

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業
(免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業 移植医療研究分野)

HLA 不適合血縁者間移植の安全性および有効性向上
のための包括的研究

平成 25 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 神田 善伸

平成 26 年 (2014) 3 月

目 次

・ 総括研究報告

- HLA 不適合血縁者間移植の安全性および有効性向上のための包括的研究
自治医科大学附属さいたま医療センター 血液科 神田善伸 ----- 3

・ 分担研究報告

1. アレムツズマブを用いた HLA 不適合移植の開発・腫瘍・感染症特異的免疫の研究
自治医科大学附属さいたま医療センター 血液科 神田 善伸 ----- 19
 2. 多剤併用 GVHD 予防による HLA 不適合移植の開発・不適合移植後の HLA 抗体の解析
兵庫医科大学 内科学講座血液内科 小川 啓恭 ----- 24
 3. 造血幹細胞移植後にシクロフォスファミドを用いた HLA 半合致移植に関する研究
筑波大学医学医療系 千葉 滋 ----- 28
 4. 臍帯血移植におけるハプロタイプ一致の臨床的意義に関する研究
国家公務員共済組合連合会虎の門病院 血液内科 谷口 修一 ----- 30
 5. HLA 不適合血縁者間移植の安全性および有効性向上のための包括的研究
東京女子医科大学血液内科学講座 田中 淳司 ----- 33
 6. CD34 陽性細胞選択 HLA 不適合移植の開発・HSV-TK 遺伝子導入リンパ球輸注療法の開発に関する研究
国立がん研究センター中央病院 造血幹細胞移植科 山下 卓也 ----- 37
 7. HLA 不適合造血幹細胞移植後の免疫再構築に関する研究
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 一戸 辰夫 ----- 40
 8. 造血幹細胞移植における間葉系幹細胞による新規治療法の安全性と有効性に関する臨床研究
名古屋大学大学院医学系研究科成長発達医学 高橋 義行 ----- 43
 9. マウスモデルを使った HLA 不適合移植後の免疫寛容の誘導に関する検討
岡山大学病院 血液・腫瘍内科 前田 嘉信 ----- 47
 10. 造血幹細胞移植領域の臨床研究における生物統計学的手法
京都大学大学院医学研究科 森田 智視----- 51
 11. レジストリーデータの統計解析・活用のためのデータ整備
名古屋大学大学院医学系研究科 熱田 由子-----54
- ・ 研究成果の刊行に関する一覧表 ----- 59
- ・ 研究成果の刊行物・別刷 ----- 65
- ・ 班会議記録 ----- 281

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業
(免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業 移植医療研究分野)
総括研究報告書

HLA 不適合血縁者間移植の安全性および有効性向上のための包括的研究

研究代表者 神田 善伸
自治医科大学附属さいたま医療センター 血液科 教授

研究要旨

同種造血幹細胞移植の至適ドナーは HLA 適合同胞であり、HLA 適合非血縁者と HLA 一抗原不適合血縁者がこれに次ぐ。いずれのドナーも得られない場合は HLA 二抗原以上不適合血縁者と非血縁者間臍帯血が候補となる。日本では体外での T 細胞除去を行わない独自の HLA 不適合移植方法として、母子間免疫寛容に基づいた移植、多剤併用の強力な GVHD 予防法を用いた移植、アテムツズマブを用いた移植などの最先端の開発研究が行われており、世界的にも類を見ない好成績が得られている。

本研究班では、HLA 不適合移植の全国規模の研究組織を構築し、様々な HLA 不適合移植法の利点、欠点を明確にするとともに、臍帯血移植との優劣についても評価する。また、HLA 不適合移植の治療成績を改善するための基礎的な研究、医療費や保険適応外使用調査などを含めて包括的な研究を行う。骨髄バンクやさい帯血バンクのドナープール拡大の負担軽減、HLA 不適合移植のガイドライン作成などでも社会に貢献する。

平成 25 年度は、臨床研究については、研究分担者の小川、一戸、千葉や研究代表者の神田らそれぞれによって行われている様々な HLA 二抗原以上不適合移植法について、各施設の方法を踏襲しながらより洗練された前方視的臨床試験を継続した。さらに、日常診療として行われている HLA 一抗原不適合移植の治療成績についての後方視的解析の結果に基づいて、治療成績を改善するための臨床試験を計画し、日本造血細胞移植学会の主導研究として全国多施設共同研究を開始した。また、研究代表者が責任者を務める日本造血細胞移植学会「HLA と移植成績ワーキンググループ(WG)」と連携し、自らが開発した統計解析ソフトウェアを無料配布することによって造血幹細胞移植領域の統計解析の促進に努めている。

基礎的研究は、白血病細胞表面の HLA 不適合抗原発現低下の意義、不適合抗原に対する細胞傷害性 T 細胞の誘導と HLA 不適合抗原発現低下の影響などをマウスの GVHD モデルの系を用いて評価してきた。病原微生物や腫瘍抗原に対する特異的な免疫能の質的、量的評価を行う系を確立するとともに、腫瘍特異的免疫能を増強するための治療を開発している。また、マウスの慢性 GVHD の研究では、T 細胞を含む免疫担当細胞に抑制性のシグナルを伝える PD-L1 が欠損したマウスにおいて Th1 および Th17 細胞が増加して慢性 GVHD が悪化することを見だし、そこに Th1、Th17 を抑制するレチノイン酸を投与すると慢性 GVHD は改善した。p40 抗体とともに今後の治療応用が期待される。

研究分担者

小川 啓恭

兵庫医科大学内科学講座血液内科研究分野
教授

千葉 滋

筑波大学医学医療系血液内科学 教授

谷口 修一

国家公務員共済組合連合会虎の門病院血液内科
部長

田中 淳司

東京女子医科大学血液内科 教授

山下 卓也

国立がん研究センター中央病院 造血幹細胞
移植科 医長

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

高橋 義行

名古屋大学大学院医学系研究科成長発達医学
准教授

前田 嘉信

岡山大学病院血液・腫瘍内科 助教

森田 智視

京都大学大学院医学研究科医学統計生物情報学
教授 (平成25年6月2日 現在)

横浜市立大学附属市民医療センター臨床統計学
・疫学分野 教授 (平成25年4月1日 6月1日)

熱田 由子

名古屋大学大学院医学系研究科 招聘教員

(平成26年1月1日 現在)

名古屋大学大学院医学系研究科造血細胞移植
情報管理・生物統計学 寄附講座講師

(平成25年4月1日 12月31日)

A. 研究目的

HLA 型は自己と非自己を認識する最も重要な抗原であり、同種造血幹細胞移植に最も適したドナーはHLA 適合同胞である。次いで優先すべきはHLA 適合非血縁者と HLA 一抗原不適合血縁者であり、両者の移植成績が同等であることを、研究代表者の神田らが明らかにした (Kanda Y, Blood 2003)。これらのドナーが得られない場合には、HLA 二抗原以上不適合血縁者間移植と非血縁者間臍帯血移植が候補となる。臍帯血中の造血幹細胞数は限られているため生着不全の危険性が高い。一方、二抗原以上不適合血縁者間移植では、移植片対宿主病(GVHD)のコントロールが重要である。海外では体外でドナー幹細胞液から T 細胞を除去して移植する方法が一般

的であるが、拒絶や感染症が多発する。そこで、日本国内では体外での T 細胞除去を行わない(非 T 細胞除去)独自の HLA 不適合移植方法として、研究分担者の一戸らの母子間免疫寛容に基づいた移植法 (Ichinohe T, Blood 2004)や、研究分担者の小川らによるタクロリムス、ステロイド併用の強力な GVHD 予防法を用いた移植法 (Ogawa H, Biol Blood Marrow Transplant 2006)、研究代表者の神田らの抗 CD52 モノクローナル抗体アレムツズマブを用いた移植法 (Kanda Y, Transplantation 2005)などが開発され、非 T 細胞除去 HLA 不適合移植の分野においては世界の最先端の開発研究が行われている。

しかし、臍帯血移植が厚生労働省研究班などで全国規模での研究が進んできたのに対し、HLA 不適合移植の開発は個々の施設単位での研究にとどまり、国際的に高い評価を受けているにもかかわらず、国内普及が進まなかった。そこで本研究では全国規模での研究組織によって様々な方法で行われている HLA 不適合移植の利点、欠点を明確にするとともに、臍帯血移植との優劣についても評価し、さらに HLA 不適合移植の治療成績を改善するための基礎的な研究、医療費、薬剤の保険適応外使用の対策、ガイドラインの発表を含め、包括的な研究を行う。

B. 方法

平成25年度に実施中の臨床試験

本邦から世界に発信されている様々な体外T細胞非除去HLA二抗原以上不適合移植法の開発と、海外の標準的手法であるCD34陽性細胞移植について、以下の臨床試験を実施している。さらに、既に日常診療として行われているHLA一抗原不適合移植の治療成績の向上や、移植後の免疫回復の促進をめざした臨床試験の計画を進めている。

(a) 研究分担者の一戸らによる母子間免疫寛容を利用したHLA不適合移植

【移植方法】標準的前処置にサイモグロブリン 2.5 mg/kgをday -3、-2に加え、GVHD予防としてタクロリムスを用いる。【目標症例数】15例【主要評価項目】移植後100日目までの非再発死亡

(b) 研究分担者の小川らによる強力免疫抑制剤を併用したHLA不適合移植

【移植方法】減弱移植前処置にゼットブリン 2 mg/kgをday -4~-1に加え、GVHD予防としてタクロリムスとメチルプレドニゾロンを用いる。【目標症例数】25例【主要評価項目】移植後100日の時点での生存率

(c) 研究代表者の神田、研究分担者の千葉らによるアテムツズマブを用いたHLA不適合移植(アテムツズマブの減量を試みる自主臨床試験)

【移植方法】標準的前処置加えるアテムツズマブの投与総量を0.5 mg/kgに減量する。GVHD予防としてシクロスポリンとメトトレキサートを用いる。

【目標症例数】18例【主要評価項目】移植後60日目までの生存、生着、グレードIII以上の急性GVHDの発症

(d) 研究分担者の千葉らによる移植後シクロホスファミドによってGVHDを予防するHLA不適合移植

【移植方法】造血幹細胞移植後のDays 3, 5にシクロホスファミド 50 mg/kg/dayを投与する。【目標症例数】15例【主要評価項目】移植後100日時点での生存率

(e) 研究分担者の山下らによる体外でCD34陽性細胞を選択したHLA不適合移植およびHSV-TK遺伝子導入リンパ球輸注療法の臨床試験

【移植方法】標準的な移植前処置後にCD34陽性細胞選択造血幹細胞を輸注した後にHSV-TK遺伝子導入リンパ球輸注療法による免疫回復促進を図る。

【目標症例数】10例【主要評価項目】免疫系再構築並びにGVHD発症頻度および制御能

(f) HLA一抗原不適合移植の至適化

【移植方法】標準的前処置にサイモグロブリン 1.2 5 mg/kgをday -4、-3に加え、GVHD予防としてタクロリムスを用いる。【目標症例数】39例【主要評価項目】移植後1年の死亡、再発、グレード3以上の急性GVHDの発症、NIH 基準による重度の慢性GVHDの発症

平成25年度に実施中の臨床研究(非介入)

研究代表者が委員長を務める日本造血細胞移植学会「HLAと移植成績ワーキンググループ」と連携し、造血細胞移植学会のデータベースや各施設のHLA不適合移植症例データベースを用いて、HLA不適合移植の成否にかかわる様々な因子の影響について調査する。

1. HLA不適合が移植成績に与える影響の検討

(a) HLA不適合の影響に関する学会データベースを用いた後方視的解析のアップデート

(b) 母子間免疫寛容の影響に関する学会データベースを用いた後方視的解析

(c) 移植片拒絶に対する再移植におけるHLA不適合移植と臍帯血移植の有用性の比較

2. 抗HLA抗体と生着不全の関係

(a) HLA不適合移植後の抗HLA抗体力価の経時的変化

(b) 抗HLA抗体と生着不全、GVHD、再発率との関連

平成25年度に実施中のHLA不適合移植の成績向上のための基礎研究

HLA不適合移植後の最大の問題である免疫回復の遷延について、移植後に問題となりやすい病原微生物や、腫瘍抗原に対する特異的な免疫能の質的、量的評価を行う系を確立するとともに、腫瘍特異的免疫能を増強するための治療を開発する。

(a) HLA不適合移植後の免疫不全状態における抗原特異的抗腫瘍・抗感染症療法の開発

(b) ELISPOTおよびFACSによる抗HLA抗体産生細胞の定量

(c) HLA不適合に伴うNK細胞の活性化と細胞傷害能の解析

(d) マウス慢性GVHDモデルの病態解析

C. 結果

研究分担者の一戸らによる母子間免疫寛容を利用したHLA不適合移植は佐賀大学における臨床試験として標準的前処置にサイモグロブリン 2.5 mg/kgをday -3、-2に加え、GVHD予防としてタクロリムスを用いるデザインで進行している。研究分担者の小川らによる強力免疫抑制剤を併用したHLA不適合移植は減弱移植前処置にゼットプリン 2 mg/kgをday -4~-1に加え、GVHD予防としてタクロリムスとメチルプレドニゾロンを用いた臨床試験は症例登録が完了した。現在は体内T細胞除去薬をサイモグロブリンに変更し、その投与量を減量するとともに移植前処置を至適化(FLU + AraC+MEL+ATG+少線量TBI)する臨床試験に移行している。研究代表者の神田らによるアテムツズマブを用いたHLA不適合移植(アテムツズマブの減量を試みる自主臨床試験)は、医師主導治験が2010年度に登録終了、2011年6月に観察期間も終了した。本研究においてアテムツズマブの投与量と免疫回復の有意な相関が認められたため、引き続きさらにアテムツズマブを総量で0.5mg/kgに減量した自主臨床試験を開始し、順調に登録が進行している。研究分担者の千葉らによる移植後シクロホスファミドによってGVHDを予防するHLA不適合移植は米国で主流になりつつある移植方法であり、国内での応用が期待される。これまでに登録された3

例では重篤なGVHDの発症はみられていない。研究分担者の山下らによる体外でCD34陽性細胞を選択したHLA不適合移植およびHSV-TK遺伝子導入リンパ球輸注療法の臨床試験は、国立がん研究センター中央病院で臨床試験が進行し、実際にHSV-TK遺伝子導入リンパ球輸注が2症例に行われた。現在のところ、輸注に関連する有害事象はみられず、一例では安定した免疫回復が得られている。高橋らは皮膚および消化管のステロイド抵抗性急性GVHD症例に対して骨髄由来間葉系幹細胞の輸注を行い、GVHDの改善を観察した。明らかな副反応は認められていない。

後方視的研究については、谷口らは臍帯血移植実施164症例においてハプロタイプ一致症例を推定し、移植後の経過への影響を検討したところ、ハプロタイプ一致症例において有意に好中球生着率が高いということが示された。これは、HLA-C、-DP、-DQの適合度が生着に影響を与えている可能性を示唆し、今後のHLAタイピングの方針についての適正化が求められる。田中らは再生不良性貧血に対して同種移植を行った症例の解析を行った。全例に好中球生着が得られ、罹病期間が長い症例が大半を占めていたにもかかわらず、良好な成績が得られていた。また、造血細胞移植学会のHLA-WGのデータベース解析では、昨年度のHLA-抗原不適合血縁者間移植とHLA適合非血縁者間移植の比較に続き、HLA-抗原不適合血縁者間移植と非血縁者間臍帯血移植の比較を行い、現状のHLA-抗原不適合血縁者間移植の問題点としてGVHDの発症頻度が高いこと、そして抗ヒト胸腺細胞抗体を用いることで生存率が改善する傾向にあることを見いだした。この研究に基づいてHLA-抗原不適合血縁者間移植における最適なGVHD予防方法を模索する前方視的臨床試験を立案し、日本造血細胞移植学会主導研究として臨床試験を開始した。また、血清検査でHLA型が適合している血縁者間移植においても遺伝子レベルで不適合が存在すると重症GVHDの発症が増加することが判明し、今後は血縁者間移植(特に同胞以外の血縁者間移植)においても遺伝子レベルでの検査を推奨するという内容の論文を投稿中である。

熱田らは造血細胞移植登録一元化データベースの整備および統計解析変数作成用スクリプトを更新し、データベース解析の促進に貢献している。森田らは事前情報を積極的に活用するベイズ流統計手法の造血幹細胞移植領域の臨床試験への利用可能性について評価を行った。ベイズ流統計手法では事前情報のデータの質の高さが鍵となるため、既存のデータベースの詳細な解析の重要性が示唆された。統計ソフトウェア開発についてはマウス操作だけで一般的な

名義変数、連続変数、生存期間の解析に加えて、移植領域の統計解析で必須となる時間依存性変数を扱う解析や競合イベントを扱う解析が実行できるソフトウェア(EZR)が完成し、さいたま医療センターのホームページで無料公開するとともに、造血細胞移植学会のHLA-WGで同ソフトを共有することによって統計解析の活性化を図っている。同ソフトウェアの開発を報告する論文がBone Marrow Transplantation誌に掲載され、当該論文のダウンロード数は同誌の論文の中で常に上位10位内を維持している。

特異的免疫能の評価系についてはサイトメガロウイルスおよびEBウイルスに特異的に働く細胞傷害性T細胞をテトラマーによって同定する系が確立された。さらに細胞傷害性T細胞を単一細胞に分離した上でT細胞受容体レパトアの解析を行ったところ、ドナー由来の細胞傷害性T細胞がサイトメガロウイルス再活性化の抑制に貢献していることや、細胞傷害性T細胞の形質によって抗ウイルス能が異なることが示唆された。また、研究分担者の前田らはこれまでの研究でTh17細胞の慢性GVHDへの関与を明らかにしてきたが、さらにT細胞を含む免疫担当細胞に抑制性のシグナルを伝えるPD-L1が欠損したマウスではTh1およびTh17細胞が増加して慢性GVHDが悪化することを発見した。そこにTh1、Th17を抑制するレチノイン酸を投与すると慢性GVHDは改善した。また、alternative Th17およびTh1細胞の両方を抑制する目的で、IL-12/IL-23 p40 抗体の有効性を検討したところ、p40 抗体を投与した群では、臨床的かつ病理組織学的に慢性GVHDが有意に軽減された。ヒトに対するp40 抗体は、Ustekinumabとしてクローン病や乾癬に対する臨床試験の結果が報告されており、慢性GVHDにも臨床応用できる可能性が示唆された。

D. 考察

様々な方法を用いた体外 T 細胞非除去 HLA 二抗原以上不適合移植法の臨床研究の進捗状況は良好である。日本造血細胞移植学会データベースを用いた解析についても日常診療にすぐに還元される成果が得られ、統計ソフトウェアの開発により、今後はさらに解析が促進されることが期待できる。

基礎的研究については HLA 不適合移植において鍵をにぎる GVHD の制御と免疫回復の両面において新たな知見が得られた。

E. 結論

本年度も前方視的臨床試験、後方視的臨床研究、基礎的研究のいずれにおいても順調な進捗を示している。HLA二抗原以上不適合の血縁ドナーは95%以上の患者が有するため、本研究でHLA不適合移植の有用性を明らかにすることで、将来的には骨髄バンク、さい帯血バンクのドナープール拡大の負担を軽減することが期待できる。また、様々なHLA不適合移植法の利点、欠点を明確にするとともに、臍帯血移植との優劣についても評価し、診療現場での治療選択に役立つ情報を提供する。医療経済的な観点からも比較することによって、社会と適合した健全な移植医療の発展が期待される。多彩な造血幹細胞移植のソースが使用可能となり、移植適応についてもより明確にしていく必要があるため、ガイドラインを作成することによって幅広く情報を発信する。不必要な移植医療の削減は、倫理的観点のみならず、医療費の観点からも重要である。

本研究班の基礎的な研究成果は、HLA不適合移植のみならず、同じくHLA不適合の存在が前提となっている臍帯血移植の治療成績の改善にも応用することができる。また、HLA不適合移植における薬剤の適応外使用の現状についても把握することで、将来の治験のあり方、有害事象の解析方法についても展望する。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1) 国内

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

<研究分担者 小川 啓恭>

1. 小川啓恭, 宮村耕一, 岡本真一郎. 本邦における同種造血幹細胞移植に用いる無菌室の実態調査 **第35回日本造血細胞移植学会総会** 2013年3月 金沢
2. 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年3月 金沢
3. 石井慎一, 池亀和博, 海田勝仁, 岡田昌也, 井上貴之, 加藤るり, 玉置広哉, 藤盛好啓, 甲斐俊朗,

相馬俊裕, 小川啓恭 high risk悪性血液疾患患者に対する, 低容量ATGとステロイドを用いたHLA半合致ミニ移植の治療成績 **第35回日本造血細胞移植学会総会** 2013年3月 金沢

4. Ikegame K, Kaida K, Ishii S, Yoshihara S, Taniguchi K, Kato R, Inoue T, Okada M, Tamaki H, Soma T, Ogawa H. Transition of conditioning regimen in haplo-mini in connection with survival results. **第75回日本血液学会学術集会** 2013年10月 札幌

<研究分担者 高橋 義行>

1. 高橋義行, 川島希, 成田敦, 坂口大俊, 土居崎小夜子, 村松秀城, 中西康詞, 濱麻人, 小島勢二 HLA haploidentical SCT with the options of donor's virus specific CTLs and mesenchymal stem cells. **第75回日本血液学会学術集会** 2013年10月 札幌
2. 高橋義行 小児重症再生不良性貧血に対する代替ドナーからの造血幹細胞移植:HLA不一致非血縁ドナー vs HLAハプロ一致血縁ドナー **第36回日本造血細胞移植学会総会** 2014年3月 沖縄

<研究分担者 前田 嘉信>

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

<研究分担者 熱田 由子>

1. 熱田由子 造血幹細胞移植後の二次性固形腫瘍および晩期死亡. **第75回日本血液学会学術集会** 2013年10月 札幌
2. Atsuta Y, Kanda J, Takanashi M, Morishima Y, Taniguchi S, Nagamura-Inoue T, Kato K, Kanda Y. Effect of HLA disparity on outcomes after cord blood transplantation in patients with leukemia. **第74回日本血液学会学術集会** 2012年10月 京都

2) 海外

1. 論文発表

<研究代表者 神田 善伸>

1. Kanda Y, Kanda J, Atsuta Y, Fuji S, Maeda Y, Ichinohe T, Takanashi M, Ohashi K, Fukuda T, Miyamura K, Mori T, Sao H, Kobayashi N, Iwato K, Sawada A, Mori S. Changes in the

- clinical impact of high-risk HLA allele mismatch combinations on the outcome of unrelated bone marrow transplantation. **Biol Blood Marrow Transplant.** 20:526-535,2014
2. Nakasone H, Terasako-Saito K, Yamazaki R, Sato M, Tanaka Y, Sakamoto K, Kurita M, Yamasaki R, Wada H, Ishihara Y, Kawamura K, Machishima T, Ashizawa M, Kimura SI, Kikuchi M, Tanihara A, Kanda J, Kako S, Nishida J, Yamada S, and Kanda Y. Impact of high-/middle-molecular-weight adiponectin on the synthesis and regulation of extracellular matrix in dermal fibroblasts. **Experimental Hematology** (in press)
 3. Sato M, Nakasone H, Terasako-Saito K, Sakamoto K, Yamazaki R, Tanaka Y, Akahoshi Y, Nakano H, Ugai T, Wada H, Yamasaki R, Ishihara Y, Kawamura K, Ashizawa M, Kimura SI, Kikuchi M, Tanihara A, Kanda J, Kako S, Nishida J, and Kanda Y. Prediction of infectious complications by the combination of plasma procalcitonin level and localized infection before allogeneic hematopoietic cell transplantation. **Bone Marrow Transplant** 49:553-560,2014
 4. Sakamoto K, Nakasone H, Wada H, Yamasaki R, Ishihara Y, Kawamura K, Ashizawa M, Sato M, Terasako-Saito K, Machishima T, Kimura SI, Kikuchi M, Kako S, Kanda J, Yamazaki R, Tanihara A, Nishida J, and Kanda Y. Evaluation of the validity of preemptive therapy against Cytomegalovirus disease based on antigenemia assay with a cutoff of 20 positive cells per two slides. **PLoS One** (in press)
 5. Nakasone H, Tanaka Y, Yamazaki R, Sato M, Terasako K, Sakamoto K, Yamasaki R, Wada H, Ishihara Y, Kawamura K, Machishima T, Ashizawa M, Kimura SI, Kikuchi M, Tanihara A, Kanda J, Kako S, Nishida J, Kanda Y. Single-cell analysis of T-cell receptor- β repertoire of HLA-A*2402-restricted cytomegalovirus pp65-specific cytotoxic T-cells in donor-patient pairs undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. **Bone Marrow Transplant** 49:87-94,2014
 6. Sato M, Nakasone H, Wada H, Yamasaki R, Ishihara Y, Sakamoto K, Kawamura K, Ashizawa M, Machishima T, Terasako K, Kimura SI, Kikuchi M, Tanihara A, Yamazaki R, Tanaka Y, Kanda J, Kako S, Nishida J, and Kanda Y. Prediction of infectious events by the high-sensitivity C-reactive protein level before autologous hematopoietic cell transplantation for lymphoma and multiple myeloma. **Transplant Infectious Disease** 15: E169-171,2013
 7. Kako S, Morita S, Sakamaki H, Iida H, Kurokawa M, Miyamura K, Kanamori H, Hara M, Kobayashi N, Morishima Y, Kawa K, Kyo T, Sakura T, Jinnai I, Takeuchi J, Miyazaki Y, Miyawaki S, Ohnishi K, Naoe T, Kanda Y. The role of HLA-matched unrelated transplantation in adult patients with Philadelphia chromosome-negative acute lymphoblastic leukemia in first remission. A decision analysis. **Bone Marrow Transplant.** 48:1077-1083,2013
 8. Yamazaki R, Nakasone H, Tanaka Y, Sato M, Terasako K, Wada H, Ishihara Y, Kawamura K, Sakamoto K, Ashizawa M, Machishima T, Kimura SI, Kikuchi M, Okuda S, Kako S, Kanda J, Tanihara A, Nishida J, Kanda Y. Allotype analysis to distinguish the origin of varicella-zoster virus immunoglobulin G after allogeneic stem cell transplantation. **Biol Blood Marrow Transplant.** 19:1013-1020,2013
 9. Kanda Y, Kanda J, Atsuta Y, Maeda Y, Ichinohe T, Ohashi K, Fukuda T, Miyamura K, Iida H, Mori T, Iwato K, Eto T, Kawa K, Morita S, Morishima M. 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.** 161:566-577,2013
 10. Sato M, Nakasone H, Oshima K, Ishihara Y, Wada H, Sakamoto K, Kawamura K, Ashizawa M, Machishima T, Terasako K, Kimura SI, Kikuchi M, Okuda S, Tanihara A, Yamazaki R, Tanaka Y, Kanda J, Kako S, Nishida J, Kanda Y. Prediction of transplant-related complications by C-reactive protein levels before hematopoietic stem cell transplantation. **Bone Marrow Transplant.** 48:698-702,2013
 11. Kanda Y, Oshima K, Kako S, Fukuda T, Uchida N, Miyamura K, Kondo Y, Nakao S, Nagafuji K, Miyamoto T, Kurokawa M, Okoshi Y, Chiba S,

- Ohashi Y, Takaue Y, Taniguchi S. In vivo T-cell depletion with alemtuzumab in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: Combined results of two studies on aplastic anemia and HLA-mismatched haploidentical transplantation. *Am J Hematol*. 88: 294-300,2013
12. Kako S, Kanamori H, Kobayashi N, Shigematsu A, Nannya Y, Nakamae M, Shigeno K, Suzukawa K, Takeuchi M, Tsuzuki M, Usuki K, Hatanaka K, Ogawa K, Mitani K, Nawa Y, Hatta Y, Mizuno I, and Kanda Y. Outcome after first relapse in adult patients with Philadelphia chromosome-negative acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol*. 16:95-103,2013
 13. Kanda Y. Investigation of the freely-available easy-to-use software "EZ" (Easy R) for medical statistics. *Bone Marrow Transplant*. 48:452-458,2013
 14. 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. Unrelated cord blood transplantation vs. related transplantation with HLA 1-antigen mismatch in the graft-versus-host direction. *Leukemia* 27:286-294,2013
 15. 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, and Kanda Y, on behalf of the HLA Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. Impact of the direction of HLA mismatch on transplant outcome in single unrelated cord blood transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 19:247-254,2013
 16. Ashizawa M, Oshima K, Wada H, Ishihara Y, Kawamura K, Sakamoto K, Sato M, Terasako K, Machishima T, Kimura SI, Kikuchi M, Nakasone H, Okuda S, Kako S, Kanda J, Yamazaki R, Tanihara A, Nishida J, Kanda Y. Hyperbilirubinemia in the early phase after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: Prognostic significance of the alkaline phosphatase / total bilirubin ratio. *Bone Marrow Transplant*. 48:94-98,2013
- <研究分担者 小川 啓恭>
1. Murata, M, Nishida T, Taniguchi S, Ohashi K, Ogawa H, Fukuda T, Mori T, Kobayashi H, Nakaseko C, Yamagata N, Morishima Y, Nagamura-Inoue T, Sakamaki H, Atsuta Y, Suzuki R, MD, Naoe T. Allogeneic transplantation for primary myelofibrosis with bone marrow, peripheral blood, or umbilical cord blood: An analysis of the JSHCT. *Bone Marrow Transplant* (in press)
 2. Kaida K, Ikegame K, Ikemoto J, Murata R, Irie R, Yoshihara S, Ishii S, Okada M, Inoue T, Tamaki H, Soma T, Fujimori Y, Kai S, Ogawa H. Soluble interleukin-2 receptor level on day 7 as a predictor of graft-versus-host disease after HLA-haploidentical stem cell transplantation using reduced intensity conditioning. *Int J Hematol* (in press)
 3. Ikegame K, Kato R, Fujioka T, Okada M, Kaida K, Ishii S, Yoshihara S, Inoue T, Taniguchi K, Tamaki H, Soma T, Ogawa H. Detection of donor-derived CMV-specific T cells in cerebrospinal fluid in a case of CMV meningoencephalitis after cord blood stem cell transplantation. *Int J Hematol* 97: 289-290, 2013
 4. Morishita S, Kaida K, Yamauchi S, Wakasugi T, Yoshihara S, Taniguchi K, Ishii S, Ikegame K, Kodama N, Ogawa H, Domen K. Gender differences in health-related quality of life, physical function and psychological status among patients in the early phase following allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Psychooncology* 22: 1159-1166, 2013
 5. Fujioka T, Tamaki H, Ikegame K, Yoshihara S, Taniguchi K, Kaida K, Kato R, Inoue T, Nakata J, Ishii S, Soma T, Okada M, Ogawa H. Frequency of CD4(+)FOXP3(+) regulatory Tcells at early stages after HLA-mismatched allogeneic hematopoietic SCT predicts the incidence of acute GVHD. *Bone Marrow Transplant* 48: 859-864, 2013
 6. Kurosawa S, Kurosawa S, Yakushijin K, Yamaguchi T, Atsuta Y, Nagamura-Inoue T, Akiyama H, Taniguchi S, Miyamura K, Takahashi S, Eto T, Ogawa H, Kurokawa M, Tanaka J, Kawa K, Kato K, Suzuki R, Morishima Y, Sakamaki H, Fukuda T. Recent decrease in non-relapse mortality due to

- graft-versus-host disease and infection after allogeneic hematopoietic cell transplantation in non-remission acute leukemia. **Bone Marrow Transplantat** 48: 1198-1204, 2013
7. Morishita S, Kaida K, Yamauchi S, Sota K, Ishii S, Ikegame K, Kodama N, Ogawa H, Domen K. Relationship between corticosteroid dose and declines in physical function among allogeneic hematopoietic stem cell transplantation patients. **Support Care Cancer** 21: 2161-2169, 2013
 8. Eguchi R, Kubo S, Ohta T, Kunimasa K, Okada M, Tamaki H, Kaji K, Wakabayashi I, Fujimori Y, Ogawa H. FK506 induces endothelial dysfunction through attenuation of Akt and ERK1/2 independently of calcineurin inhibition and the caspase pathway. **Cellular Signalling** 25: 1731-1738, 2013
 9. Kawakami M, Taniguchi K, Yoshihara S, Ishii S, Kaida K, Ikegame K, Okada M, Watanabe S, Nishina T, Hamada H, Nakagawa M, Ogawa H. Irreversible neurological defects in the lower extremities after haploidentical stem cell transplantation: possible association with nelarabine. **Am J Hematol** 88: 853-857, 2013
 10. Nakasone H, Onizuka M, Suzuki N, Fujii N, Taniguchi S, Kakihana K, Ogawa H, Miyamura K, Eto T, Sakamaki H, Yabe H, Morishima Y, Kato K, Suzuki R, Fukuda T. Pre-transplant risk factors for cryptogenic organizing pneumonia/bronchiolitis obliterans organizing pneumonia after hematopoietic cell transplantation. **Bone Marrow Transplantat** 48:1317-1323, 2013
- intra-venous busulfan regimen. **Int J Hematol** 98:135-138, 2013
3. Sakamoto T, Obara N, Kurita N, Sakata-Yanagimoto M, Nishikii H, Yokoyama Y, Suzukawa K, Hasegawa Y, Chiba S. Effectiveness and safety of rabbit anti-thymocyte globulin in Japanese patients with aplastic anemia. **Int J Hematol** 98:319-322, 2013

<研究分担者 谷口 修一>

1. Nagafuji K, Miyamoto T, Eto T, Kamimura T, Taniguchi S, Okamura T, Ohtsuka E, Yoshida T, Higuchi M, Yoshimoto G, Fujisaki T, Abe Y, Takamatsu Y, Yokota S, Akashi K, Harada M. Monitoring of minimal residual disease (MRD) is useful to predict prognosis of adult patients with Ph-negative ALL: results of a prospective study (ALL MRD2002 Study). **J Hematol Oncol** 6:14,2013
2. Matsuno N, Yamamoto H, Watanabe N, Uchida N, Ota H, Nishida A, Ikebe T, Ishiwata K, Nakano N, Tsuji M, Asano-Mori Y, Izutsu K, Masuoka K, Wake A, Yoneyama A, Nakauchi H, Taniguchi S. Rapid T-cell chimerism switch and memory T-cell expansion are associated with pre-engraftment immune reaction early after cord blood transplantation. **Br J Haematol** 160:255-258,2013
3. Kai S, Wake A, Okada M, Kurata M, Atsuta Y, Ishikawa J, Nakamae H, Aotsuka N, Kasai M, Misawa M, Taniguchi S, Kato S. Double-unit Cord Blood Transplantation after Myeloablative Conditioning for Patients with Hematological Malignancies: a Multicenter Phase II Study in Japan. **Biol Blood Marrow Transplant** 19:812-819, 2013

<研究分担者 田中 淳司>

<研究分担者 千葉 滋>

1. Kanda Y, Oshima K, Kako S, Fukuda T, Uchida N, Miyamura K, Kondo Y, Nakao S, Nagafuji K, Miyamoto T, Kurokawa M, Okoshi Y, Chiba S, Ohashi Y, Takaue Y, Taniguchi S. In vivo T-cell depletion with alemtuzumab in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: Combined results of two studies on aplastic anemia and HLA-mismatched haploidentical transplantation. **Am J Hematol** 88:294-300, 2013
2. Fukuda K, Kurita N, Sakamoto T, Nishikii H, Okoshi Y, Sugano M, Chiba S. Post-transplant gastric antral vascular ectasia after
1. Imahashi N, Suzuki R, Fukuda T, Kakihana K, Kanamori H, Eto T, Mori T, Kobayashi N, Iwato K, Sakura T, Ikegame K, Kurokawa M, Kondo T, Iida H, Sakamaki H, Tanaka J, Kawa K, Morishima Y, Atsuta Y, Miyamura K. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for intermediate cytogenetic risk acute myeloid leukemia in first complete remission. **Bone Marrow Transplant** 48:56-62, 2013
2. 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. Unrelated cord blood transplantation vs. related transplantation with HLA 1-antigen mismatch in the graft-versus-host direction. **Leukemia** 27:286-294, 2013
3. Kurosawa S, Yakushijin K, Yamaguchi T, Atsuta Y, Nagamura-Inoue T, Akiyama H, Taniguchi S, Miyamura K, Takahashi S, Eto T, Ogawa H, Kurokawa M, Morishima Y, Tanaka J, Sakamaki H, Fukuda T. Changes in incidence and causes of non-relapse mortality after allogeneic hematopoietic cell transplantation in patients with acute leukemia/myelodysplastic syndrome. **Bone Marrow Transplant** 48:529-536, 2013
 4. Nishiwaki S, Miyamura K, Ohashi K, Kurokawa M, Taniguchi S, Fukuda T, Ikegame K, Takahashi S, Mori T, Imai K, Iida H, Hidaka M, Sakamaki H, Morisima Y, Kato K, Suzuki R, Tanaka J. Impact of donor source on adult Philadelphia chromosome-negative acute lymphoblastic leukemia: a retrospective analysis from the Adult Acute Lymphoblastic Leukemia Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. **Ann Oncology** 24:1594-1602, 2013
 5. Wakao H, Yoshikiyo K, Koshimizu U, Furukawa T, Enomoto K, Matsunaga T, Tanaka T, Yasutomi Y, Yamada T, Minakami H, Tanaka J, Oda A, Sasaki T, Wakao R, Lantz O, Udagawa T, Sekiya Y, Higuchi K, Harada N, Nishimura K, Ohtaka M, Nakanishi M, Fujita H. Expansion of Functional Human Mucosal-Associated Invariant T Cells via Reprogramming to Pluripotency and Redifferentiation. **Cell Stem Cell**. 12:546-558, 2013
 6. Kurosawa S, Yakushijin K, Yamaguchi T, Atsuta Y, Nagamura-Inoue T, Akiyama H, Taniguchi S, Miyamura K, Takahashi S, Eto T, Ogawa H, Kurokawa M, **Tanaka J**, Kawa K, Kato K, Suzuki R, Morishima Y, Sakamaki H, Fukuda T. Recent decrease in non-relapse mortality due to GVHD and infection after allogeneic hematopoietic cell transplantation in non-remission acute leukemia. **Bone Marrow Transplant**. 48:1198-1204, 2013
 7. Torimoto Y, Sato K, Ikuta K, Hayashi T, Hirayama Y, Inamura J, Kobayashi H, Kobayashi R, Koda K, Kurosawa M, Mori A, Ota S, Sakai H, Shigematsu A, Shindo M, Shinzaki H, Takahashi F, Takimoto R, Tanaka J, Yamamoto S, Kohgo Y, Fukuhara T. A retrospective clinical analysis of Japanese patients with peripheral T-cell lymphoma not otherwise specified: Hokkaido Hematology Study Group. **Int J Hematol**. 98:171-178, 2013
 8. Tanaka J, Morishima Y, Takahashi Y, Yabe T, Oba K, Takahashi S, Taniguchi S, Ogawa H, Onishi Y, Miyamura K, Kanamori H, Aotsuka N, Kato K, Kato S, Atsuta Y, Kanda Y. Effects of KIR-ligand incompatibility on clinical outcomes of umbilical cord blood transplantation without ATG for acute leukemia in complete remission. **Blood Cancer Journal** (in press)
 9. Tanaka J, Kanamori H, Nishiwaki S, Ohashi K, Taniguchi S, Eto T, Nakamae H, Minagawa K, Miyamura K, Sakamaki H, Morishima Y, Kato K, Suzuki R, Nishimoto N, Oba K, Masauzi N. Reduced-intensity versus myeloablative conditioning allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for patients aged over 45 years with acute lymphoblastic leukemia (ALL) in remission: A study from the Adult ALL Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation (JSHCT). **Bone Marrow Transplant**. 48:1389-1394, 2013
 10. Kanamori H, Mizuta S, Kako S, Kato H, Nishiwaki S, Imai K, Shigematsu A, Nakamae H, Tanaka M, Ikegame K, Yujiri T, Fukuda T, Minagawa K, Eto T, Nagamura-Inoue T, Morishima Y, Suzuki R, Sakamaki H, Tanaka J. Reduced-intensity allogeneic stem cell transplantation for patients aged 50 years or older with B-cell ALL in remission: a retrospective study by the Adult ALL Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. **Bone Marrow Transplant**. 48:1513-1518, 2013
 11. Mori N, Ohwashi M, Yoshinaga K, Mitsuhashi K, Tanaka N, Teramura M, Okada M, Shiseki M, Tanaka J, Motoji T. L265P Mutation of the MYD88 Gene Is Frequent in Waldenström's Macroglobulinemia and Its Absence in Myeloma. **PLOS ONE** 8:e80088, 2013

12. Kobayashi R, Tanaka J, Hashino S, Ota S, Torimoto Y, Kakinoki Y, Yamamoto S, Kurosawa M, Hatakeyama N, Haseyama Y, Sakai H, Sato K, Fukuhara T. Etoposide-containing conditioning regimen reduces the occurrence of hemophagocytic lymphohistiocytosis after SCT. **Bone Marrow Transplant.** 49:254-257, 2014

<研究分担者 山下 卓也>

1. Atsuta Y, Suzuki R, Yamashita T, Fukuda T, Miyamura K, Taniguchi S, Iida H, Uchida T, Ikegame K, Takahashi S, Kato K, Kawa K, Nagamura-Inoue T, Morishima Y, Sakamaki H and Kodera Y for the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. Continuing increased risk of oral/esophageal cancer after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in adult in association with chronic graft-versus-host disease. **Annals of Oncology** (in press)
 2. Hiramoto N, Kurosawa S, Tajima K, Okinaka K, Tada K, Kobayashi Y, Shinohara A, Inoue Y, Ueda R, Tanaka T, Kim SW, Yamashita T, Heike Y and Fukuda T. Positive impact of chronic graft-versus-host disease on the outcome of patients with de novo myelodysplastic syndrome after allogeneic hematopoietic cell transplantation: a single-center analysis of 115 patients. **Eur J Hematol** 92:137-146, 2014
 3. Fuji S, Ueno N, Hiramoto N, Asakura Y, Yakushijin K, Kamiyama Y, Kurosawa S, Kim SW, Heike Y, Yamashita T and Fukuda T. Reduced-intensity conditioning regimen with low-dose ATG-F for unrelated bone marrow transplant is associated with lower non-relapse mortality than a regimen with low-dose TBI: a single-center retrospective analysis of 103 cases. **Int J Hematol** 98:608-614, 2013
- Tamura A, Iwasa M, Sato A, Hishita T, Higashi Y, Kaneko H, Ashihara E, Ichinohe T, Hirai H, Maekawa T. Parathyroid hormone enhances hematopoietic expansion via upregulation of cadherin-11 in bone marrow mesenchymal stromal cells. **Stem Cells.** (in press)
 3. Yoshioka S, Miura Y, Yao H, Satake S, Hayashi Y, Tamura A, Hishita T, Ichinohe T, Hirai H, Takaori-Kondo A, Maekawa T. C/EBP β expressed by bone marrow mesenchymal stromal cells regulates early B-cell lymphopoiesis. **Stem Cells.** 32:730-740, 2014.
 4. 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.** 161:566-577, 2013
 5. Hirokawa M, Fukuda T, Ohashi K, Hidaka M, Ichinohe T, Iwato K, Kanamori H, Murata M, Sakura T, Imamura M, Adachi S, Suzuki R, Morishima Y, Sakamaki H; PRCA Collaborative Study Group. Efficacy and long-term outcome of treatment of pure red cell aplasia after allogeneic stem cell transplantation from major ABO-incompatible donors. **Biol Blood Marrow Transplant** 19:1026-32, 2013
 6. Miura Y, Yoshioka S, Yao H, Takaori-Kondo A, Maekawa T, Ichinohe T. Chimerism of bone marrow mesenchymal stem/stromal cells in allogeneic hematopoietic cell transplantation: is it clinically relevant? **Chimerism.** 4:78-83, 2013

<研究分担者 高橋 義行>

<研究分担者 一戸 辰夫>

1. Yoshihara M, Itamura H, Fukushima N, Itoh M, Furukawa K, Nagatomo D, Kamachi K, Kitamura H, Shindo T, Kubota Y, Sueoka E, Morita S, Ichinohe T, Kimura S. Therapeutic management in cardiac lymphoma. **Leuk Lymphoma.** (in press)
 2. Yao H, Miura Yoshioka S, Miura M, Hayashi Y,
1. Suzuki M, Ito Y, Shimada A, Saito M, Muramatsu H, Hama A, Takahashi Y, Kimura H and Kojima S. Long-Term Parvovirus B19 Infections With Genetic Drift After Cord Blood Transplantation Complicated by Persistent CD4+ Lymphocytopenia. **J Pediatr Hematol Oncol.** 36(1):e65-8, 2014
 2. Kato M, Takahashi Y, Tomizawa D, Okamoto Y, Inagaki J, Koh K, Ogawa A, Okada K, Cho Y, Takita J, Goto H, Sakamaki H, Yabe H, Kawa

- K, Suzuki R, Kudo K, Kato K. Comparison of intravenous with oral busulfan in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with myeloablative conditioning regimens for pediatric acute leukemia. ***Biol Blood Marrow Transplant***. 19:1690-1694, 2013
3. Lundqvist A, Smith AL, Takahashi Y, Wong S, Bahceci E, Cook L, Ramos C, Tawab A, McCoy JP Jr, Read EJ, Khuu HM, Bolan CD, Joo J, Geller N, Leitman SF, Calandra G, Dunbar C, Kurlander R, Childs RW. Differences in the Phenotype, Cytokine Gene Expression Profiles, and In Vivo Alloreactivity of T Cells Mobilized with Plerixafor Compared with G-CSF. ***J Immunol***. 191:6241-6249, 2013
 4. Sakaguchi H, Okuno Y, Muramatsu H, Yoshida K, Shiraiishi Y, Takahashi M, Kon A, Sanada M, Chiba K, Tanaka H, Makishima H, Wang X, Xu Y, Doisaki S, Hama A, Nakanishi K, Takahashi Y, Yoshida N, Maciejewski JP, Miyano S, Ogawa S and Kojima S. Exome sequencing identifies secondary mutations of SETBP1 and JAK3 in juvenile myelomonocytic leukemia. ***Nat Genet***. 45:937-941, 2013
 5. Narita A, Muramatsu H, Sakaguchi H, Doisaki S, Tanaka M, Hama A, Shimada A, Takahashi Y, Yoshida N, Matsumoto K, Kato K, Kudo K, Furukawa-Hibi Y, Yamada K and Kojima S. Correlation of CYP2C19 phenotype with voriconazole plasma concentration in children. ***J Pediatr Hematol Oncol*** 35:e219-223, 2013
 6. Hirabayashi Y, Takahashi Y, Xu Y, Akane K, Villalobos IB, Okuno Y, Hasegawa S, Muramatsu H, Hama A, Kato T and Kojima S. Lack of CD4(+)CD25(+)FOXP3(+) regulatory T cells is associated with resistance to intravenous immunoglobulin therapy in patients with Kawasaki disease. ***Eur J Pediatr*** 172:833-837, 2013
 7. Daikoku T, Saito K, Aihara T, Ikeda M, Takahashi Y, Hosoi H, Nishida T, Takemoto M, Shiraki K. Rapid detection of human cytomegalovirus UL97 and UL54 mutations for antiviral resistance in clinical specimens. ***Microbiol Immunol***. 57:396-399, 2013
 8. Shinzato A, Tabuchi K, Atsuta Y, Inoue M, Inagaki J, Yabe H, Koh K, Kato K, Ohta H, Kigasawa H, Kitoh T, Ogawa A, Takahashi Y, Sasahara Y, Kato S, and Adachi S. PBSCT is associated with poorer survival and increased chronic GvHD than BMT in Japanese paediatric patients with acute leukaemia and an HLA-matched sibling donor. ***Pediatr Blood Cancer***: 60:1513-1519, 2013
 9. Kato K, Otake H, Tagaya M, Takahashi Y, Ito Y, Hama A, Muramatsu H, Kojima S, Naganawa S and Nakashima T. Progressive hearing loss following acquired cytomegalovirus infection in an immunocompromised child. ***Am J Otolaryngol*** 34:89-92, 2013
 10. 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 and Japan Childhood Aplastic Anemia Study G. Rabbit antithymocyte globulin and cyclosporine as first-line therapy for children with acquired aplastic anemia. ***Blood*** 121:862-863, 2013
- <研究分担者 前田 嘉信>
1. Sugiyama H, Maeda Y, Nishimori H, Yamasuji Y, Matsuoka K, Fujii N, Kondo E, Shinagawa K, Tanaka T, Takeuchi K, Teshima T, and Tanimoto M. mTOR inhibitors permit regulatory T cell reconstitution and inhibit chronic GVHD. ***Biol Blood Marrow Transplant*** (in press)
 2. Maeda Y, Pathogenesis of graft-versus-host disease: innate immunity amplifying acute alloimmune responses. ***Int J Hematol*** 98:293-299, 2013
 3. Nishimori H, Maeda Y, Tanimoto M. Chronic graft-versus-host disease: disease biology and novel therapeutic strategies. ***Acta Med Okayama***. 67:1-8, 2013
- <研究分担者 森田 智視>
1. Hironaka S, Ueda S, Yasui H, Nishina H, Tsuda M, Tsumura T, Sugimoto T, Shimodaira H, Tokunaga S, Moriwaki T, Esaki T, Nagase M, Fujitani K, Yamaguchi K, Ura T, Hamamoto Y, Morita S, Okamoto I, Boku N, Hyodo I. A Randomized, Open-label, Phase III Study Comparing Irinotecan with Paclitaxel in Advanced Gastric Cancer Patients without Severe Peritoneal Metastasis after Failure of

- Prior Combination Chemotherapy using Fluoropyrimidine plus Platinum: WJOG4007 Trial. **J Clin Oncol** (in press)
2. Yamada A, Ishikawa T, Ota I, Kimura M, Shimizu D, Tanabe M, Chishima T, Sasaki T, Ichikawa Y, Morita S, Yoshimura K, Takabe K, Endo I. High expressions of ATP-binding cassette transporter ABCB1 in the breast tumors are associated with aggressive subtypes and worse disease-free survival. **Breast Cancer Res Treat** 137:773-782, 2013.

<研究分担者 熱田 由子>

1. Atsuta Y, Suzuki R, Yamashita T, Fukuda T, Miyamura K, Taniguchi S, Iida H, Uchida T, Ikegame K, Takahashi S, Kato K, Kawa K, Nagamura-Inoue T, Morishima Y, Sakamaki H, and Kodera Y: Continuing increased risk of oral/esophageal cancer after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in adults in association with chronic graft-versus-host disease. **Ann Oncol** 25:435-441,2014
2. Kanda J, Nakasone H, Atsuta Y, Toubai T, Yokoyama H, Fukuda T, Taniguchi S, Ohashi K, Ogawa H, Eto T, Miyamura K, Morishima Y, Nagamura-Inoue T, Sakamaki H, Murata M. Risk factors and organ involvement of chronic GVHD in Japan. **Bone Marrow Transplant** 49:228-235,2014
3. Tanaka J, Morishima Y, Takahashi Y, Yabe T, Oba K, Takahashi S, Taniguchi S, Ogawa H, Onishi Y, Miyamura K, Kanamori H, Aotsuka N, Kato K, Kato S, Atsuta Y, Kanda Y. Effects of KIR ligand incompatibility on clinical outcomes of umbilical cord blood transplantation without ATG for acute leukemia in complete remission. **Blood Cancer J** (in press)
4. Kurosawa S, Yakushijin K, Yamaguchi T, Atsuta Y, Nagamura-Inoue T, Akiyama H, Taniguchi S, Miyamura K, Takahashi S, Eto T, Ogawa H, Kurokawa M, Tanaka J, Kawa K, Kato K, Suzuki R, Morishima Y, Sakamaki H, Fukuda T. Recent decrease in non-relapse mortality due to GVHD and infection after allogeneic hematopoietic cell transplantation in non-remission acute leukemia. **Bone Marrow Transplant** 48:1198-1204, 2013
5. Nakasone H, Kanda J, Yano S, Atsuta Y, Ago H, Fukuda T, Kakihana K, Adachi T, Yujiri T, Taniguchi S, Taguchi J, Morishima Y, Nagamura T, Sakamaki H, Mori T, Murata M: GVHD Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. A case-control study of bronchiolitis obliterans syndrome following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. **Transpl Int** 26:631-639, 2013
6. Shinzato A, Tabuchi K, Atsuta Y, Inoue M, Inagaki J, Yabe H, Koh K, Kato K, Ohta H, Kigasawa H, Kitoh T, Ogawa A, Takahashi Y, Sasahara Y, Kato SI, Adachi S. PBSCT Is Associated With Poorer Survival and Increased Chronic GvHD Than BMT in Japanese Paediatric Patients With Acute Leukaemia and an HLA-Matched Sibling Donor. **Pediatr Blood Cancer** 60:1513-1519, 2013
7. Kanda Y, Kanda J, Atsuta Y, Maeda Y, Ichinohe T, Ohashi K, Fukuda T, Miyamura K, Iida H, Mori T, Iwato K, Eto T, Kawa K, Morita S, Morishima Y. Impact of a single human leucocyte antigen (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** 161:566-577, 2013

2. 学会発表

<研究分担者 小川 啓恭>

1. Yamahista T, Taniguchi S, Fukuda T, Ogawa H, Morishima Y, Nagamura T, Sakamaki H, Atsuta Y, Takami A. Clinical outcomes of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with intravenous busulfan-based reduced-intensity conditioning for acute myeloid leukemia: A nationwide retrospective study from the adult AML working group of JSHCT. **The 39th EBMT annual meeting in 2013** 2013年4月 London, UK.
2. Murata M, Nishida T, Taniguchi S, Ohashi K, Ogawa H, Fukuda T, Morishima Y, Nagamura-Inoue T, Sakamaki H, Atsuta Y, Suzuki R, Naoe T. Transplantation for primary myelofibrosis using bone marrow, peripheral blood and umbilical cord blood: a

- retrospective analysis of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. **The 39th EBMT annual meeting in 2013** 2013年4月 London, UK.
3. Tanaka J, Takahashi Y, Yabe T, Morishima Y, Oba K, Takahashi S, Taniguchi S, Ogawa H, Ohnishi Y, Miyamura K, Kato K, Kato S, Atsuta Y, Kanda Y. KIR-ligand incompatibility in the graft-versus-host direction did not affect outcomes of single umbilical cord blood transplantation without ATG for acute leukemia in complete remission: A Study From the HLA Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation (JSHCT). **The 18th congress of European Hematology Association** 2013年6月 Stockholm, Sweden.
 4. Kondo E, Mizuta S, Ito T, Ogawa H, Sakamaki H, Kato K, Morishima Y, Suzuki R, Suzumiya J. High dose chemotherapy with autologous stem cell support for Primary Mediastinal large B-cell Lymphoma: a retrospective analysis from the Adult Malignant Lymphoma Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation (JSHCT). **The 12th International Conference on Malignant Lymphoma** 2013年6月 Lugano, Switzerland.

<研究分担者 田中 淳司>

1. Tanaka J, Takahashi Y, Yabe T, Morishima Y, Oba K, Takahashi S, Taniguchi S, Ogawa H, Ohnishi Y, Miyamura K, Kato K, Kato S, Atsuta Y, Kanda Y. KIR-ligand incompatibility in the graft-versus-host direction did not affect outcomes of single umbilical cord blood transplantation without ATG for acute leukemia in complete remission. **18th Congress of European Hematology Association (EHA)** 2013年6月 StockholmsMassan, Sweden

<研究分担者 山下 卓也>

1. Yamashita T, Kuwabara H, Ohashi K, Uchida N, Fukuda T, Miyamura K, Mori S, Kato K, Tanaka J, Adachi S and Atsuta Y. Late relapse after allogeneic hematopoietic cell transplantation for hematological

malignancies: a nationwide retrospective study from the late complications and quality-of-life working group of the Japan Society for Hematopoietic Cell transplantation. **55th annual meeting of the ASH** 2013年12月 New Orleans

2. Yamashita T, Ohashi K, Taniguchi S, Fukuda T, Kanamori H, Morishima Y, Nagamura T, Sakamaki H, Atsuta Y and Takami A. Clinical outcomes of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with intravenous busulfan-based myeloablative conditioning for acute myeloid leukemia: a nationwide retrospective study from the adult acute myeloid leukemia working group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. **39th annual meeting of the EBMT** 2013年4月 London
3. Yamashita T, Taniguchi S, Fukuda T, Ogawa H, Morishima Y, Nagamura T, Sakamaki H, Atsuta Y, and Takami A. Clinical outcomes of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with intravenous busulfan-based reduced-intensity conditioning for acute myeloid leukemia: a nationwide retrospective study from the adult acute myeloid leukemia working group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. **39th annual meeting of the EBMT** 2013年4月 London

<研究分担者 一戸 辰夫>

1. Ichinohe T. The expanding role of long-term fetal/maternal microchimerism in allogeneic hematopoietic cellular therapy. **Symposium on chimerism** 2013年5月 Graz, Austria

<研究分担者 高橋 義行>

1. Takahashi Y, Kawashima N, Narita A, Sakaguchi H, Doisaki S, Muramatsu H, Nakanishi K, Hama A, Kojima S. HLA haploidentical stem cell transplantation for children with aplastic anaemia in urgent need of stem cell transplantation. **39th Annual Meeting of the EBMT** 2013年4月 London
2. Takahashi Y, Kawashima N, Narita A, Sakaguchi H, Muramatsu H, Hama A,

Kojima S. Unmanipulated HLA Haploidentical Bone Marrow Transplantation Combined With PBSC With The Options Of Donor Virus Specific CTLs and Mesenchymal Stem Cells Infusion. **The 55th ASH Annual Meeting and Exposition** 2013年12月 New Orleans

<研究分担者 前田 嘉信>

1. Fujiwara H, Kobayashi K, Nishimori H, Nishinohara M, Okamoto S, Matsuoka K, Kondo E, Fujii N, Shinagawa K, Tanimoto M and Maeda Y. Contribution of the PD-1-PD-L pathway to chronic graft-versus-host disease. **BMT Tandem Meetings 2013** 2014年2月 Salt Lake
2. Fujiwara H, Maeda Y, Kobayashi K, Nishimori H, Matusoka K, Azuma M, Y Hideo Y, Chen L, and Tanimoto M. Host tissue PD-1 pathway contribute to murine chronic graft-versus-host disease via Th1+Th17+ cells. **ASH 2013** 2013年12月 New Orleans

<研究分担者 熱田 由子>

1. Atsuta Y, Takanashi M, Morishima Y, Taniguchi S, Takahashi S, Nagamura-Inoue T, Kato K, and Kanda Y, on behalf of the HLA Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation; Different effect of HLA disparity on transplant outcomes after single unit cord blood transplantation between pediatric and adult patients with leukemia. EBMT 2012;Oral session “Stem cell source and donor“; **38th Annual Meeting of the European Group for Blood and Marrow Transplantation**. 2012年4月 Geneva, Switzerland

F. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得
特になし
2. 実用新案登録
特になし
3. その他
特になし

HLA 不適合血縁者間移植の安全性および有効性向上のための包括的研究

アレムツズマブを用いた HLA 不適合移植の開発・腫瘍・感染症特異的免疫の研究

研究代表者 神田 善伸

自治医科大学附属さいたま医療センター 血液科 教授

東京大学医学部附属病院でパイロット試験として行ったアレムツズマブを用いた HLA 二座以上不適合血縁ドナーからの同種造血幹細胞移植療法の臨床試験の結果を受けて、平成 16 年 11 月から改正 GCP 基準に則った多施設共同医師主導治験を開始した。平成 17 年度に第 1 コホート 3 症例を、平成 18 年度中に第 2 コホート 3 症例を完了した。平成 19 年度より連続再評価法(CRM)によってアレムツズマブの至適投与量を検討するとともに、当該用量において同種造血幹細胞移植が安全に実施することが可能であることを検討する段階に進んだ。平成 22 年 6 月に登録を完了し、平成 23 年度は治療後の観察期間を終了した。平成 24 年度には治療成績の解析を行い、安全な移植が実施可能であることを確認した。現在はアレムツズマブの投与量をさらに減量した臨床試験を遂行している。7 症例の移植が行われ、今のところ Grade II 以上の急性 GVHD の発症はない。また、HLA 不適合移植で問題となる免疫抑制状態の遷延に対して様々な病原微生物に対する特異的な細胞傷害性 T 細胞を定量する系を開発している。造血幹細胞移植領域のエビデンス構築の促進のための統計ソフトウェアも完成し、ホームページで無料公開している。

A. 研究目的

同種造血幹細胞移植の最大の合併症は移植片対宿主病(GVHD)である。特に HLA の不適合が存在する移植では致死的な GVHD の頻度が上昇する。そこで、我々はアレムツズマブに注目した。アレムツズマブはリンパ球などの細胞の表面に存在する CD52 に対するモノクローナル抗体である。移植前処置と併用することによって、拒絶と GVHD の両方を予防する薬剤としても注目されている。移植前処置とともに投与されたアレムツズマブはまずホストのリンパ球を抑制して拒絶を予防し、さらに移植後も 2 ヶ月程度有効血中濃度が維持されるため、ドナーのリンパ球を抑制して GVHD を予防する。そこで、他に有効な治療法を持たない造血器疾患患者で、かつ、HLA 適合または一座不適合の血縁・非血縁ドナーを有さない患者を対象として、アレムツズマブを用いて移植片拒絶と重症の移植片対宿主病(graft-versus-host disease; GVHD)を防ぐことによって、HLA 二座以上不適合の血縁ドナーからの同種造血幹細胞移植を安全に行うことが可能であることを示すための臨床試験を行った。アレムツズマブは本邦未承認薬であるため、本臨床試験は改正 GCP(good clinical practice)基準に則って医師主導治験として実施した。本治験でアレムツズマブを用いた HLA 二座以上不適合血縁者間移植の安全性と有効性が証明された場合には、品質保証されたデータに基づいてアレムツズマブの移植前処置薬としての適応承認申請を行い、多くの国民に利益をもたらすことが目的である。

また、HLA 不適合移植の問題点として、GVHD を予防するために免疫抑制を強化することが移植後の免疫抑制状態の遷延を招き、感染症や造血器腫瘍の再発が増加する可能性が危惧されている。そこで、病原微生物や、腫瘍抗原に対する特異的な免疫能の質的、量的評価を行う系を確立するとともに、腫瘍特異的免疫能を増強するための治療を開発する。

並行して研究代表者は日本造血細胞移植学会「HLA と移植成績ワーキンググループ(HLA-WG)」責任者を務めており、この研究班を通して HLA-WG の研究を支援するとともに、データベースを効率的に利用するプログラムを作成することによって造血幹細胞移植領域のエビデンス構築の促進を図る。

B. 方法

医師主導治験の対象とした患者は、他に有効な治療法を持たない造血器疾患を有するものの、HLA 適合または一座不適合の血縁・非血縁ドナーがいないがために、根治的な同種造血幹細胞移植を行うことができない 16~65 歳の患者であり、HLA 二座以上不適合の二親等以内の血縁ドナーを有する患者である。移植前処置は、自家移植の既往のない 55 歳未満の患者においては通常の移植で行われるシクロホスファミド(60 mg/kg を 2 日間)と全身放射線照射(2Gy を 1 日 2 回、3 日間)に加えてアレムツズマブを患者体重あたり 0.16~0.2 mg/kg を 6 日間併用(移植 8 日前から 3 日前まで)する。自家移植の既往のある患者あるいは 55

歳以上の高齢患者においては、リン酸フルダラビン(30 mg/m²を6日間)、ブスルファン(4 mg/kgを2日間)、少線量全身放射線照射(2Gyを1日2回、1日間)とアレムツズマブを併用した。ドナーから採取した末梢血幹細胞を前処置終了後に輸注する。移植後の免疫抑制はシクロスポリンとメトトレキサートの併用で行った。

主要評価項目は移植後 60 日以内の生着不全およびグレード III 以上の急性 GVHD の発症率とし、副次的評価項目として、移植後 1 年後の生存率、無増悪死亡率、移植前処置関連毒性、感染症発症率を評価した。

アレムツズマブの投与量は 0.20 mg/kg を開始用量(第 1 コホート)として、GVHD 非発症率の期待値が 60%を超える確率が 90%以上となることを基準とした CRM(Continual Reassessment Method、研究分担者の大橋靖雄らが開発した連続再評価法)による検討結果を参考として、3 例ずつのコホート法により、0.16 mg/kg、0.20 mg/kg、あるいは 0.25 mg/kg を投与し、CRM の開始用量を決定した。第 3 コホート以降の CRM においても、GVHD 非発症率の期待値が 60%を超える確率が 90%以上となることを基準として用量選択を行い、最も早く必要症例数に達した用量を推奨用量と定め、その結果を主要変数の評価に用いることとした。

HLA 不適合移植後の最大の問題である免疫回復の遷延について、病原微生物や、腫瘍抗原に対する特異的な免疫能の質的、量的評価を行う系を確立するとともに、腫瘍特異的免疫能を増強するための治療を開発する。

また、データベースの効率的利用のために、無料の統計ソフトである R を基盤として Tcl/Tk 言を利用したプログラムを作成し、複雑なスクリプトの入力を必要とせずマウス操作だけで簡単に統計解析が可能になる統計ソフトウェアの開発を行う。

C. 結果

平成16年11月に治験届を提出し、平成16年12月に治験を開始した。平成17年に登録された3症例がいずれも治療の成功基準を満たしていることが確認されたため、アレムツズマブの投与量を0.16 mg/kg/dayに減量した。この第2コホートの3症例もいずれも成功基準を満たしたので、平成19年度よりCRMによってアレムツズマブの至適投与量を検討する段階に移行した。登録は緩徐ながらも着実に進行し、平成22年6月に登録を終了し、さらに平成23年6月に観察期間を終了した。

CRMの期間はアレムツズマブの用量が変更されることはなく、最終的に0.16 mg/kg/dayの投与を受けた11症例が主要評価項目の解析対象となり、9症例が成功基準を満たしたため、本治療法は有効と判断された。グレードII以上の急性GVHDは2例のみ、移植関連死亡は1例のみと、本治療法が安全な移植方法であることが確認された。

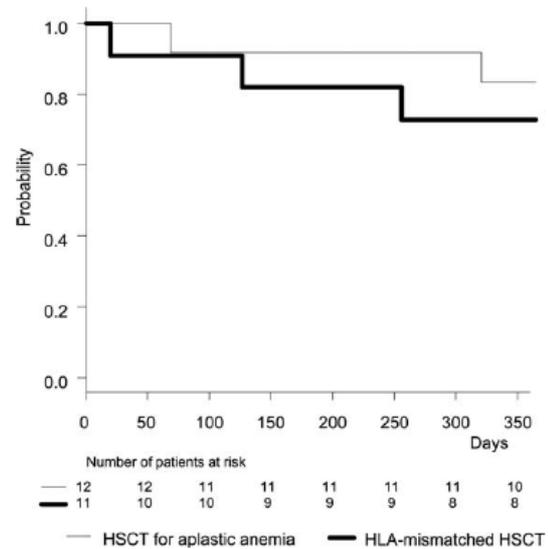


図 移植後生存曲線 (Am J Hematol 2013;88:294-300)

しかし、移植後に免疫抑制に伴うサイトメガロウイルス(CMV)の再活性化が頻発したことから、現在はさらにアレムツズマブの投与量を減少(総量で0.5 mg/kg)した臨床試験を実施している。既に7症例の移植が行われ、今のところGradeII以上の急性GVHDの発症はなく、安全に移植が実施できている。

また、通常の移植方法で日常診療として行われているHLA-抗原不適合移植の治療成績について前年度に日本造血細胞移植学会のデータベースを用いて解析した。その結果、HLA-抗原不適合血縁者間移植の治療成績はHLA適合血縁者間移植やHLA-A、B、C、DRB1遺伝子型適合非血縁者間移植よりも有意に劣るということが示された。診断から移植までの期間の差異による影響を補正するために臨床決断分析を加えたが、それでも一抗原不適合血縁者間移植の成績はHLA-A、B、C、DRB1遺伝子型適合非血縁者間移植の成績よりも劣っていた。そこで、抗胸腺細胞抗体を併用することによって一抗原不適合血縁者間移植の治療成績が改善するかどうかを検証する前方視的臨床試験を日本造血細胞移植学会の主導臨床試験として平成25年度に開始した。

特異的免疫能の評価系についてはサイトメガロ

ウイルスおよびEBウイルスに特異的に働く細胞傷害性T細胞をテトラマーによって同定する系が確立された。さらに細胞傷害性T細胞を単一細胞に分離した上でT細胞受容体レパトアの解析を行ったところ、ドナー由来の細胞傷害性T細胞がサイトメガロウイルス再活性化の抑制に貢献していることや、細胞傷害性T細胞の形質によって抗ウイルス能が異なることが示唆された。

統計ソフトウェア開発についてはマウス操作だけで一般的な名義変数、連続変数、生存期間の解析に加えて、移植領域の統計解析で必須となる時間依存性変数を扱う解析や競合イベントを扱う解析が実行できるソフトウェア(EZR)が完成し、自治医科大学附属さいたま医療センターのホームページ(<http://www.jichi.ac.jp/saitama-sct/>)で無料公開するとともに、HLA-WGで同ソフトを共有することによって統計解析の活性化を図っている。同ソフトウェアの開発を報告する論文がBone Marrow Transplantation誌に掲載され、当該論文のダウンロード数は同誌の論文の中で常に上位10位内を維持している。

D. 考察

HLA 適合血縁ドナーからの同種造血幹細胞移植は、他に有効な治療を持たない造血器疾患の根治的な治療として確立されているが、少子化の進む先進国において HLA 適合血縁ドナーが得られる確率は30%にすぎない。骨髄バンクにもドナーが見つからない、あるいはバンク登録から移植までに約半年を要するために最適な移植時期を逸することも多い。このように移植に適したドナーが見つからないような場合には、臍帯血移植がひとつの選択肢となりえるが、移植片拒絶の危険が高いことと、造血回復までに長期間を要することが問題となっている。一方、親子間ではA、B、DR座などの重要なHLA座はひとかたまり(ハプロタイプ)として遺伝するため、A、B、DR座の各2座の合計6座のうち、少なくとも3座は適合していることになる。そこで、HLAが二座あるいは三座不適合であっても安全な同種造血幹細胞移植が可能となる方法が開発されれば、ほとんどの患者が同種造血幹細胞移植療法の恩恵を受けることができるということになる。

本臨床試験は改正GCP(good clinical practice)に則って医師主導治験として行うことにより、より信頼性の高いデータを得るとともに、本試験で品質保証されたデータに基づいて適応承認申請を行い、多くの国民に利益をもたらす。平成22年に

登録終了、平成23年6月に観察期間を終了した。良好な成績が得られており、来年度中の承認申請を予定している。それまでに本研究班の自主臨床研究においてこの移植方法の安全性、有効性に関するエビデンスをさらに蓄積する。ウイルス特異的細胞傷害性T細胞のレパトアを同定することは将来の免疫療法の開発につながる。

E. 結論

本研究によってアレムツズマブを用いたHLA不適合移植法の利点、欠点を明確にすることができると同時にHLA-WGの研究を推進し、HLA不適合移植を本当に必要とする患者層を同定し、ガイドラインを作成することを目標とする。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Kanda Y, Kanda J, Atsuta Y, Fuji S, Maeda Y, Ichinohe T, Takanashi M, Ohashi K, Fukuda T, Miyamura K, Mori T, Sao H, Kobayashi N, Iwato K, Sawada A, Mori S. Changes in the clinical impact of high-risk HLA allele mismatch combinations on the outcome of unrelated bone marrow transplantation. ***Biol Blood Marrow Transplant.*** 20:526-535,2014
2. Nakasone H, Terasako-Saito K, Yamazaki R, Sato M, Tanaka Y, Sakamoto K, Kurita M, Yamasaki R, Wada H, Ishihara Y, Kawamura K, Machishima T, Ashizawa M, Kimura SI, Kikuchi M, Tanihara A, Kanda J, Kako S, Nishida J, Yamada S, and Kanda Y. Impact of high-/middle-molecular-weight adiponectin on the synthesis and regulation of extracellular matrix in dermal fibroblasts. ***Exp Hematol*** (in press)
3. Sato M, Nakasone H, Terasako-Saito K, Sakamoto K, Yamazaki R, Tanaka Y, Akahoshi Y, Nakano H, Ugai T, Wada H, Yamasaki R, Ishihara Y, Kawamura K, Ashizawa M, Kimura SI, Kikuchi M, Tanihara A, Kanda J, Kako S, Nishida J, and Kanda Y. Prediction of infectious complications by the combination of plasma

- procalcitonin level and localized infection before allogeneic hematopoietic cell transplantation. **Bone Marrow Transplant** 49:553-560,2014
4. Sakamoto K, Nakasone H, Wada H, Yamasaki R, Ishihara Y, Kawamura K, Ashizawa M, Sato M, Terasako-Saito K, Machishima T, Kimura SI, Kikuchi M, Kako S, Kanda J, Yamazaki R, Tanihara A, Nishida J, and Kanda Y. Evaluation of the validity of preemptive therapy against Cytomegalovirus disease based on antigenemia assay with a cutoff of 20 positive cells per two slides. **PLoS One** (in press)
 5. Nakasone H, Tanaka Y, Yamazaki R, Sato M, Terasako K, Sakamoto K, Yamasaki R, Wada H, Ishihara Y, Kawamura K, Machishima T, Ashizawa M, Kimura SI, Kikuchi M, Tanihara A, Kanda J, Kako S, Nishida J, Kanda Y. Single-cell analysis of T-cell receptor- β repertoire of HLA-A*2402-restricted cytomegalovirus pp65-specific cytotoxic T-cells in donor-patient pairs undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. **Bone Marrow Transplant** 49:87-94,2014
 6. Sato M, Nakasone H, Wada H, Yamasaki R, Ishihara Y, Sakamoto K, Kawamura K, Ashizawa M, Machishima T, Terasako K, Kimura SI, Kikuchi M, Tanihara A, Yamazaki R, Tanaka Y, Kanda J, Kako S, Nishida J, and Kanda Y. Prediction of infectious events by the high-sensitivity C-reactive protein level before autologous hematopoietic cell transplantation for lymphoma and multiple myeloma. **Transplant Infectious Disease** 15:E169-171,2013
 7. Kako S, Morita S, Sakamaki H, Iida H, Kurokawa M, Miyamura K, Kanamori H, Hara M, Kobayashi N, Morishima Y, Kawa K, Kyo T, Sakura T, Jinnai I, Takeuchi J, Miyazaki Y, Miyawaki S, Ohnishi K, Naoe T, Kanda Y. The role of HLA-matched unrelated transplantation in adult patients with Philadelphia chromosome-negative acute lymphoblastic leukemia in first remission. A decision analysis. **Bone Marrow Transplant.** 48:1077-1083,2013
 8. Yamazaki R, Nakasone H, Tanaka Y, Sato M, Terasako K, Wada H, Ishihara Y, Kawamura K, Sakamoto K, Ashizawa M, Machishima T, Kimura SI, Kikuchi M, Okuda S, Kako S, Kanda J, Tanihara A, Nishida J, Kanda Y. Allotype analysis to distinguish the origin of varicella-zoster virus immunoglobulin G after allogeneic stem cell transplantation. **Biol Blood Marrow Transplant.** 19:1013-1020,2013
 9. Kanda Y, Kanda J, Atsuta Y, Maeda Y, Ichinohe T, Ohashi K, Fukuda T, Miyamura K, Iida H, Mori T, Iwato K, Eto T, Kawa K, Morita S, Morishima M. 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.** 161:566-577,2013
 10. Sato M, Nakasone H, Oshima K, Ishihara Y, Wada H, Sakamoto K, Kawamura K, Ashizawa M, Machishima T, Terasako K, Kimura SI, Kikuchi M, Okuda S, Tanihara A, Yamazaki R, Tanaka Y, Kanda J, Kako S, Nishida J, Kanda Y. Prediction of transplant-related complications by C-reactive protein levels before hematopoietic stem cell transplantation. **Bone Marrow Transplant.** 48:698-702,2013
 11. Kanda Y, Oshima K, Kako S, Fukuda T, Uchida N, Miyamura K, Kondo Y, Nakao S, Nagafuji K, Miyamoto T, Kurokawa M, Okoshi Y, Chiba S, Ohashi Y, Takaue Y, Taniguchi S. In vivo T-cell depletion with alemtuzumab in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: Combined results of two studies on aplastic anemia and HLA-mismatched haploidentical transplantation. **Am J Hematol.** 88: 294-300,2013
 12. Kako S, Kanamori H, Kobayashi N, Shigematsu A, Nannya Y, Nakamae M, Shigeno K, Suzukawa K, Takeuchi M, Tsuzuki M, Usuki K, Hatanaka K, Ogawa K, Mitani K, Nawa Y, Hatta Y, Mizuno I, and Kanda Y. Outcome after

特になし

- first relapse in adult patients with Philadelphia chromosome-negative acute lymphoblastic leukaemia. **Br J Haematol.** 16:95-103,2013
13. Kanda Y. Investigation of the freely-available easy-to-use software "EZR" (Easy R) for medical statistics. **Bone Marrow Transplant.** 48:452-458,2013
14. 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. Unrelated cord blood transplantation vs. related transplantation with HLA 1-antigen mismatch in the graft-versus-host direction. **Leukemia** 27:286-294,2013
15. 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, and Kanda Y, on behalf of the HLA Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. Impact of the direction of HLA mismatch on transplant outcome in single unrelated cord blood transplantation. **Biol Blood Marrow Transplant.** 19:247-254,2013
16. Ashizawa M, Oshima K, Wada H, Ishihara Y, Kawamura K, Sakamoto K, Sato M, Terasako K, Machishima T, Kimura SI, Kikuchi M, Nakasone H, Okuda S, Kako S, Kanda J, Yamazaki R, Tanihara A, Nishida J, Kanda Y. Hyperbilirubinemia in the early phase after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: Prognostic significance of the alkaline phosphatase / total bilirubin ratio. **Bone Marrow Transplant.** 48:94-98,2013

2. 学会発表
特になし

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得
特になし
2. 実用新案登録
特になし
3. その他

多剤併用GVHD予防によるHLA不適合移植の開発・不適合移植後のHLA抗体の解析

研究分担者 小川 啓恭 兵庫医科大学 内科学講座血液内科教授

研究要旨

HLA半合致移植の最大の問題点は、GVHDである。この移植を安全に実施可能にするためには、GVHDのmonitoring法を確立する必要がある。当科で、HLA半合致ドナーからRISTを受けた77人の患者のdataを用いて、sIL-2RのGVHD biomarkerとしての有用性を検討した。重症GVHDの発症は、sIL-2R高値時に限定されず、sIL-2R値の正常化後にも発症する例が存在することが判った。したがって、sIL-2Rの上昇は、急性GVHDの発症を危惧する要素となるものの、それを指し示すものではない。一方、GVHD患者の多くは、移植後早期に、高いsIL-2R値を示していた。そこで、移植早期のsIL-2R値と重症GVHDの発症との関係を解析したところ、多変量解析の結果、day 7 sIL-2Rが、唯一の有意な因子として検出された。よって、day 7 sIL-2RがHLA半合致RIST後のGVHDのpredictorとして、有用であることが判明した。

A. 研究目的

同種造血幹細胞移植は、化学療法抵抗性の悪性血液疾患患者を治癒に導く唯一の治療法である。しかし、移植を必要とする患者で、HLA適合同胞が存在するのは25%程度に過ぎず、さらに昨今の少子化の影響もあり、今後、ますます血縁でHLA適合ドナーが見つかる可能性は低くなると考えられる。このドナー不足を補うため、骨髄バンクや臍帯血バンクが設立されているが、それぞれ、ドナーのコーディネート期間が長い、拒絶の頻度が高いといった問題点が存在する。

一方、HLAが半分だけ合っているドナー(HLA半合致ドナー)は、ほぼ血縁内に見つかるので、このようなHLA半合致ドナーからの移植が安全に施行可能になると、同種移植においてドナーの問題が解消されることになる。私共は、厚労省班研究の中で、HLA半合致ドナーからのRISTをprospectiveかつ多施設研究として、phase I/II studyを行い、生着率97.1%、100日生存率88.2%と、予後不良症例を対象としていることを考慮すると、良好な成績が得られた(論文執筆中)。ただ、このHLA半合致移植の問題点は、移植片対宿主病(graft-versus-host disease=GVHD)である。GVHDのコントロールの精度を上げるためには、GVHDの予測を的確に行う必要がある。同種移植後のGVHDのbiomarkerとしては、soluble interleukin-2 receptor (sIL-2R), tumor necrosis factor receptor-1, interleukin-8, hepatocyte growth factorなど、種々のマーカーが有用とされてきた。中でも、sIL-2Rは、最も優れたマーカーと報告されている。GVHDは、移植時の幹細胞とともに入るドナーリンパ球が、hostの正常組織を免疫学的に攻撃する反応である。一般に、T細胞がいつ

たん活性化されると、T細胞は、細胞表面にIL-2Rを発現する。IL-2Rは、 α , β , γ の少なくとも3つのsubunitで構成されるが、ligandであるIL-2がつくことで、IL-2Rの α subunitが切り出され、末梢血中でsIL-2Rとして、検出される。したがって、血中のsIL-2Rは、T細胞の活性化の総量を反映していると考えられる。そのため、多くの移植の研究で、sIL-2RのGVHD biomarkerとしての有用性が証明されてきた。しかし、これらの研究は、主として、骨髄破壊の前処置を用いた、HLA適合移植で行われたものであり、HLA半合致ドナーからのRISTの条件下で、sIL-2RがGVHDのbiomarkerとして有用であるか否かについては、明らかになっていない。

そこで、最近、当科で実施したHLA半合致RIST症例のdataを用いて、sIL-2RのGVHD biomarkerとしての有用性を検討した。

B. 研究方法

対象：sIL-2Rは、重症感染症、VODや腫瘍性にも上昇することが知られている。そこで、2009年1月から2012年6月までの間に、兵庫医科大学病院でHLA半合致RISTを受けた患者の中で、ドナー由来の生着を示し、かつ上記に示す非特異的sIL-2Rの上昇のない177人の患者のdataを抽出し、後方視的にsIL-2RのGVHD biomarkerとしての有用性を解析した。対象患者の基礎疾患は、AML/MDS 39例、ALL 14例、Lymphoma 14例、CMLを含むその他の疾患 10例であった。移植前病期は、CR/MDS-RA/CML-CPのgood risk群 4例、PR/MDS-RAEB/CML-APのintermediate risk群 6例、non-CR/MDS-overt/CML-BCのpoor risk群 67例であった。HLA disparityについては、A抗原、B抗原、DR抗原に関して、GVH方向2抗原不適合 40例、

GVH方向3抗原不適合 37例であった。移植回数は、初回移植 44例、2回目以降の移植 33例であった。

移植前処置は、Flu+Bu+ATGをbaseにする regimen 20例、Flu+MeI+ATGをbaseにする regimen 59例、その他 8例であった。GVHD予防は、FK506+mPSL 1 mg/kgで行った。sIL-2Rは、ELISAキット(Thermo Fisher Scientific Inc.)を用いて、測定した。統計解析は、EZR (自治医大さいたま医療センター 神田善伸博士開発)を用いて、行った。

(倫理面への配慮)

「血縁者間HLA2-3抗原不適合移植」のプロトコールは、平成18年3月22日、兵庫医科大学の倫理委員会で承認を受けている。患者とドナーから、書面によるinformed consentを得た後、試験は実施された。移植の前処置が開始されるまでであれば、いつでも患者の自由意思で撤回することが可能であった。また、試験結果が公表される際は、患者個人が特定できないように、匿名化がなされるなど、ヘルシンキ宣言に基づいて、試験は実施された。

C. 研究結果

対象となった77例の移植患者のGVHDのgradeは、grade 0 38例、grade I 14例、grade II-III 25例であった。GVHDを発症しなかった患者のsIL-2Rは、移植後終始 740 U/ml以下の低値を示した。一方、II度以上のGVHDを発症した患者のsIL-2Rの中央値は、移植後上昇し、day 11にピーク値(1,663 U/ml)に達した後、下降に転じ、day 30以降は1,000 U/ml以下に低下した。重症GVHDの発症は、sIL-2R高値時に限定されておらず、sIL-2R値の正常化後に発症する例も存在した。一方、このような患者の多くは、移植後早期に、高いsIL-2R値を示していた。

このような状況を背景に、day 7 sIL-2RのGVHDのpredictorとしての有用性を解析した。day 7 sIL-2R値のROC解析から、810 U/mlがcutoff値となることが判った。donor source、患者の性別、患者年齢、移植前病期、移植回数、GVH方向のHLA disparity、原疾患、day 7 sIL-2Rを変数として、GVHD発症に関係する因子を、Cox proportional hazards modelを用いて多変量解析を行ったところ、day 7 sIL-2Rが、唯一の有意な因子として検出された。

D. 考察

sIL-2Rは、重症感染症、VOD、および腫瘍性にも上昇することが知られている。sIL-2Rが、T細胞の非特異的活性化を示すマーカーであるため、これらのGVHD以外でのsIL-2Rの上昇は避けられず、GVHD biomarkerとしての有用性を下げることにつながる。Ferraraらは、sIL-2Rのbiomarkerと

しての意義を解析する論文の中で、非特異的上昇を除くため、全症例の15%を除外した(Blood 2009; 113: 273-8)。私共は、非寛解期症例を多く含んでいたため、20%の症例を除外することになった。しかし、これらのsIL-2Rの上昇を伴う病的状態を、臨床的に同定することは比較的容易である。したがって、sIL-2RをGVHDのbiomarkerとして適用可能な症例を選別することが重要と思われる。

前述したように、重症GVHDの発症は、sIL-2R高値時に限定されておらず、sIL-2R値の正常化後に発症する例も存在したが、これらの患者の多くは、移植後早期に高いsIL-2R値を示していた。したがって、sIL-2Rの上昇は、急性GVHDの発症を危惧する要素とはなるものの、それを直接指し示すものではない。regenerating islet-derived 3-alphaなどの組織側の要因が、GVHDの発症に係っているためと考えられる。一方、移植早期のsIL-2R値、day 7 sIL-2Rは、GVHDのpredictorとして、有用であることが判明した。

E. 結論

sIL-2Rが、HLA半合致RISTにおいても、有用なGVHDのbiomarkerとなり得ることが明らかになった。特に、day 7 sIL-2Rは、GVHDのpredictorとして、有用である。

F. 健康危険情報

本研究は、その多くは非寛解期症例を対象としているが、通常に認められる移植後合併症以外に、特記すべき有害事象は観察されていない。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ikegame K, Kato R, Fujioka T, Okada M, Kaida K, Ishii S, Yoshihara S, Inoue T, Taniguchi K, Tamaki H, Soma T, Ogawa H. Detection of donor-derived CMV-specific T cells in cerebrospinal fluid in a case of CMV meningoencephalitis after cord blood stem cell transplantation. *International Journal of Hematology* 97: 289-290, 2013.
- 2) Morishita S, Kaida K, Yamauchi S, Wakasugi T, Yoshihara S, Taniguchi K, Ishii S, Ikegame K, Kodama N, Ogawa H, Domen K. Gender differences in health-related quality of life, physical function and psychological status among patients in the early phase following allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Psychooncology* 22: 1159-1166, 2013.
- 3) Fujioka T, Tamaki H, Ikegame K, Yoshihara S,

- Taniguchi K, Kaida K, Kato R, Inoue T, Nakata J, Ishii S, Soma T, Okada M, Ogawa H. Frequency of CD4(+)FOXP3(+) regulatory T-cells at early stages after HLA-mismatched allogeneic hematopoietic SCT predicts the incidence of acute GVHD. *Bone Marrow Transplant* 48: 859-864, 2013.
- 4) Kurosawa S, Kurosawa S, Yakushijin K, Yamaguchi T, Atsuta Y, Nagamura-Inoue T, Akiyama H, Taniguchi S, Miyamura K, Takahashi S, Eto T, Ogawa H, Kurokawa M, Tanaka J, Kawa K, Kato K, Suzuki R, Morishima Y, Sakamaki H, Fukuda T. Recent decrease in non-relapse mortality due to graft-versus-host disease and infection after allogeneic hematopoietic cell transplantation in non-remission acute leukemia. *Bone Marrow Transplantation* 48: 1198-1204. 2013.
- 5) Morishita S, Kaida K, Yamauchi S, Sota K, Ishii S, Ikegame K, Kodama N, Ogawa H, Domen K. Relationship between corticosteroid dose and declines in physical function among allogeneic hematopoietic stem cell transplantation patients. *Support Care Cancer* 21: 2161-2169, 2013.
- 6) Eguchi R, Kubo S, Ohta T, Kunimasa K, Okada M, Tamaki H, Kaji K, Wakabayashi I, Fujimori Y, Ogawa H. FK506 induces endothelial dysfunction through attenuation of Akt and ERK1/2 independently of calcineurin inhibition and the caspase pathway. *Cellular Signalling* 25: 1731-1738, 2013.
- 7) Kawakami M, Taniguchi K, Yoshihara S, Ishii S, Kaida K, Ikegame K, Okada M, Watanabe S, Nishina T, Hamada H, Nakagawa M, Ogawa H. Irreversible neurological defects in the lower extremities after haploidentical stem cell transplantation: possible association with nelarabine. *American Journal of Hematology* 88: 853-857, 2013.
- 8) Nakasone H, Onizuka M, Suzuki N, Fujii N, Taniguchi S, Kakihana K, Ogawa H, Miyamura K, Eto T, Sakamaki H, Yabe H, Morishima Y, Kato K, Suzuki R, Fukuda T. Pre-transplant risk factors for cryptogenic organizing pneumonia/bronchiolitis obliterans organizing pneumonia after hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplantation* 48: 1317-1323, 2013.
- 9) Murata, M, Nishida T, Taniguchi S, Ohashi K, Ogawa H, Fukuda T, Mori T, Kobayashi H, Nakaseko C, Yamagata N, Morishima Y, Nagamura-Inoue T, Sakamaki H, Atsuta Y, Suzuki R, MD, Naoe T. Allogeneic transplantation for primary myelofibrosis with bone marrow, peripheral blood, or umbilical cord blood: An analysis of the JSHCT. *Bone Marrow Transplantation* in press.
- 10) Kaida K, Ikegame K, Ikemoto J, Murata R, Irie R, Yoshihara S, Ishii S, Okada M, Inoue T, Tamaki H, Soma T, Fujimori Y, Kai S, Ogawa H. Soluble interleukin-2 receptor level on day 7 as a predictor of graft-versus-host disease after HLA-haploidentical stem cell transplantation using reduced intensity conditioning. *International Journal of Hematology* in press.

2. 学会発表

- 1) Yamahista T, Taniguchi S, Fukuda T, Ogawa H, Morishima Y, Nagamura T, Sakamaki H, Atsuta Y, Takami A. Clinical outcomes of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with intravenous busulfan-based reduced-intensity conditioning for acute myeloid leukemia: A nationwide retrospective study from the adult AML working group of JSHCT. The 39th EBMT annual meeting in 2013, 2013, 4.7-10, London, UK.
- 2) Murata M, Nishida T, Taniguchi S, Ohashi K, Ogawa H, Fukuda T, Morishima Y, Nagamura-Inoue T, Sakamaki H, Atsuta Y, Suzuki R, Naoe T. Transplantation for primary myelofibrosis using bone marrow, peripheral blood and umbilical cord blood: a retrospective analysis of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. The 39th EBMT annual meeting in 2013, 2013, 4.7-10, London, UK.
- 3) Tanaka J, Takahashi Y, Yabe T, Morishima Y, Oba K, Takahashi S, Taniguchi S, Ogawa H, Ohnishi Y, Miyamura K, Kato K, Kato S, Atsuta Y, Kanda Y. KIR-ligand incompatibility in the graft-versus-host direction did not affect outcomes of single umbilical cord blood transplantation without ATG for acute leukemia in complete remission: A Study From the HLA Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation (JSHCT). The

18th congress of European Hematology Association, 2013. 6.13-16, Stockholm, Sweden.

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

5) 小川啓恭, 宮村耕一, 岡本真一郎. 本邦における同種造血幹細胞移植に用いる無菌室の実態調査. (一般口演) 第35回日本造血細胞移植学会総会 2013.3 金沢

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). (一般口演) 第35回日本造血細胞移植学会総会 2013.3 金沢

7) 石井慎一, 池亀和博, 海田勝仁, 岡田昌也, 井上貴之, 加藤るり, 玉置広哉, 藤盛好啓, 甲斐俊朗, 相馬俊裕, 小川啓恭. high risk悪性血液疾患患者に対する, 低容量ATGとステロイドを用いたHLA半合致ミニ移植の治療成績. (ポスターセッション) 第35回日本造血細胞移植学会総会 2013.3 金沢

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

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

なし

厚生労働科学研究費補助金（免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業）
研究分担報告書

造血幹細胞移植後にシクロフォスファミドを用いた HLA 半合致移植に関する研究

研究分担者 千葉 滋 筑波大学医学医療系 教授

研究要旨：移植後早期に大量シクロフォスファミドを用いた HLA 半合致移植は、重篤な GVHD を抑制できる一方、高い再発率が問題であった。これを克服するため、我々は骨髄破壊的前処置と移植後シクロフォスファミドを組み合わせた HLA 半合致移植を計画した。我々の 5 例の経験では、生着は速やかで、重篤な GVHD を認めなかった。現時点では再発に関する評価は困難であるが、同法を用いた HLA 半合致移植は安全に施行できるものと考えられた。

A. 研究目的

HLA 半合致移植（以下、ハプロ移植）は、HLA 合致血縁ドナーや非血縁ドナーがいない造血器疾患患者における有望な選択肢のひとつである。ハプロ移植に伴う生着不全や重篤な GVHD、強い免疫抑制による感染症に対するアプローチとして、移植後早期にシクロフォスファミドを用いる移植法（以下、移植後 CY）の有効性が示されている。しかし移植後 CY では、高い再発率が依然問題である。これを克服する試みとして、骨髄破壊的前処置と組み合わせた移植後 CY の有効性が最近報告された。

そこで、我が国で使用可能な薬剤を用いた骨髄破壊的前処置と移植後 CY の安全性と効果を検討するパイロット試験を、単施設研究として開始した。

B. 方法

（本研究における倫理面への配慮）

計画内容は筑波大学附属病院の研究倫理審査委員会承認を受けた。レシピエントおよびドナーには研究の趣旨を理解してもらい、研究への参加は本人の自由意志によってのみ行われ、参加しない場合も何ら臨床的不利益を蒙らないことを保障する。提供者の個人を特定できる情報は、いかなる場所にも公表されない。また効果・安全委員会を組織し、本研究の中止あるいは変更の必要性を諮る。

対象：血縁者および骨髄バンクに HLA 全合致ドナーが見つからず、ハプロ移植の適応につき診療グループ内で施行のコンセンサスが得られ、文書による同意が得られた造血器腫瘍および再生不良性貧血の患者。

ドナー：HLA 8 座中、アリル 4 座以上 6 座以下合致した血縁者。幹細胞ソースは末梢血幹細胞または骨髄いずれも可とする。

前処置：症例および疾患背景により、いずれかを選択。

<前処置 1> 全身放射線照射（12 Gy/6 Fr）、リン酸フルダラビン（150 mg/m²）

<前処置 2> 静注ブスルファン（12.8 mg/kg）、リン酸フルダラビン（150 mg/m²）、全身放射線照射（2 Gy）

免疫抑制：シクロフォスファミド（Day 3 および day 5、50 mg/kg × 2 日間）、サイクロスポリン（Day -1 から持続静注）、MMF（Day -1 から day 30 まで）2000 mg/日

C. 結果

難治性のリンパ球系腫瘍 5 例（節外性 NK/T 細胞リンパ腫・鼻型 1 例、ATL 2 例、ホジキンリンパ腫 1 例。うち ATL 以外の 2 例は active disease）、および治療抵抗性 AML 1 例に対して、本レジメンを用いて移植を行った。年齢中央値 34 歳。移植片は骨髄 2 例、末梢血幹細胞 3 例。4 例は速やかに生着した（生着日中央値：16 日）が、抗 HLA 抗体陽性の AML 症例では生着が得られなかった。生着した 4 例のうち 1 例に GVHD（grade2）を認めたが、他症例には GVHD は出現しなかった。Day100 以内には重篤な感染症は生じなかったが、1 例で移植約 7 ヶ月後にウィルス性肺炎が疑われる肺炎が生じた。1 例は 34 日目に再発し、免疫抑制剤中止および DLI を行ったが効果なく、127 日目に原病により死亡した。他の 3 例は無再発生存している。また移植後のリンパ球の各サブセットの回復も、HLA 一致ドナーからの移植後 CY を用いない移植と同等であった。

D 考察

骨髄非破壊的前処置と移植後 CY を用いたハプロ移植の報告（Luznik, BBMT 2008）において、GVHD、TRM とも良好であったが、1 年後の再発率は 51%に達した。これに対して、骨髄破壊的前処置と移植後 CY を用いた 50

例の報告 (Bacigalupo, BBMT 2013) では, GVHD (II-III) 12%, TRM 18%であり, 再発率も 26%と良好な成績であった。同報告では骨髄破壊的前処置と移植後 CY を用いたハプロ移植は, (1)移植した造血幹細胞への悪影響を生じないこと (2)生着不全を予防できること (3)重篤なGVHDを予防できること (4)移植後の免疫再構築に優れることが示唆された。我々の症例において, 現時点では再発に関する評価は困難であるものの, 通常の HLA 合致移植と比較しても安全に施行できたものと考える。

E. 結論

移植後シクロフォスファミドを用いた HLA 半合致移植は, 国内でも種々な施設で試みられつつある。経験を共有し, プロトコールの最適化を図りつつ, 試験規模の拡大を考慮すべきである。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. Kanda Y, Oshima K, Kako S, Fukuda T, Uchida N, Miyamura K, Kondo Y, Nakao S, Nagafuji K, Miyamoto T, Kurokawa M, Okoshi Y, Chiba S, Ohashi Y, Takaue Y, Taniguchi S. In vivo T-cell depletion with alemtuzumab in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: Combined results of two studies on aplastic anemia and HLA-mismatched haploidentical transplantation. *Am J Hematol* 88(4):294-300, Apr, 2013 (doi: 10.1002/ajh.23392)
2. Fukuda K, Kurita N, Sakamoto T, Nishikii H, Okoshi Y, Sugano M, Chiba S. Post-transplant gastric antral vascular ectasia after intra-venous busulfan regimen. *Int J Hematol* 98(1):135-138, Jul, 2013 (doi: 10.1007/s12185-013-1342-8)
3. Sakamoto T, Obara N, Kurita N, Sakata-Yanagimoto M, Nishikii H, Yokoyama Y, Suzukawa K, Hasegawa Y, Chiba S. Effectiveness and safety of rabbit anti-thymocyte globulin in Japanese patients with aplastic anemia. *International Journal of Hematology* 98:319-322, 2013.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

臍帯血移植におけるハプロタイプ一致の臨床的意義に関する研究(第2報)

研究分担者 谷口修一 国家公務員共済組合連合会虎の門病院血液内科・部長
研究協力者 石綿一哉 国家公務員共済組合連合会虎の門病院血液内科・医員

研究要旨

同種臍帯血移植(Cord blood transplantation; CBT)後の生着不全はいまだ大きな課題である。生着不全のリスクファクターとして、少ない有核細胞数や CD34 陽性細胞、抗 HLA 抗体の存在などがあげられている。一般的に HLA ミスマッチ数も生着不全のリスクとして挙げられるが、6 抗原中 2 抗原までの HLA ミスマッチを許容している臍帯血移植においては、結果的に 2 ハプロタイプミスマッチで移植を行っている可能性が高い。本研究では臍帯血移植においてハプロタイプミスマッチの頻度がどの程度認められているかを推測し、ハプロタイプミスマッチが臍帯血生着に与える影響を検討する。対象 164 例の年齢中央値は 61(17-74) 歳で、141 例(91.9%)が非寛解期移植であった。全例において、Fludarabine-based の前処置と GVHD 予防法として Tacrolimus+MMF が用いられた。ハプロタイプ一致群は 37 例で、不一致群は 127 例であった。ハプロタイプ一致群における好中球生着率は 94.6%、不一致群では 80.3%と、ハプロタイプ一致は生着に有意な影響を与えていた ($p=0.0027$)。生着の多変量解析ではハプロタイプ一致が生着に有意な影響を与えていた (HR:1.51, 95%CI:1.04-2.21, $p=0.032$)、HLA-B の不一致が生着に有意に負の影響を与えていた (HR:0.62, 95%CI:0.41-0.92, $p=0.018$)。本研究において同種臍帯血移植において HLA ハプロタイプ一致が生着に有意な影響を与える可能性が示唆された。

A. 研究目的

同種臍帯血移植(Cord blood transplantation; CBT)後の生着不全の多さはいまだ問題となっている。生着不全のリスクファクターとして、少ない有核細胞数や CD34 陽性細胞、抗 HLA 抗体の存在などがあげられる。一般的に HLA ミスマッチ数も生着不全のリスクとして挙げられるが、6 抗原中 2 抗原までの HLA ミスマッチを許容している臍帯血移植においては、結果的に 2 ハプロタイプミスマッチで移植を行っている可能性が高く、調べられていない HLA-C, -DQ, -DP が一致していない可能性も少なくないと考えられる。しかし、その頻度や臨床的意義は十分には評価されていない。本研究では臍帯血移植においてハプロタイプミスマッチの頻度がどの程度認められているかを

推測し、ハプロタイプミスマッチが臍帯血生着に与える影響を検討する。

B. 研究方法

虎の門病院で 2006 年 8 月から 2010 年 12 月までにおいて造血器腫瘍に対しておこなわれた同種臍帯血移植の患者を対象に後方視的に解析した。

同種移植歴のある患者は除外した

PS(ECOG) < 3 の患者は除外した

同種移植時に活動的な感染を有する者は除外した

GVHD 予防として FK+MMF を使用した患者に限定した

以上より、164 名の患者における臍帯血移植が対象となった。

これら臍帯血移植におけるハプロタイプ一致に関して下記のように定義づけを行った。

移植を行った 164 人の患者とそのドナーはすべて A,B,DR においてアレルレベルで HLA タイピングをおこなった。

患者とドナーのハプロタイプの組み合わせは 4 通りずつとなる。

すでに明らかにされている日本人におけるハプロタイプの頻度のデータから、患者側で最も頻度の高い組み合わせ、ドナー側で最も頻度が高い組み合わせをそれぞれ同定する。

それぞれの最も頻度が高い組み合わせにおいてハプロタイプが一致していた場合、その確率を計算しその可能性が 95% を超えた移植に関してハプロタイプ一致群と定義づけた。

(倫理面への配慮)

後方視的解析であり、特にない。

C. 研究結果

対象 164 例の年齢中央値は 61(17-74)歳で、141 例(91.9%)が非寛解期移植であった。全例において、Fludarabine-based の前処置と GVHD 予防法として Tacrolimus+MMF が用いられた。上記の定義に基づいたハプロタイプ一致群は 37 例で、不一致群は 127 例であった。患者・ドナー間の HLA 適合度(HLA-A/-B/-DR 抗原:拒絶方向)は、6/6 一致:ハプロタイプ一致群 2 例(3.0%)、ハプロタイプ不一致群 3 例(2.4%)、5/6:一致群 18 例(48.6%)、不一致群 24 例(18.9%)、4/6:一致群 17 例(45.9%)、不一致群 100 例(78.7%)であった($p < 0.001$)。ハプロタイプ一致群と不一致群で移植に用いた臍帯血の有核細胞数や CD34 陽性細胞数に有意差はなかった。164 例中 137 例で、移植後 19(11-52)日で好中球生着が得られた。ハプロタイプ一致群における好中球生着率は 94.6%、不一致群では 80.3%と、ハプロタイプ一致は生着に有意な影響を与え

ていた ($p=0.0027$)。生着の多変量解析ではハプロタイプ一致が生着に有意な影響を与え(HR;1.51, 95%CI;1.04-2.21, $p=0.032$)、HLA-B の不一致が生着に有意に負の影響を与えていた(HR;0.62, 95%CI;0.41-0.92, $p=0.018$)。また、HLA-A,B,DR のアレルレベルにおける不一致数(0-3 座不一致, 4-5 座不一致)では多変量解析においては有意な影響は認められなかった(HR;0.83, 0.57-1.20, $p=0.32$)。

D. 考察

本研究では、ハプロタイプ一致は、臍帯血生着に有意な影響を与えていた。一方で多変量解析において、HLA-A, -B, -DR の不一致数(0-3 座不一致, 4-5 座不一致)は生着に影響を与えていなかったことから、HLA-C, -DP, -DQ の一致が生着に影響を与えている可能性が示唆された。現在、国内の臍帯血バンクでは HLA-C/-DP/-DQ 抗原はルーチンでは測定していない。より多数例で、臍帯血 HLA タイピングの適正化の検討が必要と思われる。

E. 結論

同種臍帯血移植において HLA ハプロタイプ一致が生着に有意な影響を与える可能性が示唆された。

G. 研究発表

1. Nagafuji K, Miyamoto T, Eto T, Kamimura T, Taniguchi S, Okamura T, Ohtsuka E, Yoshida T, Higuchi M, Yoshimoto G, Fujisaki T, Abe Y, Takamatsu Y, Yokota S, Akashi K, Harada M. Monitoring of minimal residual disease (MRD) is useful to predict prognosis of adult patients with Ph-negative ALL: results of a prospective study (ALL MRD2002 Study). *J Hematol Oncol.* 2013;6:14.

2. Matsuno N, Yamamoto H, Watanabe N, Uchida N, Ota H, Nishida A, Ikebe T, Ishiwata K, Nakano N, Tsuji M, Asano-Mori Y, Izutsu K, Masuoka K, Wake A, Yoneyama A, Nakauchi H, Taniguchi S. Rapid T-cell chimerism switch and memory T-cell expansion are associated with pre-engraftment immune reaction early after cord blood transplantation. *Br J Haematol*. 2013;160(2):255-258.
3. Kai S, Wake A, Okada M, Kurata M, Atsuta Y, Ishikawa J, Nakamae H, Aotsuka N, Kasai M, Misawa M, Taniguchi S, Kato S. Double-unit Cord Blood Transplantation after Myeloablative Conditioning for Patients with Hematological Malignancies: a Multicenter Phase II Study in Japan. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2013.

H. 知的財産権の出願・登録状況

- 1.特許取得
なし
- 2.実用新案登録
なし
- 3.その他
なし

HLA不適合血縁者間移植の安全性および有効性向上のための包括的研究

研究分担者 田中 淳司 東京女子医科大学血液内科学講座 主任教授

研究要旨

再生不良性貧血に対する同種造血幹細胞移植では、重症度、年齢、罹病期間、輸血量、HLA抗体の有無などが予後に影響するとされているが、最近では罹病期間の長い高齢者に対する移植が増加する傾向にある。こうした高齢の再生不良性貧血に対して、FluやATGなどを含む減量レジメンは有望である可能性が示唆された。

A．研究目的

再生不良性貧血に対する同種造血幹細胞移植では、重症度、年齢、罹病期間、輸血量、HLA抗体の有無などが予後に影響するとされている。本研究では、近年増加している罹病期間の長い高齢者に対する移植成績を向上させるためには、どのような移植前処置が有効であるのかを検討する事を目的とした。

B．研究方法

当科では、再生不良性貧血患者7人に、同種造血細胞移植が行われていた。年齢中央値38歳(21～65歳)、患者の年齢構成は20歳代2人、30歳代3人、60歳代2人であった。性別は男性2人、女性5人。発症から移植までの期間は中央値98.5カ月(6.9～587カ月)であった。

これらの患者さんの移植前のフェリチン値、HLA抗体の有無、ドナー、移植前処置と移植成績について解析するとともに、文献的に考察を加えて報告する。

C．研究結果

移植前のフェリチン値は1270ng/mL(19～8700 ng/mL)、総赤血球輸血が50単位を超える症例は4例(最大約600単位)、HLA抗体陽性例は1例であった。ドナーはHLA一致同胞からの

移植が6人、非血縁者骨髄移植が1人で行われていた。

前処置はcyclophosphamide (CY) 200mg/kg + total lymphoid irradiation (TLI) 5Gyが4例、CY + anti-thymocyte globulin (ATG) 1例、fludarabine (Flu) + CY + ATG ± total body irradiation (TBI) 2例で用いられていた。好中球生着は全例で認められ、中央値で移植後20日(16～24日)であった。

最近経験した症例は65歳女性で18歳時に他院で再生不良性貧血と診断され通院、2000年頃より輸血依存となったが、2013年6月HLA-C 2座 + DR 1座が不適合の血清型5 / 8一致非血縁ドナーよりFlu+CY+ATG+TBI 2Gyを前処置として同種骨髄移植を行った。FK506+Short MTXによる免疫抑制剤を用い、移植後Day21で生着し、現在Day100を超えGVHDなく外来通院している。

このように再生不良性貧血の長期罹患症例で高齢者であってもFluやATGを含む減量レジメンが有効である可能性が示唆された。

D．考察

当科における再生不良性貧血に対する移植の特徴として、罹病期間の長いことが挙げられる。中央値で約8年であるが、発症から2年以内の移植は2例にとどまり、最長は発症から約49

年の症例があった。軽症あるいは中等症で発症し、輸血依存の重症型に進行した症例が含まれるためと考えられる。再生不良性貧血においては、一般的に発症から6か月～1年以内の移植が推奨されており長期罹患例は成績が悪いとされる。

また、再生不良性貧血患者に対する同種造血幹細胞移植においては年齢も大きな要因といわれる。2012年kimらの韓国で行われた重症再生不良性貧血に対する後方視的調査では、40歳以下の168人と41歳以上の57人の患者で比較した場合、5年生存率は76.6%vs 55.9%($p=0.007$)で、若年者が優れていた。40歳を超える57人のうち41人が50歳以下で、51歳以上は16人と少なく、5年のOverall survivalはそれぞれ67.9%と0%とされ、高齢者の再生不良性貧血の同種移植の難しさがうかがえる。2013年の日本造血細胞移植学会データをみると1991年～2011年にかけて、1784症例の再生不良性貧血に対して造血細胞移植が行われており、40～49歳が147例(8.2%)、50～59歳が103例(5.8%)、60～69歳が26例(1.5%)、70歳以上に対して5例(0.3%)の移植が行われている。その成績は高齢者を含めて40歳以上としてまとめられているが、5年生存率が血縁者間骨髄で67.9%、非血縁者間骨髄移植で53.3%と報告されている。50歳以上の症例が含まれている割には比較的良好な成績と思われるが、やはり依然として高齢者では予後不良であるのが実情である。

E . 結論

今後、高齢化の進行により50歳、60歳以上でかつ罹病期間の長い症例の増加が予想される。こうした高齢の再生不良性貧血に対して、Flu+CY+ATG+TBIなどの減量レジメンは有望である可能性が示唆されたが、移植のタイミングや至適な前処置などについてさらに検討する必要があると考えられた。

G . 研究発表

1. 論文発表

1. Imahashi N, Suzuki R, Fukuda T, Kakihana K, Kanamori H, Eto T, Mori T, Kobayashi N, Iwato K, Sakura T, Ikegame K, Kurokawa M, Kondo T, Iida H, Sakamaki H, Tanaka J, Kawa K, Morishima Y, Atsuta Y, Miyamura K. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for intermediate cytogenetic risk acute myeloid leukemia in first complete remission. **Bone Marrow Transplant** 48(1):56-62, 2013.
2. 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. Unrelated cord blood transplantation vs. related transplantation with HLA 1-antigen mismatch in the graft-versus-host direction. **Leukemia** 27(2):286-294, 2013.
3. Kurosawa S, Yakushijin K, Yamaguchi T, Atsuta Y, Nagamura-Inoue T, Akiyama H, Taniguchi S, Miyamura K, Takahashi S, Eto T, Ogawa H, Kurokawa M, Morishima Y, Tanaka J, Sakamaki H, Fukuda T. Changes in incidence and causes of non-relapse mortality after allogeneic hematopoietic cell transplantation in patients with acute leukemia/myelodysplastic syndrome. **Bone Marrow Transplant** 48(4):529-536, 2013.

4. Nishiwaki S, Miyamura K, Ohashi K, Kurokawa M, Taniguchi S, Fukuda T, Ikegame K, Takahashi S, Mori T, Imai K, Iida H, Hidaka M, Sakamaki H, Morisima Y, Kato K, Suzuki R, Tanaka J. Impact of donor source on adult Philadelphia chromosome-negative acute lymphoblastic leukemia: a retrospective analysis from the Adult Acute Lymphoblastic Leukemia Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. *Ann Oncology* 24:1594-1602, 2013.
5. Wakao H, Yoshikiyo K, Koshimizu U, Furukawa T, Enomoto K, Matsunaga T, Tanaka T, Yasutomi Y, Yamada T, Minakami H, Tanaka J, Oda A, Sasaki T, Wakao R, Lantz O, Udagawa T, Sekiya Y, Higuchi K, Harada N, Nishimura K, Ohtaka M, Nakanishi M, Fujita H. Expansion of Functional Human Mucosal-Associated Invariant T Cells via Reprogramming to Pluripotency and Redifferentiation. *Cell Stem Cell*. 12(5):546-558, 2013.
6. Kurosawa S, Yakushijin K, Yamaguchi T, Atsuta Y, Nagamura-Inoue T, Akiyama H, Taniguchi S, Miyamura K, Takahashi S, Eto T, Ogawa H, Kurokawa M, Tanaka J, Kawa K, Kato K, Suzuki R, Morishima Y, Sakamaki H, Fukuda T. Recent decrease in non-relapse mortality due to GVHD and infection after allogeneic hematopoietic cell transplantation in non-remission acute leukemia. *Bone Marrow Transplant*. 48:1198-1204, 2013.
7. Torimoto Y, Sato K, Ikuta K, Hayashi T, Hirayama Y, Inamura J, Kobayashi H, Kobayashi R, Koda K, Kurosawa M, Mori A, Ota S, Sakai H, Shigematsu A, Shindo M, Shinzaki H, Takahashi F, Takimoto R, Tanaka J, Yamamoto S, Kohgo Y, Fukuhara T. A retrospective clinical analysis of Japanese patients with peripheral T-cell lymphoma not otherwise specified: Hokkaido Hematology Study Group. *Int J Hematol*. 2013 Aug;98(2):171-178.
8. Tanaka J, Morishima Y, Takahashi Y, Yabe T, Oba K, Takahashi S, Taniguchi S, Ogawa H, Onishi Y, Miyamura K, Kanamori H, Aotsuka N, Kato K, Kato S, Atsuta Y, Kanda Y. Effects of KIR-ligand incompatibility on clinical outcomes of umbilical cord blood transplantation without ATG for acute leukemia in complete remission. *Blood Cancer Journal* 3, e164;2013. doi:10.1038/bcj. 2013. 62
9. Tanaka J, Kanamori H, Nishiwaki S, Ohashi K, Taniguchi S, Eto T, Nakamae H, Minagawa K, Miyamura K, Sakamaki H, Morishima Y, Kato K, Suzuki R, Nishimoto N, Oba K, Masauzi N. Reduced-intensity versus myeloablative conditioning allogeneic

- hematopoietic stem cell transplantation for patients aged over 45 years with acute lymphoblastic leukemia (ALL) in remission: A study from the Adult ALL Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation (JSHCT). *Bone Marrow Transplant.* 48:1389-1394, 2013.
10. Kanamori H, Mizuta S, Kako S, Kato H, Nishiwaki S, Imai K, Shigematsu A, Nakamae H, Tanaka M, Ikegame K, Yujiri T, Fukuda T, Minagawa K, Eto T, Nagamura-Inoue T, Morishima Y, Suzuki R, Sakamaki H, Tanaka J. Reduced-intensity allogeneic stem cell transplantation for patients aged 50 years or older with B-cell ALL in remission: a retrospective study by the Adult ALL Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 48:1513-1518, 2013.
 11. Mori N, Ohwashii M, Yoshinaga K, Mitsuhashi K, Tanaka N, Teramura M, Okada M, Shiseki M, Tanaka J, Motoji T. L265P Mutation of the *MYD88* Gene Is Frequent in Waldenström's Macroglobulinemia and Its Absence in Myeloma. *PLOS ONE* 8:e80088, 2013.
 12. Kobayashi R, Tanaka J, Hashino S, Ota S, Torimoto Y, Kakinoki Y, Yamamoto S, Kurosawa M, Hatakeyama N, Haseyama Y, Sakai H, Sato K, Fukuhara T. Etoposide-containing conditioning regimen reduces the occurrence of hemophagocytic lymphohistiocytosis after SCT. *Bone Marrow Transplant.* 2013 Sep 16. doi: 10.1038/bmt.2013.145. [Epub ahead of print]
- ## 2. 学会発表
1. Tanaka J, Takahashi Y, Yabe T, Morishima Y, Oba K, Takahashi S, Taniguchi S, Ogawa H, Ohnishi Y, Miyamura K, Kato K, Kato S, Atsuta Y, Kanda Y. KIR-ligand incompatibility in the graft-versus-host direction did not affect outcomes of single umbilical cord blood transplantation without ATG for acute leukemia in complete remission. 18th Congress of European Hematology Association (EHA) 2013.6.13-16, StockholmsMassan, Sweden.

『CD34 陽性細胞選択 HLA 不適合移植の開発
・ HSV-TK 遺伝子導入リンパ球輸注療法の開発に関する研究』

研究分担者 山下 卓也 国立がん研究センター中央病院 / 造血幹細胞移植科 医長

研究要旨

本研究においては、CD34 陽性細胞を純化して T 細胞を除去した移植片を用いた HLA 不適合者間同種末梢血幹細胞を開発する。特に、本研究は、HSV-TK 遺伝子を導入したドナー T 細胞を移植後に add-back することによって、免疫再構築の再構成を促進し、適切な GVHD を制御するシステムの開発を目的としている。

臨床試験「ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植後の HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球 “Add-back” 療法」を実施している。現時点までに 2 例の症例が登録され、現在も試験継続中である。重篤な有害事象は認めておらず、その安全性は確保されている。また、ガンシクロビル投与にて HSV-TK 遺伝子導入 T 細胞の自殺機能の作動も確認されている。

本臨床試験の推進のために、プロトコールの変更作業を実施中である。

A. 研究目的

同種造血幹細胞移植において、HLA 適合（血縁 / 非血縁）ドナーが得られない場合、HLA 不適合血縁者は有力な代替ドナー候補の一つである。しかし、HLA 不適合者からの同種造血幹細胞移植においては、移植片対宿主病（graft-versus-host disease: GVHD）の重症化のリスクが高くなる。従って、HLA 不適合者間同種造血幹細胞移植の治療成績の向上のためには、同種免疫反応を適切に制御することが重要である。本研究では、HLA ハプロタイプ適合血縁ドナーに G-CSF を投与した後に採取した末梢血単核球分画から、体外にて CD34 陽性細胞を純化して T 細胞を除去した移植片を用いて、HLA 不適合者間同種末梢血幹細胞移植を実施する。従来の T 細胞除去移植は、GVHD の制御には有用であるが、移植片の拒絶や免疫回復の遅延といった問題点を有している。そこで、本研究は、ドナー由来の T 細胞に HSV-TK 遺伝子を導入し、これを移植後に輸注（add-back）することによって、移植片の拒絶を回避し、免疫再構築を促進させるとともに、必要に応じて適切に GVHD を制御できるシステムの開発を目的としている。

B. 研究方法

臨床試験「ハプロタイプ一致ドナー由来 T 細胞除去造血幹細胞移植後の HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球 “Add-back” 療法」を当院において実施している。本研究は、国立がん研究センター並びに遺伝子治療研究中央評価会議にて承認されている。本試験の主要評価項目は、当該治療法の安全性、HSV-TK 遺伝子導入 T リンパ球 Add-back 後の免疫系再構築並びに GVHD 発症頻度および制御能、である。

<倫理面への配慮>

これらの臨床研究の実施に当たっては、ヘルシンキ宣言、臨床研究に関する倫理指針、GCP などの臨床研究に関する各指針に従って臨床研究を実施するとともに、必要に応じて、「ヒト（自己）由来細胞・組織加工医薬品等の品質および安全性の確保に関する指針」、「ヒト（同種）由来細胞・組織加工医薬品等の品質および安全性の確保に関する指針」、「遺伝子治療臨床研究に関する指針」、「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」、「カルタヘナ法」を遵守している。被験者となる患者の人権に十分配慮するとともに、個人情報の厳格な管理を行った。

C. 研究結果

本臨床試験については、現時点までに2例の症例が登録され、当該治療が実施されている。その詳細は前年度までの研究報告書に記載の通りである。現在、HLA不適合移植の開発を目指した複数の臨床試験が進行中であり、その状況下で本試験を推進するために、試験計画の変更作業を実施した。すなわち、適応症例の拡大を目指して患者適格基準の変更（全身放射線照射の既往の制限の撤廃）を行うとともに、移植後の免疫回復の促進を目指して移植後のT細胞輸注量の変更（規定輸注量の増加）を実施した。変更後の臨床試験プロトコールは、現在、当院倫理委員会にて審査中である。

D. 考察

HSV-TK遺伝子導入Tリンパ球輸注療法の安全性については、本臨床試験および治験として実施した「同種移植後再発に対するHSV-TK遺伝子導入Tリンパ球輸注療法」の経験にて重篤な有害事象は認めず、現時点ではその安全性は確保されていると認識している。また、同治療法の免疫系再構築については、本臨床試験において長期生存を得ている1例において、免疫系の順調な回復を認めている。更に、この症例においては、リンパ球輸注後に発症したGVHDに対して、ガンシクロビルを用いてHSV-TK遺伝子の自殺機能を発揮させている。HSV-TK遺伝子導入システムによるGVHD制御能が確認されており、本治療法の有効性が示唆されると考えている。

E. 結論

わが国におけるHLA不適合者間同種造血幹細胞移植において、多様なオプションを確保するために、体外CD34陽性細胞選択法を用いたT細胞除去移植の開発は意義があるものと考えられる。また、本研究のこれまでの経験は、HSV-TK遺伝子導入リンパ球輸注療法の安全性とGVHD制御能を示唆するものであり、今後は、HLA不適合移植後再発に対するドナーリンパ球輸注療法におけるHSV-TK遺伝子導入システムの活用が期待される。

F. 健康危機情報

該当事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Atsuta Y, Suzuki R, Yamashita T, Fukuda T, Miyamura K, Taniguchi S, Iida H, Uchida T, Ikegame K, Takahashi S, Kato K, Kawa K, Nagamura-Inoue T, Morishima Y, Sakamaki H and Kodera Y for the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. Continuing increased risk of oral/esophageal cancer after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in adult in association with chronic graft-versus-host disease. ***Annals of Oncology***, published online: Jan 7, 2014, doi: 10.1093/annonc/mdt558.
- 2) Hiramoto N, Kurosawa S, Tajima K, Okinaka K, Tada K, Kobayashi Y, Shinohara A, Inoue Y, Ueda R, Tanaka T, Kim SW, Yamashita T, Heike Y and Fukuda T. Positive impact of chronic graft-versus-host disease on the outcome of patients with de novo myelodysplastic syndrome after allogeneic hematopoietic cell transplantation: a single-center analysis of 115 patients. ***Eur J Hematol*** 92:137-146,2014.
- 3) Fuji S, Ueno N, Hiramoto N, Asakura Y, Yakushijin K, Kamiyama Y, Kurosawa S, Kim SW, Heike Y, Yamashita T and Fukuda T. Reduced-intensity conditioning regimen with low-dose ATG-F for unrelated bone marrow transplant is associated with lower non-relapse mortality than a regimen with low-dose TBI: a single-center retrospective analysis of 103 cases. ***Int J Hematol*** 98:608-614,2013.
- 4) Hanajiri R, Ohashi K, Hirashima Y, Kakihana K, Kobayashi T, Yamashita T, Sakamaki H and Akiyama H. Second allogeneic transplantation for relapsed acute leukemia after initial allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. ***Pathol Oncol Res*** 18:1003-1008,2012.
- 5) Yanada M, Kurosawa S, Yamaguchi T, Yamashita T, Moriuchi Y, Ago H, Takeuchi J, Nakamae H, Taguchi J, Sakura T, Takamatsu Y, Waki F, Yokoyama H, Watanabe M, Emi N and Fukuda T.

Prognosis of acute myeloid leukemia harboring monosomal karyotype in patients treated with or without allogeneic hematopoietic cell transplantation after achieving complete remission. *Haematologica* 97:915-918,2012.

- 6) Kakihana K, Ohashi K, Hirashima Y, Murata Y, Kobayashi T, Yamashita T, Sakamaki H and Akiyama H. Clinical impact of pre-transplant pulmonary impairment on survival after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Pathol Oncol Res* 18:11-16,2012.

2. 学会発表

- 1) Yamashita T, Kuwabara H, Ohashi K, Uchida N, Fukuda T, Miyamura K, Mori S, Kato K, Tanaka J, Adachi S and Atsuta Y. Late relapse after allogeneic hematopoietic cell transplantation for hematological malignancies: a nationwide retrospective study from the late complications and quality-of-life working group of the Japan Society for Hematopoietic Cell transplantation. *The 55th annual meeting of the American Society of Hematology* (New Orleans). Dec. 2013.
- 2) Yamashita T, Ohashi K, Taniguchi S, Fukuda T, Kanamori H, Morishima Y, Nagamura T, Sakamaki H, Atsuta Y and Takami A. Clinical outcomes of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with intravenous busulfan-based myeloablative conditioning for acute myeloid leukemia: a nationwide retrospective study from the adult acute myeloid leukemia working group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. *The 39th annual meeting of the European Group for Blood and Marrow Transplantation* (London). Apr. 2013.
- 3) Yamashita T, Taniguchi S, Fukuda T, Ogawa H, Morishima Y, Nagamura T, Sakamaki H, Atsuta Y, and Takami A. Clinical outcomes of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with intravenous busulfan-based reduced-intensity conditioning

for acute myeloid leukemia: a nationwide retrospective study from the adult acute myeloid leukemia working group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. *The 39th annual meeting of the European Group for Blood and Marrow Transplantation* (London). Apr. 2013.

- 4) Yamashita T, Fukuda T, Taniguchi S, Ohashi K, Kurosawa S, Morishima Y, Nagamura T, Sakamaki H, Atsuta Y and Takami A. Intravenous busulfan-based myeloablative conditioning is comparable to TBI-based regimen in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for recipients with acute myeloid leukemia: a nationwide retrospective study from the adult acute myeloid leukemia working group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. *The 54th Annual Meeting of the American Society of Hematology* (Atlanta). Dec. 2012.

H . 知的財産権の出願・登録状況

該当事項なし

厚生労働科学研究補助金（免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業）
HLA 不適合血縁者間移植の安全性および有効性向上のための包括的研究
平成 25 年度分担研究報告書

HLA 不適合造血幹細胞移植後の免疫再構築に関する研究

研究分担者 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 鈴木隆二 国立病院機構相模原病院 臨床研究センター 室長
大島久美 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 講師

研究要旨：近年、抗体医薬品による in vivo T 細胞除去術や移植後大量シクロホスファミドなどの新規技術の開発により、HLA 不適合血縁者間造血幹細胞移植の安全性は飛躍的に向上している。しかし、HLA 不適合血縁者間移植後の免疫系の再構築が、従来の移植法と比較してどのような特徴を有しているのかについては、まだ十分な知見が得られていない。本研究では、HLA 不適合造血幹細胞移植後に発生するさまざまな免疫学的合併症を高い精度で予測し、それらの合併症に対する医学的介入を適切なタイミングで実施することを可能とすることを旨として、次世代シーケンサーによる網羅的な免疫再構築解析技術の開発を試みた。

A. 研究の背景と目的

近年、抗体医薬品による in vivo T 細胞除去術や移植後大量シクロホスファミドなどの新規技術の開発により、HLA 不適合血縁者間造血幹細胞移植の安全性は画期的な向上を遂げている。しかし、HLA 不適合血縁者間移植後の移植片対宿主病(GVHD)、移植片対白血病(GVL)効果や感染症の制御、不適合 HLA に対するトランスなどにかかわる免疫系の再構築が、HLA 適合血縁者・非血縁者からの移植と比較してどのような特徴を有しているのかについては、まだ十分な知見が得られていない。HLA 不適合造血幹細胞移植後に発生するさまざまな免疫学的合併症を高い精度で予測する技術が開発され、それらの合併症に対する医学的介入を適切なタイミングで実施することが可能となれば、移植成績のさらなる向上に

寄与することが予測される。

そこで、本研究では、造血幹細胞移植後の免疫再構築過程の俯瞰的かつ再現性の高い解析を可能とするために、末梢血中に含まれる T 細胞・B 細胞のレパートリーを高速 DNA シーケンサーを用いて網羅的かつ定量的に決定する技術の開発を試みた。

B. 研究方法

T 細胞受容体(TCR)、B 細胞受容体(BCR)の相補性決定領域(CDR3 領域)遺伝子配列を、アダプターライゲーション PCR を用いて非バイアス増幅を行った後に、再度 PCR 増幅による DNA 断片の精製を行い、高速シーケンサーを用いて網羅的かつ定量的に同定する技術を開発した。

C. 研究結果

現在、上記の方法を用いて被験検体中に含まれる TCR, BCR の CDR3 領域配列を決定するための予備的な実験を実施中であり、移植後の免疫再構築の解析に応用するための研究プロトコルを「疫学研究に関する倫理指針」(平成 20 年 12 月 1 日一部改正版)に準拠して作成中である。

D. 考察 E. 結論

現在、造血幹細胞移植後の免疫再構築のモニタリング方法としては、細胞生物学的あるいは分子生物学的な手法による特定のリンパ球集団の経時的追跡や T 細胞受容体のレパトワ解析などが用いられている。しかし、これらの方法は煩雑で時間を要するため、臨床現場におけるリアルタイムの意思決定には有用ではない上に、すべての細胞集団を捕捉するための網羅性や再現性などの点に課題が残されている。次世代シーケンサーを用いた TCR レパトワの同定は、網羅性・定量性・再現性のいずれにおいても従来の方法よりすぐれていることが期待され、移植後の免疫再構築の解析にきわめて有用なツールとなり得ると考えられる。

F. 健康危険情報

特記すべき内容はない。

G. 研究発表

論文発表

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.* 161:566-577, 2013.

Hirokawa M, Fukuda T, Ohashi K, Hidaka M, Ichinohe T, Iwato K, Kanamori H, Murata M, Sakura T, Imamura M, Adachi S, Suzuki R, Morishima Y, Sakamaki H; PRCA Collaborative Study Group. Efficacy and long-term outcome of treatment of pure red cell aplasia after allogeneic stem cell transplantation from major ABO-incompatible donors. *Biol Blood Marrow Transplant.* 19:1026-32, 2013.

Miura Y, Yoshioka S, Yao H, Takaori-Kondo A, Maekawa T, Ichinohe T. Chimerism of bone marrow mesenchymal stem/stromal cells in allogeneic hematopoietic cell transplantation: is it clinically relevant? *Chimerism.* 4:78-83, 2013.

Yoshioka S, Miura Y, Yao H, Satake S, Hayashi Y, Tamura A, Hishita T, Ichinohe T, Hirai H, Takaori-Kondo A, Maekawa T. C/EBP β expressed by bone marrow mesenchymal stromal cells regulates early B-cell lymphopoiesis. *Stem Cells.* 32:730-740, 2014.

Yoshihara M, Itamura H, Fukushima N, Itoh M, Furukawa K, Nagatomo D, Kamachi K, Kitamura H, Shindo T, Kubota Y, Sueoka E, Morita S, Ichinohe T, Kimura S. Therapeutic

management in cardiac lymphoma. *Leuk Lymphoma*. (in press)

Yao H, Miura Yoshioka S, Miura M, Hayashi Y, Tamura A, Iwasa M, Sato A, Hishita T, Higashi Y, Kaneko H, Ashihara E, Ichinohe T, Hirai H, Maekawa T. Parathyroid hormone enhances hematopoietic expansion via upregulation of cadherin-11 in bone marrow mesenchymal stromal cells. *Stem Cells*. (in press)

学会発表

Ichinohe T. The expanding role of long-term fetal/maternal microchimerism in allogeneic hematopoietic cellular therapy. Symposium on chimerism, Graz, Austria, May 30, 2013.

H . 知的財産権の出願状況

準備中。

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) 分担研究報告書
HLA不適合血縁者間移植の安全性および有効性向上のための包括的研究

造血幹細胞移植における間葉系幹細胞による新規治療法の安全性と有効性に関する臨床研究
研究分担者 高橋 義行 (名古屋大学大学院医学系研究科成長発達医学 准教授)

研究要旨: 牛胎児血清の代わりにヒト由来の血小板融解産物を用いることで、より安全な骨髄由来間葉系幹細胞(MSC)の培養系を確立した。このMSCの強い免疫抑制作用、造血促進作用を利用し、移植後に見られるステロイド抵抗性GVHDの治療を目的としたMSC療法の臨床第1相試験を行った。3例めまで登録と投与が終了し、投与後の発熱、発疹などの急性反応はなく、3例ともに明らかな効果(下痢量の低下、ビリルビンの低下)を認めた。

A. 研究目的

同種幹細胞移植後の合併症として、ステロイド抵抗性GVHD、生着不全や拒絶は解決されていない問題であり、致死的な転帰をたどる場合が多い。近年、骨髄由来間葉系幹細胞(MSC)が強力な免疫抑制作用を有することが判明し、欧米では、ステロイド抵抗性GVHD患者に投与し、良好な成績が報告されている。しかし、従来の報告ではMSCの培養系に牛胎児血清が用いられていることからプリオン病などBiohazardの問題が指摘されている。

当科では、牛胎児血清の代わりにヒト由来の血小板融解産物を用いることで、より安全なMSCの培養系を確立した。このMSCの強い免疫抑制作用、造血促進作用を利用し、移植後に見られるステロイド抵抗性GVHD、生着不全、拒絶、ドナー型汎血球減少といった血液幹細胞移植後の致死合併症を改善する目的としたMSC療法の臨床第1相試験を行う。

B. 研究方法

移植ドナーの血液から血液成分分離装置を用いて濃厚血小板(PC)10単位(約2000ml)を採取する。採取後、直ちに-80で凍結する。翌日、

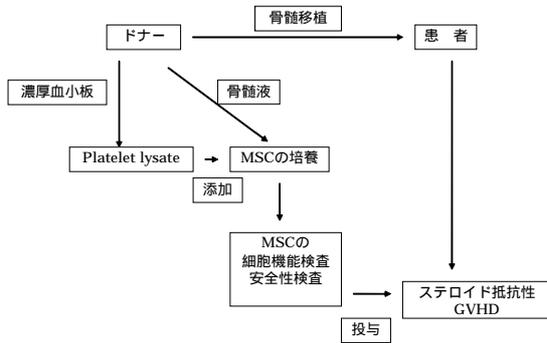
凍結した濃厚血小板を解凍して培養に用いる血小板融解産物(Platelet lysate)を調製する。移植ドナーからMSC培養用の骨髄液30mlを採取し、単核球を分離する。骨髄単核球をPlatelet lysateを添加した培養液を用いて約3週間培養することによってMSCを調製する。

細胞の調製はクリーンルームを有する細胞調製室(Cell Processing Center;CPC)内でISO13485による品質管理下で、調整工程は適正製造基準(Good Manufacturing Practice;GMP)に準拠して調製を行う。調製された細胞製剤は細胞機能検査(細胞数、表面抗原解析等)、細菌検査、ウイルス検査、エンドトキシン検査等の所定の検査に合格したことを確認する。治療は1回の治療当たり患者体重1kg当たり $1\sim 2\times 10^6$ 個のMSCを静脈内に投与する。調製された残りのMSCは凍結保存され、効果と副作用をみながら1週間毎に追加投与するかどうか決定する。

(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。

臨床試験の概要:

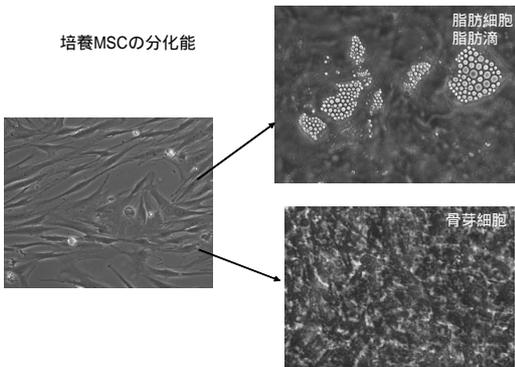


C. 研究結果

牛胎児血清を用いず血小板融解産物による培養方法で得られたヒト骨髄由来MSCは脂肪、骨芽細胞へ分化能を有し、PHAによって刺激された活性化T細胞の増殖抑制能を示した。(下図)

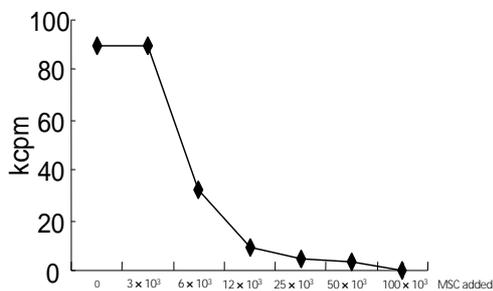
非臨床データ

培養MSCの分化能



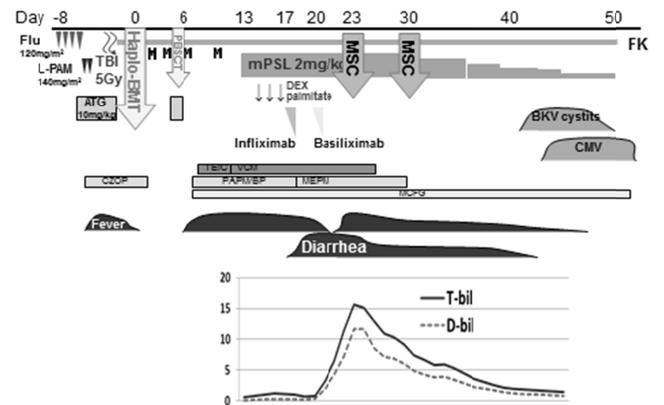
培養MSCの効力に関する非臨床データ

MSCによるPHA刺激T細胞増殖抑制試験



造血細胞移植のドナー骨髄液MSC培養を行い、ステロイド抵抗性GVHD患者3名に対しMSCの投与が終了した。投与後の発熱、発疹などの急性反応はなく、3例ともに明らかな臨床上的効果(下痢量の低下、ビリルビンの低下)を認めた。MSC投与後明らかな黄疸の減少を認めたGVHD 4度の症例経過を示す(下図)。

症例2: 5歳男児(RAEB, HLAハプロ一致移植)



D. 考察

骨髄移植ドナーから3-4週間の培養期間でMSCを臨床応用可能なレベルまで培養増幅することができた。

当院倫理委員会での承認後、臨床第1相試験が開始され、ステロイド抵抗性GVHDを発症した患者3名に安全に投与でき、明らかな効果を認めた。HLAハプロ一致移植などGVHD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ことが望ましいと考えられた。

E. 結論

臨床第1相試験が開始された。まだ投与例が少なく、今後さらに症例数を増やす必要があるものの、安全に投与可能であり、明らかな効果の見られた症例も認めた。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Suzuki M, Ito Y, Shimada A, Saito M,

- Muramatsu H, Hama A, Takahashi Y, Kimura H and Kojima S. Long-Term Parvovirus B19 Infections With Genetic Drift After Cord Blood Transplantation Complicated by Persistent CD4+ Lymphocytopenia. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2014 Jan;36(1):e65-8.
- 2) Kato M, Takahashi Y, Tomizawa D, Okamoto Y, Inagaki J, Koh K, Ogawa A, Okada K, Cho Y, Takita J, Goto H, Sakamaki H, Yabe H, Kawa K, Suzuki R, Kudo K, Kato K. Comparison of intravenous with oral busulfan in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with myeloablative conditioning regimens for pediatric acute leukemia. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2013.Dec;19(12).1690-4.
 - 3) Lundqvist A, Smith AL, Takahashi Y, Wong S, Bahceci E, Cook L, Ramos C, Tawab A, McCoy JP Jr, Read EJ, Khuu HM, Bolan CD, Joo J, Geller N, Leitman SF, Calandra G, Dunbar C, Kurlander R, Childs RW. Differences in the Phenotype, Cytokine Gene Expression Profiles, and In Vivo Alloreactivity of T Cells Mobilized with Plerixafor Compared with G-CSF. *J Immunol*. 2013 Dec 15 ;191(12):6241-9.
 - 4) Sakaguchi H, Okuno Y, Muramatsu H, Yoshida K, Shiraishi Y, Takahashi M, Kon A, Sanada M, Chiba K, Tanaka H, Makishima H, Wang X, Xu Y, Doisaki S, Hama A, Nakanishi K, Takahashi Y, Yoshida N, Maciejewski JP, Miyano S, Ogawa S and Kojima S. Exome sequencing identifies secondary mutations of SETBP1 and JAK3 in juvenile myelomonocytic leukemia. *Nat Genet*. 2013 Aug;45(8):937-941.
 - 5) Narita A, Muramatsu H, Sakaguchi H, Doisaki S, Tanaka M, Hama A, Shimada A, Takahashi Y, Yoshida N, Matsumoto K, Kato K, Kudo K, Furukawa-Hibi Y, Yamada K and Kojima S. Correlation of CYP2C19 phenotype with voriconazole plasma concentration in children. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2013 Jul;35(5):e219-223.
 - 6) Hirabayashi Y, Takahashi Y, Xu Y, Akane K, Villalobos IB, Okuno Y, Hasegawa S, Muramatsu H, Hama A, Kato T and Kojima S. Lack of CD4(+)CD25(+)FOXP3(+) regulatory T cells is associated with resistance to intravenous immunoglobulin therapy in patients with Kawasaki disease. *Eur J Pediatr*. 2013 Jun;172(6):833-837.
 - 7) Daikoku T, Saito K, Aihara T, Ikeda M, Takahashi Y, Hosoi H, Nishida T, Takemoto M, Shiraki K. Rapid detection of human cytomegalovirus UL97 and UL54 mutations for antiviral resistance in clinical specimens. *Microbiol Immunol*. 2013 May;57(5):396-9.
 - 8) Shinzato A, Tabuchi K, Atsuta Y, Inoue M, Inagaki J, Yabe H, Koh K, Kato K, Ohta H, Kigasawa H, Kitoh T, Ogawa A, Takahashi Y, Sasahara Y, Kato S, and Adachi S. PBSCT is associated with poorer survival and increased chronic GvHD than BMT in Japanese paediatric patients with acute leukaemia and an HLA-matched sibling donor. *Pediatr Blood Cancer*. 2013 Sep;60(9):1513-9.
 - 9) Kato K, Otake H, Tagaya M, Takahashi Y, Ito Y, Hama A, Muramatsu H, Kojima S, Naganawa S and Nakashima T. Progressive hearing loss following acquired cytomegalovirus infection in an immunocompromised child. *Am J Otolaryngol*. 2013 Jan-Feb;34(1):89-92.
 - 10) 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 and Japan Childhood Aplastic Anemia Study G. Rabbit antithymocyte globulin and cyclosporine as first-line therapy for children with acquired aplastic anemia. Blood. 2013 Jan 31;121(5):862-863.

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

2 . 学会発表

- 1) Takahashi Y, Kawashima N, Narita A, Sakaguchi H, Doisaki S, Muramatsu H, Nakanishi K, Hama A, Kojima S. HLA haploidentical stem cell transplantation for children with aplastic anaemia in urgent need of stem cell transplantation. 39th Annual Meeting of the EBMT. Apr. 9, 2013. London, UK.
- 2) Takahashi Y, Kawashima N, Narita A, Sakaguchi H, Muramatsu H, Hama A, Kojima S. Unmanipulated HLA Haploidentical Bone Marrow Transplantation Combined With PBSC With The Options Of Donor Virus Specific CTLs and Mesenchymal Stem Cells Infusion. The 55th ASH Annual Meeting and Exposition. Dec.7, 2013. New Orleans, USA.
- 3) 高橋 義行、川島 希、成田 敦、坂口 大俊、土居崎 小夜子、村松 秀城、中西 康詞、濱 麻人、小島 勢二. HLA haploidentical SCT with the options of donor's virus specific CTLs and mesenchymal stem cells. 第75回日本血液学会学術集会. 2013年10月13日. 札幌.
- 4) 高橋 義行. 小児重症再生不良性貧血に対する代替ドナーからの造血幹細胞移植:HLA不一致非血縁ドナー vs HLAハプロ一致血縁ドナー . 第36回日本造血細胞移植学会総会 . 2014年3月8日 . 沖縄 .

厚生労働科学研究費補助金（免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業）
研究分担報告書

マウスモデルを使った HLA 不適合移植後の免疫寛容の誘導に関する検討

研究分担者 前田嘉信

研究要旨 同種造血幹細胞移植は、白血病などの悪性疾患に対する根治的治療として確立しているが、致死の合併症である移植片対宿主病（GVHD）は今日なお克服すべき課題である。GVHD は急性 GVHD と移植後期に発症する慢性 GVHD に大別される。急性 GVHD の基本的な発症メカニズムは次第に明らかとなってきたが、慢性 GVHD は病態の解明が遅れている。我々は、マウスモデルを用い、慢性 GVHD の発症に Th2 細胞だけでなく Th1 細胞と Th17 細胞も関与していることを明らかにしてきた。特に IL-17 と IFN- γ を同時に産生する Th17/Th1 細胞が特異的に出現しており、Th17 細胞の亜型である alternative Th17 が慢性 GVHD に関与する可能性が示唆された。alternative Th17 および Th1 細胞の両方を抑制する目的で、IL-12/IL-23 p40 抗体の有効性を検討した。その結果、p40 抗体を投与した群では、臨床的かつ病理組織学的に慢性 GVHD が有意に軽減された。IL-17 産生細胞の T-bet 発現を検討した結果、Th17 が alternative からより免疫抑制的な classical Th17 にシフトしており、p40 抗体の慢性 GVHD 抑制のメカニズムであると考えられた。ヒトに対する p40 抗体は、Ustekinumab としてクローン病や乾癬に対する臨床試験の結果が報告されており、慢性 GVHD にも臨床応用できる可能性が示唆された。

A. 研究目的

同種造血幹細胞移植は、白血病などの悪性疾患に対する根治的治療として確立しているが、致死の合併症である移植片対宿主病（GVHD）は今日なお克服すべき課題である。GVHD は急性 GVHD と移植後期に発症する慢性 GVHD に大別される。慢性 GVHD は急性 GVHD と発症時期が異なるだけでなく、その病態も異なると考えられている。我々は、慢性 GVHD の発症に Th2 細胞だけでなく Th1 細胞と Th17 細胞も関与していることを明らかにしてきた。特に IL-17 と IFN- γ を同時に産生する Th17/Th1 細胞（alternative Th17）が特異的に出現しており、Th17 細胞の亜型

である alternative Th17 が慢性 GVHD に関与する可能性が示唆された。alternative Th17 および Th1 細胞の両方を抑制する目的で、IL-12/IL-23 p40 抗体の有効性を検討した。

B. 研究方法

ドナーに B10.D2、ホストに BALB/c を使ったマウス慢性 GVHD モデルを作成した。骨髓幹細胞（T 細胞除去した BM 8×10^6 ）と脾臓から採取した T 細胞（ 2×10^6 ）を 5.8Gy 照射したマウスに移植。p40 抗体は 500 μ g を day0 から投与し、慢性 GVHD 発症が抑制されるかを検討した。慢性 GVHD は皮膚所見の臨床的

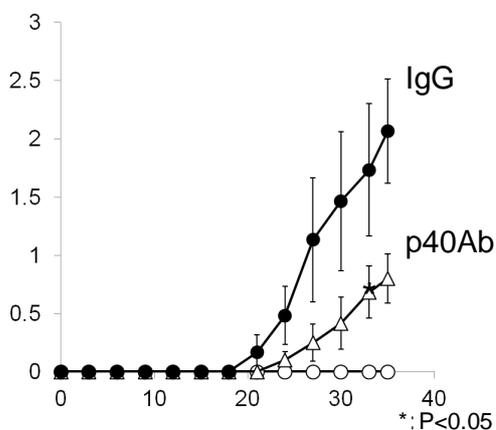
GVHD スコア、病理スコアにて評価し、Th 細胞への影響は、細胞内サイトカインを FAC にて解析した。

本実験計画は岡山大学実験動物実験委員会に承認済みである。すべての実験動物は動物愛護の観点から、計画的にできるだけ少ない個体数での実験とした。

C. 研究結果

p40 抗体を投与した群は、慢性 GVHD 発症が臨床的スコア、皮膚、唾液腺の病理スコアが有意に改善した。

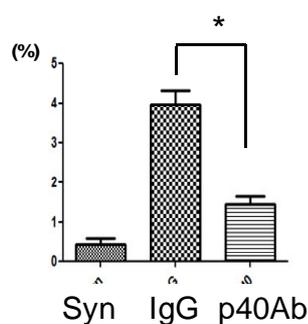
Clinical Score



また、移植後 28 日目のドナー T 細胞を FACS にて解析した結果、Th1 細胞の抑制とともに INF- γ /IL-17 同時に産生細胞 (alternative Th17) が有意に減少していた。一方、IL-17 単独陽性の細胞は減少しておらず、ROR γ t も抑制されていないが、T-bet の発現が低下しており、alternative Th17 細胞が抑制されている所見を支持する結果であった。以上から p40 抗体により IL-12 および IL-23 を介した経路

を遮断することにより慢性 GVHD が抑制されることが示唆された。また、移植後 15 日目の慢性 GVHD が発症する時期からの投与でも軽減させることがわかり治療としての有効性が示唆された。

IFN- γ ⁺/IL-17⁺



*: P < 0.05

D. 考察

p40 抗体により INF- γ /IL-17 同時産生細胞 (alternative Th17) が有意に減少しており、IL-17 単独陽性の classical Th17 細胞は減少していないことから、全ての Th17 細胞ではなく、subset を抑制することで慢性 GVHD が制御できる可能性が示唆された。IL-12 および IL-23 を介した経路が今後、慢性 GVHD の治療標的となり得ることが明らかとなった。

E. 結論

p40 抗体により Th1 および alternative Th17 が抑制され、慢性 GVHD が改善した。今後、慢性 GVHD の治療薬としての効果が期待される。

F. 健康危険情報
特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Sugiyama H, Maeda Y, Nishimori H, Yamasuji Y, Matsuoka K, Fujii N, Kondo E, Shinagawa K, Tanaka T, Takeuchi K, Teshima T, and Tanimoto M. mTOR inhibitors permit regulatory T cell reconstitution and inhibit chronic GVHD. **Biol Blood Marrow Transplant**. 2013 (in press)
- 2) Maeda Y, Pathogenesis of graft-versus-host disease: innate immunity amplifying acute alloimmune responses. **Int J Hematol**. 2013 ;98(3):293-9.
- 3) Nishimori H, Maeda Y, Tanimoto M. Chronic graft-versus-host disease: disease biology and novel therapeutic strategies. **Acta Med Okayama**. 2013;67(1): 1-8
- 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. Synthetic Retinoid Am80 Ameliorates Chronic Graft-Versus-Host Disease by Downregulating Th1 and Th17 **Blood**. 119(1):285-95, 2012
- 4) 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) Fujiwara H, Maeda Y, Kobayashi K, Nishimori H, Nishinohara M, Okamoto S, Matsuoka K, Kondo E, Fujii N, Shinagawa K, Tanimoto M. PD-1 pathway of donors and recipients modulate chronic graft-versus-host disease through Th1 and Th17 in mouse model. 日本造血幹細胞移植学会 2014 3/7-9 沖縄
- 2) H Fujiwara, K Kobayashi, H Nishimori, M Nishinohara, S Okamoto, K Matsuoka, E Kondo, N Fujii, K Shinagawa, M Tanimoto and Y Maeda. Contribution of the PD-1-PD-L pathway to chronic graft-versus-host disease. (BMT Tandem Meetings) 2013 2/15-18 Salt Lake
- 3) H Fujiwara, Y Maeda, K Kobayashi, H Nishimori, K Matusoka, M Azuma, Y Hideo, L Chen, and M Tanimoto. Host tissue PD-1 pathway contribute to murine chronic graft-versus-host disease via Th1+Th17+ cells. ASH 2013 12/6-10 New Orleans
- 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
(BMT Tandem Meetings) 2011/2

H.知的財産権の出願・登録状況(予定
を含む。)

1. 特許取得
特になし。
2. 実用新案登録
特になし。
3. その他
特になし

HLA 不適合血縁者間移植の安全性および有効性向上のための包括的研究
分担研究「造血幹細胞移植領域の臨床研究における生物統計学的手法」

研究分担者 森田 智視 京都大学大学院医学研究科 教授

研究要旨：造血幹細胞移植領域において臨床試験を計画・実施するにあたって重要な事項がデータベースの構築と集積したデータの有効活用である。データの有効活用には統計的な手法が果たす役割が大きいだろう。最近その適用が増えているベイズ流統計手法の利用可能性について検討・評価を行った。

A. 研究目的

造血幹細胞移植領域において臨床試験を計画・実施するにあたって重要な事項がデータベースの構築と集積したデータの有効活用である。集積データあるいはヒストリカルデータを試験デザインのみならず実際の当該試験のデータ解析にも取り込む研究が盛んに行われている。その主なものがベイズ流統計手法を用いたものである。そこでの利用可能性について検討・評価を行う。

B. 研究方法

ベイズ流統計手法の特徴の一つは、事前情報のデータ解析への取り込みにある。その事前情報のまとめ方について、最近公表された試験デザインに関する論文をレビューし、有用だと思われるものをまとめる。対象としたジャーナルは臨床試験デザインを多く取り上げている臨床統計に関するものに限定した。

C. 研究結果

ベイズ流統計とは、まず、有効性や安全性に関して調べたい興味のあるパラメー

タ（ ）を考える。は1つの値に決まったものとして考えず、ランダムな変数であると考え。過去の臨床的データをもとにしたに関する知識あるいは不確からしさを統計的な確率分布を用いて‘事前分布’として表す。新たに実施する研究/試験で観察されたデータを事前情報に加えての推定精度を高めていく。このプロセスのことを観察データで事前分布を‘更新する(update)’と呼ぶ。データで更新された後のに関する情報を‘事後分布’として表す。

第相試験では、試験治療法の有効性を評価し、最終的検証ステージである第相試験への移行に値するかどうかを調べるのが主目的である。第相試験におけるベイズ流デザインの適用事例として、米国MDアンダーソンがんセンター(MDACC)のEsteyら[1]がある。AML患者を対象とし、エンドポイントにCR率を用いて、Liposomal daunorubicin (LD) + ara-CやLD + Topotecanら4つの新治療を既存の標準療法と比較するランダム化第相試験を実施した。MDACCでそれまでに蓄積さ

れた591例分の標準療法のヒストリカルデータ：CR率49%（291/591例）を比較対照として、試験治療群それぞれの効果を調べた。さらに、有効性と毒性を一つの評価指標にまとめて同時にモニタリングを行うといったデザインも提案されている[2-4]。ベイズ流統計手法でもちいる事前情報分布に関する最近の研究として、Neuenschwanderら[5]やHobbsら[6]がある。

D. 考察

事前情報を積極的に活用するベイズ流統計手法を適切に用いるためには、事前情報のもとになるデータの質の高さが鍵となる。臨床試験デザインを検討する上で、基礎研究および先に実施された臨床試験のデータを詳細に解析することは重要である。検証的な第Ⅲ相試験でのベイズ流アプローチの適用には今後のさらなる議論が必要である。

E. 結論

今後の臨床試験デザインを検討するに際し事前情報を活用し、効率的に臨床開発を推進することに貢献できるベイズ流アプローチの適用を考えることは重要である。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Hironaka S, Ueda S, Yasui H, Nishina H, Tsuda M, Tsumura T, Sugimoto T, Shimodaira H, Tokunaga S, Moriwaki T, Esaki T, Nagase M, Fujitani K, Yamaguchi K, Ura T, Hamamoto Y, Morita S, Okamoto I, Boku N, Hyodo I. A Randomized, Open-label, Phase III Study Comparing Irinotecan with Paclitaxel in Advanced Gastric Cancer Patients without Severe Peritoneal Metastasis

after Failure of Prior Combination Chemotherapy using Fluoropyrimidine plus Platinum: WJOG4007 Trial. *J Clin Oncol* (in press)

2. Yamada A, Ishikawa T, Ota I, Kimura M, Shimizu D, Tanabe M, Chishima T, Sasaki T, Ichikawa Y, Morita S, Yoshimura K, Takabe K, Endo I. High expressions of ATP-binding cassette transporter ABCC11 in the breast tumors are associated with aggressive subtypes and worse disease-free survival. *Breast Cancer Research and Treatment* 137:773-782, 2013.
3. Shitara K, Morita S, Fujitani K, Kadowaki S, Takiguchi N, Hirabayashi N, Takahashi M, Takagi M, Tokunaga Y, Fukushima R, Munakata Y, Nishikawa K, Takagane A, Tanaka T, Sekishita Y, Kang Y, Sakamoto J, Tsuburaya A. Combination Chemotherapy with S-1 plus Cisplatin for Gastric Cancer that Recurs after Adjuvant Chemotherapy with S-1: Multi-institutional Retrospective Analysis. *Gastric Cancer* 15: 245-251,2012

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

[参考文献リスト]

- 1) Estey EH, Thall PF (2003). New designs for phase 2 clinical trials. *Blood*, 102, 442-448.
- 2) Thall PF, Sung HG (1998). Some extensions and applications of a Bayesian strategy for monitoring multiple outcomes in clinical trials. *Stat Med*, 17, (1563-1580).
- 3) Thall PF, Cook JD. Dose-finding based on efficacy-toxicity trade-offs. *Biometrics* 2004;60: 684-693.
- 4) Bekele, B.N. and Shen, Y. (2005) A Bayesian approach to jointly modeling toxicity and biomarker expression in a phase I/II dose-finding trial. *Biometrics* 60 343-354.
- 5) Neuenschwander B, Branson M, Spiegelhalter DJ. A note on the power prior. *Statistics in Medicine* 2009; 28:3562–3566.
- 6) Hobbs BP, Carlin BP, Mandekar SJ, Sargent DJ. Hierarchical commensurate and power prior models for adaptive incorporation of historical information in clinical trials. *Biometrics* 2011; 67:1047–1056.

厚生労働科学研究費補助金（免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業）
分担研究報告書

HLA 不適合血縁者間移植の安全性および有効性向上のための包括的研究
研究課題 「レジストリーデータの統計解析・活用のためのデータ整備」

研究分担者 熱田 由子 名古屋大学大学院医学系研究科

研究要旨

本研究班では、非介入の臨床研究として造血細胞移植登録一元化データベースを用いた後方視的解析が重要な役割を果たす。造血細胞移植登録一元化データベースとは、日本造血細胞移植学会、日本小児血液学会、骨髄移植推進財団（骨髄バンク）、日本さい帯血バンクネットワークが協力して造血細胞移植登録の一元化・電子化を 2006 年より行っている造血細胞移植登録一元管理プログラム（TRUMP）データベースを示す。このデータベースは、データ収集を目的としたデータ構造であり、解析を目的としたデータ構造への変換には多くの手間を要する。本研究班で実施される後方視的解析の効率と質を向上することを目的とし、解析データ構造の確定および変数の作成（HLA を含み他変数の入力不備の修正を含む）を実施した。本研究班では、前向き臨床試験が重要な位置づけを担っているが、ここにおけるデータ管理での TRUMP データの利用についても検討するとともに、効率的な臨床試験実施体制についても検討を実施し運用を開始した。

A. 研究目的

本研究班では、非介入の臨床研究として造血細胞移植登録一元化データベースを用いた後方視的解析が重要な役割を果たす。造血細胞移植登録一元化データベースとは、日本造血細胞移植学会、日本小児血液学会、骨髄移植推進財団（骨髄バンク）、日本さい帯血バンクネットワークが協力して造血細胞移植登録の一元化・電子化を 2006 年より行っている造血細胞移植登録一元管理プログラム（TRUMP）データベースを示す。2005 年までに上記各組織が別々に紙調査票で収集した移植情報は 2011 年までに TRUMP に統合された。このデータベースは、データ収集を目的としたデータ構造であり、解析を目的としたデータ構造への変換には多くの手間を要する。本研究班で実施される後方視的解析の効率と質を向上することを目的とした。また、本研究班では、前向き臨床試験が重要な位置づけを担っているが、ここにおけるデータ管理での TRUMP データの利用についても検討した。

B. 研究方法

解析を目的としたデータ構造への変換のために解析に用いる基本項目を定めそのデータ構造を作成した。これに基づいた変数作成を実施した。血縁者間造血幹細胞移植の HLA データは、入力不備データの確認および修正を昨年度に引き続き実施し、HLA 座の入力不備の修正、非血縁者間移植においては各臍帯血バンクなどから提供された HLA 情報の反映、および HLA 一致度判定プログラムを作成した。

TRUMP は、日本造血細胞移植学会への年次報告に用いるプログラムであり、その場合は日本造血細胞移植学会データセンターでのみ解読が可能な暗号化を行ったデータセットが提出される。TRUMP の機能として、施設内での利用のために、汎用形式でのデータの出力が可能であり、1 例での書き出しも出来る。臨床試験を実施における困難な点として、参加施設の報告書記入などの負担が挙げられるが、TRUMP data を併用することにより負担を軽減する方法の検討し、その方法を用いた造血幹細胞移植臨床試験における効率的なデータ収集を開始した。

C. 研究結果

解析データセット構造および、HLA を含み他変数の入力不備の修正も行った上での変数作成スクリプトを、今年度データセット用に変更し、日本造血細胞移植学会ホームページで公開した。本スクリプトでは、血縁者間造血幹細胞移植の HLA データは、HLA 座の入力不備の修正、非血縁者間移植においては各臍帯血バンクなどから提供された HLA 情報の反映、および HLA 一致度判定まで一度に実施するスクリプトである。

また、本研究班で開始された臨床試験のデータ収集に TRUMP data でのデータ収集の併用を適応した。

D. 考察

造血細胞移植登録一元化データベースは、他の観察研究データベースと同様、継続的な新規症例の登録および既登録症例の生存・疾患状況・晩期合併症情報の更新が必要であり、常に変化し続けているデータベースである。さらに、調査項目も研究の重要あるいは定義の変化などに応じて変更し続けて行く必要がある。こういった living database における質の管理および質の高い研究が行えるための統計解析におけるサポートは一度行えば事足りるものではなく、継続的に集中して取り組まなければならない。同時に、施設負担を減らし合理的に研究を行えるよう、臨床試験において TRUMP の利用を増やせる工夫が今後必要である。

E. 結論

造血細胞移植登録一元化データベースを用いて本研究班で検討したい後方視的研究を実施するためのデータベース基盤整備を実施した。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Atsuta Y, Suzuki R, Yamashita T, Fukuda T, Miyamura K, Taniguchi S, Iida H, Uchida T, Ikegame K, Takahashi S, Kato K, Kawa K, Nagamura-Inoue T,

Morishima Y, Sakamaki H. and Kodera Y.: Continuing increased risk of oral/esophageal cancer after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in adults in association with chronic graft-versus-host disease. **Ann Oncol.** ;25(2):435-41,2014

2. Kanda J, Nakasone H, Atsuta Y, Toubai T, Yokoyama H, Fukuda T, Taniguchi S, Ohashi K, Ogawa H, Eto T, Miyamura K, Morishima Y, Nagamura-Inoue T, Sakamaki H, Murata M. Risk factors and organ involvement of chronic GVHD in Japan. **Bone Marrow Transplant.** 49(2):228-35,2014
3. Tanaka J, Morishima Y, Takahashi Y, Yabe T, Oba K, Takahashi S, Taniguchi S, Ogawa H, Onishi Y, Miyamura K, Kanamori H, Aotsuka N, Kato K, Kato S, Atsuta Y, Kanda Y. Effects of KIR ligand incompatibility on clinical outcomes of umbilical cord blood transplantation without ATG for acute leukemia in complete remission. **Blood Cancer J.** (in press)
4. Kurosawa S, Yakushijin K, Yamaguchi T, Atsuta Y, Nagamura-Inoue T, Akiyama H, Taniguchi S, Miyamura K, Takahashi S, Eto T, Ogawa H, Kurokawa M, Tanaka J, Kawa K, Kato K, Suzuki R, Morishima Y, Sakamaki H, Fukuda T. Recent decrease in non-relapse mortality due to GVHD and infection after allogeneic hematopoietic cell transplantation in non-remission acute leukemia. **Bone Marrow Transplant.** 48(9):1198-204, 2013
5. Nakasone H, Kanda J, Yano S, Atsuta Y, Ago H, Fukuda T, Kakihana K, Adachi T, Yujiri T, Taniguchi S, Taguchi J, Morishima Y, Nagamura T, Sakamaki H, Mori T, Murata M; GVHD Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. A

case-control study of bronchiolitis obliterans syndrome following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. **Transpl Int.** 26(6):631-9, 2013

6. Shinzato A, Tabuchi K, Atsuta Y, Inoue M, Inagaki J, Yabe H, Koh K, Kato K, Ohta H, Kigasawa H, Kitoh T, Ogawa A, Takahashi Y, Sasahara Y, Kato SI, Adachi S. PBSCT Is Associated With Poorer Survival and Increased Chronic GvHD Than BMT in Japanese Paediatric Patients With Acute Leukaemia and an HLA-Matched Sibling Donor. **Pediatr Blood Cancer.** 60(9):1513-9, 2013
7. Kanda Y, Kanda J, Atsuta Y, Maeda Y, Ichinohe T, Ohashi K, Fukuda T, Miyamura K, Iida H, Mori T, Iwato K, Eto T, Kawa K, Morita S, Morishima Y. Impact of a single human leucocyte antigen (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.** 161(4):566-77, 2013

2. 学会発表

1. 熱田由子 造血幹細胞移植後の二次性固形腫瘍および晩期死亡, 第75回日本血液学会学術集会 2013年10月13日,札幌
2. Yoshiko Atsuta, Junya Kanda, Minoko Takanashi, Yasuo Morishima, Shuichi Taniguchi, Tokiko Nagamura-Inoue, Koji Kato, Yoshinobu Kanda. Effect of HLA disparity on outcomes after cord blood transplantation in patients with leukemia. 第74回日本血液学会学術集会 京都 2012.10

3. Yoshiko Atsuta, Minoko Takanashi, Yasuo Morishima, Shuichi Taniguchi, Satoshi Takahashi, Tokiko Nagamura-Inoue, Koji Kato, and Yoshinobu Kanda, on behalf of the HLA Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation; Different effect of HLA disparity on transplant outcomes after single unit cord blood transplantation between pediatric and adult patients with leukemia. EBMT 2012; Oral session "Stem cell source and donor"; 38th Annual Meeting of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. Wednesday, 4 April 2012; Geneva, Switzerland

- G. 知的財産権の出願・登録状況
なし

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
<u>Kanda Y</u> , Kanda J, <u>Atsuta Y</u> , Fuji S, <u>Maeda Y</u> , <u>Ichinohe T</u> , Takanashi M, Ohashi K, Fukuda T, Miyamura K, Mori T, Sao H, Kobayashi N, Iwato K, Sawada A, Mori S.	Changes in the clinical impact of high-risk HLA allele mismatch combinations on the outcome of unrelated bone marrow transplantation.	Biol Blood Marrow Transplant	20	526-535	2014
Nakasone H, Terasako-Saito K, Yamazaki R, Sato M, Tanaka Y, Sakamoto K, Kurita M, Yamasaki R, Wada H, Ishihara Y, Kawamura K, Machishima T, Ashizawa M, Kimura SI, Kikuchi M, Tanihara A, Kanda J, Kako S, Nishida J, Yamada S, and <u>Kanda Y</u> .	Impact of high-/middle-molecular-weight adiponectin on the synthesis and regulation of extracellular matrix in dermal fibroblasts.	Exp Hematol	42	261-273	2014
Nakasone H, Tanaka Y, Yamazaki R, Sato M, Terasako K, Sakamoto K, Yamasaki R, Wada H, Ishihara Y, Kawamura K, Machishima T, Ashizawa M, Kimura SI, Kikuchi M, Tanihara A, Kanda J, Kako S, Nishida J, <u>Kanda Y</u> .	Single-cell analysis of T-cell receptor- β repertoire of HLA-A*2402-restricted cytomegalovirus pp65-specific cytotoxic T-cells in donor-patient pairs undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation.	Bone Marrow Transplant	49	87-94	2014
Yamazaki R, Nakasone H, Tanaka Y, Sato M, Terasako K, Wada H, Ishihara Y, Kawamura K, Sakamoto K, Ashizawa M, Machishima T, Kimura SI, Kikuchi M, Okuda S, Kako S, Kanda J, Tanihara A, Nishida J, <u>Kanda Y</u> .	Allotype analysis to distinguish the origin of varicella-zoster virus immunoglobulin G after allogeneic stem cell transplantation.	Biol Blood Marrow Transplant	19	1013-1020	2013
Ikegame K, Kato R, Fujioka T, Okada M, Kaida K, Ishii S, Yoshihara S, Inoue T, Taniguchi K, Tamaki H, Soma T, <u>Ogawa H</u> .	Detection of donor-derived CMV-specific T cells in cerebrospinal fluid in a case of CMV meningoencephalitis after cord blood stem cell transplantation	Int J Hematol	97	287-290	2013
Fujioka T, Tamaki H, Ikegame K, Yoshihara S, Taniguchi K, Kaida K, Kato R, Inoue T, Nakata J, Ishii S, Soma T, Okada M, <u>Ogawa H</u> .	Frequency of CD4(+)FOXP3(+) regulatory T-cells at early stages after HLA-mismatched allogeneic hematopoietic SCT predicts the incidence of acute GVHD.	Bone Marrow Transplant	48	859-864	2013
Kawakami M, Taniguchi K, Yoshihara S, Ishii S, Kaida K, Ikegame K, Okada M, Watanabe S, Nishina T, Hamada H, Nakagawa M, <u>Ogawa H</u> .	Irreversible neurological defects in the lower extremities after haploidentical stem cell transplantation: possible association with nelarabine.	Am J Hematol	88	853-857	2013

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Fukuda K, Kurita N, Sakamoto T, Nishikii H, Okoshi Y, Sugano M, <u>Chiba S</u> .	Post-transplant gastric antral vascular ectasia after intra-venous busulfan regimen.	Int J Hematol	98	135-138	2013
Sakamoto T, Obara N, Kurita N, Sakata-Yanagimoto M, Nishikii H, Yokoyama Y, Suzukawa K, Hasegawa Y, <u>Chiba S</u> .	Effectiveness and safety of rabbit anti-thymocyte globulin in Japanese patients with aplastic anemia.	Int J Hematol	98	319-322	2013
Nagafuji K, Miyamoto T, Eto T, Kamimura T, <u>Taniguchi S</u> , Okamura T, Ohtsuka E, Yoshida T, Higuchi M, Yoshimoto G, Fujisaki T, Abe Y, Takamatsu Y, Yokota S, Akashi K, Harada M.	Monitoring of minimal residual disease (MRD) is useful to predict prognosis of adult patients with Ph-negative ALL: results of a prospective study (ALL MRD2002 Study).	J Hematol Oncol		in press	
Kai S, Wake A, Okada M, Kurata M, <u>Atsuta Y</u> , Ishikawa J, Nakamae H, Aotsuka N, Kasai M, Misawa M, <u>Taniguchi S</u> , Kato S.	Double-unit Cord Blood Transplantation after Myeloablative Conditioning for Patients with Hematological Malignancies: a Multicenter Phase II Study in Japan.	Biol Blood Marrow Transplant	19	812-819	2013
<u>Tanaka J</u> , Morishima Y, <u>Takahashi Y</u> , Yabe T, Oba K, <u>Takahashi S</u> , <u>Taniguchi S</u> , <u>Ogawa H</u> , Onishi Y, Miyamura K, Kanamori H, Aotsuka N, Kato K, Kato S, <u>Atsuta Y</u> , <u>Kanda Y</u> .	Effects of KIR-ligand incompatibility on clinical outcomes of umbilical cord blood transplantation without ATG for acute leukemia in complete remission.	Blood Cancer J		in press	2013
<u>Tanaka J</u> , Kanamori H, Nishiwaki S, Ohashi K, Taniguchi S, Eto T, Nakamae H, Minagawa K, Miyamura K, Sakamaki H, Morishima Y, Kato K, Suzuki R, Nishimoto N, Oba K, Masauzi N.	Reduced-intensity versus myeloablative conditioning allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for patients aged over 45 years with acute lymphoblastic leukemia (ALL) in remission: A study from the Adult ALL Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation (JSHCT).	Bone Marrow Transplant	48	1389-1394	2013
Kanamori H, Mizuta S, Kako S, Kato H, Nishiwaki S, Imai K, Shigematsu A, Nakamae H, Tanaka M, Ikegame K, Yujiri T, Fukuda T, Minagawa K, Eto T, Nagamura-Inoue T, Morishima Y, Suzuki R, Sakamaki H, <u>Tanaka J</u> .	Reduced-intensity allogeneic stem cell transplantation for patients aged 50 years or older with B-cell ALL in remission: a retrospective study by the Adult ALL Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation.	Bone Marrow Transplant	48	1513-1518	2013
Hiramoto N, Kurosawa S, Tajima K, Okinaka K, Tada K, Kobayashi Y, Shinohara A, Inoue Y, Ueda R, Tanaka T, Kim SW, <u>Yamashita T</u> , Heike Y and Fukuda T.	Positive impact of chronic graft-versus-host disease on the outcome of patients with de novo myelodysplastic syndrome after allogeneic hematopoietic cell transplantation: a single-center analysis of 115 patients.	Eur J Hematol	92	137-146	2014

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Fuji S, Ueno N, Hiramoto N, Asakura Y, Yakushijin K, Kamiyama Y, Kurosawa S, Kim SW, Heike Y, <u>Yamashita T</u> and Fukuda T.	Reduced-intensity conditioning regimen with low-dose ATG-F for unrelated bone marrow transplant is associated with lower non-relapse mortality than a regimen with low-dose TBI: a single-center retrospective analysis of 103 cases.	Int J Hematol	98	608-614	2013
Hirokawa M, Fukuda T, Ohashi K, Hidaka M, <u>Ichinohe T</u> , Iwato K, Kanamori H, Murata M, Sakura T, Imamura M, Adachi S, Suzuki R, Morishima Y, Sakamaki H; PRCA Collaborative Study Group.	Efficacy and long-term outcome of treatment of pure red cell aplasia after allogeneic stem cell transplantation from major ABO-incompatible donors.	Biol Blood Marrow Transplant	19	1026-1032	2013
Yoshioka S, Miura Y, Yao H, Satake S, Hayashi Y, Tamura A, Hishita T, <u>Ichinohe T</u> , Hirai H, Takaori-Kondo A, Maekawa T.	C/EBP β expressed by bone marrow mesenchymal stromal cells regulates early B-cell lymphopoiesis.	Stem Cells	32	730-740	2014
Miura Y, Yoshioka S, Yao H, Takaori-Kondo A, Maekawa T, <u>Ichinohe T</u> .	Chimerism of bone marrow mesenchymal stem/stromal cells in allogeneic hematopoietic cell transplantation: is it clinically relevant?	Chimerism	4	78-83	2013
Kato M, <u>Takahashi Y</u> , Tomizawa D, Okamoto Y, Inagaki J, Koh K, Ogawa A, Okada K, Cho Y, Takita J, Goto H, Sakamaki H, Yabe H, Kawa K, Suzuki R, Kudo K, Kato K.	Comparison of intravenous with oral busulfan in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with myeloablative conditioning regimens for pediatric acute leukemia.	Biol Blood Marrow Transplant	19	1690-1694	2013
Shinzato A, Tabuchi K, <u>Atsuta Y</u> , Inoue M, Inagaki J, Yabe H, Koh K, Kato K, Ohta H, Kigasawa H, Kitoh T, Ogawa A, <u>Takahashi Y</u> , Sasahara Y, Kato S, and Adachi S.	PBSCT is associated with poorer survival and increased chronic GvHD than BMT in Japanese paediatric patients with acute leukaemia and an HLA-matched sibling donor.	Pediatr Blood Cancer	60	1513-1519	2013
<u>Takahashi Y</u> , 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 and Japan Childhood Aplastic Anemia Study G.	Rabbit antithymocyte globulin and cyclosporine as first-line therapy for children with acquired aplastic anemia.	Blood	121	862-863	2013
Sugiyama H, <u>Maeda Y</u> , Nishimori H, Yamasuji Y, Matsuoka K, Fujii N, Kondo E, Shinagawa K, Tanaka T, Takeuchi K, Teshima T, and Tanimoto M.	mTOR inhibitors permit regulatory T cell reconstitution and inhibit chronic GVHD.	Biol Blood Marrow Transplant		in press	

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
<u>Maeda Y.</u>	Pathogenesis of graft-versus-host disease: innate immunity amplifying acute alloimmune responses.	Int J Hematol	98	293-299	2013
Nishimori H, <u>Maeda Y.</u> , Tanimoto M.	Chronic graft-versus-host disease: disease biology and novel therapeutic strategies.	Acta Med Okayama	67	1-8	2013
Hironaka S, Ueda S, Yasui H, Nishina H, Tsuda M, Tsumura T, Sugimoto T, Shimodaira H, Tokunaga S, Moriwaki T, Esaki T, Nagase M, Fujitani K, Yamaguchi K, Ura T, Hamamoto Y, <u>Morita S.</u> Okamoto I, Boku N, Hyodo I.	A Randomized, Open-label, Phase III Study Comparing Irinotecan with Paclitaxel in Advanced Gastric Cancer Patients without Severe Peritoneal Metastasis after Failure of Prior Combination Chemotherapy using Fluoropyrimidine plus Platinum: WJOG4007 Trial.	J Clin Oncol	31	4438-4444	2013
Yamada A, Ishikawa T, Ota I, Kimura M, Shimizu D, Tanabe M, Chishima T, Sasaki T, Ichikawa Y, <u>Morita S.</u> Yoshimura K, Takabe K, Endo I.	High expressions of ATP-binding cassette transporter ABC11 in the breast tumors are associated with aggressive subtypes and worse disease-free survival.	Breast Cancer Res Treat	137	773-782	2013
<u>Atsuta Y.</u> , Suzuki R, <u>Yamashita T.</u> Fukuda T, Miyamura K, <u>Taniguchi S.</u> Iida H, Uchida T, Ikegame K, Takahashi S, Kato K, Kawa K, Nagamura-Inoue T, Morishima Y, Sakamaki H. and Kodera Y.	Continuing increased risk of oral/esophageal cancer after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in adults in association with chronic graft-versus-host disease.	Ann Oncol	25	435-441	2014
Kanda J, Nakasone H, <u>Atsuta Y.</u> Toubai T, Yokoyama H, Fukuda T, <u>Taniguchi S.</u> Ohashi K, <u>Ogawa H.</u> Eto T, Miyamura K, Morishima Y, Nagamura-Inoue T, Sakamaki H, Murata M.	Risk factors and organ involvement of chronic GVHD in Japan.	Bone Marrow Transplant	49	228-235	2014
Kurosawa S, Yakushijin K, Yamaguchi T, <u>Atsuta Y.</u> Nagamura-Inoue T, Akiyama H, <u>Taniguchi S.</u> Miyamura K, Takahashi S, Eto T, <u>Ogawa H.</u> Kurokawa M, <u>Tanaka J.</u> Kawa K, Kato K, Suzuki R, Morishima Y, Sakamaki H, Fukuda T.	Recent decrease in non-relapse mortality due to GVHD and infection after allogeneic hematopoietic cell transplantation in non-remission acute leukemia.	Bone Marrow Transplant	48	1198-1204	2013

