K, Ueda K, Hori T, Akazawa T, Yamate J, nakagawa H, Hatoya S, Inama M, Inoue N, Ikehara S, Inaba T. IFN  $\gamma$  markedly cooperates with intratumoral dendritic cell vaccine in dog tumor models. *Cancer Res.* 70: 7093-7101, 2010.
  - 18) Li M, Abraham NG, Vanella L, Zhang Y, Inaba M, Hosaka N, Hoshino S, Shi M, Ambrosini YM, Gershwin ME, Ikehara S. Successful modulation of type 2 diabetes in db/db mice with intra-bone marrow-bone marrow transplantation plus concurrent thymic transplantation. *J. Autoimmun.* 35: 414-423, 2010.
  - 19) Lee WS, Suzuki Y, Graves SS, Iwata M, Venkataraman GM, Mielcarek M, Peterson LJ, Ikehara S, Torok-Storb B, and Storb R. Canine bone marrow-derived mesenchymal stromal cells suppress alloreactive lymphocyte proliferation in vitro but fail to enhance engraftment in canine

- bone marrow transplantation. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 17: 465-475, 2011.
- 20) Oe K, Kushida T, Okamoto N, Umeda M, Nakamura T, Ikehara S, and Iida H. New strategies for anterior cruciate ligament partial rupture using bone marrow transplantation in rats. *Stem Cells Dev.* 20: 671-679, 2011.
- 21) Zhang Y, Hosaka N, Cui Y, Shi M, and Ikehara S. Effects of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation plus thymus transplantation on malignant tumors: Comparison between fetal, newborn, and adult mice. *Stem Cells Dev.* 20: 599-607, 2011.
- 22) Katagiri K, Ueda Y, Tomiyama T, Yasuda K, Toda Y, Ikehara S, Nakayama KI, and Kinashi T. Deficiency of Rap1-binding protein RAPL causes lymphoproliferative disorders through mislocalization of p27kip1. *Immunity* 34: 24-38, 2011.
- 23) Shi M, Lian Z, Zhang Y, Yanai S, Shima C, Imai Y, and Ikehara S. Combination of intra-bone marrow-bone marrow transplantation and subcutaneous donor splenocyte injection diminishes risk of GVHD and enhances survival rate. *Stem Cells Dev.* 20: 759-768, 2011.
- 24) Ikehara S. Thymus transplantation for treatment of cancer: lessons from murine models. *Expert Rev. Clin. Immunol.* 7: 205-211, 2011.
- 25) Mori S, Fujita S, Yamamoto Y, Li M, Fukuhara S, Nomura S, and Ikehara S. Perfusion method for bone marrow cell collection in poor mobilizer lymphoma patient. *Int. J. Hematol.* 93: 822-824, 2011.
- 26) Ikehara S. A novel BMT technique for treatment of various currently intractable diseases. *Best Pract. Res. Clin. Haematol.* 24: 477-483, 2011. Review.
- 27) Hosaka N, Uesaka K, Takaki T, Zhang Y, Takasu K, and Ikehara S. Poorly differentiated squamous cell carcinoma of the nipple: a unique case for marked exophytic growth, but little invasion with neuroendocrine differentiation. *Med. Mol. Morphol.* 44: 174-178, 2011.
- 28) Shimo T, Adachi Y, Umezawa K, Okigaki M, Takeya J, Taniuchi S, Ikehara S, and Kaneko K. Dehydroxymethylepoxyquinomicin (DHMEQ) can suppress tumour necrosis factor- $\alpha$  production in lipopolysaccharide-injected mice, resulting in rescuing mice from death in vivo. *Clin. Exp. Immunol.* 166: 299-306, 2011.
- 29) Hoshino S, Kurishima A, Inaba M, Ando Y, Fukui T, Uchida K, Nishio A, Iwai H, Yokoi T, Ito T, Ishii S, Shimada A, Li M, Okazaki K, and Ikehara S. Amelioration of 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis in mice by immunoregulatory dendritic cells. *J. Gastroenterol.* 46: 1368-1381, 2011.
- 30) 池原 進. 革新的移植方法 灌流法 + 骨髄内骨髄移植法. 医学のあゆみ「造血幹細胞移植の最新動向：造血幹細胞移植のトピックス」 240 (5): 465-469, 2012.
- 31) Zhang Y, Hosaka N, Cui Y, Shi M, Li M, Li Q, and Ikehara S. Effects of intrabone marrow-bone marrow transplantation plus adult thymus transplantation on survival of mice bearing leukemia. *Stem Cells Dev.* 21: 1441-1448, 2012.
- 32) Shima C, Adachi Y, Minamino K, Okigaki M, Shi M, Imai Y, Yanai S, Takahashi K, Ikehara S. Neuroprotective effects of granulocyte colony-stimulating factor on ischemia-reperfusion injury of the retina. *Ophthalmic Res.* 48: 199-207, 2012.
- 33) Ueda Y, Katagiri K, Tomiyama T, Yasuda K, Habiro K, Katakai T, Ikehara S, Matsumoto M, Kinashi T. Mst1 regulates integrin-dependent

thymocyte trafficking and antigen recognition in the thymus. *Nat. Commun.* 3: 1098, 2012.

- 34) Li M, Vanella L, Zhang Y, Shi M, Takaki T, Shapiro JI, Ikehara S. Stem cell transplantation increases antioxidant effects in diabetic mice. *Int. J. Biol. Sci.* 8: 1335-1344, 2012.
- 35) Hasegawa-Ishii S, Shimada A, Inaba M, Li M, Shi M, Kawamura N, Takei S, Chiba Y, Hosokawa M, Ikehara S. Selective localization of bone marrow-derived ramified cells in the brain adjacent to the attachments of choroid plexus. *Brain Behav. Immun.* 29: 82-97, 2013.
- 36) Shi M, Li M, Cui Y, Liu L, Adachi Y, Ikehara S. CD4<sup>+</sup> T cell-depleted lymphocyte infusion impairs neither the recovery of recipient thymus nor the development of transplanted thymus. *J. Immunol.* 190: 2976-2983, 2013.
- 37) Li M, Shi M, Abraham NG, Ikehara S. Improved expression of Sirt1 on thymic epithelial cells of SAMP1 after intra bone marrow-bonne marrow transplantation. *Cell Transplant.* 2013 Feb 26 [Epub ahead of print]
- 38) Shimo T, Adachi Y, Yamanouchi S, Tsuji S, Kimata T, Umezawa K, Okigaki M, Takaya J, Ikehara S, Kaneko K. A novel nuclear factor kB inhibitor, dehydroxymethylepoxyquinomicin, Ameliorates puromycin aminonucleoside-induced nephrosis in mice. *Am. J. Nephrol.* 37: 302-309, 2013.
- 39) Li M, Ikehara S. Bone-marrow-derived mesenchymal stem cells for organ repair. *Stem Cells Int.* 2013: 132642, 2013.

#### (書籍)

- 1) Ikehara S. A revolutionary BMT method. In: *Bone Marrow Transplantation Across Major Genetic Barriers* (Yair Reisner and Massimo F martelli, eds.) World Scientific. New Jersey • London •

Singapore • Beijing • Shanghai • Hong Kong • Taipei • Chennai 441-455, 2010.

- 2) Susumu Ikehara. A new concept of stem cell disorders, and the rationale for transplantation of normal stem cells. *STEM CELLS AND CANCER STEM CELLS*. Chapter (ed. Dr. M.A. Hayat) Springer In press.
- 3) Ming Li and Susumu Ikehara: Bone marrow stem cell therapies for diabetes mellitus and its complications: *STEM CELLS AND CANCER STEM CELLS*. Chapter (ed. Dr. M.A. Hayat) Springer In press.

#### 2. 学会発表

##### (国内学会)

- 1) 石 明, 足立 靖, 池原 進.  
「骨髄内骨髄移植と皮下 donor lymphocyte infusion の組み合わせによる効果」  
第 99 回日本病理学会総会  
平成 22 年 4 月 27 日 ~ 4 月 29 日 (東京)
- 2) 中村修二、森 眞一郎、池原 進  
「ヒト灌流法のマニュアル」  
平成 22 年度厚生労働科学研究免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業  
平成 22 年度第 1 回合同班会議  
7 月 3 日~7 月 4 日
- 3) 研究代表者 池原 進  
「新しい骨髄移植方法の最新の知見と今後の見通し」厚生労働科学研究 7 研究班合同公開シンポジウム  
平成 22 年度厚生労働科学研究免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業  
平成 22 年度第 2 回合同班会議
- 4) 研究代表者 池原 進  
「灌流法により採取された骨髄細胞を用いた

骨髄内骨髄移植療法：基礎から臨床へ」

厚生労働科学研究 7 研究班合同公開シンポジウム .

1 月 30 日

- 5) 足立 靖、今井雄一郎、石 明、池原 進 .  
アポトーシス阻害薬 Z-VAD-fmk を用いた効率の良い骨髄内骨髄移植法 .  
第 100 回日本病理学会総会.  
平成 23 年 4 月 28 日 ~ 平成 23 年 4 月 30 日  
( 横浜 )
- 6) 李 銘、張玉明、石 明、池原 進 .  
骨髄と胸腺の同時移植によるインスリン感受性の増加機序の解析 2 型糖尿病モデルマウスを用いて .  
第 11 回日本抗加齢医学会総会.  
平成 23 年 5 月 27 日 ~ 平成 23 年 5 月 29 日  
( 京都 )
- 7) 森 眞一郎、野村昌作、池原 進.  
新しい骨髄採取方法 ( 灌流法 ) のメリットと問題点 .  
厚生労働科学研究 免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業  
平成 23 年度第 1 回造血細胞移植合同班会議 .  
平成 23 年 7 月 2 日 ~ 7 月 3 日 ( 名古屋 )
- 8) LI Ming, SHI Ming, IKEHARA Susumu .  
骨髄と胸腺の同時移植による 2 型糖尿病の治療 / Treatment of type 2 diabetes mellitus in db/db mice by intra-bone marrow-bone marrow transplantation plus thymus transplantation.  
第 40 回日本免疫学会学術集会 .  
平成 23 年 11 月 27 日 ~ 平成 23 年 11 月 29 日  
( 千葉 )
- 9) 保坂直樹、崔 雲澤、石 明、李 銘、李 清、高橋伯夫、池原 進 .  
白血病担癌マウスにおける成体胸腺移植を併

用した IBM-BMT の効果 / Effects of IBM-BMT plus adult thymus transplantation on mice bearing leukemia.

第 40 回日本免疫学会学術集会 .

平成 23 年 11 月 27 日 ~ 平成 23 年 11 月 29 日  
( 千葉 )

- 10) 植田祥啓、片桐晃子、富山 尚、安田鐘樹、羽廣克嘉、片貝智哉、池原 進、木梨達雄 .  
Mst1 キナーゼによる胸腺細胞動態と抗原認識の制御 / Mst1 regulates thymocyte trafficking and antigen recognition within thymic tissues.  
第 40 回日本免疫学会学術集会 .  
平成 23 年 11 月 27 日 ~ 平成 23 年 11 月 29 日  
( 千葉 )
- 11) 串田剛俊、飯田寛和、森 眞一郎、野村昌作、池原 進.  
整形外科医からみた “ 灌流法の実際 ” .  
平成 23 年度厚生労働科学研究免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業  
平成 23 年度第 2 回造血細胞移植合同班会議 .  
平成 24 年 1 月 8 日 ~ 1 月 9 日 ( 東京 )
- 12) 研究代表者 池原 進 .  
新しい移植法とはどんな法法 ?  
平成 23 年度厚生労働科学研究免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業  
平成 23 年度厚生労働科学研究免疫アレルギー等予防・治療研究事業/がん臨床研究事業  
造血細胞移植研究 7 班合同公開シンポジウム .  
平成 24 年 1 月 9 日 ( 東京 )
- 13) 研究代表者 池原 進 .  
灌流法により骨髄細胞を用いた骨髄内骨髄移植療法：基礎から臨床へ .  
平成 23 年度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(移植



医療分野)研究報告会

平成 24 年 1 月 17 日 (東京)

- 14) 池原 進、李 銘、石 明 . 移植技術を用いた難病の根治療法の開発 .  
平成 23 年度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(移植医療分野)研究報告会  
平成 24 年 1 月 17 日 (東京)
- 15) 保坂直樹、高橋伯夫、池原 進 .  
胸腺移植を併用した新しい骨髄移植法の悪性腫瘍への効果 II : 胎生、新生、成体期の造血幹細胞と胸腺の比較 .  
第 101 回日本病理学会総会  
平成 24 年 4 月 26 日 ~ 平成 24 年 4 月 28 日 (東京)
- 16) 石井さなえ、島田厚良、稲葉宗夫、河村則子、武井史郎、千葉陽一、榎戸 靖、河内 全、細川昌則、池原 進 .  
骨髄由来免疫系細胞が健常脳に進入する新たな経路の骨髄内骨髄移植による組織学的同定 .  
第 101 回日本病理学会総会  
平成 24 年 4 月 26 日 ~ 平成 24 年 4 月 28 日 (東京)
- 17) 足立 靖、下 智比古、梅澤一夫、金子一成、池原 進 .  
LPS 投与マウスにおける DHMEQ (NF- B inhibitor) の効果 .  
第 101 回日本病理学会総会  
平成 24 年 4 月 26 日 ~ 平成 24 年 4 月 28 日 (東京)
- 18) 石 明、嶋千絵子、足立 靖、南野桂三、高橋寛二、池原 進 .  
マグネット・ビーズを用いた骨髄内骨髄移植法 .  
第 101 回日本病理学会総会

平成 24 年 4 月 26 日 ~ 平成 24 年 4 月 28 日 (東京)

- 19) 足立 靖、松添弘樹、川田交俊、高津宏樹、生田寿彦、石田明彦、中野麗香、山内荘作、下 智比古、池原 進 .  
巨大右心房内血栓症から両肺の肺動脈血栓症をきたした 1 例  
第 58 回日本病理学会秋期特別総会  
平成 24 年 11 月 22 日 ~ 平成 24 年 11 月 23 日 (名古屋)
- 20) LI Ming, LI Ming, SHI Ming, Ikehara Susumu.  
Bone marrow transplantation improved SMP30 expression in the liver of type II diabetes mice.  
第 41 回日本免疫学会学術集会  
平成 24 年 12 月 5 日 ~ 平成 24 年 12 月 7 日 (神戸)
- 21) 石井さなえ、島田厚良、稲葉宗夫、李銘、石明、河村則子、武井史郎、千葉陽一、榎戸靖、河内全、細川昌則、池原進  
骨髄由来免疫系細胞が健常脳に進入する新たな経路：骨髄内骨髄移植による組織学的同定。  
第 53 回日本神経病理学会  
2012.6.30. (新潟)
- 22) 島田厚良、石井さなえ、稲葉宗夫、李銘、石明、河村則子、武井史郎、千葉陽一、榎戸靖、河内全、細川昌則、池原進  
老化促進モデルマウスにみられる骨髄由来細胞の脳実質へのリクルートの亢進。  
第 53 回日本神経病理学会  
2012.6.30. (新潟)
- 23) 石井一慶、野村昌作、串田剛俊、飯田寛和、池原 進 .  
灌流法により採取された骨髄細胞を用いた骨髄内骨髄移植療法：基礎から臨床へ “過去・現在・未来” .

平成 24 年度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））

平成 24 年度第 1 回造血細胞移植合同班会議  
平成 24 年 7 月 7 日~7 月 8 日（名古屋）

24) 池原 進 .

灌流法により採取された骨髄細胞を用いた骨髄内骨髄移植療法：総括と今後の展望 .

平成 24 年度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））

平成 24 年度第 2 回造血細胞移植合同班会議 .  
平成 25 年 1 月 13 日~1 月 14 日（東京）

25) 研究代表者 池原 進 .

革新的な骨髄移植療法の開発に向けて .

平成 24 年度研究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））

平成 24 年度厚生労働科学研究免疫アレルギー等予防・治療研究事業/がん臨床研究事業造血細胞移植研究合同公開シンポジウム .

平成 25 年 1 月 14 日（東京）

26) 研究報告書 池原 進 .

灌流法により採取された骨髄細胞を用いた骨髄内骨髄移植療法：基礎から臨床へ .

平成 24 年度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）(移植医療分野) 研究報告会

平成 25 年 1 月 15 日（東京）

27) 足立 靖、下智比古、山内壮作、沖垣光彦、梅澤一夫、石 明、金子一成、池原 進 .

微小糸球体病変モデルマウスに対する NF- $\kappa$ B 阻害薬 DHMEQ の効果 .

第 102 回日本病理学会総会

平成 25 年 6 月 6 日~平成 25 年 6 月 8 日（札幌）

28) 李 銘、石 明、池原 進 .

SAMP10 マウスの胸腺上皮細胞における Sirt1 発現についての検討

骨髄内骨髄移植を用いて

第 13 回日本抗加齢医学会総会

平成 25 年 6 月 28 日~平成 25 年 6 月 30 日（横浜）

**（国際学会）**

1) Q. Li, H. Hisha, T. Takaki, Y. Adachi, M. Li, J. Kato, M. Inaba, N. Hosaka, M. Maki, S. Ikehara

「Transformation potential of bone marrow stromal cells into undifferentiated high grade pleomorphic sarcoma」

14<sup>th</sup> International Congress of Immunology August 23, 2010 ~ August 27, 2010 (Kobe, Japan)

2) Y. Cui, S. Nakamura, M. Shi, Q. Li, M. Li, S. Ikehara

「Prevention of premature ovarian failure and osteoporosis induced by irradiation using allogeneic ovarian/ bone marrow transplantation」

14<sup>th</sup> International Congress of Immunology August 23-27, 2010 (Kobe, Japan)

3) M. Shi, Y. Adachi, Y. Cui, M. Li, Q. Li, S. Yanai, S. Ikehara

「Intra-bone marrow injection of donor bone marrow cells suspended in collagen gel retains injected cells in bone marrow, resulting in rapid hemopoietic recovery in mice」

14<sup>th</sup> International Congress of Immunology

- 4) M. Li, M. Inaba, S. Hoshino, K. Okazaki, N. Abraham, S. Ikehara  
「Amelioration of cognitive ability in senescence-accelerated mouse prone 8 (SAMP 8) by intra-bone marrow-bone marrow transplantation」  
14<sup>th</sup> International Congress of Immunology  
August 23-27, 2010 (Kobe, Japan)
- 5) S. Ikehara.  
「A novel BMT technique for the treatment of various currently intractable diseases: From bench to bedside」  
6<sup>th</sup> International Symposium: Haploidentical Stem Cell Transplantation.  
招聘講演 September 12-14, 2010 (Jerusalem, Israel)
- 6) S. Ikehara. 代理で M. Li が発表  
「Factors involved in aging: mesenchymal stem cells and thymus」  
Multidisciplinary Conference: Lifestyle and Ageing  
招聘講演 October 4-5, 2010 (Pisa, Italy)
- 7) M. Li, M. Shi, N.G. Abraham, S. Ikehara  
「Amelioration of cognitive ability in senescence-accelerated mouse prone 8 (SAMP 8) by intra-bone marrow-bone marrow transplantation」  
Multidisciplinary Conference: Lifestyle and Ageing  
October 4-5, 2010 (Pisa, Italy)
- 8) S. Ikehara  
「A revolutionary therapy for the treatment of disorders of hemopoietic stem cells (HSCs) and/or mesenchymal stem cells (MSCs)」  
The Fourth International Conference on Cell Therapy  
招聘講演 November 11, 2010 (Seoul, Korea)
- 9) Susumu Ikehara.  
Autoimmune diseases as stem cell disorders: Rationale for normal stem cell transplantation for their treatment.  
The 5<sup>th</sup> Autoimmunity Congress Asia (ACA 2011).  
招聘講演 November 17-19, 2011. (Singapore)
- 10) Ming Li, Ming Shi, Susumu Ikehara.  
Improved SMP30 expression in the liver of diabetic mice by stem cell Transplantation.  
KEYSTONE SYMPOSIA on Molecular and Cellular Biology  
Aging and Diseases of Aging  
October 22-27, 2012, Tokyo, Japan
- 11) Ming Li, Susumu Ikehara.  
Prospects for bone marrow transplantation in tolerance induction of organ transplantation.  
7<sup>th</sup> Five-Continent International Symposium on Cardiovascular Disease  
招聘講演 April 19-April 21, 2013. (Beijing, China)
- 12) Sanae Hasegawa-Ishii, Atsuyoshi Shimada, Muneo Inaba, Ming Li, Ming Shi, Noriko Kawamura, Shiro Takei and Susumu Ikehara :  
Intra bone marrow procedure facilitates entry of transplanted bone marrow cells through the tenia of choroid plexus into brain parenchyma. 19<sup>th</sup> Annual Meeting of The PsychoNeuroImmunology (San Diego) 2012.6.7
- 13) Atsuyoshi Shimada, Sanae Hasegawa-Ishii, Muneo Inaba, Ming Li, Ming Shi, Noriko Kawamura, Shiro Takei and Susumu Ikehara :  
Enhanced recruitment of bone marrow-derived cells into the brain parenchyma in senescence-accelerated mice. 19<sup>th</sup> Annual Meeting of The PsychoNeuroImmunology (San Diego) 2012.6.7

14) Sanae Hasegawa-Ishii, Atsuyoshi Shimada, Muneo Inaba, Ming Li, Ming Shi<sup>5</sup>, Shiro Takei, Susumu Ikehara.

Selective localization of bone marrow-derived ramified cells in the brain adjacent to the attachments of choroid plexus.

20th Annual PNIRS Scientific Meeting

June 5-8, 2013, Stockholm, Sweden

特許取得日：2011.12.2

特許番号：HK1122973

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

1) 発明の名称：骨髄ドリル「BONE MARROW HARVESTING DRILL」

発明人：池原 進、白藤泰司、中村修二、  
下田信夫、佐渡克行

国：アメリカ

特許取得日：2011.12.6

特許番号：US8070690

2) 発明の名称：骨髄ドリル「BONE MARROW HARVESTING DRILL」

発明人：池原 進、白藤泰司、中村修二、  
下田信夫、佐渡克行

国：欧州(ベルギー、ドイツ、スペイン、  
フランス、イギリス、イタリア、  
スウェーデン)

特許取得日：2011.11.23

特許番号：1949858

3) 発明の名称：骨髄ドリル「BONE MARROW HARVESTING DRILL」

発明人：池原 進、白藤泰司、中村修二、  
下田信夫、佐渡克行

国：中国

特許取得日：2011.7.20

特許番号：200810003972.0

4) 発明の名称：骨髄ドリル「BONE MARROW HARVESTING DRILL」

発明人：池原 進、白藤泰司、中村修二、下  
田信夫、佐渡克行

国：香港

### 2. 実用新案登録

1) 指定管理医療機器製造販売認証書

認証番号：第 223AABZX00163000 号

認証対象品：JIMRO-TRANS ニードル

認証日：平成 23 年 12 月 28 日

製造販売業者：株式会社 JIMRO

### 3. その他

1) Medical Tribune 平成 22 年 5 月 20 日  
Vol. 43, No.20

「骨髄内骨髄移植法で多くの難病克服に期待」

池原 進

2) 毎日新聞 平成 22 年 9 月 13 日(月)  
夕刊 3 版 社会 10 関東版

「骨髄、胸腺移植で正常に」

池原 進、李 銘

3) YAYAHOO JAPAN! ニュース  
平成 22 年 9 月 13 日(月)

「< 2 型糖尿病 > 骨髄、胸腺移植で正常に動物実験で関西医大」

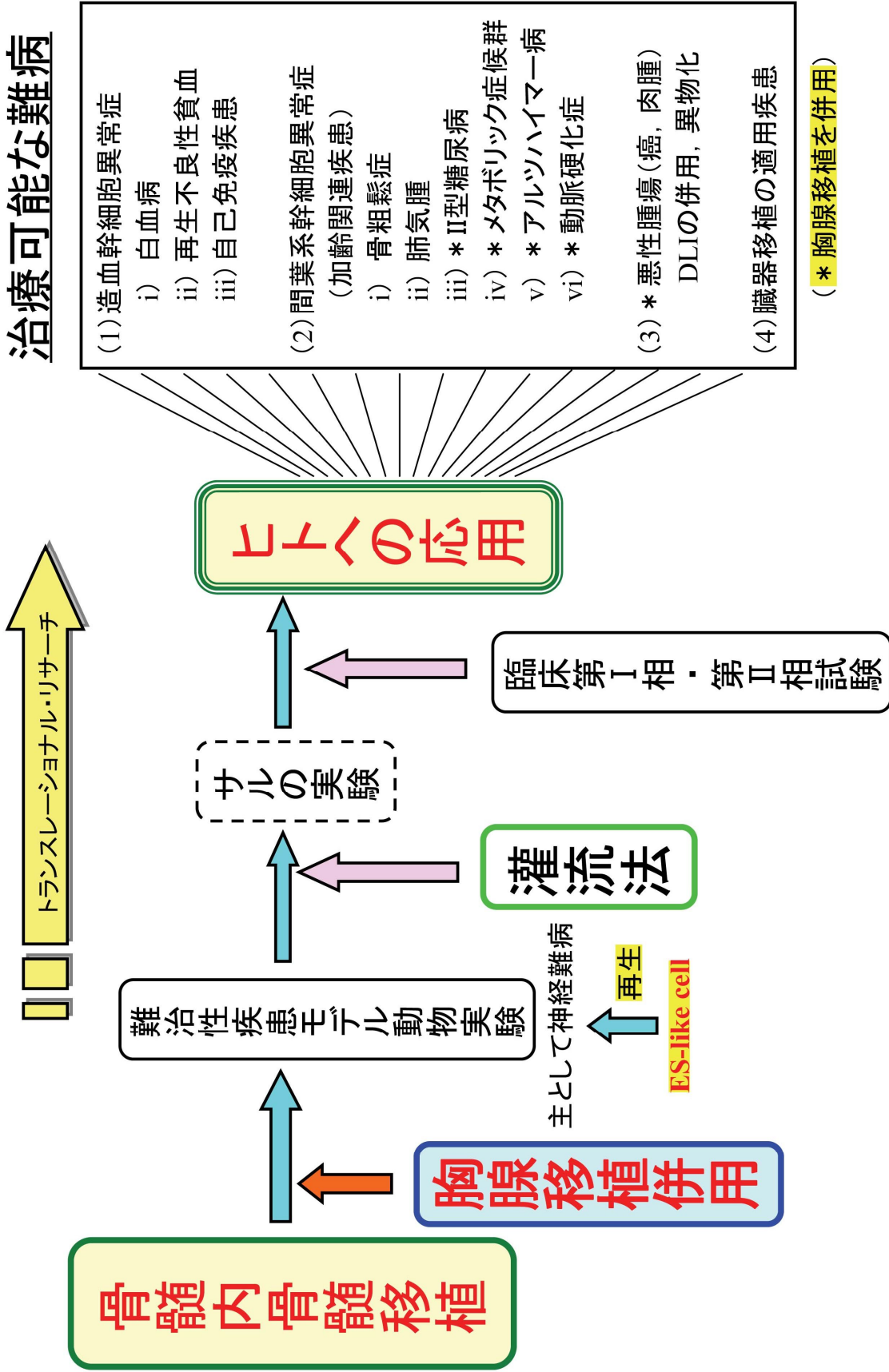
池原 進、李 銘

4) GOO ニュース  
平成 22 年 9 月 13 日(月)

「< 2 型糖尿病 > 血糖値、骨髄と胸腺移植で正常に 関西医科大、マウスで成功」

池原 進、李 銘

# 今後の見通し



### III. 分 担 研 究 報 告



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）  
分担研究年度終了報告書

**同種移植後の再発白血病の治療法開発**

分担研究者 赤塚 美樹（藤田保健衛生大学医学部・准教授）

**研究要旨**

再発ハイリスク例に対する同種造血幹細胞移植後では再発が主な死因となっている。同種移植はマイナー（組織適合）抗原や不適合 HLA 分子を標的としたアロ免疫反応によって移植片対白血病・リンパ腫（GVL）効果を得るものである。我々は自らが同定した、選択的 GVL 効果を期待しうる造血系のみで発現しているマイナー抗原を標的とし、再発ハイリスク造血器腫瘍の再発予防・治療としてマイナー抗原ペプチドワクチン療法の第 1 相臨床試験を実施してきた。抗原タイピングを行った症例の約 3 割において ACC-1Y, ACC-1C (HLA-A24 拘束性), ACC-2, ACC-6 (HLA-B44 拘束性), HA-1 (HLA-A2 拘束性)のいずれかのマイナー抗原で GVL 方向の不適合を認めた。これらのうち、再発例 4 例と再発ハイリスク例 3 例の合計 6 例において、実際にワクチンの投与がなされた。局所反応以外に有害事象は認められなかったが、骨髓腫の再発例で SD が得られた他、ワクチン後にマイナー抗原特異的キラー細胞の誘導が 2 例で認められた。ワクチンから T 細胞応答には時間を要することから、治療には養子免疫療法がより有効と考えられる。HLA-A24 拘束性 ACC-1Y、ACC-1C マイナー抗原に特異的 CTL から得られた T 細胞受容体（TCR）遺伝子を用いた遺伝子改変 T 細胞の作製、また HLA-A2/HA-1 マイナー抗原複合体を認識する抗体の樹立と、これを T 細胞で発現させるいわゆる CAR-T 細胞の作製も行い、前者では内在性 TCR との競合が制限因子となったが、後者では CAR の発現は良好で細胞傷害性も確認できたことより、今後の展開が期待される。

**A. 研究目的**

同種造血幹細胞移植は、造血器腫瘍に対する有用な治療法として確立されてきたが難治性症例の移植成績はまだ満足できるものではない。同種移植後にはドナーのリンパ球が患者に残存する腫瘍細胞を傷害する移植片対白血病・リンパ腫（GVL）効果が期待できるが、その効果が原病の悪性度を克服できないと再発が起ると考えられる。GVL 効果の主要な標的はマイナー組織適合抗原と腫瘍関連抗原（TAA）であるが、とくに前者はドナー・患者間の遺伝子多型の違いに由来するペプチドが患者の HLA 分子に提示されて抗原物質となったもので、TAA のような自己抗原と異なり、非自己抗原であるため強い免疫反応ができると期待されている。

マイナー組織適合抗原はドナー、患者間の遺伝子多型の差に由来するため、移植ペア毎に適応となるマイナー抗原が異なるという不便もあるが、移植前に HLA タイピングとともにマイナー組織適合抗原遺伝子タイピングを行っておけば不適合の有無が分かることから、各症例に合ったマイナー抗原を選択するという、テーラーメイド治療が可能となる。

我々は自らが同定してきた、日本人に多い HLA-A\*24:02 や HLA-A\*02:01, -B\*44:03 によって提示されるマイナー組織適合抗原エピトープのペプチドを GMP グレードで調製し、再発ハイリスク造血器腫瘍の再発時または移植後再発予防としてマイナー抗原ペプチドワクチン療法の第 1 相臨床試験を実施した。



ワクチンのような能動免疫は、十分量の T 細胞反応および増殖に時間を要し、急性白血病のような腫瘍の増加スピードが速い場合には対処が困難であることがワクチンを受けた移植後再発例で分かってきた。これまで患者末梢血を不適合マイナー抗原ペプチドで刺激し、細胞傷害性 T 細胞 (CTL) を得ようとしたが、多くはペプチド依存性の低親和性 TCR を持つものがほとんどであり、細胞傷害活性が低いこと、増殖性がわるいことが問題であった。この解決のために、これまでに樹立し、細胞傷害性の良好であった CTL から T 細胞受容体遺伝子をクローン化し、これをレトロウイルスベクターにて患者もしくはドナー T 細胞に遺伝子導入し、標的マイナー抗原に特異的なエフェクター CTL を大量に得る方法を検討した。さらに、外来性 TCR を導入した T 細胞上の当該 TCR の発現率には大きな差があり、これは内在性 TCR との競合であることが分かってきたため、TCR 以外の抗原受容体、すなわち抗体構造を T 細胞に導入した chimeric antigen receptor (CAR) 発現 T 細胞の開発も 3 年度目より着手した。

## B. 研究方法

マイナー抗原ワクチン臨床試験 (H22~H24 年度、継続予定)

対象症例は同種造血幹細胞移植を受ける予定であるか、受けた後の患者。再発時の治療目的のマイナー組織適合抗原ワクチン投与の場合、以下の疾患を対象とした： a) RAEB, CMML、b)いかなる時期の AML、ALL、c)いかなる時期の CML、d)多発性骨髄腫、e)悪性リンパ腫。再発予防目的の場合は移植後 30%以上の再発が予想される疾患群に限定し、a)RAEB, CMML (で再発リスクの高いもの)、b) AML：第 3 寛解期以降ないしは非寛解期移植、FAB：M0、M6、M7、c)ALL：第 2 寛解期以降ないしは非寛解期移植、d)CML：第 2 慢性期以降ないしは加速期・急転期移植、e)多発性骨髄腫：進行期 (PD) 移植、e)悪性リンパ腫：非寛解期移植を対

象とした。移植タイプとして血縁者間、臍帯血を含む非血縁者間移植すべてを対象とした。患者および必要に応じて血縁者ドナーに研究目的と個人情報管理、予期される効果と危険性を説明したのち文書にて同意を得られた場合に本研究へ登録を行った。

対象とするマイナー組織適合抗原として HLA-A\*24:02 陽性患者には ACC-1Y、ACC-1C、HLA-B\*44:02/03 陽性患者には ACC-2、ACC-6、HLA-A\*0201/A\*0206 陽性患者には HA-1H 抗原の GVL 方向不適合について遺伝子タイピングを行った。マイナー組織適合抗原が GVL 方向に不適合が存在しても、ドナーおよび患者双方が拘束性 HLA 型を持つ場合のみを適格例とした。

各ペプチドは GMP グレードで合成され、愛知県がんセンターの細胞調製施設の安全キャビネット内で 2mg/ml または 5mg/ml の濃度で分注、-30 度で凍結保存しているものを用いた。分注後、ペプチドは外注検査機関にて純度等の品質検査を行い、分解がないことを確認した。

ペプチドは投与直前に室温で解凍後、安全キャビネット内で必要量を注射器で吸引し、モンタナイド ISA51VG (フロイント社) と混合してエマルジョン化し、外来にて接種した。

試験用量設定として、初期のがんワクチンで用いられた 30 $\mu$ g より開始、300 $\mu$ g、1mg の段階的増加を行った。各用量で 3 名または 6 名 (有害事象の程度に応じて) とした。ペプチドは隔週で 5 回投与し、安全性と免疫誘導能のエンドポイントは接種終了 3 週間後とした。何らかの理由でワクチン接種を中止した場合、3 回以上投与していれば評価可能とした。

主評価項目として、2 項目、グレード 3 度以上の急性 GVHD・広範慢性 GVHD の発症頻度、および NCI-CTC 基準で 3~4 度の非血液毒性の発症頻度を設定した。また、副次評価項目として 3 項目、5 回のワクチン終了後 3 週間以内での寛解到達率、ワクチンに特異的な T 細胞反応の継続期間・動態、安全に投与可能なワクチン量を設定した。免疫学的反応の評価については、CD8+ 抗原特異的 T 細胞

(CTL)の増減をテトラマーや IFN- $\gamma$  ELISPOT 法にて検討し、残存腫瘍量については評価可能なサロゲイトマーカーがある場合、定量 PCR や FISH 法などで評価することとした。

マイナー抗原特異的 CTL の TCR (H22-23 年度)およびマイナー抗原・HLA 複合体特異的抗体を用いた遺伝子導入細胞の作製 (H24 年度、別途継続予定)

TCR のソースとして、それぞれ ACC-1Y および、ACC-1C に特異的 CTL から得られたの TCR を組み込んだレトロウイルスベクターの作成した。ACC-1Y を認識する CTL クローン 1B3, ACC-1C を認識する CTL の TCR $\alpha$ 鎖、 $\beta$ 鎖を PCR 法にてそれぞれクローン化した。配列確認後、 $\alpha$ 鎖と $\beta$ 鎖は PGK promoter もしくは F2A ペプチドで結合し、必要に応じて下流に選択用の NGFR を結合した。レトロウイルスプラスミドには Stanford 大学から得た LZRSpBMN-Z を改変したものをを用いた。

レトロウイルスの産生には、パッケージング細胞として、GALV- Phoenix-GP 細胞を用いた。プラスミドの導入は XtreamGene 9 を用いて行い、puromycin にて導入細胞を選択し、一過性プロデューサー細胞を得た。

遺伝子導入は、準備したウイルス上清をレトロネクチンコーティングしたプレートに入れ、32、2,000xG で 3~4 時間遠心後、Jurkat/MA 細胞、もしくは OKT3、CD3/CD28 ビーズで 2~3 日間活性化した健常人由来 T 細胞を入れて培養した。必要に応じて 2~3 回感染を反復し、感染 1 週間後より、マイナー抗原を 10~100nM の濃度でパルスした自己 B-LCL で 2~3 度反復刺激した。TCR 遺伝子導入・発現効率はそれぞれ A24/ACC-1Y-PE、A24/ACC-1C-PE テトラマーと CD3, CD8 抗体のカウンター染色にて評価した。またクロム遊離試験によって、TCR 導入 T 細胞がどの程度細胞傷害性を有するか検討した。

さらに、CAR-T を作成するために、まずマウスに HLA-A\*02:01/HA-1H (以下 A2/HA-1H) テトラマーを複数回 B6 系統のマウスに接種して免疫を行った。脾細胞 B 細胞を取り出し、その免疫グロブリン cDNA ライブラリから A2/HA-1H に反応性の抗体を A2/HA-1H モノマーと陰性コントロールの HLA-A\*02:01/MAGEA3 モノマーでスクリーニングし、前者のみに反応するクローンを得た。次のステップとして HLA-A\*02:01 に提示された HA-1H ペプチドには反応するが、HA-1R ペプチドには反応しない特異性の高いクローンを選択した。さらにこの単鎖抗体断片 (scFv) で作成したテトラマーが細胞上に発現した HLA-A\*02:01 に提示された HA-1H に結合できるか検討した。

### (倫理面への配慮)

本研究で行うゲノム解析は、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針 (平成 16 年文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第 1 号)、臨床研究に関する倫理指針 (平成 20 年厚生労働省告示第 415 号)、厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針 (平成 18 年 6 月 1 日付厚生労働省大臣官房厚生科学課長通知) 及び申請者が所属する研究機関で定めた倫理規定等に従って作成した研究計画書を作成し、倫理委員会の審査・承認を得た後に、担当医による人権擁護上の配慮、研究方法による研究対象者に対する不利益、危険性の排除や説明を実施後書面にて同意を得られた場合のみに実施された。以上の厳格な遵守により、本研究は倫理面で問題が無かったものとする。

### C. 研究結果

マイナー抗原ワクチン臨床試験：

これまでに 85 症例がマイナー組織適合抗原タイピングを受けた。うち、19 ペア (22.3%) において対象としたいずれかのマイナー組織適合抗原で GVL 方向の不適合を認めた。

この 19 例の中で 8 例からワクチン投与について同意を得たが、1 例は準備中に現疾患が急速に増悪し脱落となり、最終的に 7 例において投与がなされたが 1 例は早期に PD となり解析対象から除外した。評価可能な患者の背景を表 1 に示す。3 例がハイリスク造血器腫瘍に対する予防投与、3 例が治療投与であった。移植ソースは HLA 一致同胞が 2 例、非血縁 JMDP が 3 例、臍帯血が 1 例であった。ワクチン投与後の評価を表 2 に示す。有害事象は 6 例中 2 例に生じ、2 例が微熱を示した。ワクチン接種局所での遅延型過敏反応 (DTH) は 1 例で認めた。もう 1 例では ALP、CRP の若干の上昇 (Grade 1) を認めた。抗腫瘍効果は、再発時にワクチンを行った 3 例のうち 1 例 (多発性骨髄腫例) で Stable disease が得られ、他の 2 例 (2AML、PTCL-u) は Progressive disease であった。免疫反応は採血試料の直接テトラマー染色・フローサイトメトリー評価では全例で陰性、抗原ペプチドで刺激後は 3 例でテトラマー染色が陽性となった。なお現在、1mg のコーホートで試験を行っている。

マイナー抗原特異的 CTL の TCR およびマイナー抗原・HLA 複合体特異的抗体を用いた遺伝子導入細胞の作製：

ACC-1Y マイナー抗原を特異的に認識する CTL-1B3 の TCR $\alpha$ 鎖と $\beta$ 鎖を別々のレトロウイルスベクターに組み込んだ場合と、IRES 配列を利用してタンデムに結合して 1 つのベクターに組み込んで作成した Phoenix-Galv パッケージング細胞ウイルスに感染させた Jurkat/MA 上のテトラマー陽性率を比較したところ、両者ともテトラマー陽性分画が得られたが、タンデムに繋いだ場合、陽性強度が弱い傾向が見られた。

CTL-1B3 の TCR $\alpha$ ・ $\beta$ 鎖をタンデムにつないだベクターを感染した正常 T 細胞のテトラマー陽性率は 10~20%前後であった。これを bulk の T 細胞株、磁性ビーズによって CD4 分画、CD8 分画に分けて細胞障害性試験を行ったところ、CD8 分画 > bulk >

CD4 分画の順に ACC-1Y ペプチドをパルスした自己 B-LCL を傷害した。TCR を導入していない "Untransduced" T 細胞は細胞傷害活性を示さず、マイナー抗原特異性が TCR 遺伝子導入で付与できることが確認できた。

次いで、TCR 導入直後のテトラマー陽性率は 1%にも満たない場合でも、抗原ペプチドをパルスした自己抗原提示細胞で刺激を行うと、その頻度を高める事が出来るかを検討しところ、抗原刺激を反復することにより 4 週間で 6.2%にまで高める事が出来た。この、段階で細胞傷害性試験を行ったが、遺伝子導入 T 細胞は 100nM の抗原ペプチドを添加しない限り、もとの CTL-1B と比較して活性を発揮できなかった。これは TCR 導入細胞の割合が低すぎ、十分なエフェクター/ターゲット比が得られなかったこと、タンデムに繋いだ場合の細胞あたりの TCR 発現量そのものが低かったことが原因と考えられた。

引き続き、ACC-1C 特異的 CTL の TCR を組み込んだレトロウイルスベクターの作成するために、特異的 CTL-1B9 の TCR $\alpha$ 鎖と $\beta$ 鎖を 2A 配列を利用してタンデムに結合して 1 つのベクター (TRBV7-9\*03 BJ2.1) F2A  $\alpha$  (AV24-AJ37) を Phoenix-Galv パッケージング細胞に導入し、産生されたウイルスを Jurkat/MA に感染させて、発現を評価した。特異的テトラマーは 陽性コントロールであるオリジナルの CTL-1B9 には良好な反応性を示したが、Jurkat/MA に TCR を感染させたものはほとんど染色されなかった。CTL-1B9 は PCR 解析でもう 1 種類の in-frame の TCR- $\alpha$  鎖を弱く発現しており、これが bona fide の TCR である可能性があるため、再検中である。

最後に、A2/HA-1H を認識する抗体については  $5 \times 10^8$  スケールのファージライブラリから出発し、3 回のパニングによる濃縮後にランダムにピックアップした 144 個のコロニーをスクリーニングした。この結果 7 種類、18 クローン (12.5%) が得られた。これ以外は HLA-AH2/MAGEA3 にも反応する

もの、無反応のものであった。このうち最も結合力が強い単鎖の scFv をコードする cDNA (クローン #131) を 4 量体化した蛍光色素標識ファージ抗体ないしは、IgG4 抗体定常領域の前に組み込みテトラマー化して、HA-1H ペプチドをパルスした TAP 欠損 HLA-A\*02:01 陽性の T2 細胞と反応させたところ、10nM まで反応が得られたが、HA-1R ペプチドやそれ以外の HLA-A\*02:01 結合性ペプチド (MAGEA3、HIV、Influenza-A MP <以下 Inf-A>、EBV) とは非生理的な高濃度である 10 $\mu$ M でも反応しなかった。

次いで PCR 法にて、#131 scFv の C 末端に CD28 の膜貫通部位と CD3 $\zeta$  鎖の ITAM 部分をタンデムに結合し、レトロウイルスベクター-LZRSpBMN-Z に組み込んだ。これを TCR 遺伝子導入の場合と同様に GALV- Phoenix-GP に導入し、puromycin でウイルス産生細胞を得た。この段階で GALV- Phoenix-GP は HLA-A2/HA-1H テトラマーによって染色されたため、scFv-CD28- $\zeta$  コンストラクトは正常に機能していることが確認できた。この上清を CD3/CD28 ビーズで活性化した健康人から得た CD8<sup>+</sup> T 細胞に感染させ、CAR-T 細胞を得た。2 日連続の感染によりほぼ 95% の T 細胞に効率良く遺伝子導入されたことがテトラマー試薬で確認できた。

これらの CAR-T 細胞は 2 週間でおおよそ 100 倍以上に増殖した。2 週間後の時点でも HLA-A2/HA-1H テトラマーで CAR の発現は保たれていた。これらの細胞をエフェクター細胞とし、<sup>51</sup>Cr でアイソトープ標識した T2 細胞もしくは HA-1H 陰性・HLA-A\*02:01 導入 K562 細胞標的細胞に HA-1H、HA-1R、Inf-A ペプチドをパルスして細胞傷害性試験を行ったところ、Inf-A パルス細胞は 10 $\mu$ M でも傷害されなかったのに対して、HA-1H パルス細胞は少なくとも 10nM まで傷害された。HA-1R パルスの場合、10 $\mu$ M では傷害活性が見られたが、1 $\mu$ M ではすでに消失した。以上より、HLA に結合したペプチドの 1 アミノ酸置換を見分けることができる抗体の作成が可能であることを示すことができた。

現在、これを T 細胞に導入して CAR-T 細胞としての機能を解析している。

## E. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1). Hirosawa T, Torikai H, Yanagisawa M, Kamei M, Imahashi N, Demachi-Okamura A, Tanimoto M, Shiraishi K, Ito M, Miyamura K, Shibata K, Kikkawa F, Morishima Y, Takahashi T, Emi N, Kuzushima K, Akatsuka Y. Mismatched HLA class II-restricted CD8(+) cytotoxic T-cells may serve selective GVL effects following allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Cancer Sci*, 102:1281-6, 2011. (PMID: 21466613)
- 2). An J, Fujiwara H, Suemori K, Niiya T, Azuma T, Tanimoto K, Ochi T, Akatsuka Y, Mineno J, Ozawa H, Ishikawa F, Kuzushima K, Yasukawa M. Activation of T-cell receptor signaling in peripheral T-cell lymphoma cells plays an important role in the development of lymphoma-associated hemophagocytosis. *Int J Hematol*. 93:176-85, 2011. (PMID: 21229399)
- 3). Suzuki S, Yoshikawa T, Hirosawa T, Shibata K, Kikkawa F, Akatsuka Y, Nakatsura T. Glypican-3 could be an effective target for immunotherapy combined with chemotherapy against ovarian clear cell carcinoma. *Cancer Sci*. 102:1622-9, 2011. (PMID: 21668581)
- 4). Yamamoto Y, Tsuzuki S, Akahori Y, Ukai Y, Sumitomo M, Murayama Y, Yamamoto K, Inaguma Y, Tokuda M, Abe A, Akatsuka Y, Emi N, Kurosawa Y. Isolation of human mAbs that directly modulate FMS-related tyrosine kinase 3 signaling. *Cancer Sci*. 103 : 350-9, 2012. (PMID: 22049994)
- 5). Okanami Y, Tsujimura K, Mizuno S, Tabata M, Isaji S, Akatsuka Y, Kuzushima K, Takahashi T, Uemoto

- S. Intracellular interferon- $\gamma$  staining analysis of donor-specific T-cell responses in liver transplant recipients. *Transplant Proc.* 44:548-54, 2012. (PMID: 22410067)
- 6). Ochsenreither S, Majeti R, Schmitt T, Stirewalt D, Keilholz U, Loeb KR, Wood B, Choi YE, Bleakley M, Warren EH, Hudecek M, Akatsuka Y, Weissman IL, Greenberg PD. Cyclin-A1 represents a new immunogenic targetable antigen expressed in acute myeloid leukemia stem cells with characteristics of a cancer-testis antigen. *Blood.* 119: 5492-501, 2012. (PMID:22529286)
- 7). Tamanaka T, Oka Y, Fujiki F, Tsuboi A, Katsuhara A, Nakajima H, Hosen N, Nishida S, Lin YH, Tachino S, Akatsuka Y, Kuzushima K, Oji Y, Kumanogoh A, Sugiyama H. Recognition of a natural WT1 epitope by a modified WT1 peptide-specific T-cell receptor. *Anticancer Res.* 32:5201-5119, 2012. (PMID: 23225417)
- 8). Demachi-Okamura A, Torikai H, Akatsuka Y, Miyoshi H, Yoshimori T, Kuzushima K. Autophagy creates a CTL epitope that mimics tumor-associated antigens. *PLoS One.* 710: e47126, 2012. (PMID: 22529286)
- 2). 小川誠司, 松原亜以子, 鬼塚真, 柏瀬貢一, 真田昌, 南谷泰仁, 赤塚美樹, 佐竹正博, 千葉滋, 佐治博夫, 丸谷悦子, 猪子英俊, 森島泰雄, 小寺良尚, 笹月健彦. MHC と疾患 GWAS の手法による同種造血幹細胞移植の遺伝学的背景の探索. 第 13 回日本組織適合性学会大会 (口演) 東京 2010 年 9 月 18 日. *MHC: Major Histocompatibility Complex* 17 巻 2 号, 141, 2010.
- 3). Yamamura T, Bleakley M, Hikita J, Matsubara A, Hamajima T, Nannya Y, Takahashi T, Emi N, Morishima Y, Kodera Y, Kuzushima K, Riddell SR, Ogawa S, Akatsuka Y. Development of an Online Tool to Scan Single Nucleotide Polymorphisms for Identification of Novel Minor Histocompatibility Antigens. 第 17 回 BMT Tandem Meetings (ポスター #508), ハワイ 2011 年 2 月 19 日. *Biology of Blood and Marrow Transplantation.* 17(2) Suppl.1, pp S335, 2011.
- 4). Akatsuka Y. Characterization And Clinical Application of Minor Histocompatibility Antigens. The 15th Annual Winter Meeting of the Korean Society of Blood and Marrow Transplantation (Plenary session), Muju Resort, Feb 25, 2011. *The Korean Journal of Hematology* 46(suppl) pp10, 2011.

## 2. 学会発表

- 1). Akatsuka Y, Yamamura Y, Bleakley M, Hikita J, Hamajima T, Nannya Y, Matsubara A, Riddell SR, Takahashi T, Kuzushima K, Ogawa S. Identification of novel minor histocompatibility antigens using HAPMAP EBV-LCL panels transduced with restricting HLA cDNA retrovirally. 第 16 回日本遺伝子治療学会総会 (ポスター #147) 宇都宮 2010 年 7 月 1 日. The 16th Annual Meeting-JSGT2010, 2010.
- 5). 赤塚美樹. マイナー組織適合抗原の重要性. 第 33 回日本造血細胞移植学会 (シンポジウム 2) 松山 2011 年 3 月 9 日. 日本造血細胞移植学会総会プログラム・抄録集 pp164, 2011.
- 6). 赤塚美樹, 山村武史, Bleakley Marie, 疋田潤哉, 濱島剛, 南谷泰仁, 松原亜以子, Riddell Stanley, 恵美宣彦, 小寺良尚, 森島泰雄, 小川誠司. HapMap 資源を利用したマイナー組織適合抗原に関わる SNP 同定のためのオンラインソフトの開発. 第 33 回日本造血細胞移植学会 (ポスター PS2-128) 松山 2011 年 3 月 10 日.

日本造血細胞移植学会総会プログラム・抄録集 pp336, 2010.

- 7). 赤塚美樹、森島泰雄、田地浩史、山本 一仁、宮村耕一、高橋利忠、小寺良尚、恵美宣彦、葛島清隆．同種移植後再発予防・治療を目的としたマイナー抗原ワクチン臨床試験（中間報告）（口演#39）．第 15 回日本がん免疫学会総会、大阪 2011 年 6 月 30 日．日本がん免疫学会総会プログラム・抄録集 pp17, 2011.
- 8). 赤塚美樹、森島泰雄、田地浩史、山本 一仁、宮村耕一、高橋利忠、小寺良尚、恵美宣彦、葛島清隆．同種移植後再発予防・治療を目的としたマイナー抗原ワクチン臨床試験の中間報告．第 3 回造血器腫瘍免疫療法研究会学術集会（口演） 別府 2011 年 8 月 21 日.
- 9). 岡村文子、鳥飼宏基、赤塚美樹、三好 浩之、吉森 保、葛島清隆．脾がん細胞における恒常的高活性オートファジーによる CTL エピト - プの産生．第 70 回日本癌学会学術総会（ポスター、#3204） 熊本 2011 年 10 月 5 日．日本がん免疫学会総会プログラム・抄録集 pp499, 2011.
- 10). 赤塚美樹、松原亜以子、南谷泰仁、森島泰雄、高橋利忠、葛島清隆、小川誠司、恵美宣彦．マイナー組織適合抗原をコードする一塩基多型のオンライン検索ツール．第 70 回日本癌学会総会（ポスター、P-1444） 大阪 2011 年 10 月 3 日．日本癌学会総会プログラム・抄録集 pp204, 2011.
- 11). Akatsuka Y, Yamamura T, Bleakley M, Hikita J, Matsubara A, Hamajima T, Nannya Y, Morishima Y, Kodera Y, Riddell SR, Ogawa S, Emi N. An online tool to scan single nucleotide polymorphisms for identification of novel minor antigens. 第 73 回日本血液学会学術集会（ポスター #PS1-262）、名古屋 2011 年 10 月 14 日．臨床血液抄録集 pp204, 2011.
- 12). Yukiya Yamamoto, Sachiko Tsuzuki, Yasushi Akahori, Yoshinori Ukai, Mariko Sumitomo, Masutaka Tokuda, Tadaharu Kanie, Akihiro Abe, Yoshiki Akatsuka, Yoshikazu Kurosawa, Nobuhiko Emi. Isolation of human monoclonal antibodies directly modulating FLT3 signaling. 第 73 回日本血液学会学術集会（ポスター #PS2-284） 名古屋 2011 年 10 月 15 日．臨床血液抄録集 pp584, 2011.
- 13). 赤堀 泰, 赤塚美樹, 葛島清隆, 恵美宣彦：HLA-A\*02:01 拘束性に提示されたマイナー抗原 HA-1H ペプチドを認識する抗体の単離．第 4 回造血器腫瘍免疫療法研究会．金沢、H24 年 8 月 18 日．プログラム抄録集抄録集 pp64.
- 14). 赤堀 泰, 稲熊容子, 赤塚美樹, 山本幸也, 村山裕子, 伊庭佐知子, 遠藤明美, 平松可帆, 葛島清隆, 恵美宣彦. HLA-A2 拘束性に提示されたマイナー抗原 HA-1H ペプチドを認識する抗体の単離とその臨床応用に向けての検討（口演 11-3）. 第 35 回日本造血細胞移植学会、金沢．2013 年 3 月 8 日．日本造血細胞移植学会総会プログラム・抄録集 pp202.
- 15). Yoshiki Akatsuka, Hirofumi Taji, Yasuo Morishima, Koichi Miyamura, Yoshihisa Kodera, Nobuhiko Emi, Toshitada Takahashi, Tomohiro Kinoshita, Kiyotaka Kuzushima. Vaccination With Minor Histocompatibility Antigen-Derived Peptides In Post-Transplant Patients With Hematological Malignancies - Preliminary Results. 2nd International Workshop on the Biology, Prevention, and Treatment of Relapse After Hematopoietic Stem Cell Transplantation. 2012 年 11 月 6 日, NIH Bethesda, MD, USA. Abstract P-11 (pp34).

**F. 知的財産権の出願・登録状況**

特記すべきことなし。

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）  
分担研究年度終了報告書

**間葉系幹細胞を介する免疫再構築と造血制御についての研究**

分担研究者 一戸 辰夫（広島大学原爆放射線医科学研究所 血液・腫瘍内科研究分野  
教授）

研究協力者 三浦 康生（京都大学医学部附属病院 輸血細胞治療部 助教）  
平位 秀世（京都大学医学部附属病院 輸血細胞治療部 院内講師）  
前川 平（京都大学医学部附属病院 輸血細胞治療部 教授）  
石谷 昭子（奈良県立医科大学医学部 法医学教室 非常勤講師）  
下嶋 典子（奈良県立医科大学医学部 細菌学教室 助教）

**研究要旨**

骨髄内骨髄移植法は造血幹細胞/前駆細胞（hematopoietic stem/progenitor cells, HSPC）と間葉系幹細胞（mesenchymal stem/stromal cells）が同所的に移植されることを最大の特徴としており、移植された MSC は多様なメカニズムを介して、同種免疫応答の制御や HSPC の増幅に関与することが知られている。本研究では、骨髄内骨髄移植の臨床応用に向けて、MSC の機能を薬理的に賦活化することを目指して、（1）MSC の免疫調節作用における非古典的 HLA クラス Ib 分子の関与についての検討；（2）In vitro で薬理的に活性化された MSC が骨髄 CD34 陽性細胞の増幅能に与える影響の検討；（3）MSC が HSPC の系列特異的な分化能に与える影響についての検討を行った。

**A. 研究目的**

間葉系幹細胞（mesenchymal stem/stromal cells, MSC）は自己複製能と骨細胞・脂肪細胞・軟骨細胞などへの多分化能を有する体性幹細胞であり、骨髄・臍帯血・歯胚・脂肪組織などから比較的容易に分離することが可能である。また、体外で培養されたヒト MSC は造血幹細胞/前駆細胞（hematopoietic stem/progenitor cells, HSPC）の増殖を促進することや、T 細胞・NK 細胞・B 細胞・樹状細胞など広範な免疫担当細胞の機能を抑制することが報告されており、造血幹細胞移植後の生着の促進や移植片対宿主病（graft-versus-host disease, GVHD）の治療などを目的として、実際に MSC の移植を行う臨床試験が国内外において実施されている。しかし、ヒト MSC の造血促進作用や免疫調節作用がどのような

分子機構によって担われているのかに関しては、いまだに十分な知見が得られていない

灌流法によって採取された骨髄を用いた骨髄内骨髄移植法では、HSPC と MSC が骨髄外臓器にトラップされることなく直接同所性に移植されるため、MSC の造血支持能力や免疫調節作用が従来の移植法よりも発揮されやすくなる可能性が想定される。また、骨髄内骨髄移植による MSC 生着率の向上は、移植後に出現する組織障害や免疫学的合併症の軽減にも寄与する可能性がある。本研究では、骨髄内骨髄移植法のヒトへの応用の際に、これらの MSC の潜在機能を有効に活用するための薬理的手法を開発することを目的として、以下の3つの課題についての検討を行った。



平成 22 年度： MSC の免疫調節作用における非古典的 HLA クラス Ib 分子の関与についての検討（下嶋、石谷、一戸）

平成 23 年度： In vitro で薬理的に活性化された MSC がヒト CD34 陽性細胞の増幅能に与える影響の検討（三浦、一戸）

平成 24 年度： MSC が造血前駆細胞の B 細胞分化能に与える影響についての検討（三浦、平位、一戸）

## B. 研究方法

### (MSC の免疫調節機能についての検討)

ヒト骨髄由来 MSC 株は Lonza 社より入手した。RT-PCR 法による HLA クラス Ib (HLA-E, HLA-F, HLA-G) mRNA の検出は国際ワークショップで規定された方法に準拠して行った。HLA-G の ELISA 法による HLA-G の測定には、HLA-G に対する単クローン抗体として、MEM-G/9 および G233（いずれも EXBIO 社）を使用し、種々の濃度に調整した精製 HLA-G 分子を含む検体により検量線の作成を行った。また、HLA-F の細胞表面における発現の検討には、D. Geraghty 博士（Fred Hutchinson Cancer Research Center, Seattle, USA）より供与された 3 種類の単クローン抗体を用いた。

### (MSC が HSPC 増幅能に与える影響についての検討)

SCF、FLT3-ligand、TPO、IL-3 存在下に CD34 陽性細胞と MSC との共培養を行い、CD34 陽性細胞の増幅率を検討した。次いで、あらかじめパラサイロイドホルモン(PTH)により in vitro で機能を賦活化した MSC を用いて同様の検討を行った。

### (MSC が B 細胞分化支持能に与える影響についての検討)

骨髄 B 細胞分画の減少が報告されている遺伝子改変マウスより、骨髄 MSC を分離増幅し、その骨分化能・脂肪分化能、B 細胞造血にかかわる液性因

子の産生能等について、正常同系マウスに由来する骨髄 MSC を対照群として比較検討を行った。また、この遺伝子改変マウスに由来する骨髄 MSC と正常同系マウスに由来する c-kit+Sca-1+lineage-細胞(KSL 細胞)の共培養を行い、正常同系マウス由来の骨髄 MSC を支持細胞とした場合と B 細胞分化能の相違を検討した。さらに、この遺伝子改変マウスに由来する骨髄を正常同系マウスに移植し、遺伝子改変マウスに由来する造血幹細胞の正常 MSC 存在下での B 細胞分化能を検討した。

### (倫理面への配慮)

本研究は、厚生労働省の「臨床研究に関する倫理指針」(平成 20 年 7 月 31 日全部改正)に準拠し、京都大学医学部医の倫理委員会・奈良県立医科大学倫理委員会の承認を得て実施された。また本研究における遺伝子組み換え生物を用いた実験は京都大学組み換え DNA 実験安全管理委員会の承認を得て実施された。また、本研究における動物実験は京都大学動物実験委員会の承認を得て実施された。

## C. 研究結果

### 1) MSC における HLA-G の発現の検討

RT-PCR 法を用いた MSC における HLA クラス Ib 遺伝子の発現に関する検討を試みたが、HLA-G あるいはその可溶性アイソフォームの mRNA は、今回用いた MSC 株のいずれにおいても検出することはできなかった。一方、HLA-E, HLA-F については mRNA レベルでの発現が確認された。

次いで、定常状態の骨髄由来 MSC 株の培養上清・細胞溶解物中を用いて HLA-G のタンパク質発現を検討したが、いずれにおいても HLA-G タンパクを検出することはできなかった。そこで、HLA-G の発現を亢進させることが報告されている液性因子として IL-10 の存在下で骨髄由来 MSC 株の培養を行ったが、IL-10 添加後 6 日目までの時点における検討では、HLA-G mRNA、HLA-G タンパク質のいずれも検出することはできなかった。

次いで、MSC における HLA-F の細胞表面における発現量を検討するため、成人 T 細胞白血病の細胞株を用いて HLA-F に対する単クローン抗体の検定を行った。成人 T 細胞白血病由来の細胞株においては、HLA-F の細胞表面への発現が確認可能であることが判明したが、MSC 表面におけるその発現の確認には至らなかった。

### 2) MSC が CD34 陽性細胞増幅能に与える影響についての検討

CD34 陽性細胞と MSC を *in vitro* で共培養すると CD34 陽性細胞分画が約 15 倍に増加した。一方、あらかじめ PTH で刺激した MSC と共培養する CD34 陽性細胞分画が約 24 倍に増加した。一方、CD34 陽性細胞を MSC 非存在下で培養した場合には、約 1.6 倍の増加にとどまった。MSC による CD34 陽性細胞の増幅には MSC の発現するケモカインなどの液性因子と接着分子などの細胞表面分子の双方が関与していたが、PTH 刺激によるその増強効果には接着分子などの細胞表面分子のみが関与していた。

### 3) MSC が B 細胞分化支持能に与える影響についての検討

骨髄 B 細胞分画の減少が報告されている遺伝子改変マウスに由来する MSC は、正常同系マウスと比較して、骨芽細胞・脂肪細胞への分化能の低下を認め、正常マウスに由来する KSL 細胞の B 細胞分化を障害していることが明らかとなった。また、そのメカニズムの一つとして遺伝子改変マウス由来 MSC においては、stromal cell-derived factor 1 (SDF-1/CXCL12) の発現低下が関与していることが明らかとなった。一方、この遺伝子改変マウスに由来する骨髄を正常同系マウスに移植した場合には、B 細胞分化の異常は認められなかった。

## D. 健康危険情報

特記すべきことなし。

## E. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Kanda J, Ichinohe T, Saito T, Yamashita K, Kondo T, Ishikawa T, Ichiyama S, Uchiyama T. Impact of discontinuing fluoroquinolone prophylaxis after allogeneic marrow or peripheral blood SCT with myeloablative conditioning. *Bone Marrow Transplant.* 2010; 45(8):1369-1371.
- 2) Hishizawa M, Kanda J, Utsunomiya A, Taniguchi S, Eto T, Moriuchi Y, Tanosaki R, Kawano F, Miyazaki Y, Masuda M, Nagafuji K, Hara M, Takanashi M, Kai S, Atsuta Y, Suzuki R, Kawase T, Matsuo K, Nagamura-Inoue T, Kato S, Sakamaki H, Morishima Y, Okamura J, Ichinohe T, Uchiyama T. Transplantation of allogeneic hematopoietic stem cells for adult T-cell leukemia: a nationwide retrospective study. *Blood.* 2010; 116(8):1369-1376.
- 3) Ichinohe T. Long-term fetal-maternal microchimerism revisited: microchimerism and tolerance in hematopoietic stem cell transplantation. *Chimerism.* 2010; 1(1):39-43.
- 4) Nagafuji K, Matsuo K, Teshima T, Mori S, Sakamaki H, Hidaka M, Ogawa H, Koderia Y, Kanda Y, Maruta A, Mori T, Yoshida F, Ichinohe T, Kasai M, Takatsuka Y, Kubo K, Sao H, Atsuta Y, Suzuki R, Yoshida T, Tsuchida M, Harada M. Peripheral blood stem cell versus bone marrow transplantation from HLA-identical sibling donors in patients with leukemia: a propensity score-based comparison from the Japan Society for Hematopoietic Stem Cell Transplantation registry. *Int J Hematol.* 2010; 91(5): 855-864.
- 5) Kanda J, Mizumoto C, Ichinohe T, Kawabata H, Saito T, Yamashita K, Kondo T, Takakura S, Ichiyama S, Uchiyama T, Ishikawa T. Pretransplant serum ferritin and C-reactive protein as predictive

- factors for early bacterial infection after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2011; 46(2):208-216.
- 6) Sato T, Ichinohe T, Kanda J, Yamashita K, Kondo T, Ishikawa T, Uchiyama T, Takaori-Kondo A. Clinical significance of subcategory and severity of chronic graft-versus-host disease evaluated by National Institutes of Health consensus criteria. *Int J Hematol.* 2011; 93(4):532-541.
- 7) Kanda J, Hishizawa M, Utsunomiya A, Taniguchi S, Eto T, Moriuchi Y, Tanosaki R, Kawano F, Miyazaki Y, Masuda M, Nagafuji K, Hara M, Takanashi M, Kai S, Atsuta Y, Suzuki R, Kawase T, Matsuo K, Nagamura-Inoue T, Kato S, Sakamaki H, Morishima Y, Okamura J, Ichinohe T, Uchiyama T. Impact of graft-versus-host disease on outcomes after allogeneic hematopoietic cell transplantation for adult T-cell leukemia: a retrospective cohort study. *Blood.* 2012; 119(9):2141-2148.
- 8) Itamura H, Fukushima N, Kondo S, Urata C, Tanaka-Yoshimura M, Yokoo M, Ide M, Hisatomi T, Kubota Y, Sueoka E, Ichinohe T, Kimura S. Successful reduced-intensity umbilical cord blood transplant for fulminant hemophagocytic syndrome in an adult with preexisting rheumatoid arthritis and autoimmune hemolytic anemia. *Leuk Lymphoma.* 2012; 53(11):2307-2309.
- 9) 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; on behalf of the 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; 27(2):286-294.
- 10) Ito T, Akagi K, Kondo T, Kawabata H, Ichinohe T, Takaori-Kondo A. Splenic irradiation as a component of a reduced-intensity conditioning for allogeneic hematopoietic cell transplantation in myelofibrosis with massive splenomegaly. *Tohoku J Exp Med.* 2012; 228(4):295-299.
- 11) 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; HLA Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. Impact of the direction of HLA mismatch on transplantation outcomes in single unrelated cord blood transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2013; 19(2):247-254.
- 12) Sakamoto S, Kawabata H, Kanda J, Uchiyama T, Mizumoto C, Kondo T, Yamashita K, Ichinohe T, Ishikawa T, Kadowaki N, Takaori-Kondo A. Differing impacts of pre-transplant serum ferritin and C-reactive protein levels on the incidence of chronic graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Int J Hematol.* 2013; 97(1):109-116, 2013.
- 13) Kanda Y, Kanda J, Atsuta Y, Maeda Y, Ichinohe T, Ohashi K, Fukuda T, Koichi Miyamura K, Iida H, Mori T, Iwato K, Eto T, Kawa K, Morita S, Morishima Y. Impact of a single HLA allele mismatch on the outcome of unrelated bone marrow transplantation over two time periods. A retrospective analysis of 3003 patients from the HLA Working Group of the Japan Society for Blood and Marrow Transplantation. *Br J Haematol* [Epub 2013 Mar 4]

## 2. 学会発表

- 1) 下嶋典子、吉岡 聡、菱澤方勝、大森勝之、Geraghty DE、一戸辰夫、石谷昭子. 成人 T 細胞白血病ウイルス感染細胞株における HLA-F の発現解析. 第 19 回日本組織適合性学会、東京、2010 年 9 月 17 - 19 日.
- 2) 吉岡 聡、一戸辰夫、下嶋典子、菱澤方勝、大森勝之、Geraghty DE、石谷昭子、高折晃史. 成人 T 細胞白血病ウイルス感染者の T 細胞表面における HLA-F の発現についての検討. 第 20 回日本組織適合性学会、静岡、2011 年 8 月 28 - 30 日.
- 3) 吉岡 聡、一戸辰夫、下嶋典子、菱澤方勝、大森勝之、Geraghty DE、石谷昭子、高折晃史. 成人 T 細胞白血病ウイルス感染者の末梢血 T 細胞における HLA-F の表面発現分画についての検討. 第 21 回日本組織適合性学会、東京、2012 年 9 月 15 - 17 日.
- 4) Ichinohe T. Microchimerism-associated tolerance to noninherited maternal antigens (NIMAs) reduces severity of GVHD after MHC-mismatched hematopoietic cell transplantation by a CD4+CD25+ T-cell-dependent mechanism. The 16th Annual Summer Meeting of the Korean Society of Blood and Marrow Transplantation. Busan, Korea, August 19, 2011.
- 5) Ichinohe T. Emerging roles of non-inherited maternal alloantigens (NIMAs) and inherited paternal alloantigens (IPAs) in HLA-mismatched hematopoietic cell transplantation. The Joint Meeting of the 17th International Symposium on Gnotobiology and the 34th Congress of the Society for Microbial Ecology and Disease. Yokohama, Japan, November 21, 2011.
- 6) Iida M, Kanda Y, Toubai T, Nakase K, Mitamura M, Kanda J, Fukuda T, Miyamura K, Kanamori H, Mori T, Iida H, Atsuta Y, Morishima Y, Sakamaki H, Ichinohe T: on behalf of the Hematopoietic Stem Cell Transplantation from Foreign Donors Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation (JSHCT). Unrelated Hematopoietic Stem Cell Transplantation from Foreign Donors: Current Status in Japan. 16th Congress of Asia Pacific Blood and Marrow Transplantation, October 30-31, 2011, Sydney, Australia.
- 7) Ichinohe T, Iida M, Kanda Y, Kimura F, Toubai T, Nakase K, Mitamura M, Kanda J, Fukuda T, Miyamura K, Kanamori H, Mori T, Iida H, Atsuta Y, Morishima Y, Sakamaki H; Hematopoietic Stem Cell Transplantation from Foreign Donors Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. Outcomes of hematopoietic cell transplantation from overseas unrelated donors are comparable to bone marrow or cord blood transplantation from domestic unrelated donors: a retrospective matched-pair cohort Study. 17th Congress of Asia Pacific Blood and Marrow Transplantation, October 26-28, 2012, Hyderabad, India.
- 8) Ichinohe T, Kanda J, Inagaki J, Inoue M, Koh K, Kikuta A, Yabe H, Tanaka J, Atsuta Y, Kanda Y; on behalf of the HLA Working Group of the Japan Society for Blood and Marrow Transplantation. Impact of parental donor type on outcomes after HLA-matched and HLA-mismatched T-cell-replete hematopoietic cell transplantation for patients with leukemia: A retrospective cohort study. 54th Annual Meeting of the American Society of Hematology, Atlanta, GA, U.S.A. December 9, 2012.

- 9) Yoshioka S, Miura Y, Yao H, Hayashi Y, Tamura A, Ichinohe T, Hirai H, Takaori-Kondo A, Maekawa T. Expression of C/EBP $\beta$  in bone marrow mesenchymal stem cells is mandatory for early stage B cell lymphopoiesis. The 54th Annual Meeting of the American Society of Hematology. Atlanta, U.S.A., December 10, 2012.

**F. 知的財産権の出願・登録状況**

特記すべきことなし。



## 灌流法により採取された骨髄細胞を用いた骨髄内骨髄移植療法の安全性、 有用性を目指した研究

分担研究者 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

灌流法による骨髄細胞の採取とそれを用いた骨髄内骨髄移植は、サルなどの動物実験のデータから、通常の骨髄移植と比べて、移植片の骨髄への生着率の飛躍的な向上、移植片対宿主病発症率の低下など、様々な利点が考えられた。本研究では、この治療法のヒトへの応用に際して、その安全性、有用性の検討を行った。灌流法による骨髄細胞の採取を、2例で実施したが、通常の吸引法による骨髄採取と比べて、赤血球の混入が多い、採取した細胞成分に差がないという結果であった。したがって、灌流法による骨髄細胞の採取法の技術面の改善が必要という結論である。一方、採取した骨髄細胞を骨髄内移植するためには、赤血球を除去し、20-24ml に濃縮して移植を行う必要があり、この骨髄内移植の後半部分の研究を同時に進める必要性がある。

### A. 研究目的

関西医科大学、池原らによって考案された「灌流法による骨髄細胞の採取とそれを骨髄内に移植するという新しい骨髄移植法」は、膨大な量の動物実験データより、その有効性が示唆されている。たとえば、灌流法による骨髄細胞の採取は、1) 末梢血の混入が少なく、その結果、移植片対宿主病 (graft-versus-host disease=GVHD) を惹起する T 細胞の混入が少ない、2) 通常の吸引法に比べて、赤血球の混入が少なく、遠心法のみで骨髄細胞浮遊液の容積を大幅に減らすことができること、また、骨髄内への移植は、静脈内への移植に比べて、3) 造血幹細胞が高率に骨髄へ生着することが期待されること、4) 骨髄は、免疫が抑制された環境にあるため、GVHD が少なく、MHC 不適合移植片でも許容される可能性があることなどの有用性が示されている。しかし、ヒトでの安全性および有用性は不明である。したがって、本研究は、この新規移植法のヒトにおける安全性と有効性を検討することを目的にした。

同時に、骨髄内に移植片を直接投与することの安全性を検討する目的で、骨髄内臍帯血移植を行った。

### B. 研究方法

「灌流法により採取された骨髄細胞を用いた骨髄内骨髄移植療法」の臨床研究に関して、対象患者は、慢性骨髄性白血病（第 2 慢性期以降）、急性骨髄性白血病（初回寛解期を除く）、急性リンパ性白血病（初回寛解期を除く）、骨髄異形成症候群 (IPSS で intermediate-II または high)、悪性リンパ腫（治療抵抗性も低悪性度リンパ腫、化学療法抵抗性の中等度リンパ腫、初回寛解期を除いた高悪性度リンパ腫）とした。ただし、白血病においては、芽球 30% 以下の症例を対象とした。患者年齢は、12 歳以上 65 歳以下とした。患者の performance status は、ECOG の基準で 0-1 とした。ドナーは、血縁ドナーとし、HLA 適合または、GVH 方向 3 抗原不適合までのドナーとした。関西医科大学で、灌流法による骨髄採取を行い、それを兵庫医科大学に運び、患者に移植を行うこととした。

臨床第 I 相試験では、安全性の検討を行うこととした。ドナーに関する主要評価項目は、「灌流法による骨髄採取に伴う安全性」、レシピエントに対しては、「骨髄内投与法(骨髄内骨髄移植)の安全性」とした。

一方、骨髄内骨髄移植の安全性/有用性を検討する目的で、「骨髄内臍帯血ミニ移植」の臨床研究を別途行った。対象患者は、骨髄線維症を除外することを除いて、上記と同様の対象患者である。方法は、通常通りの fludarabine+cyclophosphamide+TBI の前処置を行った患者に対して、臍帯血ユニットを解凍し、4 分割して、腸骨に輸注した。

### (倫理面への配慮)

「灌流法により採取された骨髄細胞を用いた骨髄内骨髄移植療法」のプロトコールは、関西医科大学と兵庫医科大学の倫理委員会で承認された。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

灌流法による骨髄採取を 2 例施行した。骨髄細胞の採取に際しては、左右の腸骨で、採取される細胞成分に関して、灌流法による骨髄採取と通常吸引法による骨髄採取を比較検討した。その結果、CD34 陽性細胞率、T 細胞の混入率において、両者の間で差を認めなかった。さらに、灌流法による骨髄採取においては、赤血球の混入率が高く、プロトコールに記載されているように、遠心分離法による血球成分の濃縮だけでは、骨髄内骨髄移植に用いることができなかった。このため、同時並行で、前処置を行っていた患者に対しては、吸引法で採取した

骨髄を、通常の方法に準じて、静脈内へ輸注することにより、移植を行った。

2 例の灌流法による骨髄採取の経験から、採取される細胞成分において、灌流法と吸引法とで、差を認めなかったことから、灌流法による骨髄採取の手技において、改良を加える必要があることが判明した。また、赤血球の混入が多いことから、灌流法で採取した後、赤血球を除去する行程が必要なことが判明した。骨髄内に移植した骨髄移植を、骨髄腔内に留め置くためには、骨髄内臍帯血移植の経験から、両側腸骨の 4 か所に、注入するとして、1 か所当たり、5-6 ml の volume に抑える必要がある。したがって、容量として、20-24 ml 以内に採取した骨髄細胞を濃縮する必要がある。

骨髄内臍帯血ミニ移植に関しては、予定していた第 I 相試験の 10 例を終了した。肺塞栓を含めて、1 例も有害事象を認めなかった。この結果については、論文報告を行った(Biology of Blood and Marrow Transplantation, 18; 633-639, 2012)。現在、第 II 相試験として、生着率の改善が得られるかという有用性の検討に入っている。

結論として、上記の問題点を解決するため、1) 灌流法による骨髄採取の手技を改善すること、2) 幹細胞を失うことなく、赤血球を除去する方法の開発を合わせて進める必要がある。灌流法による骨髄採取法が完成した後に、スムーズに骨髄内骨髄移植ができるように、通常吸引法で採取した骨髄細胞を濃縮し、それを骨髄内へ移植する部分の開発を同時に行う必要がある。さらに、灌流法で採取した骨髄細胞を用いた骨髄内骨髄移植法の有用性を証明するためには、吸引法で採取した骨髄細胞と比較する必要があり、そのためにも、この研究は重要と考える。

### D. 健康危険情報

灌流法による骨髄採取において、合併症は認められなかった。



## E. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1). Okada M, Yoshihara S, Taniguchi K, Kaida K, Ikegame K, Kato R, Tamaki H, Inoue T, Soma T, Kai S, Kato S, Ogawa H. Intrabone marrow transplantation of unwashed cord blood using reduced-intensity conditioning treatment: a phase I study. *Biology of blood and Marrow Transplantation*, 18; 633-639, 2012.
- 2). Ikegame K, Kaida K, Yoshihara S, Fujiwara M, Taniguchi K, Kato R, Inoue T, Fujioka T, Tamaki H, Okada M, Soma T, Kamikonya N, Saji H, Hirota S, Ogawa H. Feasibility of unmanipulated haploidentical stem cell transplantation using standard GVHD prophylaxis for HLA-homozygous patients. *International Journal of Hematology*, 96; 101-108, 2012.
- 3). Yoshihara S, Ikegame K, Kaida K, Taniguchi K, Kato R, Inoue T, Fujioka T, Tamaki H, Okada M, Soma T, Ogawa H. Incidence of extramedullary relapse after haploidentical SCT for advanced AML/myelodysplastic syndrome. *Bone Marrow Transplantation*, 47; 669-676, 2012.
- 4). Yoshihara S, Maruya E, Taniguchi K, Kaida K, Kato R, Inoue T, Fujioka T, Tamaki H, Ikegame K, Okada M, Soma T, Hayashi K, Fujii N, Onuma T, Kusunoki Y, Saji H, Ogawa H. Risk and prevention of graft failure in patients with preexisting donor-specific HLA antibodies undergoing unmanipulated haploidentical SCT. *Bone Marrow Transplantation*, 47; 508-515, 2012.
- 5). Yoshihara S, Ikegame K, Taniguchi K, Kaida K, Kim EH, Nakata J, Kato R, Inoue T, Fujioka T, Tamaki H, Okada M, Soma T, Ogawa H. Salvage haploidentical transplantation for graft failure using reduced-intensity conditioning. *Bone Marrow Transplantation*, 47; 369-373, 2012.
- 6). Taniguchi K, Yoshihara S, Tamaki H, Fujimoto T, Ikegame K, Kaida K, Nakata J, Inoue T, Kato R, Fujioka T, Okada M, Soma T, Ogawa H. Incidence and treatment strategy for disseminated adenovirus disease after haploidentical stem cell transplantation. *Ann Hematol*, 91; 1305-1312, 2012.
- 7). Ikegame K, Yoshihara S, Taniguchi Y, Kaida K, Inoue T, Okada M, Taniguchi K, Hasei H, Tamaki H, Fujioka T, Kato R, Soma T, Ogawa H. Allogeneic stem cell transplantation as treatment for heavily-treated, refractory acute graft-versus-host disease after HLA-mismatched stem cell transplantation. *Experimental Hematology*, 39; 880-890, 2011.
- 8). Okada M, Satake A, Kaida K, Taniguchi K, Yoshihara S, Ikegame K, Tamaki H, Soma T, Fujimori Y, Ogawa H. Successful treatment with nilotinib after imatinib failure in a CML patient with a four-way Ph chromosome translocation and point mutations in BCR/ABL gene. *International Journal of Hematology*, 93; 243-246, 2011.
- 9). Taniguchi K, Okada M, Yoshihara S, Sawada A, Tokugawa T, Ishii S, Kaida K, Ikegame K, Minagawa K, Matsui T, Ogawa H. Strategy for bone marrow transplantation in eculizumab-treated paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *International Journal of Hematology*, 94; 403-407, 2011.
- 10). Satake A, Inoue T, Kubo S, Taniguchi Y, Imado T, Fujioka T, Horiuchi M, Xu Y, Ikegame K, Yoshihara S, Kaida K, Tamaki H, Okada M, Okamura H, Ogawa H. Separation of antileukemic effects from graft-versus-host disease in MHC-haploidentical murine bone marrow transplantation: participation

of host immune cells. International Journal of Hematology, 91: 485-497, 2010.

- 11). 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.
- 12). Asakura M, Ikegame K, Yoshihara S, Taniguchi S, Mori T, Etoh T, Takami A, Yoshida T, Fukuda T, Hatanaka K, Kanamori H, Yujiri T, Atsuta Y, Sakamaki H, Suzuki R, Ogawa H. Use of foscarnet for cytomegalovirus infection after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation from a related donor. International Journal of Hematology, 92; 351-359, 2010.

## 2. 学会発表

- 1). The 54th annual meeting of the American Society of Hematology, 2012, 12.8-11, Atlanta, USA. Okada M, Fujimori Y, Oku N, Tamekane A, Takafuta T, Nakajima T, Tokugawa T, Sawada A, Ishii S, Kaida K, Ikegame K, Soma T, Ogawa H. FDG-PET/CT early after 90Y-ibritumomab tiuxetan therapy predicts outcome in relapsed or refractory indolent B-cell lymphoma.
- 2). The 54th annual meeting of the American Society of Hematology, 2012, 12.8-11, Atlanta, USA. Ishii S, Ikegame K, Kaida K, Yoshihara S, Okada M, Kato R, Inoue T, Tamaki H, Fujimori Y, Soma T, Ogawa H. A novel regimen of unmanipulated HLA-haploidentical transplantation using a small dose of anti-T-lymphocyte globulin for patients in high tumor burden.
- 3). 2013 Tandem BMT Meetings, 2013, 2.13-17, Salt Lake City, USA. Ikegame K, Taniguchi Y, Yoshihara S, Kaida K, Taniguchi K, Ishii S, Inoue T, Kato R, Okada M, Tamaki H, Fujioka T, Soma T, Ogawa H. From murine model to clinical trial of graft-versus-GVHD, a second transplantation from another donor for the rescue from refractory acute GVHD.
- 4). Shinichi Ishii, Kazuhiro Ikegame, Katsuji Kaida, Ruri Kato, Takayuki Inoue, Satoshi Yoshihara, Masaya Okada, Toshihiro Soma, Hiroyasu Ogawa : HLA-haploidentical myeloablative stem cell transplantation using anti-T-lymphocyte globulin、第 74 回日本血液学会学術集会、京都、2012 年 10 月 20 日
- 5). Masaya Okada, Naohiko Oku, Akira Tamegane, Toshiro Takafuta, Toshiyuki Nakajima, Tazuko Tokugawa, Akihiro Sawada, Shinichi Ishii, Katsuji Kaida, Kazuhiro Ikegame, Toshihiro Soma, Yoshihiro Fujimori, Hiroyasu Ogawa : FDG-PET/CT early after Zevalin therapy predicts outcome in relapsed indolent B-cell lymphoma, 第 74 回日本血液学会学術集会、京都、2012 年 10 月 21 日
- 6). 池亀和博, 海田勝仁, 石井慎一, 吉原哲, 谷口享子, 加藤るり, 井上貴之, 岡田昌也, 相馬俊裕, 小川啓恭 . 血縁 HLA 半合致ミニ移植 (haplo-mini) の他施設前向き臨床試験 (第 / 相試験) . 第 35 回日本造血細胞移植学会総会 2013.3 金沢
- 7). The 1st international scientific symposium on hematopoietic stem cell transplantation in emerging countries. 2011, 11.10-12, Hanoi, Vietnam. Ogawa

- H, Haplo-identical HCT from family members. Haplo-identical HCT from family members.
- 8). 第 73 回日本血液学会学術集会(名古屋) 2011.10.15 : Ogawa H, (JSA-EHA Joint Symposium – Stem Cell Source) Unmanipulated HLA-haploidentical stem cell transplantation
  - 9). 第 73 回日本血液学会学術集会(名古屋) 2011.10.14 井上貴之、池亀和博、吉原 哲、海田勝仁、谷口享子、玉置広哉、藤岡龍哉、岡田昌也、加藤るり、山本庸子、相馬俊裕、小川啓恭 : Host regulatory T cells contribute to the regulation of GVHD in murine MHC haploidentical BMT models
  - 10). The 53th annual meeting of the American Society of Hematology, 2011, 12.10-13, San Diego, USA. Kaida K, Ikegame K, Yoshihara S, Taniguchi K, Ishii S, Kato R, Inoue T, Okada M, Tamaki H, Fujioka T, Soma T, Ogawa H. Unmanipulated HLA-haploidentical (2-3 antigen-mismatched) stem cell transplantation using myeloablative or reduced-intensity preconditioning regimen.
  - 11). 第 34 回日本造血細胞移植学会(大阪)2012.2.24: Presidential Symposium, Cord blood stem cell transplantation: from the bench to the bed, Intra-bone marrow transplantation of unwashed cord blood using reduced-intensity conditioning treatment.
  - 12). 2011 BMT Tandem Meetings. Ikegame K, Yoshihara S, Kaida K, Taniguchi K, Kato R, Nakata J, Okada M, Tamaki H, Taniguchi Y, Fujioka T, Satake A, Inoue T, Soma T, Ogawa H. Unmanipulated haploidentical stem cell transplantation using myeloablative or reduced-intensity preconditioning regimen.
  - 13). The 52th annual meeting of the American Society of Hematology, 2010, Orlando. Inoue T, Ikegame K, Yoshihara S, Kaida K, Taniguchi K, Tamaki H, Fujioka T, Okada M, Kato R, Yamamoto Y, Soma T, Ogawa H. Mechanism of marked reduction in the severity of graft-versus-host disease by reduced-intensity conditioning in murine MHC-haploidentical BMT model.
  - 14). The 15th Congress of Asia-Pacific Blood and Marrow Transplantation, 2010, 10. 29-31, Phuket, Thailand. R. Kato, H. Tamaki, K. Ikegame, S. Yoshihara, K. Kaida, T. Inoue, J. Nakata, K. Taniguchi, T. Fujioka, M. Okada, H. Ogawa. One-HLA-antigen-mismatched related hematopoietic stem- cell transplantation using graft-versus-host disease prophylaxis with methylprednisolone.
  - 15). Yoshihara S, Maruya E, Kaida K, Taniguchi K, Kato R, Inoue T, Fujioka T, Ikegame K, Tamaki H, Okada M, Soma T, Kusunoki K, Hayashi Y, Saji H, Ogawa H : High risk of graft rejection in cases with HLA antibodies undergoing haploidentical SCT without TCD、第 72 回日本血液学会学術集会、横浜、2010 年 9 月 25 日(plenary)

#### F. 知的財産権の出願・登録状況

特記すべきことなし。

## ウイルス抗原特異的細胞傷害性 T 細胞による造血幹細胞移植後の 難治性感染症の治療

分担研究者 小島 勢二（名古屋大学大学院医学系研究科小児科学講座 教授）

### 研究要旨

ウイルス抗原特異的細胞傷害性 T 細胞（CTL）による臨床第 1 相試験を行った。造血細胞移植の HLA - A2 または A24 陽性ドナー末梢血よりサイトメガロウイルス（CMV）、EB ウイルス（EBV）に対する特異的 CTL を誘導した。CMV 特異的 CTL の投与を 5 名で行った。投与後の発熱、発疹などの急性反応はなく、1 例で GradeIII の肝障害を認めたが無治療で速やかに改善した。他に重篤な合併症も認めなかった。4 名の患者で投与後末梢血から CMV - DNA の低下、消失を認めた。

### A. 研究目的

造血幹細胞移植後の患者における難治性ウイルス感染症に対し、臨床応用可能なウイルス特異的 CTL の体外増幅法を開発し、移植後の難治性ウイルス感染症に対して臨床第 1、2 相試験を行う。

### B. 研究方法

造血細胞移植 HLA-A2 または A24 陽性ドナーの末梢血 30ml から単核球を分離し、ウイルス特異的ペプチドで刺激後、IL-2 添加培地で 1 週間培養し、その後我々の開発した方法に基づき CD3 で刺激した T 細胞に抗原ペプチドをパルスしたものを抗原提示細胞とし T 細胞に加え閉鎖的培養無菌バッグにより培養した。初回投与細胞数、 $1 \times 10^5$ /kg より漸増し、計 3 回の投与を行い、投与前後の末梢血ウイルス DNA の評価を行う。

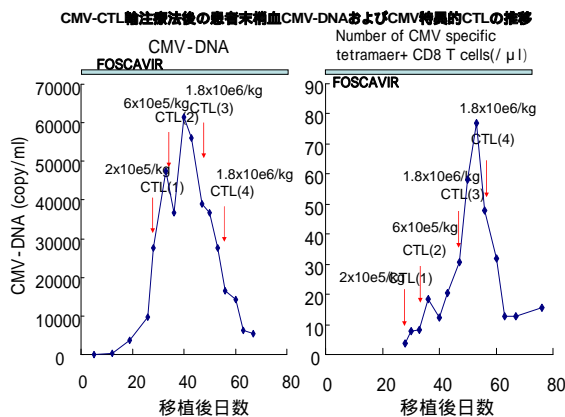
### （倫理面への配慮）

本研究は名古屋大学医学部バイオ先端臨床研究審査委員会の承認後、ドナーから文書による同意を得ておこなう。

### C. 研究結果

造血細胞移植の HLA - A2 または A24 陽性ドナー末梢血よりサイトメガロウイルス（CMV）、EB ウイルス（EBV）に対する CTL を誘導した。培養はこれまでに CMV が 12 名、EBV が 17 名で行い、それぞれ 7 名、7 名で初回投与基準を満たす細胞数の増殖が得られた。うち培養上清中に含まれるウイルス検査の基準も満たしたのは、6 名、3 名であった。

GCV 耐性 CMV 感染を起こした患者 5 名（うち本年度は 2 例）に対し CMV-CTL の投与を行った。いずれも投与後の発熱、発疹などの急性反応はなく、他に重篤な合併症も認めなかった。1 例で GradeIII の肝障害を認めたが無治療で速やかに改善した。5 例中 4 例の患者で投与後末梢血からの CMV - DNA の低下、消失を認めた。CTL 投与後の CMV-DNA の消失および患者体内での CMV-CTL の増加を示す（下図）



別の1名は2回のCTL投与後にウイルスDNAの減少が見られなかったため、ホスカビルの投与を行いCMV-DNAは消失した。

CTL培養に3-4週間かかること、投与基準をみたくCTLが得られるのはCMV特異的CTLで約50%、EBV特異的CTLでは約30%であることから、EBV特異的CTLの誘導ペプチドの追加など培養法の改善が必要と考えられ、またリスクの高い移植患者ではあらかじめドナーより培養し凍結しておくか、第3者からウイルス特異的CTLを培養し保存しておくCTLバンクの作成、運用が望ましいと考えられた。厚労省へ本治療法に関する先進医療への方向性についてご相談し、臨床第2相試験については第3者からのCTL療法を行うよう指導をうけ、現在準備中である。

#### D. 健康危険情報

特記すべきことなし。

#### E. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1). 高橋義行、サイトメガロウイルスに対する細胞療法、症例とエビデンスに学ぶ 造血細胞移植と感染症 2011年、医薬ジャーナル社、p84 - 88

- 2). 高橋義行、移植後 EB ウイルス関連リンパ増殖性疾患、みんなに役立つ造血幹細胞移植の基礎と臨床、中外医学社 in press
- 3). Villalobos IB, Takahashi Y, Akatsuka Y, Muramatsu H, Nishio N, Hama A, Yagasaki H, Saji H, Kato M, Ogawa S, Kojima S. Relapse of leukemia with loss of mismatched HLA resulting from uniparental disomy after haploidentical hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*. 2010 Apr 15;115(15):3158-61.
- 4). Watanabe N, Takahashi Y, Matsumoto K, Hama A, Muramatsu H, Doisaki S, Horibe K, Kato K, Kojima S. Prognostic factors for outcomes of pediatric patients with refractory or relapsed acute leukemia undergoing allogeneic progenitor cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2011 Apr;17(4):516-23.
- 5). Muramatsu H, Takahashi Y, Shimoyama Y, Doisaki S, Nishio N, Ito Y, Hama A, Shimada A, Yagasaki H, Ito M, Kojima S. CD20-negative Epstein-Barr virus-associated post-transplant lymphoproliferative disease refractory to rituximab in a patient with severe aplastic anemia. *Int J Hematol*. 2011 Jun;93(6):779-81.
- 6). Kato K, Otake H, Tagaya M, Takahashi Y, Ito Y, Hama A, Muramatsu H, Kojima S, Naganawa S, Nakashima T. Progressive hearing loss following acquired cytomegalovirus infection in an immunocompromised child. *Am J Otolaryngol*. 2013 Jan-Feb;34(1):89-92.
- 7). Takahashi Y, Muramatsu H, Sakata N, Hyakuna N, Hamamoto K, Kobayashi R, Ito E, Yagasaki H, Ohara A, Kikuchi A, Morimoto A, Yabe H, Kudo K, Watanabe K, Ohga S, Kojima S; Japan Childhood Aplastic Anemia Study Group. Rabbit

antithymocyte globulin and cyclosporine as first-line therapy for children with acquired aplastic anemia. Blood. 2013 Jan 31;121(5):862-3.

## 2. 学会発表

- 1). 高橋義行、難治性ウイルス感染症に対するウイルス抗原特異的細胞障害性 T 細胞 (CTL) の対外増幅法の開発と臨床第 1 相試験、血液シンポジウム、移植・細胞療法の進歩、第 52 回日本小児血液学会総会、2010 年 12 月 18 日、大阪国際会議場、大阪)
- 2). 高橋義行、造血幹細胞移植後難治性ウイルス感染症に対するウイルス特異的抗原特異的細胞障害性 T 細胞 (CTL) の対外増幅法の開発と臨床第一相試験、日本造血細胞移植学会・日本再生医療学会合同シンポジウム、第 34 回日本造血細胞移植学会総会 (2012 年 2 月 24 日、大阪国際会議場、大阪)
- 3). Yoshiyuki Takahashi、Virus specific cytotoxic T-cell therapy for drug resistant virus infection after hematopoietic stem cell transplantation, 細胞療法シンポジウム、第 54 回日本小児血液・がん学会総会 (2012 年 12 月 1 日、パシフィコ横浜会議センター、横浜)

## F. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

特願 2006-22825 (PCT/JP 2006315376)

「ウイルス抗原特異的 CTL 製造法」鈴木進



## 新しい造血幹細胞移植技術の開発に関する研究

分担研究者 品川 克至（岡山大学医学部 血液・腫瘍内科 講師）

### A. 研究目的

「マウス移植モデルを使った造血幹細胞の静脈内と骨髄内輸注法の比較」

移植後肺障害 Idiopathic pneumonia syndrome (IPS) は、移植後に感染症以外の原因により広汎な肺胞障害を生じて発症する予後不良な肺合併症の総称であり、肺への放射線照射 RT とドナー免疫担当細胞の関与が考えられている。診断基準は、a) 広範な肺胞障害の存在、b) 下気道感染症の否定、である。胸部 X-P、CT 上の多発浸潤影の出現、肺炎の臨床症状、肺機能障害（低 O<sub>2</sub> 血症、拘束性肺機能障害）が見られる。また、気管支鏡検査により、細菌、真菌、ウイルス感染を否定することが必要である。頻度は、同種移植では再生不良性貧血など非腫瘍性疾患では 3~7%、白血病など腫瘍性疾患では 7~10%、自己移植後では 6%といわれており、悪性腫瘍に対する同種移植後に多い。発症時期は移植後、中央値で 21 日といわれているが、2 ヶ月以降の発症もある。死亡率は 60~82%であり予後はきわめて不良である。発症に関与する危険因子として、前述の悪性腫瘍に対する同種移植の他、高齢、全身放射線照射 (TBI)、移植片対宿主病(GVHD)などが推定されている。

病態メカニズムは明らかでないが、TBI による組織障害によりサイトカインの誘導や、肺上皮細胞での MHC、補助シグナル、接着因子の発現上昇などが発生し、肺局所へのドナー細胞の流入と活性化がおこり、肺胞上皮とドナーT細胞の接触による免疫反応、および RT による肺障害の両者により発症することが推定されている。

ドナー免疫担当細胞を含む造血幹細胞は、静脈内骨髄移植 (iv-BMT) 後では多くが肺へトラップさ

れるが、骨髄内骨髄移植 (intra-BMT) では少ないと考えられる。Ikehara らは、マウスモデルを用いて、intra-BMT では iv-BMT よりも GVHD が抑制されることを報告しているが、我々は intra-BMT では iv-BMT よりも IPS の発症が軽減されるとの仮説を立てた。マウスモデルを用いて、IPS に対する intra-BMT の影響に関して iv-BMT と比較検討を行った。さらに、ドナーマウスに FVB/N lac+を用いた系で、移植後輸注細胞の体内分布の時間的、場所的推移に関して IV-SCT と IBM-SCT で比較検討した。

### B. 研究方法

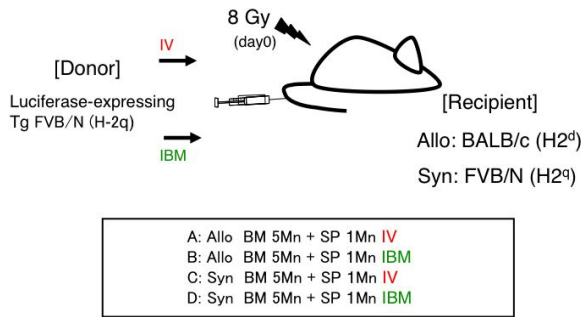
ドナーマウスに C57BL/6J を用い、RT で前処置したレシピエントマウス B6D2F1 に IV-SCT と IBM-SCT を行い比較検討した。

移植後の、体重および GVHD スコア、生存率を評価した。また移植後 6 週間後に、気管支肺胞洗浄 bronchoalveolar lavage (BAL)を行い、回収液中の細胞を解析した。また肺組織の病理所見を検討するとともに、肺組織から抽出した mRNA におけるサイトカイン発現レベルを測定した。次にドナーマウスに FVB/N lac+、レシピエントに BALB/c を用いた系で、*in vivo* bioluminescence imaging (BLI)分析により移植後輸注細胞の体内分布の時間的、場所的推移に関して IV-SCT と IBM-SCT で比較検討した。

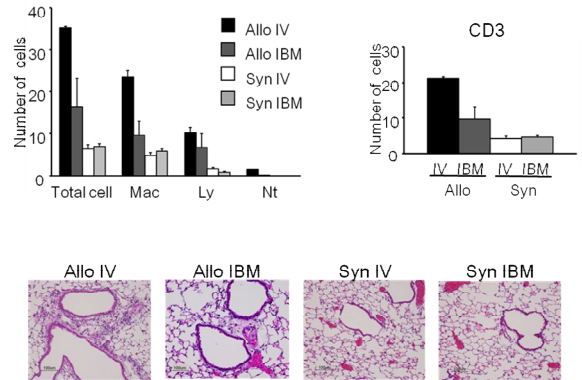
(図 1)



( 図 1 )



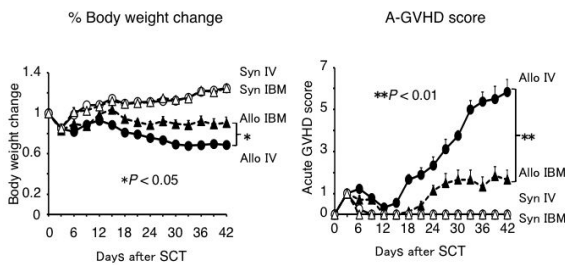
( 図 4 )



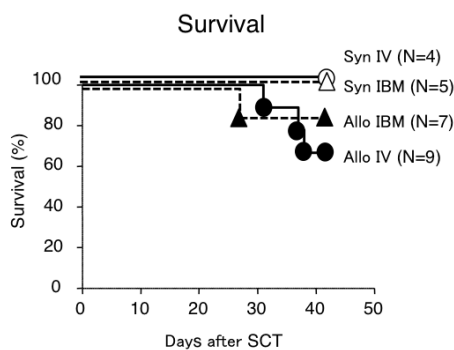
### C. 研究結果

移植 6 週後において、IBM-SCT で体重減少が低く ( $p < 0.05$ )、また GVHD スコアも低く ( $p < 0.01$ )、生存率が高かった。( 図 2 , 3 )

( 図 2 )



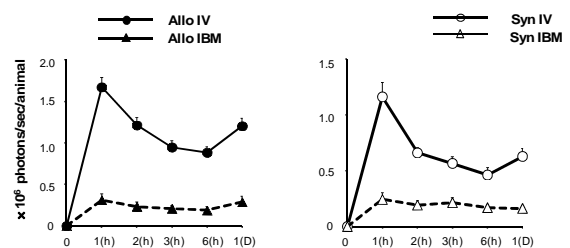
( 図 3 )



同じく移植 6 週後の BAL の解析では、回収洗浄液中の総細胞数および T 細胞数は、IBM-SCT において IV-SCT よりも少ない傾向にあり、組織学的にも IBM-SCT において細胞浸潤、組織障害が軽度であった。( 図 4 )

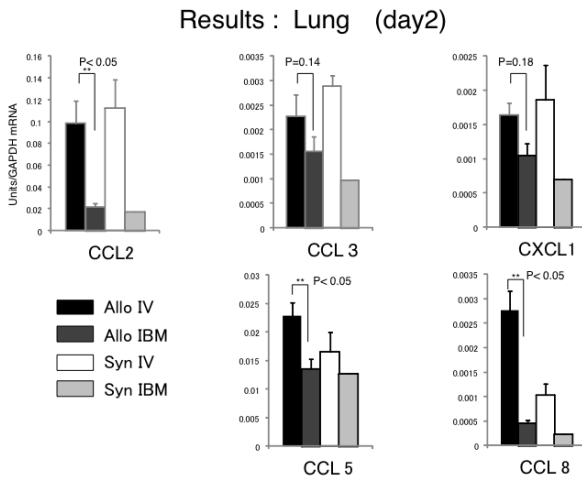
さらにルシフェラーゼによる発光反応を用いた *in vivo* bioluminescence imaging (BLI) 分析による解析では、IBM-SCT では IV-SCT に比し移植後早期 (1-6 時間) の肺への移植細胞の集積が少なかった。移植後 1h では IV-SCT 群でほとんどの細胞が肺に取り込まれたが、IBM-SCT 群では輸注下肢にとどまり肺に取り込まれた細胞は有意に少なかった ( $3.1 \pm 0.7$  vs  $16.7 \pm 1.1 \times 10^5$  photons/sec/animal, IBM-SCT vs IV-SCT;  $p < 0.01$ )。 ( 図 5 )

( 図 5 )



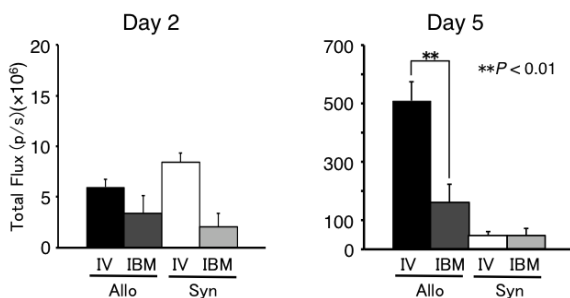
次に移植後 2 日目の肺組織から抽出した mRNA における各種ケモカインの発現レベルは、IV-SCT 群で高い傾向にあり、特に CCL2 では有意であった ( $0.098 \pm 0.020$  vs  $0.020 \pm 0.003$  units/GAPDH mRNA ;  $p < 0.05$ )。 ( 図 6 )

( 図 6 )



以上の 2 つの結果は syngeneic の系においても同様の結果が得られたため( $2.4 \pm 0.6$  vs.  $11.6 \pm 1.3 \times 10^5$  photons/sec/animal;  $p < 0.01$ )、移植早期の輸注細胞の肺へのとりこみは IV と IBM の輸注手技の違いによることが示唆された。移植後 2 日目と 5 日目の BLI 分析では、5 日目では syngeneic の系において肺への取り込みは IV-SCT 群と IBM-SCT 群で差はなかったが( $4.8 \pm 1.1$  vs.  $4.6 \pm 2.5 \times 10^7$  photons/sec/animal;  $p = 0.94$ )、allogeneic の系では移植後 2 日目よりさらに有意に IV-SCT で増加した ( $50.9 \pm 6.6$  vs  $16.0 \pm 6.2 \times 10^7$  photons/sec/animal;  $p < 0.05$ ) ( 図 7 )

( 図 7 )



以上から IPS は IBM-SCT において軽度である可能性が示唆された。また肺障害のメカニズムとして移植 2 日までのドナー細胞の肺へのトラップに加え、各種ケモカイン mRNA 発現増加が allo 免疫反応を誘導していると考えられた。

## 評価

### 1) 達成度について

今回検討した IPS マウスモデルでは IPS は IV-SCT 群に比し IBM-SCT 群において軽度である可能性が示唆され、移植後早期の輸注細胞の肺での物理的動態およびケモカイン発現の差異がこれらの現象に関与していると考えられた。

### 2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

IPS マウスモデルによる IV-SCT と IBM-SCT の比較研究は過去になく、今回肺局所のリンパ球の集積の差異が経時的に *in vivo* 観察され、その機序がケモカインレベルで証明された意義は大きいと思われる。IBM-SCT が移植後肺障害軽減の点からも有効であることが示唆され臨床応用が期待される。

### 3) 今後の展望について

今後さらに IPS 発症に関与する T 細胞を含めた細胞分画の同定と詳細な検討が課題である。

### 4) 研究内容の効率性について

マウスモデルの確立は習熟により達成された。また肺病変の解析システムも達成されており、今後研究は進捗するものと考えられる。

## 結論

今回検討した IPS マウスモデルでは IPS は IV-SCT 群に比し IBM-SCT 群において軽度である可能性が示唆された。

## D. 健康危険情報

特記すべきことなし。

## E. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1). H Nishimori, Y Maeda, T Teshima, H Sugiyama, K Kobayashi, Y Yamasuji, S Kadohisa, H Uryu, K Takeuchi, T Tanaka, T Yoshino, Y Iwakura and M Tanimoto. Synthetic retinoid Am80 ameliorates chronic graft-versus-host disease by down-regulating Th1 and Th17 Blood 119:285-295, 2012
- 2). Teshima T, Maeda Y, Ozaki K. Regulatory T cells and IL-17- producing cells in acute graft-versus-host disease. Immunotherapy. 2011; 3(7): 833-52

### 2. 学会発表

- 1). 山筋好子、前田嘉信、西森久和、杉山暖子、小林孝一郎、門久幸代、近藤英生、藤井伸治、品川克至、金蔵拓郎、谷本光音  
「骨髄内骨髄移植は Idiopathic pneumonia syndrome の発症を予防する」  
日本血液学会総会 2011/10/15
- 2). 西森久和、前田嘉信、杉山暖子、小林孝一郎、山筋好子、門久幸代、谷本光音、竹内賢吾  
「ドナーの Th17 細胞と Th1 細胞が慢性 GVHD 発症に関与する」  
第 33 回日本造血細胞移植学会総会 2011/3
- 3). Y Yamasuji, H Nishimori, M Fujii, H Sugiyama, K Kobayashi, S Kadohisa, E Kondo, K Shinagawa, K Mominoki, T Kanekura, M Tanimoto, Y Maeda. Prevention of Idiopathic Pneumonia Syndrome by Intra-bone Marrow Injection of Donor Cells. 2011/2 ASBMT tandem meeting
- 4). Nishimori H, Maeda Y, Teshima T, Sugiyama H, Kobayashi K, Yamasuji Y, Kadohisa S, Uryu H, Takeuchi K, Tanaka T, Yoshino T, Iwakura Y, and Tanimoto M. Donor Th17 and Th1 contribute to chronic graft-versus-host disease 2011/2 ASBMT tandem meeting

- 5). Y Yamasuji, H Nishimori, H Sugiyama, K Kobayashi, S Okamoto, E Kond, N Fujii, K Shinagawa, T Kanekura, M Tanimoto and Y Maeda. Prevention of idiopathic pneumonia syndrome by intra-bone marrow injection of donor cells. 2011/12 American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition.
- 6). Hideaki Fujiwara, Koichiro Kobayashi, Hisakazu Nishimori, Masaaki Nishinohara, Sachiyo Okamoto, Kenichi Matsuoka, Eisei Kondo, Nobuharu Fujii, Katsuji Shinagawa, Mitsune Tanimoto and Yoshinobu Maeda. B7H1 expression on recipient regulate the frequency of IL-17+ IFN $\gamma$ + T cells and contribute to the pathogenesis of cGVHD. 2013 ASBMT tandem meeting.

## F. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

特記すべきことなし。



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）  
分担研究年度終了報告書

**灌流法による骨髄採取の安全性と有用性の検討**

分担研究者 野村 昌作（関西医科大学内科学第1講座 主任教授）

研究協力者 石井 一慶（関西医科大学内科学第1講座 講師）

**研究要旨**

HLA 適合血縁者を対象として、灌流法による骨髄採取の安全性と有用性を検討した。採取の経過において重篤な合併症はなく安全に実施することができた。しかしながら、有核細胞数、CD 34 陽性細胞は吸引法に比して 1/10 以下と少数であった。

**A. 研究目的**

本臨床試験では、灌流法による骨髄採取の安全性と有用性を検討する（臨床第 相試験）。

主要評価項目：灌流法による骨髄採取に伴う安全性を primary endpoint とする。

副次的評価項目：灌流法に要した手術時間、骨穿孔、皮膚穿孔数・採取量、採取有核細胞数、ヘマトクリット、CD3(+), CD34(+), CFU-C 及び CFU-F。

**B. 研究方法**

**1. 対象**

HLA 適合血縁者

適格条件、除外条件については、非血縁バンクドナーの基準に準ずる。

**2. 方法**

骨髄採取法（灌流法、並びに吸引法）右腸骨稜全体の 1/2 に当たる部位から灌流法により骨髄細胞を採取する。次いで、右腸骨稜残り 1/2 の部位、および左後腸骨稜全体から従来法である吸引法を用いて必要細胞数に達するまで骨髄採取を継続する。

**1) 灌流法による骨髄採取法**

ドナーの管理法は日本骨髄バンクの「骨髄採取マニュアル」(第四版)に準ずる。

骨髄採取は入院下で実施する。

全身麻酔下で一方の腸骨から 2~4 ヶ所で灌流法採取を実施する。

2 本の骨髄穿刺針を腸骨に 3~5cm の間隔で穿刺し、生理食塩水 30 ml を一方よりゆっくり注入し、同時に対側から軽く吸引する。この時、採取側シリンジのみヘパリン（10~30 U/ml とする）加生理食塩液を約 0.5 ml 使用する。

採取時には、採取量、骨髄の有核細胞数（Nucleic cell count, NCC）、ヘマトクリット（HCT%）を計測する。

**2) 吸引法による骨髄採取法と採取骨髄細胞の処理**

右側腸骨の上後腸骨棘から腸骨稜結節にかけて灌流法で穿刺した残り後半 1/2 の部位、および左後腸骨稜全体から吸引法を用いて必要細胞数に達するまで骨髄採取を施行する。吸引法による骨髄採取は日本骨髄バンクの「骨髄採取マニュアル」(第四版)に準ずる。採取時間は従来報告通り 3 時間の予定である。吸引法で採取した骨髄細胞をレシピエントへ移植する。吸引法による骨髄採取後、自己血輸血を施行する。

## （倫理面への配慮）

平成 17 年に中国で実施された症例ではドナーに対する負担も少なく、翌日には歩行が可能であった。肺塞栓症などの重篤な有害事象も認められなかった。レシピエントへの採取骨髄細胞の骨髄内投与時にも重篤な有害事象は認めず、安全に施行可能であった。平成 22 年に関西医科大学で施行された症例でも採取の経過において重篤な合併症はなく安全に実施することができた。従来 of 吸引法による健常人ドナーからの骨髄採取事例において、心停止、呼吸停止、脳梗塞、肺脂肪塞栓症などの重症有害事象の報告を認めるものの、その頻度は 1,600～4,600 例に 1 例程度であり、吸引法に伴う重症有害事象の頻度は非常に低いと考えられている。以上より、本臨床試験において重症有害事象の発症を認めた際には、灌流法による可能性を否定できないと考えられる。したがって、ドナーにおいて CTCAE v4.0 Grade 4 以上の有害事象が出現した際には、急送報告を義務とし効果安全性評価委員会において灌流法との因果関係を検討する。

## C. 研究結果

採取の経過において重篤な合併症はなく安全に実施することができた。有核細胞数は吸引法に比して 1/10 であり RBC 除去後でも 1/3 と少数であった。CD34 陽性細胞でも吸引法に比して 1/10 以下であった。T 細胞の混入は 6.1-15.4% と吸引法に比して少なかった。

## D. 健康危険情報

特記すべきことなし。

## E. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1). Mori S, Fujita S, Yamamoto Y, Li M, Fukuhara S, Nomura S, and Ikehara S. Perfusion method for bone marrow cell collection in poor mobilizer

lymphoma patient. Int. J. Hematol. 93: 822-824, 2011.

## 2. 学会発表

特記すべきことなし。

## F. 知的財産権の出願・登録状況

特記すべきことなし。



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）  
分担研究年度終了報告書

**臍帯血を用いた骨髄内移植療法の開発**

分担研究者 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**

骨髄非破壊的前治療を用いた臍帯血移植の適応となる成人血液悪性疾患患者を対象として、解凍した臍帯血を洗浄・濃縮し、直接骨髄内へ輸注する移植法の臨床試験を行っている。厚生労働省より「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」には該当しないとの見解を得て、当該研究期間中に 6 例に対して試験を実施した。重篤な有害事象は認めず、速やかな生着を確認した。

**A. 研究目的**

本研究では、骨髄非破壊的前治療を用いた非血縁臍帯血移植における生着率の向上を目指し、同種造血幹細胞移植の適応でありながら、骨髄または末梢血幹細胞提供ドナーが得られない成人血液悪性疾患患者を対象として、骨髄内臍帯血移植の安全性と有効性を確認する臨床試験を実施する。

本試験を通じて得られる、例えば臍帯血の洗浄・濃縮技術や骨髄への注入技術などは、将来の「灌流法により採取された骨髄細胞を用いた骨髄内骨髄移植療法」の確立に寄与するものと考える。

**B. 研究方法**

本試験のデザインは臨床第 II 相試験。対象は骨髄非破壊的前治療を用いた非血縁臍帯血移植の適応となる成人血液悪性疾患患者。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。解凍した臍帯血を洗浄・濃縮したのち、後腸骨稜から通常の骨髄穿刺針を用いて注入する。主要評価項目は移植後 60 日時点での生着かつ生存。予定登録数は 22 例で、登録期間は 4 年を予定している。追跡期間は最終症例の移植後 1 年。尚、本臨床研究の実施に当たっては当大学倫理委員会での承認を得た（承認番号：550、550-2）。

**C. 研究結果**

本研究期間中に 6 例に対して試験を実施し、総実施数は 12 例となった。重篤な有害事象は認めず、1 例を除き速やかな生着を確認した。平成 23 年 3 月末で試験期間終了の予定であったが、予定登録症例数をまだ満たさないこと、しかしながら今後も新規登録症例が見込めることなどから、試験期間の延長手続きを行った。既に名古屋大学の生命倫理審査委員会で承認が得られている（平成 24 年 2 月 20 日承認、承認番号 550-3）。本試験の多施設共同研究への拡大を進めており、登録症例数を増やし完遂を目指す。

**D. 健康危険情報**

特記すべきことなし。



## E. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1). Murase M, Murata M, et al. Cytotoxic T-lymphocyte antigen 4 haplotype correlates with relapse and survival after allogeneic hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant*, 2010; 46(11): 1444-1449.
- 2). Waki F, Murata M, et al. Feasibility of Reduced-intensity Cord Blood Transplantation as Salvage Therapy for Graft Failure: Results of a Nationwide Survey of 80 Adult Patients. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2011; 17(6): 841-851.
- 3). Terakura S, Murata M, et al. A prospective dose-finding trial using a modified continual reassessment method for optimization of fludarabine plus melphalan conditioning for marrow transplantation from unrelated donors in patients with hematopoietic malignancies. *Ann Oncol*, 2011; 22(8): 1865-1871.
- 4). Katsumi A, Murata M, et al. Virus-associated hemophagocytic syndrome caused by pandemic swine-origin influenza A (H1N1) in a patient after unrelated bone marrow transplantation. *J Clin Exp Hematop*. 2011; 51(1): 63-65.
- 5). Nishiwaki S, Murata M, et al. Dexamethasone palmitate successfully attenuates hemophagocytic syndrome after allogeneic stem cell transplantation: macrophage-targeted steroid therapy. *Int J Hematol*. 2012; 95(4): 428-433.
- 6). Kato T, Murata M, et al. Escape of leukemia blasts from HLA-specific CTL pressure in a recipient of HLA one locus-mismatched bone marrow transplantation. *Cell Immunol*. 2012; 276: 75-82.
- 7). Kuwatsuka Y, Murata M, et al. Phase II study of dose-modified busulfan by real-time targeting in

allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for myeloid malignancy. *Cancer Sci*. 2012; 103(9): 1688-1694.

- 8). Nishiwaki S, Murata M, et al. Efficacy and safety of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells for supporting hematopoiesis. *Int J Hematol*. 2012; 96(3): 295-300.

### 2. 学会発表

- 1). Nishida T, Murata M, et al. Generation of CMV antigen specific CTL using closed culture system. 第72回日本血液学会総会、横浜、2010年9月。
- 2). Kato T, Murata M, et al. Exhaustion of CMV specific T cells with enhanced PD-1 expression in persistent cytomegalovirus infection after allogeneic stem cell transplantation. The 52nd Annual Meeting of the American Society of Hematology, in Orlando, Florida. December 2010.
- 3). 村田 誠. 教育講演：造血幹細胞移植。第19回日本組織適合性学会大会、東京、2010年9月。1. Kato T, Murata M, et al. Exhaustion of cytomegalovirus specific T cells after allogeneic stem cell transplantation. 第73回日本血液学会総会 2011年10月 名古屋。
- 4). Kato T, Murata M, et al. Leukemia Escape From HLA-Specific T Lymphocyte Pressure in a Recipient of HLA One Locus- Mismatched Bone Marrow Transplantation. The 53rd Annual Meeting of the American Society of Hematology, in San Diego, California. December 2011.
- 5). Oshima K, Murata M, et al. The effect of sex mismatch on outcome in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. 2012 BMT Tandem Meetings, in San Diego, California. February 2012.

- 6). 村田 誠、他 . Grade II 以上の急性 GVHD の対する治療成績 : TRUMP データを用いた解析 . 第 34 回日本造血細胞移植学会総会 2012 年 2 月 大阪 .
- 7). Murata M, et al. Clinical factors predicting the response of acute graft-versus-host disease to corticosteroid therapy. 54th ASH Annual Meeting and Exposition, Atlanta, Dec 2012.
- 8). Nakane T, Murata M, et al. Older age increases non-relapse mortality in patients with grade II-IV acute GVHD after allogeneic hematopoietic cell transplantation: A retrospective analysis from the Japanese TRUMP database. 54th ASH Annual Meeting and Exposition, Atlanta, Dec 2012.
- 9). Kato K, Murata M, et al. The impact of ATG/ALG in preconditioning on the allogeneic stem cell transplantation for patients with acute leukemia. 54th ASH Annual Meeting and Exposition, Atlanta, Dec 2012.

#### **F. 知的財産権の出願・登録状況**

特記すべきことなし。

**新規造血幹細胞移植技術評価のための  
新規移植後モニタリングシステムの開発に関する研究**

分担研究者 森尾 友宏（東京医科歯科大学・大学院・発生発達病態学分野 准教授）  
研究協力者 清水 則夫（東京医科歯科大学・難治疾患研究所・ウイルス治療学 准教授）  
今井 耕輔（東京医科歯科大学・大学院・小児・周産期地域医療学講座）  
中谷 夏織（東京医科歯科大学・大学院・発生発達病態学分野）

**研究要旨**

長期的免疫不全症、晚期合併症などが短期・長期予後を規定している。本研究は、骨髄内造血細胞移植における免疫学的再構築や移植後合併症の詳細かつ簡便な解析法を開発することを目的とした。

研究の中で、高感度多項目迅速微生物測定法を開発し、96 ウェルフォーマットの簡便な 12 ウイルス測定系を開発し、実際の移植後検体にて測定すると共に全自動化に向けての検証を行った。免疫学的再構築は sjKRECs, cjKRECs, TRECs 解析にて、B/T 細胞新生能を検討した。その結果免疫学的再構築に有利な条件が明らかになった。

**A. 研究目的**

造血細胞移植では、原疾患の再発に加えて、早期・晚期拒絶、混合キメラリズム、GVHD、感染症、長期的免疫不全症、晚期合併症などが短期・長期予後を規定している。骨髄内造血細胞移植などの新しい造血幹細胞移植技術においては、生命予後や移植関連合併症に加えて、その効果及び安全性を多角的にかつ科学的に検証することが重要である。本研究は、骨髄内造血細胞移植における免疫学的再構築や移植後合併症の詳細かつ簡便な解析法を開発することを目的とした。

**B. 研究方法**

1) 検体は東京医科歯科大学医学部附属病院において実施した造血細胞移植後患者の血液・尿などを用いた。

2) 高感度多項目迅速微生物測定法：12 ウイルス定性測定は LightCycler を用いて、melting curve

法にて解析した。リアルタイム PCR 同時測定系は 96 well フォーマットで実施した。さらに第二世代として両者を統合した半定量系（96 well）を開発して検証し、実際にサンプルを測定した。

また呼吸器関連ウイルスなどについては Parainfluenza virus, Metapneumovirus, RS virus などのモジュールを追加した。測定については検体調製から測定までの全自動系について検証を行った。

3) 免疫学的再構築評価法：signal joint T-cell receptor excision circles (sjTRECs), signal joint kappa deleting recombination excision circles (sjKRECs), coding joint KRECs (cjKRECs)をリアルタイム PCR 系で測定した。測定結果は $\square$ gDNA あたりのコピー数として表し、RNaseP および GAPDH をコントロールとして用いた。

## (倫理面への配慮)

検体採取に当たっては十分な説明の元に同意取得を行い、最小限の採血(1mL)にて検査を行った。本研究については東京医科歯科大学医学部倫理審査委員会の承認を得て実施した。

## C. 研究結果

1. 高感度多項目迅速微生物測定法: 約 50 検体の測定から今までの capillary PCR: melting curve analysis 法とほぼ同程度の感度が得られることを確認した。また喀痰サンプルからのウイルス検査において実際に Parainfluenza 3 型などの検出が可能になり臨床に有用な情報を提供した。全自動化については引き続き検証を続けている。

2. 免疫学的再構築評価法: 117 名の検体にて移植後 1 ヶ月、3 ヶ月、6 ヶ月、12 ヶ月、24 ヶ月時点での解析を行い、移植後感染症(細菌、真菌、ウイルス)、生存との相関について解析した。その結果、単変量解析においては TRECs, KRECs が移植後感染症や生存率と相関することが明らかになりつつある。また TRECs, KRECs の回復に寄与する因子についても解析を加えた。その結果臍帯血移植が KRECs 回復に有利であることや、免疫学的再構築にはレシピエント年齢が関与することなどが明らかになった。

### 3. 全自動化

これらのシステム(核酸抽出 解析・データアウトプット)の全自動化につき既存の機器あるいは開発中の機器にて検討を行った。現時点ではその評価中である。

## D. 考察

移植後の定量的なモニタリングシステムの開発は新規移植技術評価において極めて重要である。微生物モニタリングシステムは既にいくつかの方法が開発されており、今後は multiplex 化、低価格化、全自動化が課題と考えている。免疫学的再構築評価法

については KRECs, TRECs が移植後の感染症や予後を見するものとなることを期待している。実際には移植後 1 年後のデータとその後の感染症、合併症の関連なども重要な課題であり、今後症例を蓄積していく必要がある。またこの測定系については、全自動化に載せることにより、さらに簡便かつ低価格に解析ができるようになると思われる。

## E. 結論

造血細胞移植後の感染症、免疫学的再構築について短時間に、簡便に、かつ安価に行える方法を開発し、検証した。今後本研究の臨床研究が進めば、モニタリングとして有用なものが構築できたと考えている。

## F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1). Kamae C, Nakagawa N, Sato H, Honma K, Mitsuiki N, Ohara O, Kanegane H, Pasic S, Pan-Hammerstrom Q, van Zelm M.C., Morio T, Imai K, Nonoyama S. Classification of common variable immunodeficiency by quantification of T cell receptor and Ig kappa-deleting recombination excision circles. *J. Allerg. Clin. Immunol.* 49:01839-8, 2012.
- 2). Uchida Y, Matsubara K, Morio T, Kasawaki Y, Iwata A, Yura K, Kamimura K, Nigami H, Fukawya T. Acute cerebellitis and concurrent encephalitis associated with parvovirus B19 infection. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 31:427, 2012.
- 3). Morio T, Atsuta Y, Tomizawa D, Nagamura-Inoue T, Kato K, Ariga T, Kawa K, Koike K, Tauchi H, Kajiwara M, Hara T, Kato S. Outcome of unrelated umbilical cord blood transplantation in 88 patients

with primary immunodeficiency in Japan. *Br. J. Haematol.* 154:363-372, 2011

- 4). Miyanaga M, Sugita S, Shimizu N, Morio T, Miyata K, Mochizuki M. A significant association of viral loads with corneal endothelial cell damage in cytomegalovirus anterior uveitis. *Br J Ophthalmol.* 94: 334-340, 2010.
- 5). 森尾友宏 : ( 分担執筆 ) 多項目ウイルスモニタリングからの情報[診療のコツ]、豊嶋崇徳編、症例とエビデンスに学ぶ 造血細胞移植と感染症、p150-2、医薬ジャーナル社、大阪、2011年8月15日

## 2. 学会発表

- 1). Morio T, Tomizawa D, Atsuta Y, Nagamura T, Kato K, Ariga T, Kawa K, Koike K, Tauchi H, Kajiwara M, Hara S, and Kato S. Unrelated umbilical cord blood transplantation for patients with primary immunodeficiency in Japan. The 52nd ASH Annual Meeting. Orlando, Florida, USA. December 2010.
- 2). Morio T, Tomizawa D, Atsuta Y, Nagamura T, Kato K, Ariga T, Kawa K, Koike K, Tauchi H, Kajiwara M, Hara S, and Kato S. Unrelated umbilical cord blood transplantation for patients with primary immunodeficiency in Japan. XIVth meeting of the European Society for Immunodeficiencies. Istanbul, Republic of Turkey. October 2010.
- 3). Morio T. 臍帯血移植における免疫モニタリングと T 細胞免疫療法 Immunomonitoring and T-cell immunotherapy in CBT. 第 2 回 韓国 - 日本臍帯血移植シンポジウム The Second Korea-Japan Cord Blood Transplantation Symposium. Yokohama, Japan. September 2010.
- 4). 森尾友宏 : 再生医療・細胞治療領域で問題となる微生物のモニタリング、第 60 回日本ウイル

ス学会学術集会 (シンポジウム) 大阪、2012年11月13日-11月15日

- 5). 森尾友宏 : 「医療機関における自家細胞・組織を用いた再生・細胞医療の実施について」: 免疫細胞療法における指針及び治療の現状と展望、第 60 回日本輸血細胞治療学会(シンポジウム)、福島、2012年5月27日
- 6). 森尾友宏 : 原発性免疫不全症候群に対する造血幹細胞移植療法、第 3 回移植後キメリズム解析研究会、東京、2012年2月2日
- 7). 森尾友宏 : ウイルス特異的 T 細胞とその維持、第 18 回日本輸血・細胞治療学会秋季シンポジウム、埼玉、2011年10月21日
- 8). 森尾友宏、寺田尚美、大川哲平、遠藤明史、小野敏明、富澤大輔、高木正稔、長澤正之、大山敦、峯岸志津子、新井文子、中川紀子、今井耕輔、野々山恵章、水谷修紀 : 造血細胞移植後の B・T 細胞新生と機能の評価 Evaluation of B/T cell neogenesis and T cell function following hematopoietic cell transplantation、第 33 回日本造血細胞移植学会、愛媛、2011年3月10日
- 9). 森尾友宏 : 造血細胞移植後のウイルスモニタリングと感染制御、第 11 回血液細胞療法フォーラム、大阪、2010年10月16日

## H. 知的財産権の出願・登録状況

特記すべきことなし。



#### IV. 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
<u>Ikehara S.</u>	A revolutionary BMT method.	In: Bone Marrow Transplantation Across Major Genetic Barriers (Yair Reisner and Massimo F martelli, eds.)	World Scientific.	New Jersey	London・Singapore・Beijing・Shanghai・Hong Kong・Taipei・Chennai	2010	441-455
<u>Susumu Ikehara.</u>	A new concept of stem cell disorders, and the rationale for transplantation of normal stem cells.	Chapter (ed. Dr. M.A. Hayat)	STEM CELLS AND CANCER STEM CELLS.	Springer		In press.	
Ming Li and <u>Susumu Ikehara</u>	Bone marrow stem cell therapies for diabetes mellitus and its complications	Chapter (ed. Dr. M.A. Hayat)	STEM CELLS AND CANCER STEM CELLS.	Springer		In press.	
森尾友宏	(分担執筆)多項目ウイルスモニタリングからの情報[診療のコツ]	豊嶋崇徳編	症例とエビデンスに学ぶ造血細胞移植と感染症	医薬ジャーナル社	大阪	2011年8月15日	p150-2

## 雑 誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	年号
<u>池原 進</u>	新しい造血幹細胞採取方法&移植法(骨髄内直接注入)	日本移植学会雑誌「移植」	45	560-566	2010
<u>Ikehara S</u>	The future of stem cell transplantation in autoimmune disease.	Review.	38	292-297	2010
Imai Y, Adachi Y, Shi M, Shima C, Yanai S, Okigaki M, Yamashita T, Kaneko K, <u>Ikehara S.</u>	Caspase inhibitor ZVAD-fmk facilitates engraftment of donor hematopoietic stem cells in intra-bone marrow-bone marrow transplantation.	Stem Cells Dev.	19	461-468	2010

雑 誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	年号
Shima C, Adachi Y, Shi M, Imai Y, Okigaki M, Yanai S, Minamino K, Takahashi K, <u>Ikehara S.</u>	The combination method using magnetic beads and a magnet helps sustain the number of donor BM cells after intra-BM injection, resulting in rapid hematopoietic recovery.	Bone Marrow Transplant.	45	993-999	2010
Vanella L, Kim DH, Asprinio D, Peterson SJ, Barbagallo I, Vanella A, Aadiocyte lineage. Vanella L, kim DH, Asprinio D, Peterson SJ, Barbagallo I, Vanella A, Goldstein D, <u>Ikehara S</u> , Kappas A, Abraham NG.	HO-1 expression increases mesenchymal stem cell-derived osteoblasts but decreases adipocyte lineage.	Bone	46	236-243	2010
Hoshino S, Inaba M, Iwai H, Ito T, Li M, Gershwin ME, Okazaki K, <u>Ikehara S.</u>	The role of dendritic cell subsets in 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid-induced ileitis.	J. Autoimmun.	34	380-399	2010
Li Q, Hisha H, Takaki T, Adachi Y, Li M, Song C, Feng W, Okazaki S, Mizokami T, Kato J, Inaba M, Hosaka N, Maki M, <u>Ikehara S.</u>	Transplantation potential of bone marrow stromal cells into undifferentiated high-grade pleomorphic sarcoma.	J. Cancer Res. Clin. Oncol.	136	829-838	2010
Wang X, Hisha H, Mizokami T, Cui W, Cui Y, Shi A, Song C, Okazaki S, Li Q, Feng W, Kato J, <u>Ikehara S</u>	Mouse mesenchymal stem cell can support human hematopoiesis both invitro and invivo: the crucial role of neural cell adhesion molecule.	Haematologica.	95	884-891	2010
Yanai S, Adachi Y, Shi M, Shigematsu A, Shima C, Imai Y, Kwon AH, <u>Ikehara S.</u>	Adult bone marrow cells can differentiate into hemopoietic cells and endothelial cells but not other lineage cells in normal growth and normal life.	Int. J. hematol.	91	213-218	2010

雑 誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	年号
Feng W, Cui Y, Zhan H, Shi M, Cui W, Guo K, Li Q, Song C, Zhang Y, Mori T, Gershwin ME, Abraham NG, <u>Ikehara S.</u>	Prevention of premature ovarian failure and osteoporosis induced by irradiation using allogeneic ovarian/bone marrow transplantation.	Transplantation.	89	395-401	2010
Hosaka N, Cui W, Zhang Y, takaki T, Inaba M, <u>Ikehara S.</u>	Prolonged survival in mice with advanced tumors treated with syngeneic or allogeneic intra-bone marrow-bone marrow transplantation plus fetal thymus transplantation.	Cancer Immunol. Immunother.	59	1121-1130	2010
Shigematsu A, Shi M, Okigaki M, Adachi Y, Koike N, Che J, Iwasaki M, Matsubara H, Imamura M, <u>Ikehara S.</u>	Signaling from fibroblast growth factor receptor 2 in immature hematopoietic cells facilitates donor hematopoiesis after intra-bone marrow-bone marrow transplantation.	Stem cell Dev.	19	1679-1686	2010
Okamoto N, Kushida T, Oe K, Umeda M, <u>Ikehara S.</u> , Iida H.	Treating Achilles tendon rupture in rats with bone-marrow-cell transplantation therapy.	J. Bone Joint Surg. Am.	92	2776-2784	2010
Burt RK, Abinnun M, Farge-Bancel D, Fassas A, Hiepe F, Havrdova E, <u>Ikehara S.</u> , Loh Y, Marmont du Haut Champ A, Voltarelli JC, Snowden J, Slavin S.		Science.	328	825-826	2010
Kaplamadzhiev DB, Hisha H, Adachi Y, <u>Ikehara S.</u> , Tonche AB, Boneva NB, Pyko IV, Kikuchi M, Nakaya M, Wakayama T, Iseki S, Yamashima T.	Bone marrow-derived stromal cells can express neuronal markers by DHA/GPR40 signaling.	Biosci. Trends.	4	119-129	2010

雑 誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	年号
Cui Y, Nakamura S, Shi M, Feng W, Cui Y, nakamura S, Shi M, Feng W, CuiW, Guo K, Zhang Y, <u>Ikehara S.</u>	A successful haploidentical bone marrow transplantation method in rabbits: perfusion method plus intra-bone marrow-bone marrow transplantation.	Transpl. Immunol.	24	33-39	2010
Mito K, Sugiura K, Ueda K, Hori T, Akazawa T, Yamate J, nakagawa H, Hatoya S, Inama M, Inoue N, <u>Ikehara S.</u> , Inaba T.	IFN markedly cooperates with intratumoral dendritic cell vaccine in dog tumor models.	Cancer Res.	70	7093-7101	2010
Li M, Abraham NG, Vanella L, Zhang Y, Inaba M, Hosaka N, Hoshino S, Shi M, Ambrosini YM, Gershwin ME, <u>Ikehara S.</u>	Successful modulation of type 2 diabetes in db/db mice with intra-bone marrow-bone marrow transplantation plus concurrent thymic transplantation.	J. Autoimmun.	35	414-423	2010
Lee WS, Suzuki Y, Graves SS, Iwata M, Venkataraman GM, Mielcarek M, Peterson LJ, <u>Ikehara S.</u> , Torok-Storb B, and Storb R.	Canine bone marrow-derived mesenchymal stromal cells suppress alloreactive lymphocyte proliferation in vitro but fail to enhance engraftment in canine bone marrow transplantation.	Biol. Blood Marrow Transplant.	17	465-475	2011
Oe K, Kushida T, Okamoto N, Umeda M, Nakamura T, <u>Ikehara S.</u> , and Iida H.	New strategies for anterior cruciate ligament partial rupture using bone marrow transplantation in rats.	Stem Cells Dev.	20	671-679	2011
Zhang Y, Hosaka N, Cui Y, Shi M, and <u>Ikehara S.</u>	Effects of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation plus thymus transplantation on malignant tumors: Comparison between fetal, newborn, and adult mice.	Stem Cells Dev.	20	599-607	2011

雑 誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	年号
Katagiri K, Ueda Y, Tomiyama T, Yasuda K, Toda Y, <u>Ikehara S</u> , Nakayama KI, and Kinashi T.	Deficiency of Rap1-binding protein RAPL causes lymphoproliferative disorders through mislocalization of p27kip1.	Immunity	34	24-38	2011
Shi M, Lian Z, Zhang Y, Yanai S, Shima C, Imai Y, and <u>Ikehara S</u> .	Combination of intra-bone marrow-bone marrow transplantation and subcutaneous donor splenocyte injection diminishes risk of GVHD and enhances survival rate.	Stem Cells Dev.	20	759-768	2011
<u>Ikehara S</u> .	Thymus transplantation for treatment of cancer: lessons from murine models.	Expert Rev. Clin. Immunol.	7	205-211	2011
Mori S, Fujita S, Yamamoto Y, Li M, Fukuhara S, Nomura S, and <u>Ikehara S</u>	Perfusion method for bone marrow cell collection in poor mobilizer lymphoma patient.	Int. J. Hematol.	93	822-824	2011
Hirosawa T, Torikai H, Yanagisawa M, Kamei M, Imahashi N, Demachi-Okamura A, Tanimoto M, Shiraishi K, Ito M, Miyamura K, Shibata K, Kikkawa F, Morishima Y, Takahashi T, Emi N, Kuzushima K, <u>Akatsuka Y</u> .	Mismatched HLA class II-restricted CD8(+) cytotoxic T-cells may serve selective GVL effects following allogeneic hematopoietic cell transplantation.	Cancer Sci (PMID: 21466613)	102	1281-6	2011
An J, Fujiwara H, Suemori K, Niiya T, Azuma T, Tanimoto K, Ochi T, <u>Akatsuka Y</u> , Mineno J, Ozawa H, Ishikawa F, Kuzushima K, Yasukawa M.	Activation of T-cell receptor signaling in peripheral T-cell lymphoma cells plays an important role in the development of lymphoma-associated hemophagocytosis.	Int J Hematol. (PMID: 21229399)	93	176-85	2011

雑 誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	年号
Suzuki S, Yoshikawa T, Hirosawa T, Shibata K, Kikkawa F, <u>Akatsuka Y</u> , Nakatsura T.	Glypican-3 could be an effective target for immunotherapy combined with chemotherapy against ovarian clear cell carcinoma.	Cancer Sci. (PMID: 21668581)	102	1622-9	2011
<u>Ikehara S</u> .	A novel BMT technique for treatment of various currently intractable diseases.	Best Pract. Res. Clin. Haematol.	24	477-483	2011
Hosaka N, Uesaka K, Takaki T, Zhang Y, Takasu K, and <u>Ikehara S</u> .	Poorly differentiated squamous cell carcinoma of the nipple: a unique case for marked exophytic growth, but little invasion with neuroendocrine differentiation.	Med. Mol. Morphol.	44	174-178	2011
Shimo T, Adachi Y, Umezawa K, Okigaki M, Takeya J, Taniuchi S, <u>Ikehara S</u> , and Kaneko K.	Dehydroxymethylepoxyquinomicin (DHMEQ) can suppress tumour necrosis factor- production in lipopolysaccharide-injected mice, resulting in rescuing mice from death in vivo.	Clin. Exp. Immunol.	166	299-306	2011
Hoshino S, Kurishima A, Inaba M, Ando Y, Fukui T, Uchida K, Nishio A, Iwai H, Yokoi T, Ito T, Ishii S, Shimada A, Li M, Okazaki K, and <u>Ikehara S</u> .	Amelioration of 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis in mice by immunoregulatory dendritic cells.	J. Gastroenterol.	46	1368-1381	2011
<u>池原 進</u> .	革新的移植方法 灌流法 + 骨髄内骨髄移植法.	医学のあゆみ「造血幹細胞移植の最新動向：造血幹細胞移植のトピックス」	240 (5)	465-469	2012
Zhang Y, Hosaka N, Cui Y, Shi M, Li M, Li Q, and <u>Ikehara S</u> .	Effects of intrabone marrow-bone marrow transplantation plus adult thymus transplantation on survival of mice bearing leukemia.	Stem Cells Dev.	21	1441-1448	2012
Shima C, Adachi Y, Minamino K, Okigaki M, Shi M, Imai Y, Yanai S, Takahashi K, <u>Ikehara S</u> .	Neuroprotective effects of granulocyte colony-stimulating factor on ischemia-reperfusion injury of the retina.	Ophthalmic Res.	48	199-207	2012

雑 誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	年号
Ueda Y, Katagiri K, Tomiyama T, Yasuda K, Habiro K, Katakai T, <u>Ikehara S</u> , Matsumoto M, Kinashi T.	Mst1 regulates integrin-dependent thymocyte trafficking and antigen recognition in the thymus.	Nat. Commun.	3	1098	2012
Li M, Vanella L, Zhang Y, Shi M, Takaki T, Shapiro JI, Ikehara S.	Stem cell transplantation increases antioxidant effects in diabetic mice	Int. J. Biol. Sci.	8	1335-1344	2012
Hasegawa-Ishii S, Shimada A, Inaba M, Li M, Shi M, Kawamura N, Takei S, Chiba Y, Hosokawa M, <u>Ikehara S</u> .	Selective localization of bone marrow-derived ramified cells in the brain adjacent to the attachments of choroid plexus.	Brain Behav. Immun.	29	82-97	2013
Shi M, Li M, Cui Y, Liu L, Adachi Y, <u>Ikehara S</u> .	CD4 <sup>+</sup> T cell-depleted lymphocyte infusion impairs neither the recovery of recipient thymus nor the development of transplanted thymus	J. Immunol.	190	2976-2983	2013
Li M, Shi M, Abraham NG, <u>Ikehara S</u> .	Improved expression of Sirt1 on thymic epithelial cells of SAMP1 after intra bone marrow-bone marrow transplantation.	Cell Transplant.			2013 Feb 26 [Epub ahead of print]
Shimo T, Adachi Y, Yamanouchi S, Tsuji S, Kimata T, Umezawa K, Okigaki M, Takaya J, <u>Ikehara S</u> , Kaneko K.	A novel nuclear factor kB inhibitor, dehydroxymethylepoxyquinomicin, Ameliorates puromycin aminonucleoside-induced nephrosis in mice.	Am. J. Nephrol.	37	302-309	2013
Li M, <u>Ikehara S</u> .	Bone-marrow-derived mesenchymal stem cells for organ repair.	Stem Cells Int.	2013	132642	2013

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	年号
Yamamoto Y, Tsuzuki S, Akahori Y, Ukai Y, Sumitomo M, Murayama Y, Yamamoto K, Inaguma Y, Tokuda M, Abe A, <u>Akatsuka Y</u> , Emi N, Kurosawa Y.	Isolation of human mAbs that directly modulate FMS-related tyrosine kinase 3 signaling.	Cancer Sci. (PMID: 22049994)	103	350-9	2012
Okanami Y, Tsujimura K, Mizuno S, Tabata M, Isaji S, <u>Akatsuka Y</u> , Kuzushima K, Takahashi T, Uemoto S.	Intracellular interferon- $\gamma$ staining analysis of donor-specific T-cell responses in liver transplant recipients.	Transplant Proc. (PMID: 22410067)	44	548-54	2012
Ochsenreither S, Majeti R, Schmitt T, Stirewalt D, Keilholz U, Loeb KR, Wood B, Choi YE, Bleakley M, Warren EH, Hudecek M, <u>Akatsuka Y</u>	Weissman IL, Greenberg PD. Cyclin-A1 represents a new immunogenic targetable antigen expressed in acute myeloid leukemia stem cells with characteristics of a cancer-testis antigen.	Blood. (PMID:22529286)	119	5492-501	2012
Tamanaka T, Oka Y, Fujiki F, Tsuboi A, Katsuhara A, Nakajima H, Hosen N, Nishida S, Lin YH, Tachino S, <u>Akatsuka Y</u> , Kuzushima K, Oji Y, Kumanogoh A, Sugiyama H.	Recognition of a natural WT1 epitope by a modified WT1 peptide-specific T-cell receptor.	Anticancer Res. (PMID: 23225417)	32	5201-5119	2012
Demachi-Okamura A, Torikai H, <u>Akatsuka Y</u> , Miyoshi H, Yoshimori T, Kuzushima K.	Autophagy creates a CTL epitope that mimics tumor-associated antigens.	PLoS One. (PMID: 22529286)	710	e47126	2012



雑 誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	年号
Kanda J, <u>Ichinohe T</u> , Saito T, Yamashita K, Kondo T, Ishikawa T, Ichiyama S, Uchiyama T.	Impact of discontinuing fluoroquinolone prophylaxis after allogeneic marrow or peripheral blood SCT with myeloablative conditioning.	Bone Marrow Transplant.	45(8)	1369-1371	2010
Hishizawa M, Kanda J, Utsunomiya A, Taniguchi S, Eto T, Moriuchi Y, Tanosaki R, Kawano F, Miyazaki Y, Masuda M, Nagafuji K, Hara M, Takanashi M, Kai S, Atsuta Y, Suzuki R, Kawase T, Matsuo K, Nagamura-Inoue T, Kato S, Sakamaki H, Morishima Y, Okamura J, <u>Ichinohe T</u> , Uchiyama T.	Transplantation of allogeneic hematopoietic stem cells for adult T-cell leukemia: a nationwide retrospective study.	Blood.	116(8)	1369-1376	2010
<u>Ichinohe T</u> .	Long-term fetal-maternal micro- chimerism revisited: microchimerism and tolerance in hematopoietic stem cell transplantation.	Chimerism.	1(1)	39-43	2010
Nagafuji K, Matsuo K, Teshima T, Mori S, Sakamaki H, Hidaka M, Ogawa H, Koderu Y, Kanda Y, Maruta A, Mori T, Yoshida F, <u>Ichinohe T</u> , Kasai M, Takatsuka Y, Kubo K, Sao H, Atsuta Y, Suzuki R, Yoshida T, Tsuchida M, Harada M.	Peripheral blood stem cell versus bone marrow transplantation from HLA-identical sibling donors in patients with leukemia: a propensity score-based comparison from the Japan Society for Hematopoietic Stem Cell Transplantation registry.	Int J Hematol.	91(5)	855-864	2010

雑 誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	年号
Kanda J, Mizumoto C, <u>Ichinohe T</u> , Kawabata H, Saito T, Yamashita K, Kondo T, Takakura S, Ichiyama S, Uchiyama T, Ishikawa T.	Pretransplant serum ferritin and C-reactive protein as predictive factors for early bacterial infection after allogeneic hematopoietic cell transplantation.	Bone Marrow Transplant.	46(2)	208-216	2011
Sato T, <u>Ichinohe T</u> , Kanda J, Yamashita K, Kondo T, Ishikawa T, Uchiyama T, Takaori-Kondo A.	Clinical significance of subcategory and severity of chronic graft-versus-host disease evaluated by National Institutes of Health consensus criteria.	Int J Hematol.	93(4)	532-541	2011
Kanda J, Hishizawa M, Utsunomiya A, Taniguchi S, Eto T, Moriuchi Y, Tanosaki R, Kawano F, Miyazaki Y, Masuda M, Nagafuji K, Hara M, Takanashi M, Kai S, Atsuta Y, Suzuki R, Kawase T, Matsuo K, Nagamura-Inoue T, Kato S, Sakamaki H, Morishima Y, Okamura J, <u>Ichinohe T</u> , Uchiyama T.	Impact of graft- versus-host disease on outcomes after allogeneic hematopoietic cell transplantation for adult T-cell leukemia: a retrospective cohort study.	Blood.	119(9)	2141-2148	2012

雑 誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	年号
Itamura H, Fukushima N, Kondo S, Urata C, Tanaka- Yoshimura M, Yokoo M, Ide M, Hisatomi T, Kubota Y, Sueoka E, <u>Ichinohe T</u> , Kimura S.	Successful reduced-intensity umbilical cord blood transplant for fulminant hemophagocytic syndrome in an adult with preexisting rheumatoid arthritis and autoimmune hemolytic anemia.	Leuk Lymphoma.	53(11)	2307-2309	2012
Kanda J, <u>Ichinohe T</u> , 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	on behalf of the 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.	27(2)	286-294	2013
Ito T, Akagi K, Kondo T, Kawabata H, <u>Ichinohe T</u> , Takaori-Kondo A.	Splenic irradiation as a component of a reduced-intensity conditioning for allogeneic hematopoietic cell transplantation in myelofibrosis with massive splenomegaly.	Tohoku J Exp Med.	228(4)	295-299	2012
Kanda J, Atsuta Y, Wake A, <u>Ichinohe T</u> , 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	HLA Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. Impact of the direction of HLA mismatch on transplantation outcomes in single unrelated cord blood transplantation.	Biol Blood Marrow Transplant.	19(2)	247-254	2013

雑 誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	年号
Sakamoto S, Kawabata H, Kanda J, Uchiyama T, Mizumoto C, Kondo T, Yamashita K, <u>Ichinohe T</u> , Ishikawa T, Kadowaki N, Takaori-Kondo A.	Differing impacts of pre- transplant serum ferritin and C-reactive protein levels on the incidence of chronic graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation.	Int J Hematol.	97(1)	109-16	2013
Kanda Y, Kanda J, Atsuta Y, Maeda Y, <u>Ichinohe T</u> , Ohashi K, Fukuda T, Koichi Miyamura K, Iida H, Mori T, Iwato K, Eto T, Kawa K, Morita S, <u>Morishima Y</u> .	Impact of a single HLA allele mismatch on the outcome of unrelated bone marrow transplantation over two time periods. A retrospective analysis of 3003 patients from the HLA Working Group of the Japan Society for Blood and Marrow Transplantation.	Br J Haematol			[Epub 2013 Mar 4]
Okada M, Yoshihara S, Taniguchi K, Kaida K, Ikegame K, Kato R, Tamaki H, Inoue T, Soma T, Kai S, Kato S, <u>Ogawa H</u> .	Intrabone marrow transplantation of unwashed cord blood using reduced-intensity conditioning treatment: a phase I study.	Biology of Blood and Marrow Transplantation	18 ( 4 )	633-639	2012
Ikegame K, Kaida K, Yoshihara S, Fujiwara M, Taniguchi K, Kato R, Inoue T, Fujioka T, Tamaki H, Okada M, Soma T, Kamikonya N, Saji H, Hirota S, <u>Ogawa H</u> .	Feasibility of unmanipulated haploidentical stem cell transplantation using standard GVHD prophylaxis for HLA-homozygous patients.	International Journal of Hematology	96 ( 1 )	101-108	2012

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	年号
Yoshihara S, Ikegame K, Kaida K, Taniguchi K, Kato R, Inoue T, Fujioka T, Tamaki H, Okada M, Soma T, <u>Ogawa H.</u>	Incidence of extramedullary relapse after haploidentical SCT for advanced AML/myelodysplastic syndrome.	Bone Marrow Transplantation	47 ( 5 )	669-676	2012
Yoshihara S, Ikegame K, Kaida K, Taniguchi K, Kato R, Inoue T, Fujioka T, Tamaki H, Okada M, Soma T, <u>Ogawa H.</u>	Incidence of extramedullary relapse after haploidentical SCT for advanced AML/myelodysplastic syndrome.	Bone Marrow Transplantation	47 ( 5 )	669-676	2012
Yoshihara S, Maruya E, Taniguchi K, Kaida K, Kato R, Inoue T, Fujioka T, Tamaki H, Ikegame K, Okada M, Soma T, Hayashi K, Fujii N, Onuma T, Kusunoki Y, Saji H, <u>Ogawa H.</u>	Risk and prevention of graft failure in patients with preexisting donor-specific HLA antibodies undergoing unmanipulated haploidentical SCT	Bone Marrow Transplantation	47 ( 4 )	508-515	2012
Yoshihara S, Ikegame K, Taniguchi K, Kaida K, Kim EH, Nakata J, Kato R, Inoue T, Fujioka T, Tamaki H, Okada M, Soma T, <u>Ogawa H.</u>	Salvage haploidentical transplantation for graft failure using reduced-intensity conditioning.	Bone Marrow Transplantation	47 ( 3 )	369-373	2012
Taniguchi K, Yoshihara S, Tamaki H, Fujimoto T, Ikegame K, Kaida K, Nakata J, Inoue T, Kato R, Fujioka T, Okada M, Soma T, <u>Ogawa H.</u>	Incidence and treatment strategy for disseminated adenovirus disease after haploidentical stem cell transplantation.	Ann Hematol	91 ( 8 )	1305-1312	2012

雑 誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	年号
Ikegame K, Yoshihara S, Taniguchi Y, Kaida K, Inoue T, Okada M, Taniguchi K, Hasei H, Tamaki H, Fujioka T, Kato R, Soma T, <u>Ogawa H.</u>	Allogeneic stem cell transplantation as treatment for heavily-treated, refractory acute graft-versus-host disease after HLA-mismatched stem cell transplantation.	Experimental Hematology	39 ( 8 )	880-890	2011
Okada M, Satake A, Kaida K, Taniguchi K, Yoshihara S, Ikegame K, Tamaki H, Soma T, Fujimori Y, <u>Ogawa H.</u>	Successful treatment with nilotinib after imatinib failure in a CML patient with a four-way Ph chromosome translocation and point mutations in BCR/ABL gene.	International Journal of Hematology	93 ( 2 )	243-246	2011
Taniguchi K, Okada M, Yoshihara S, Sawada A, Tokugawa T, Ishii S, Kaida K, Ikegame K, Minagawa K, Matsui T, <u>Ogawa H.</u>	Strategy for bone marrow transplantation in eculizumab-treated paroxysmal nocturnal hemoglobinuria.	International Journal of Hematology,	94 ( 4 )	403-407	2011
Satake A, Inoue T, Kubo S, Taniguchi Y, Imado T, Fujioka T, Horiuchi M, Xu Y, Ikegame K, Yoshihara S, Kaida K, Tamaki H, Okada M, Okamura H, <u>Ogawa H.</u>	Separation of antileukemic effects from graft-versus-host disease in MHC-haploidentical murine bone marrow transplantation: participation of host immune cells.	International Journal of Hematology	91 ( 3 )	485-497	2010

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	年号
Nishiwaki S, Inamoto Y, Sakamaki H, Kurokawa M, Iida H, <u>Ogawa H</u> , 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 (20)	4368-4375	2010
Asakura M, Ikegame K, Yoshihara S, Taniguchi S, Mori T, Etoh T, Takami A, Yoshida T, Fukuda T, Hatanaka K, Kanamori H, Yujiri T, Atsuta Y, Sakamaki H, Suzuki R, <u>Ogawa H</u>	Use of foscarnet for cytomegalovirus infection after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation from a related donor.	International Journal of Hematology	92(2)	351-359	2010
H Nishimori, Y Maeda, T Teshima, H Sugiyama, K Kobayashi, Y Yamasuji, S Kadohisa, H Uryu, K Takeuchi, T Tanaka, T Yoshino, Y Iwakura and M Tanimoto.	Synthetic retinoid Am80 ameliorates chronic graft-versus-host disease by down-regulating Th1 and Th17	Blood	119	285-295	2012
Teshima T, Maeda Y, Ozaki K.	Regulatory T cells and IL-17- producing cells in acute graft-versus-host disease.	Immunotherapy	3 (7)	833-52	2011
Mori S, Fujita S, Yamamoto Y, Li M, Fukuhara S, <u>Nomura S</u> , and Ikehara S.	Perfusion method for bone marrow cell collection in poor mobilizer lymphoma patient.	Int. J. Hematol.	93	822-824	2011

雑 誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	年号
Murase M, <u>Murata M</u> , et al.	Cytotoxic T-lymphocyte antigen 4 haplotype correlates with relapse and survival after allogeneic hematopoietic SCT.	Bone Marrow Transplant.	46(11)	1444-1449	2010
Waki F, Murata M, et al.	Feasibility of reduced-intensity cord blood transplantation as salvage therapy for graft failure: results of a nationwide survey of 80 adult patients.	Biol Blood Marrow Transplant.	17(6)	841-851	2011
Terakura S, Murata M, et al.	A prospective dose-finding trial using a modified continual reassessment method for optimization of fludarabine plus melphalan conditioning for marrow transplantation from unrelated donors in patients with hematopoietic malignancies.	Ann Oncol.	22(8)	1865-1871	2011
Katsumi A, Murata M, et al.	Virus-associated hemophagocytic syndrome caused by pandemic swine-origin influenza A (H1N1) in a patient after unrelated bone marrow transplantation.	J Clin Exp Hematop.	51(1)	63-65	2011
Nishiwaki S, Murata M, et al.	Dexamethasone palmitate successfully attenuates hemophagocytic syndrome after allogeneic stem cell transplantation: macrophage-targeted steroid therapy.	Int J Hematol.	95(4)	428-433	2012
Kato T, <u>Murata M</u> , et al.	Escape of leukemia blasts from HLA-specific CTL pressure in a recipient of HLA one locus-mismatched bone marrow transplantation.	Cell Immunol.	276	75-82	2012
Kamae C, Nakagawa N, Sato H, Honma K, Mitsuiki N, Ohara O, Kanegane H, Pasic S, Pan-Hammerstrom Q, van Zelm M.C., Morio T, Imai K, Nonoyama S.	Classification of common variable immunodeficiency by quantification of T cell receptor and Ig kappa-deleting recombination excision circles.	J. Allerg. Clin. Immunol.	49	01839-8	2012
Uchida Y, Matsubara K, Morio T, Kasawaki Y, Iwata A, Yura K, Kamimura K, Nigami H, Fukawya T.	Acute cerebellitis and concurrent encephalitis associated with parvovirus B19 infection.	Pediatr. Infect. Dis. J.	31	427	2012



雑 誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	年号
Morio T. Atsuta Y. Tomizawa D. Nagamura-Inoue T. Kato K. Ariga T. Kawa K. Koike K. Tauchi H. Kajiwara M. Hara T. Kato S.	Outcome of unrelated umbilical cord blood transplantation in 88patients with primary immunodeficiency in Japan.	Br. J. Haematol.	154	363-372	2011
Miyana M. Sugita S. Shimizu N. Morio T. Miyata K. Mochizuki M.	A significant association of viral loads with corneal endothelial cell damage in cytomegalovirus anterior uveitis.	Br J Ophthalmol.	94	344-340	2010



## V. 学会発表に関する一覧



学会発表に関する一覧

発表者氏名	演題名	学会名	会場	日時
石 明, 足立 靖, 池原 進.	「骨髄内骨髄移植と皮下 donor lymphocyte infusion の組み合わせによる効果」	第 99 回日本病理学会総会	東京	4 月 27 日 ~ 4 月 29 日
中村修二, 森 眞一郎, 池原 進	「ヒト灌流法のマニュアル」	厚生労働科学研究 免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業 平成 22 年度第 1 回合同班会議		7 月 3 日, 4 日
池原 進	「新しい骨髄移植方法の最新の知見と今後の見通し」	厚生労働科学研究 7 研究班 合同公開シンポジウム 厚生労働科学研究 免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業 平成 22 年度第 2 回合同班会議		1 月 29 日
池原 進	「灌流法により採取された骨髄細胞を用いた骨髄内骨髄移植療法: 基礎から臨床へ」	厚生労働科学研究 7 研究班 合同公開シンポジウム 厚生労働科学研究 免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業 平成 22 年度第 2 回合同班会議		1 月 30 日
足立 靖, 今井雄一郎, 石 明, 池原 進.	アポトーシス阻害薬 Z-VAD-fmk を用いた効率の良い骨髄内骨髄移植法.	第 100 回日本病理学会総会.	横浜	平成 23 年 4 月 28 日 ~ 平成 23 年 4 月 30 日
李 銘, 張玉明, 石明, 池原 進.	骨髄と胸腺の同時移植によるインスリン感受性の増加機序の解析—2 型糖尿病モデルマウスを用いて.	第 11 回日本抗加齢医学会総会.	京都	平成 23 年 5 月 27 日 ~ 平成 23 年 5 月 29 日
森 眞一郎, 野村昌作, 池原 進.	新しい骨髄採取方法(灌流法)のメリットと問題点.	厚生労働科学研究 免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業 平成 23 年度第 1 回造血細胞移植合同班会議.	名古屋	平成 23 年 7 月 2 日 ~ 7 月 3 日
LI Ming, SHI Ming, IKEHARA Susumu.	骨髄と胸腺の同時移植による 2 型糖尿病の治療 / Treatment of type 2 diabetes mellitus in db/db mice by intra-bone marrow-bone marrow transplantation plus thymus transplantation.	第 40 回日本免疫学会学術集会.	千葉	平成 23 年 11 月 27 日 ~ 平成 23 年 11 月 29 日
保坂直樹, 崔 雲澤, 石 明, 李 銘, 李清, 高橋伯夫, 池原 進.	白血病担癌マウスにおける成体胸腺移植を併用した IBM-BMT の効果 / Effects of IBM-BMT plus adult thymus transplantation on mice bearing leukemia.	第 40 回日本免疫学会学術集会.	千葉	平成 23 年 11 月 27 日 ~ 平成 23 年 11 月 29 日

## 学会発表に関する一覧

発表者氏名	演題名	学会名	会場	日時
植田祥啓, 片桐晃子, 富山 尚, 安田鐘樹, 羽廣克嘉, 片貝智哉, <u>池原 進</u> , 木梨達雄.	Mst1 キナーゼによる胸腺細胞動態と抗原認識の制御 / Mst1 regulates thymocyte trafficking and antigen recognition within thymic tissues.	第 40 回日本免疫学会学術集会.	千葉	平成 23 年 11 月 27 日 ~ 平成 23 年 11 月 29 日
串田剛俊, 飯田寛和, 森 眞一郎, 野村昌作, <u>池原 進</u> .	整形外科医からみた“灌流法の実際”.	厚生労働科学研究 免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業 平成 23 年度第 2 回造血細胞移植合同班会議	東京	平成 24 年 1 月 8 日 ~ 1 月 9 日
研究代表者 <u>池原 進</u> .	新しい移植法とはどんな法法？	厚生労働科学研究 免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業 平成 23 年度厚生労働科学研究免疫アレルギー等予防・治療研究事業/がん臨床研究事業 造血細胞移植研究 7 班合同公開シンポジウム.	東京	平成 24 年 1 月 9 日
研究代表者 <u>池原 進</u> .	灌流法により骨髓細胞を用いた骨髓内骨髓移植療法: 基礎から臨床へ.	平成 23 年度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(移植医療分野)研究報告会	東京	平成 24 年 1 月 17 日
<u>池原 進</u> , 李 銘, 石明.	移植技術を用いた難病の根治療法の開発.	平成 23 年度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(移植医療分野)研究報告会	東京	平成 24 年 1 月 17 日
保坂直樹, 高橋伯夫, <u>池原 進</u> .	胸腺移植を併用した新しい骨髓移植法の悪性腫瘍への効果 II: 胎生、新生、成体期の造血幹細胞と胸腺の比較.	第 101 回日本病理学会総会	東京	平成 24 年 4 月 26 日 ~ 平成 24 年 4 月 28 日
石井さなえ, 島田厚良, 稲葉宗夫, 河村則子, 武井史郎, 千葉陽一, 榎戸 靖, 河内 全, 細川昌則, <u>池原 進</u> .	骨髓由来免疫系細胞が健常脳に進入する新たな経路の骨髓内骨髓移植による組織学的同定.	第 101 回日本病理学会総会	東京	平成 24 年 4 月 26 日 ~ 平成 24 年 4 月 28 日
足立 靖, 下 智比古, 梅澤一夫, 金子一成, <u>池原 進</u> .	LPS 投与マウスにおける DHMEQ (NF- $\kappa$ B inhibitor) の効果.	第 101 回日本病理学会総会	東京	平成 24 年 4 月 26 日 ~ 平成 24 年 4 月 28 日

学会発表に関する一覧

発表者氏名	演題名	学会名	会場	日時
石 明、嶋千絵子、足立 靖、南野桂三、高橋寛二、 <u>池原 進</u> 。	マグネット・ビーズを用いた骨髄内骨髄移植法。	第 101 回日本病理学会総会	東京	平成 24 年 4 月 26 日～平成 24 年 4 月 28 日
足立 靖、松添弘樹、川田交俊、高津宏樹、生田寿彦、石田明彦、中野麗香、山内莊作、下 智比古、 <u>池原 進</u> 。	巨大右心房内血栓症から両肺の肺動脈血栓塞栓症をきたした 1 例	第 58 回日本病理学会秋期特別総会	名古屋	平成 24 年 11 月 22 日～平成 24 年 11 月 23 日
LI Ming, LI Ming, SHI Ming, <u>Ikehara Susumu</u> 。	Bone marrow transplantation improved SMP30 expression in the liver of type II diabetes mice.	第 41 回日本免疫学会学術集会	神戸	平成 24 年 12 月 5 日～平成 24 年 12 月 7 日
石井さなえ、島田厚良、稲葉宗夫、李銘、石明、河村則子、武井史郎、千葉陽一、榎戸靖、河内全、細川昌則、 <u>池原進</u>	骨髄由来免疫系細胞が健常脳に進入する新たな経路：骨髄内骨髄移植による組織学的同定。	第 53 回日本神経病理学会	新潟	2012.6.30.
島田厚良、石井さなえ、稲葉宗夫、李銘、石明、河村則子、武井史郎、千葉陽一、榎戸靖、河内全、細川昌則、 <u>池原進</u>	老化促進モデルマウスにみられる骨髄由来細胞の脳実質へのリクルートの亢進。	第 53 回日本神経病理学会	新潟	2012.6.30.
足立 靖、下智比古、山内壯作、沖垣光彦、梅澤一夫、石明、金子一成、 <u>池原進</u> 。	微小糸球体病変モデルマウスに対する NF-κB 阻害薬 DHMEQ の効果。	第 102 回日本病理学会総会	札幌	平成 25 年 6 月 6 日～平成 25 年 6 月 8 日
李 銘、石 明、 <u>池原進</u> 。	SAMP10 マウスの胸腺上皮細胞における Sirt1 発現についての検討 骨髄内骨髄移植を用いて	第 13 回日本抗加齢医学会総会	横浜	平成 25 年 6 月 28 日～平成 25 年 6 月 30 日
Q. Li, H. Hisha, T. Takaki, Y. Adachi, M. Li, J. Kato, M. Inaba, N. Hosaka, M. Maki, <u>S. Ikehara</u>	「Transformation potential of bone marrow stromal cells into undifferentiated high grade pleomorphic sarcoma」	14 <sup>th</sup> International Congress of Immunology	Kobe, Japan	August 23, 2010 ~ August 27, 2010
Y. Cui, S. Nakamura, M. Shi, Q. Li, M. Li, <u>S. Ikehara</u>	「Prevention of premature ovarian failure and osteoporosis induced by irradiation using allogeneic ovarian/ bone marrow transplantation」	14 <sup>th</sup> International Congress of Immunology	Kobe, Japan	August 23-27, 2010

## 学会発表に関する一覧

発表者氏名	演題名	学会名	会場	日時
M. Shi, Y. Adachi, Y. Cui, M. Li, Q. Li, S. Yanai, <u>S. Ikehara</u>	「Intra-bone marrow injection of donor bone marrow cells suspended in collagen gel retains injected cells in bone marrow, resulting in rapid hemopoietic recovery in mice」	14 <sup>th</sup> International Congress of Immunology		
M. Li, M. Inaba, S. Hoshino, K. Okazaki, N. Abraham, <u>S. Ikehara</u>	「Amelioration of cognitive ability in senescence-accelerated mouse prone 8 (SAMP 8) by intra-bone marrow-bone marrow transplantation」	14 <sup>th</sup> International Congress of Immunology	Kobe, Japan	August 23-27, 2010
<u>S. Ikehara</u>	「A novel BMT technique for the treatment of various currently intractable diseases: From bench to bedside」	6 <sup>th</sup> International Symposium: Haploidentical Stem Cell Transplantation. 招聘講演	Jerusalem, Israel	September 12-14, 2010
S. Ikehara. 代理で M. Li が発表	「Factors involved in aging: mesenchymal stem cells and thymus」	Multidisciplinary Conference: Lifestyle and Ageing 招聘講演	Pisa, Italy	October 4-5, 2010
M. Li, M. Shi, N.G. Abraham, <u>S. Ikehara</u>	「Amelioration of cognitive ability in senescence-accelerated mouse prone 8 (SAMP 8) by intra-bone marrow-bone marrow transplantation」	Multidisciplinary Conference: Lifestyle and Ageing	Pisa, Italy	October 4-5, 2010
<u>S. Ikehara</u>	「A revolutionary therapy for the treatment of disorders of hemopoietic stem cells (HSCs) and/or mesenchymal stem cells (MSCs)」	The Fourth International Conference on Cell Therapy 招聘講演	Seoul, Korea	November 11, 2010
<u>Susumu Ikehara</u>	Autoimmune diseases as stem cell disorders: Rationale for normal stem cell transplantation for their treatment.	The 5 <sup>th</sup> Autoimmunity Congress Asia (ACA 2011). 招聘講演	November 17-19, 2011.	Singapore
Ming Li, Ming Shi, <u>Susumu Ikehara</u>	Improved SMP30 expression in the liver of diabetic mice by stem cell Transplantation. KEYSTONE SYMPOSIA on Molecular and Cellular Biology	Aging and Diseases of Aging	Tokyo, Japan	October 22-27, 2012
Ming Li, <u>Susumu Ikehara</u>	Prospects for bone marrow transplantation in tolerance induction of organ transplantation.	7 <sup>th</sup> Five-Continent International Symposium on Cardiovascular Disease 招聘講演	Beijing, Cjina	April 19-April 21, 2013.
Sanae Hasegawa-Ishii, Atsuyoshi Shimada, Muneo Inaba, Ming Li, Ming Shi, Noriko Kawamura, Shiro Takei and <u>Susumu Ikehara</u>	Intra bone marrow procedure facilitates entry of transplanted bone marrow cells through the tenia of choroid plexus into brain parenchyma.	19 <sup>th</sup> Annual Meeting of The PsychoNeuroImmunology	San Diego	2012.6.7



## 学会発表に関する一覧

発表者氏名	演題名	学会名	会場	日時
Atsuyoshi Shimada, Sanae Hasegawa-Ishii, Muneo Inaba, Ming Li, Ming Shi, Noriko Kawamura, Shiro Takei and <u>Susumu Ikehara</u>	Enhanced recruitment of bone marrow-derived cells into the brain parenchyma in senescence-accelerated mice.	19 <sup>th</sup> Annual Meeting of The PsychoNeuroImmunology	San Diego	2012.6.7
Sanae Hasegawa-Ishii, Atsuyoshi Shimada, Muneo Inaba, Ming Li, Ming Shi <sup>5</sup> , Shiro Takei, <u>Susumu Ikehara</u>	Selective localization of bone marrow-derived ramified cells in the brain adjacent to the attachments of choroid plexus.	20th Annual PNIRS Scientific Meeting	Stockholm, Sweden	June 5-8, 2013
<u>Akatsuka Y</u> , Yamamura Y, Bleakley M, Hikita J, Hamajima T, Nannya Y, Matsubara A, Riddell SR, Takahashi T, Kuzushima K, Ogawa S.	Identification of novel minor histocompatibility antigens using HAPMAP EBV-LCL panels transduced with restricting HLA cDNA retrovirally .	第 16 回日本遺伝子治療学会総会 (ポスター #147) The 16th Annual Meeting-JSGT2010, 2010.	宇都宮	2010 年 7 月 1 日
小川誠司, 松原亜以子, 鬼塚真, 柏瀬貢一, 真田昌, 南谷泰仁, <u>赤塚美樹</u> , 佐竹正博, 千葉滋, 佐治博夫, 丸谷悦子, 猪子英俊, 森島泰雄, 小寺良尚, 笹月健彦 .	MHC と疾患 GWAS の手法による同種造血幹細胞移植の遺伝学的背景の探索 .	第 13 回日本組織適合性学会大会 (口演) MHC: Major Histocompatibility Complex 17 巻 2 号, 141, 2010.	東京	2010 年 9 月 18 日
Yamamura T, Bleakley M, Hikita J, Matsubara A, Hamajima T, Nannya Y, Takahashi T, Emi N, Morishima Y, Kodera, Y Kuzushima K, Riddell SR, Ogawa S, <u>Akatsuka Y</u> .	Development of an Online Tool to Scan Single Nucleotide Polymorphisms for Identification of Novel Minor Histo-compatibility Antigens.	第 17 回 BMT Tandem Meetings (ポスター #508) Biology of Blood and Marrow Transplantation. 17(2) Suppl.1, pp S335, 2011.	ハワイ	2011 年 2 月 19 日

## 学会発表に関する一覧

発表者氏名	演題名	学会名	会場	日時
<u>Akatsuka Y.</u>	Characterization And Clinical Application of Minor Histocompatibility Antigens.	The 15th Annual Winter Meeting of the Korean Society of Blood and Marrow Transplantation (Plenary session) The Korean Journal of Hematology 46(suppl) pp10, 2011.	Muju Resort	Feb 25, 2011.
赤塚美樹	マイナー組織適合抗原の重要性.	第 33 回日本造血細胞移植学会(シンポジウム2) 日本造血細胞移植学会総会プログラム・抄録集 pp164, 2011.	松山	2011 年 3 月 9 日
赤塚美樹、山村武史、Bleakley Marie、疋田潤哉、濱島剛、南谷泰仁、松原亜以子、Riddell Stanley、恵美宣彦、小寺良尚、森島泰雄、小川誠司.	HapMap 資源を利用したマイナー組織適合抗原に関わる SNP 同定のためのオンラインソフトの開発.	第 33 回日本造血細胞移植学会(ポスター PS2-128) 日本造血細胞移植学会総会プログラム・抄録集 pp336, 2010.	松山	2011 年 3 月 10 日
赤塚美樹、森島泰雄、田地浩史、山本一仁、宮村耕一、高橋利忠、小寺良尚、恵美宣彦、葛島清隆.	同種移植後再発予防・治療を目的としたマイナー抗原ワクチン臨床試験(中間報告)(口演 #39).	第 15 回日本がん免疫学会総会 日本がん免疫学会総会プログラム・抄録集 pp17, 2011.	大阪	2011 年 6 月 30 日
赤塚美樹、森島泰雄、田地浩史、山本一仁、宮村耕一、高橋利忠、小寺良尚、恵美宣彦、葛島清隆.	同種移植後再発予防・治療を目的としたマイナー抗原ワクチン臨床試験の中間報告.	第 3 回造血器腫瘍免疫療法研究会学術集会(口演)	別府	2011 年 8 月 21 日
岡村文子、鳥飼宏基、 <u>赤塚美樹</u> 、三好浩之、吉森 保、葛島清隆.	隣がん細胞における恒常的高活性オートファジーによる CTL エピト - プの産生	第 70 回日本癌学会学術総会(ポスター, #3204) 日本がん免疫学会総会プログラム・抄録集 pp499, 2011.	熊本	2011 年 10 月 5 日
赤塚美樹、松原亜以子、南谷泰仁、森島泰雄、高橋利忠、葛島清隆、小川誠司、恵美宣彦.	マイナー組織適合抗原をコードする一塩基多型のオンライン検索ツール	第 70 回日本癌学会総会(ポスター, P-1444) 日本癌学会総会プログラム・抄録集 pp204, 2011.	大阪	2011 年 10 月 3 日

## 学会発表に関する一覧

発表者氏名	演題名	学会名	会場	日時
<u>Akatsuka Y.</u> , Yamamura T, Bleakley M, Hikita J, Matsubara A, Hamajima T, Nannya Y, Morishima Y, Kodera Y, Riddell SR, Ogawa S, Emi N.	An online tool to scan single nucleotide polymorphisms for identification of novel minor antigens.	第 73 回日本血液学会学術集会(ポスター #PS1-262) 臨床血液抄録集 pp204, 2011.	名古屋	2011 年 10 月 14 日
Yukiya Yamamoto, Sachiko Tsuzuki, Yasushi Akahori, Yoshinori Ukai, Mariko Sumitomo, Masutaka Tokuda, Tadaharu Kanie, Akihiro Abe, <u>Yoshiki Akatsuka</u> , <u>Yoshikazu Kurosawa</u> , Nobuhiko Emi.	Isolation of human monoclonal antibodies directly modulating FLT3 signaling.	第 73 回日本血液学会学術集会(ポスター #PS2-284) 臨床血液抄録集 pp584, 2011.	名古屋	2011 年 10 月 15 日
赤堀 泰, 赤塚美樹, 葛島清隆, 恵美宣彦	HLA-A*02:01 拘束性に提示されたマイナー抗原 HA-1H ペプチドを認識する抗体の単離	第 4 回造血器腫瘍免疫療法研究会 プログラム抄録集抄録集 pp64.	金沢	H24 年 8 月 18 日
赤堀 泰, 稲熊容子, 赤塚美樹, 山本幸也, 村山裕子, 伊庭佐知子, 遠藤明美, 平松可帆, 葛島清隆, 恵美宣彦.	HLA-A2 拘束性に提示されたマイナー抗原 HA-1H ペプチドを認識する抗体の単離とその臨床応用に向けての検討(口演 11-3).	第 35 回日本造血細胞移植学会 日本造血細胞移植学会総会プログラム・抄録集 pp202.	金沢	2013 年 3 月 8 日
<u>Yoshiki Akatsuka</u> , Hirofumi Taji, Yasuo Morishima, Koichi Miyamura, Yoshihisa Kodera, Nobuhiko Emi, Toshitada Takahashi, Tomohiro Kinoshita, Kiyotaka Kuzushima.	Vaccination With Minor Histocompatibility Antigen-Derived Peptides In Post-Transplant Patients With Hematological Malignancies - Preliminary Results.	2nd International Workshop on the Biology, Prevention, and Treatment of Relapse After Hematopoietic Stem Cell Transplantation. Abstract P-11 (pp34).	NIH Bethesda, MD, USA.	2012 年 11 月 6 日
下嶋典子, 吉岡 聡, 菱澤方勝, 大森勝之, Geraghty DE, 二戸辰夫, 石谷昭子.	成人 T 細胞白血病ウイルス感染細胞株における HLA-F の発現解析.	第 19 回日本組織適合性学会	東京	2010 年 9 月 17 - 19 日

## 学会発表に関する一覧

発表者氏名	演題名	学会名	会場	日時
吉岡 聡、 <u>一戸辰夫</u> 、 下嶋典子、菱澤方 勝、大森勝之、 Geraghty DE、石谷昭 子、高折晃史。	成人 T 細胞白血病ウイルス感染者の T 細胞 表面における HLA-F の発現についての検討	第 20 回日本組織適合性学 会	静岡	2011 年 8 月 28 - 30 日
吉岡 聡、 <u>一戸辰夫</u> 、 下嶋典子、菱澤方 勝、大森勝之、 Geraghty DE、石谷昭 子、高折晃史。	成人 T 細胞白血病ウイルス感染者の末梢血 T 細胞における HLA-F の表面発現分画につい ての検討	第 21 回日本組織適合性学 会	東京	2012 年 9 月 15 - 17 日
<u>Ichinohe T.</u>	Microchimerism-associated toler- ance to noninherited maternal antigens (NIMAs) reduces severity of GVHD after MHC- mismatched hematopoietic cell trans- plantation by a CD4+CD25+ T-cell-dependent mechanism.	The 16th Annual Summer Meeting of the Korean Society of Blood and Marrow Transplantation.	Busan, Korea	August 19, 2011.
<u>Ichinohe T</u>	Emerging roles of non-inherited maternal alloantigens (NIMAs) and inherited paternal alloantigens (IPAs) in HLA- mismatched hematopoietic cell transplantation.	The Joint Meeting of the 17th International Symposium on Gnotobiology and the 34th Congress of the Society for Microbial Ecology and Disease.	Yokohama, Japan	November 21, 2011.
Iida M, Kanda Y, Toubai T, Nakase K, Mitamura M, Kanda J, Fukuda T, Miyamura K, Kanamori H, Mori T, Iida H, Atsuta Y, Morishima Y, Sakamaki H, <u>Ichinohe T</u>	on behalf of the Hematopoietic Stem Cell Transplantation from Foreign Donors Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation (JSHCT). Unrelated Hematopoietic Stem Cell Transplantation from Foreign Donors: Current Status in Japan.	16th Congress of Asia Pacific Blood and Marrow Transplantation	Sydney, Australia.	October 30-31, 2011
<u>Ichinohe T</u> , Iida M, Kanda Y, Kimura F, Toubai T, Nakase K, Mitamura M, Kanda J, Fukuda T, Miyamura K, Kanamori H, Mori T, Iida H, Atsuta Y, Morishima Y, Sakamaki H	Hematopoietic Stem Cell Transplantation from Foreign Donors Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. Outcomes of hematopoietic cell transplantation from overseas unrelated donors are comparable to bone marrow or cord blood transplantation from domestic unrelated donors: a retrospective matched-pair cohort Study.	17th Congress of Asia Pacific Blood and Marrow Transplantation	Hyderabad, India	October 26-28, 2012

## 学会発表に関する一覧

発表者氏名	演題名	学会名	会場	日時
<u>Ichinohe T</u> , Kanda J, Inagaki J, Inoue M, Koh K, Kikuta A, Yabe H, Tanaka J, Atsuta Y, Kanda Y	on behalf of the HLA Working Group of the Japan Society for Blood and Marrow Transplantation. Impact of parental donor type on outcomes after HLA-matched and HLA-mismatched T-cell-replete hematopoietic cell transplantation for patients with leukemia: A retrospective cohort study.	54th Annual Meeting of the American Society of Hematology	Atlanta, GA, U.S.A.	December 9, 2012
Yoshioka S, Miura Y, Yao H, Hayashi Y, Tamura A, <u>Ichinohe T</u> , Hirai H, Takaori-Kondo A, Maekawa T.	Expression of C/EBP $\beta$ in bone marrow mesenchymal stem cells is mandatory for early stage B cell lymphopoiesis.	The 54th Annual Meeting of the American Society of Hematology.	Atlanta, U.S.A.	December 10, 2012.
Okada M, Fujimori Y, Oku N, Tamekane A, Takafuta T, Nakajima T, Tokugawa T, Sawada A, Ishii S, Kaida K, Ikegame K, Soma T, <u>Ogawa H</u> .	FDG-PET/CT early after 90Y-ibritumomab tiuxetan therapy predicts outcome in relapsed or refractory indolent B-cell lymphoma.	The 54th annual meeting of the American Society of Hematology	Atlanta, USA.	2012, 12.8-11
Ishii S, Ikegame K, Kaida K, Yoshihara S, Okada M, Kato R, Inoue T, Tamaki H, Fujimori Y, Soma T, <u>Ogawa H</u> .	A novel regimen of unmanipulated HLA-haploidentical transplantation using a small dose of anti-T-lymphocyte globulin for patients in high tumor burden.	The 54th annual meeting of the American Society of Hematology	Atlanta, USA.	2012, 12.8-11
Ikegame K, Taniguchi Y, Yoshihara S, Kaida K, Taniguchi K, Ishii S, Inoue T, Kato R, Okada M, Tamaki H, Fujioka T, Soma T, <u>Ogawa H</u> .	From murine model to clinical trial of graft-versus-GVHD, a second transplantation from another donor for the rescue from refractory acute GVHD.	2013 Tandem BMT Meetings	Salt Lake City, USA.	2013, 2.13-17
Shinichi Ishii, Kazuhiro Ikegame, Katsuji Kaida, Ruri Kato, Takayuki Inoue, Satoshi Yoshihara, Masaya Okada, Toshihiro Soma, <u>Hiroyasu Ogawa</u>	HLA-haploidentical myeloablative stem cell transplantation using anti-T-lymphocyte globulin	第 74 回日本血液学会学術集会	京都	2012 年 10 月 20 日

## 学会発表に関する一覧

発表者氏名	演題名	学会名	会場	日時
Masaya Okada, Naohiko Oku, Akira Tamegane, Toshiro Takafuta, Toshiyuki Nakajima, Tazuko Tokugawa, Akihiro Sawada, Shinichi Ishii, Katsuji Kaida, Kazuhiro Ikegame, Toshihiro Soma, Yoshihiro Fujimori, <u>Hiroyasu Ogawa</u>	FDG-PET/CT early after Zevalin therapy predicts outcome in relapsed indolent B-cell lymphoma	第 74 回日本血液学会学術 集会	京都	2012 年 10 月 21 日
<u>池亀和博, 海田勝 仁, 石井慎一, 吉原 哲, 谷口享子, 加藤る り, 井上貴之, 岡田昌 也, 相馬俊裕, 小川 啓恭.</u>	血縁 HLA 半合致ミニ移植 (haplo-mini) の他施 設前向き臨床試験 (第□/□相試験)	第 35 回日本造血細胞移植 学会総会	金沢	2013.3
<u>Ogawa H</u>	Haplo-identical HCT from family members. Haplo-identical HCT from family members.	The 1st international scientific symposium on hematopoietic stem cell transplantation in emerging countries.	Hanoi, Bietnam.	2011, 11.10- 12
<u>Ogawa H</u>	(JSA-EHA Joint Symposium – Stem Cell Source) Unmanipulated HLA-haploidentical stem cell transplantation	第 73 回日本血液学会学術 集会	名古屋	2011.10.15
井上貴之、池亀和 博、吉原 哲、海田勝 仁、谷口享子、玉置 広哉、藤岡龍哉、岡 田昌也、加藤るり、山 本庸子、相馬俊裕、 <u>小川啓恭</u>	Host regulatory T cells contribute to the regulation of GVHD in murine MHC haploidentical BMT models	第 73 回日本血液学会学術 集会	名古屋	2011.10.14
Kaida K, Ikegame K, Yoshihara S, Taniguchi K, Ishii S, Kato R, Inoue T, Okada M, Tamaki H, Fujioka T, Soma T, <u>Ogawa H.</u>	Unmanipulated HLA-haploidentical (2-3 antigen-mismatched) stem cell transplantation using myeliablative or reduced-intensity preconditioning regimen.	The 53th annual meeting of the American Society of Hematology	San Diego, USA.	2011, 12.10- 13
	Presidential Symposium, Cord blood stem cell transplantation: from the bench to the bed, Intra- bone marrow transplantation of unwashed cord blood using reduced-intensity conditioning treatment.	第 34 回日本造血細胞移植 学会	大阪	2012.2.24

## 学会発表に関する一覧

発表者氏名	演題名	学会名	会場	日時
Ikegame K, Yoshihara S, Kaida K, Taniguchi K, Kato R, Nakata J, Okada M, Tamaki H, Taniguchi Y, Fujioka T, Satake A, Inoue T, Soma T, <u>Ogawa H.</u>	Unmanipulated haploidentical stem cell transplantation using myeloablative or reduced-intensity preconditioning regimen.	2011 BMT Tandem Meetings		2011
Inoue T, Ikegame K, Yoshihara S, Kaida K, Taniguchi K, Tamaki H, Fujioka T, Okada M, Kato R, Yamamoto Y, Soma T, <u>Ogawa H.</u>	Mechanism of marked reduction in the severity of graft-versus-host disease by reduced-intensity conditioning in murine MHC-haploidentical BMT model.	The 52th annual meeting of the American Society of Hematology	Orlando	2010
R. Kato, H. Tamaki, K. Ikegame, S. Yoshihara, K. Kaida, T. Inoue, J. Nakata, K. Taniguchi, T. Fujioka, M. Okada, <u>H. Ogawa.</u>	One-HLA-antigen-mismatched related hematopoietic stem- cell transplantation using graft-versus-host disease prophylaxis with methylpredonisolone.	The 15th Congress of Asia-Pacific Blood and Marrow Transplantation	Phuket Thailand.	2010, 10. 29-31
Yoshihara S, Maruya E, Kaida K, Taniguchi K, Kato R, Inoue T, Fujioka T, Ikegame K, Tamaki H, Okada M, Soma T, Kusunoki K, Hayashi Y, Saji H, <u>Ogawa H</u>	High risk of graft rejection in cases with HLA anitibodies undergoing haploidentical SCT without TCD	第 72 回日本血液学会学術集会	横浜	2010 年 9 月 25 日(plenary)
山筋好子、前田嘉信、西森久和、杉山暖子、小林孝一郎、門久幸代、近藤英生、藤井伸治、 <u>品川克至</u> 、 <u>金蔵拓郎</u> 、 <u>谷本光音</u>	骨髓内骨髓移植は Idiopathic pneumonia syndrome の発症を予防する	日本血液学会総会		2011/10/15
西森久和、前田嘉信、杉山暖子、小林孝一郎、山筋好子、門久幸代、谷本光音、竹内賢吾	ドナーの Th17 細胞と Th1 細胞が慢性 GVHD 発症に関与する	第 33 回日本造血細胞移植学会総会		2011/3

## 学会発表に関する一覧

発表者氏名	演題名	学会名	会場	日時
Y Yamasuji, H Nishimori, M Fujii, H Sugiyama, K Kobayashi, S Kadohisa, E Kondo, <u>K Shinagawa</u> , K Mominoki, T Kanekura, M Tanimoto, Y Maeda.	Prevention of Idiopathic Pneumonia Syndrome by Intra-bone Marrow Injection of Donor Cells.	ASBMT tandem meeting		2011/2
Nishimori H, Maeda Y, Teshima T, Sugiyama H, Kobayashi K, Yamasuji Y, Kadohisa S, Uryu H, Takeuchi K, Tanaka T, Yoshino T, Iwakura Y, and Tanimoto M.	Donor Th17 and Th1 contribute to chronic graft-versus-host disease	ASBMT tandem meeting		2011/2
Y Yamasuji, H Nishimori, H Sugiyama, K Kobayashi, S Okamoto, E Kond, N Fujii, <u>K Shinagawa</u> , T Kanekura, M Tanimoto and Y Maeda.	Prevention of idiopathic pneumonia syndrome by intra-bone marrow injection of donor cells.	American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition.		2011/12
Hideaki Fujiwara, Koichiro Kobayashi, Hisakazu Nishimori, Masaaki Nishinohara, Sachiyo Okamoto, Kenichi Matsuoka, Eisei Kondo, Nobuharu Fujii, <u>Katsuji Shinagawa</u> , Mitsune Tanimoto and Yoshinobu Maeda.	B7H1 expression on recipient regulate the frequency of IL-17+ IFN $\gamma$ + T cells and contribute to the pathogenesis of cGVHD.	ASBMT tandem meeting.		2013
Nishida T, <u>Murata M</u> , et al.	Generation of CMV antigen specific CTL using closed culture system.	第 72 回日本血液学会総会	横浜	2010 年 9 月
Kato T, <u>Murata M</u> , et al.	Exhaustion of CMV specific T cells with enhanced PD-1 expression in persistent cytomegalovirus infection after allogeneic stem cell transplantation.	The 52nd Annual Meeting of the American Society of Hematology	Orlando, Florida.	December 2010
<u>村田 誠</u>	教育講演:造血幹細胞移植.	第 19 回日本組織適合性学会大会	東京	2010 年 9 月



## 学会発表に関する一覧

発表者氏名	演題名	学会名	会場	日時
Kato T, <u>Murata M</u> , et al.	Exhaustion of cytomegalovirus specific T cells after allogeneic stem cell transplantation.	第 73 回日本血液学会総会	名古屋	2011 年 10 月
Kato T, <u>Murata M</u> , et al.	Leukemia Escape From HLA-Specific T Lymphocyte Pressure in a Recipient of HLA One Locus- Mismatched Bone Marrow Transplantation.	The 53rd Annual Meeting of the American Society of Hematology	San Diego, California.	December 2011
Oshima K, <u>Murata M</u> , et al.	The effect of sex mismatch on outcome in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation.	2012 BMT Tandem Meetings	San Diego, California.	February 2012.
<u>村田 誠</u> , 他	Grade II 以上の急性 GVHD の対する治療成績: TRUMP データを用いた解析.	第 34 回日本造血細胞移植学会総会	大阪	2012 年 2 月
<u>Murata M</u> , et al	Clinical factors predicting the response of acute graft-versus-host disease to corticosteroid therapy.	54th ASH Annual Meeting and Exposition	Atlanta	Dec 2012
Nakane T, <u>Murata M</u> , et al.	Older age increases non-relapse mortality in patients with grade II-IV acute GVHD after allogeneic hematopoietic cell transplantation: A retrospective analysis from the Japanese TRUMP database.	54th ASH Annual Meeting and Exposition	Atlanta	Dec 2012.
Kato K, <u>Murata M</u> , et al.	The impact of ATG/ALG in preconditioning on the allogeneic stem cell transplantation for patients with acute leukemia.	54th ASH Annual Meeting and Exposition	Atlanta	Dec 2012.
<u>Morio T</u> , Tomizawa D, Atsuta Y, Nagamura T, Kato K, Ariga T, Kawa K, Koike K, Tauchi H, Kajiwara M, Hara S, and Kato S.	Unrelated umbilical cord blood transplantation for patients with primary immunodeficiency in Japan.	The 52nd ASH Annual Meeting.	Orlando, Florida, USA.	December 2010.
<u>Morio T</u> , Tomizawa D, Atsuta Y, Nagamura T, Kato K, Ariga T, Kawa K, Koike K, Tauchi H, Kajiwara M, Hara S, and Kato S.	Unrelated umbilical cord blood transplantation for patients with primary immunodeficiency in Japan.	XIVth meeting of the European Society for Immunodeficiencies.	Isutambul, Republic of Turkey.	October 2010.
<u>Morio T</u>	臍帯血移植における免疫モニタリングと T 細胞免疫療法 Immunomonitoring and T-cell immunotherapy in CBT.	第 2 回 韓国 - 日本 臍帯血移植シンポジウム The Second Korea-Japan Cord Blood Transplantation Symposium.	Yokohama, Japan.	September 2010.
<u>森尾友宏</u>	再生医療・細胞治療領域で問題となる微生物のモニタリング	第 60 回日本ウイルス学会 学術集会 (シンポジウム)	大阪	2012 年 11 月 13 日-11 月 15 日

## 学会発表に関する一覧

発表者氏名	演題名	学会名	会場	日時
森尾友宏	「医療機関における自家細胞・組織を用いた再生・細胞医療の実施について」:免疫細胞療法における指針及び治療の現状と展望	第 60 回日本輸血細胞治療学会(シンポジウム)	福島	2012 年 5 月 27 日
森尾友宏	原発性免疫不全症候群に対する造血幹細胞移植療法	第 3 回移植後キメラ解析研究会	埼玉	2011 年 10 月 21 日
森尾友宏、寺田尚美、大川哲平、遠藤明史、小野敏明、富澤大輔、高木正稔、長澤正之、大山敦、峯岸志津子、新井文子、中川紀子、今井耕輔、野々山恵章、水谷修紀	造血細胞移植後の B・T 細胞新生と機能の評価 Evaluation of B/T cell neogenesis and T cell function following hematopoietic cell transplantation	第 33 回日本造血細胞移植学会	愛媛	2011 年 3 月 10 日
森尾友宏	造血細胞移植後のウイルスモニタリングと感染制御	第 11 回血液細胞療法フォーラム	大阪	2010 年 10 月 16 日



VI. 研究成果による特許権等の  
知的財産権の出願・登録状況



研究成果による特許権等の知的財産権の出願・登録状況

種 類	受付（識別）番号	出願日
国内特許	発明の名称：骨髄ドリル 発明人：池原進、白藤泰司、中村修二、下田信夫、佐渡克行 国：日本 特許取得日：2010.09.03 特許番号：4576587	2007.01.23
国外特許	発明の名称：骨髄細胞の採取装置及び骨髄針「BONE MARROW HARVESTING SET AND BONE MARROW HARVESTING NEEDLE」 発明人：池原進、中村修二、青木正人、沼澤正明、足立正一 国：カナダ 特許取得日：2010.07.13 特許番号：2454600	2002.08.08
国外特許	発明の名称：骨髄細胞の採取装置及び骨髄針「BONE MARROW HARVESTING SET AND BONE MARROW HARVESTING NEEDLE」 発明人：池原進、中村修二、青木正人、沼澤正明、足立正一 国：欧州（ベルギー、ドイツ、スペイン、フランス、イギリス、イタリア、スウェーデン） 特許取得日：2010.10.06 特許番号：1421907	2002.08.08
国外特許	発明の名称：骨髄細胞の採取装置及び骨髄針「BONE MARROW HARVESTING SET AND BONE MARROW HARVESTING NEEDLE」 発明人：池原進、中村修二、青木正人、沼澤正明、足立正一 国：インド 特許取得日：2010.11.23 特許番号：244204	2004.01.28
国外特許	発明の名称：骨髄細胞の採取装置及び骨髄針「BONE MARROW HARVESTING SET AND BONE MARROW HARVESTING NEEDLE」 発明人：池原進、中村修二、青木正人、沼澤正明、足立正一 国：メキシコ 特許取得日：2011.01.13 特許番号：282792	2004.02.06

