

平成 21 年 6 月 11 日現在

研究種目：基盤研究（C）  
 研究期間：2007～2008  
 課題番号：19591098  
 研究課題名（和文） 移植後 T 細胞の白血病特異的免疫反応の増強による新しい臍帯血移植法の開発  
 研究課題名（英文） Development of new strategy for cord blood transplantation using enhanced leukemia-specific immune response with donor T cell  
 研究代表者  
 氏名（アルファベット）高橋 聡（TAKAHASHI SATOSHI）  
 所属機関・所属部局名・職名 東京大学・医科学研究所・准教授  
 研究者番号 60226834

### 研究成果の概要

臍帯血移植後の T リンパ球の回復過程において、速やかにナイーブからメモリーフェノタイプへ転換された。また、KIR-L 不適合の組み合わせによる抗腫瘍免疫反応に関しては、臍帯血における NK 細胞受容体と患者 HLA-C との組み合わせによる、GVHD の発症頻度や再発率、生存などへの影響を見出すことはできなかった。更に、各種 T 細胞におけるホーミング関連分子の発現の各臓器における GVHD の発症様式および重症度との関連は認めなかった。

以上の知見を集積することによって、臍帯血移植後の抗腫瘍特異的細胞性免疫療法における次段階の治療戦略を構築するための重要な基盤的情報となると考えた。

### 交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2008 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

### 研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・血液内科学

キーワード：白血病、臍帯血移植、白血病特異免疫、移植後免疫回復、キラー免疫グロブリン様受容体、NK 細胞受容体、HLA-C、GVHD

#### 1. 研究開始当初の背景

我々のグループは成人の難治性血液疾患患者に対する臍帯血移植を

積極的にすすめているが、その成績は世界的にみても良好であり（3年無病生存率 70%）更には同種移植ソー

スとしてはスタンダードである血縁ドナーからの骨髄・末梢血と比較してもほぼ同等の結果であることを明らかにしてきた。これは最適の時期に移植が可能であり、GVHD のリスクが低いという臍帯血移植の利点を生かして、移植関連（非再発）死亡率が低く抑えられていることが理由のひとつである。一方で原疾患の移植後の再発率は従来の同種移植と同等であり、その他の移植失敗の原因の比率が低いことから、むしろ相対的に再発率が占める割合は高い状況にあり、この点は臍帯血移植の成績向上には最も解決が望まれている問題点であると言える。

この臍帯血移植後早期に末梢血中に回復する T 細胞は、臍帯血中に含まれているナイーブ形質の成熟 T 細胞が由来で、末梢性増幅（peripheral expansion）により増加した細胞で、この回復動態の解析は GVHD の病態、および GVL 反応のメカニズムを解析する上で重要である。我々の解析では CD4 陽性 T 細胞はナイーブ分画を保持しつつ、CD8 分画は早期にエフェクター機能を獲得することが示唆された。このような従来の骨髄・末梢血幹細胞移植後早期に回復する成人の末梢 T 細胞と比較した質的な差は、HLA 不一致間移植であることと相まって、臍帯血移植後の T 細胞免疫の回復動態における特徴であると言える。

一方、腫瘍壊死因子受容体（TNFR）遺伝子ファミリーに属する CD27 分子は、膜貫通型糖タンパクで、55kDa のモノマーから成るジスルフィド結合

ホモダイマーであり、リンパ系細胞の増殖、分化、アポトーシスに重要な役割を果たしている。この分子は、胸腺髄質細胞、末梢 T リンパ球、活性化 B リンパ球および NK 細胞に認められるが、特にナイーブ CD4 陽性 T 細胞に選択的に発現している。T 細胞が T 細胞受容体/CD3 複合体を介する活性化を受けた場合に細胞表面の CD27 分子の発現とともに、その細胞外ドメインがメタロプロテアーゼによって膜近傍で切断されて可溶性 CD27 として産生される。この CD27 および可溶性 CD27 分子は、多くのリンパ性白血病細胞やリンパ腫細胞にも発現していることが知られている。また、CD27 分子とそのリガンドである CD70 分子の相互作用は、外来抗原に対する免疫反応において重要な機能を果たしている。さらに B-CLL 細胞上では、細胞表面に発現している膜貫通型 CD27 は CD70 との結合により NF- $\kappa$ B を介して co-stimulatory 分子の発現を引き起こすが、可溶性 CD27 は CD70 による T 細胞活性化を競合的に阻害することが明らかになっている。この可溶性 CD27 の産生は FAS リガンドや TNF- $\alpha$  の場合と同様に、メタロプロテアーゼ阻害剤によって抑制されることが予想される。

## 2. 研究の目的および方法

まず、臍帯血移植後の T リンパ球の回復過程について特性を明らかにし、次に、臨床応用を念頭に置いた臍帯血移植後の T 細胞による白血病特異的免疫の増強法の確立を目指した。更には、抗原特異的細胞性免疫の獲得に重要な

影響を与える因子についての探索を目的として、臍帯血移植後の移植片対宿主病 (GVHD) 発症患者における患者末梢血 T リンパ球上のホーミング関連分子の発現の解析、およびキラー免疫グロブリン様受容体 (KIR) とそのリガンド (L) の適合性が臍帯血移植成績に及ぼす影響に関する解析をおこなった。

### 3 . 研究成果

臍帯血移植後の患者における末梢血メモリー/エフェクターTリンパ球の回復動態について解析をおこない、これらの点について骨髄移植後の回復時と比較した。臍帯血移植後の患者においては、T細胞の末梢性拡大(peripheral expansion)の過程において、速やかにナイーブからメモリーフェノタイプへの転換が明らかになった。さらに HLA の適合度と移植成績との詳細な解析、臍帯血におけるキラー免疫グロブリン様受容体 (KIR) など NK 細胞受容体と患者 HLA-C との関係と GVHD の発症頻度や再発率などとの関連についても臨床解析をおこなったが、結論を出すためには症例数の蓄積と更なる観察が必要であった。移植後の再発率および生存率に関しては、KIR-L 適合に関する解析では、これまで欧州を中心に急性骨髄性白血病 (AML) に対する HLA ハプロ一致移植において、ドナーとレシピエントが KIR-L 不適合の組み合わせである場合、アロ反応性 NK 細胞による抗白血病細胞作用による再発の減少と生存率の上昇効果が報告されていたが、我々の解析では急性および慢性 GVHD の発症頻度、全生存率、無病生存率は、両群間で有意差は認めなかった。また、

AML の寛解期に限ってみても差は認めなかった。

一方、腸管指向性エフェクター/メモリーT細胞のホーミング関連分子として報告されているのは Integrin 4、Integrin 7、CCR9 である。また、皮膚に向かう T 細胞のホーミング関連分子として報告されているのは CLA、CCR4、CCR10 である。以上より、腸管および皮膚へのホーミング関連マーカーに対する抗体を、CD4 および CD8 に対する lineage 抗体と組み合わせ、9 カラー解析を行なったところ、腸管 GVHD を起こした症例の腸管へのホーミング関連分子の発現細胞 (4<sup>hi</sup>CCR9<sup>+</sup>) が、起こさなかった症例に比べて多くなることはなかった。また、皮膚の GVHD を起こした症例において、皮膚へのホーミング関連分子の発現細胞 (CLA+CCR4+CCR10<sup>+</sup>) が、起こさなかった症例に比べて多くなることはなかった。

以上の知見を集積することによって、臍帯血移植後の抗腫瘍特異的細胞性免疫療法における次段階の治療戦略を構築するための重要な基盤的情報となると考えた。

### 4 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計 20 件)

1. Ooi J, Takahashi S, Tomonari A, Tsukada N, Konuma T, Kato S, Kasahara S, Sato A, Monma F, Nagamura F, Iseki T, Tojo A, Asano S. Unrelated cord blood transplantation after myeloablative conditioning in adults with acute myelogenous leukemia. Bone Marrow Transplant 43(6):455-459, 2009.
2. Konuma T, Ooi J, Takahashi S, Tomonari A, Tsukada N, Kato S, Sato A,

- Monma F, Kasahara S, Uchimaru K, Iseki T, Tojo A, Asano S. Second myeloablative allogeneic stem cell transplantation (SCT) using cord blood for leukemia relapsed after initial allogeneic SCT. *Leuk Res.* 33(6): 840-842, 2009.
3. Konuma T, **Takahashi S**, Ooi J, Tomonari A, Tsukada N, Kato S, Sato A, Monma F, Kasahara S, Nagamura-Inoue T, Uchimaru K, Iseki T, Tojo A, Yamaguchi T, Asano S. Myeloablative unrelated cord blood transplantation for acute leukemia patients between 50 and 55 years of age: single institutional retrospective comparison with patients younger than 50 years of age. *Ann Hematol*; 88(6): 581-588, 2009
  4. Konuma T, Ooi J, **Takahashi S**, Tomonari A, Tsukada N, Kato S, Sato A, Monma F, Hongo E, Uchimaru K, Tojo A, Asano S. Donor cell-derived myelodysplastic syndrome after cord blood transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 43(5):429-431, 2009
  5. Konuma T, Ooi J, **Takahashi S**, Tomonari A, Tsukada N, Kato S, Sato A, Monma F, Uchimaru K, Tojo A. Fatal acute tumor lysis syndrome following intrathecal chemotherapy for acute lymphoblastic leukemia with meningeal involvement. *Intern Med.* 47(22): 1987-1988, 2008
  6. Tomonari A, **Takahashi S**, Ooi J, Tsukada N, Konuma T, Kato S, Kasahara S, Iseki T, Tojo A, Asano S. No occurrence of *Pneumocystis jirovecii* (carinii) pneumonia in 120 adults undergoing myeloablative unrelated cord blood transplantation. *Transpl Infect Dis.* 10(5):303-307, 2008
  7. Konuma T, Ooi J, **Takahashi S**, Tomonari A, Tsukada N, Kato S, Kasahara S, Uchimaru K, Tojo A. Central nervous system leukemia on magnetic resonance imaging. *Intern Med.* 47(5):477, 2008
  8. Tomonari A, **Takahashi S**, Ooi J, Tsukada N, Konuma T, Kato S, Kasahara S, Iseki T, Tojo A, Asano S. Blood eosinophilia after unrelated cord blood transplantation for adults. *Bone Marrow Transplant.* 42(1):63-65. 2008.
  9. Mae H, Ooi J, **Takahashi S**, Tomonari A, Tsukada N, Konuma T, Hongo E, Kato S, Kasahara S, Oiwa-Monna M, Kurokawa Y, Tojo A, Asano S. Early renal injury after myeloablative cord blood transplantation in adults. *Leuk Lymphoma.* 49(3):538-42, 2008
  10. Konuma T, Ooi J, **Takahashi S**, Tomonari A, Tsukada N, Kato S, Kasahara S, Uchimaru K, Iseki T, Tojo A, Asano S. Myeloablative unrelated cord blood transplantation for adult acute myeloid leukemia patients with 11q23 abnormalities. *Eur J Haematol.* 80(6):545-548. Epub 2008
  11. Tomonari A, **Takahashi S**, Ooi J, Tsukada N, Konuma T, Kato S, Kasahara S, Iseki T, Yamaguchi T, Tojo A, Asano S. Impact of cytomegalovirus serostatus on outcome of unrelated cord blood transplantation for adults: a single-institute experience in Japan. *Eur J Haematol.* 80(3):251-257, 2008
  12. Watanabe N, **Takahashi S**, , Ishige M, Ishii Y, Ooi J, Tomonari A, Tsukada N, Konuma T, Kato S, Sato A, Tojo A, Nakauchi H. Recipient-derived cells after cord blood transplantation: dynamics elucidated by multicolor FACS, reflecting graft failure and relapse. *Biol Blood Marrow Transplant.* 14(6): 693-701, 2008.
  13. Konuma T, Ooi J, **Takahashi S**, Tomonari A, Tsukada N, Kobayashi T, Sato A, Kato S, Kasahara S, Ebihara Y, Nagamura-Inoue T, Tsuji K, Tojo A, Asano S. Cardiovascular toxicity of cryopreserved cord blood cell infusion. *Bone Marrow Transplant.*; 41(10): 861-5,2008
  14. Tomonari A, **Takahashi S**, Ooi J, Tsukada N, Konuma T, Kobayashi T, Takasugi K, Iseki T, Tojo A, Asano S. Preemptive therapy with ganciclovir 5

mg/kg once daily for cytomegalovirus infection after unrelated cord blood transplantation. Bone Marrow Transplant 41: 371-376,2008.

15. Nakayama S, Nagamura-Inoue T, Yokoyama K, Ohno N, Ooi J, **Takahashi S**, Uchimarui K, Iseki T, Tojo A. Cytogenetic remissions induced by interferon alpha and imatinib mesylate are immunologically distinct in chronic myeloid leukemia. Int J Hematol. Oct;86(3):208-11, 2007
16. Tomonari A, **Takahashi S**, Ooi J, Tsukada N, Konuma T, Kobayashi T, Sato A, Iseki T, Yamaguchi T, Tojo A, Asano S. Impact of ABO incompatibility on engraftment and transfusion requirement after unrelated cord blood transplantation: a single institute experience in Japan. Bone Marrow Transplant. 40(6): 523-528, 2007.
17. Tomonari A, Tsukada N, **Takahashi S**, Ooi J, Konuma T, Kobayashi T, Fukuno K, Takasugi K, Fujii T, Endo T, Iwamoto A, Oyaizu N, Tojo A, Asano S. Early-onset pulmonary complication showing organizing pneumonia pattern following cord blood transplantation in adults. Int J Hematol 85(4): 364-366, 2007.
18. Tomonari A, **Takahashi S**, Ooi J, Tsukada N, Konuma T, Kobayashi T, Sato A, Takasugi K, Iseki T, Tojo A, Asano S. Bacterial bloodstream infection in neutropenic adult patients after myeloablative cord blood transplantation: experience of a single institution in Japan. Int J Hematol, 85(3):238-241, 2007.
19. Konuma T, Ooi J, **Takahashi S**, Tomonari A, Tsukada N, Kobayashi T, Sato A, Tojo A, Asano S. Allogeneic stem cell transplantation for hepatosplenic gammadelta T-cell lymphoma. Leuk Lymphoma. 48(3): 630-632, 2007.
20. **Takahashi S**, Ooi J, Tomonari A, Konuma T, Tsukada N, Oiwa-Monna M, Fukuno K, Uchiyama M, Takasugi K, Iseki T, Tojo A, Yamaguchi T, Asano S.

Comparative single-institute analysis of cord blood transplantation from unrelated donors with bone marrow or peripheral blood stem cell transplantation from related donors in adult patients with hematological malignancies after myeloablative conditioning regimen. Blood 109(3): 1322-1330, 2007.

〔学会発表〕(計 3件)

1. **Takahashi S**. Cord blood for allogeneic stem cell transplantation for MDS patients in Japan. 13<sup>th</sup> Congress of Asia-Pacific Blood and Marrow Transplantation. Taipei Apr. 26-27, 2008.
2. **Takahashi S**, et al. Equivalent disease-free survival results after CBT and BMT from unrelated donor using TBI containing myeloablative regimen and calcinulin inhibitors plus MTX methods in patients with MDS in Japan: multivariate analysis by competing risk regression models. 34th Annual Meeting of the European Group for Blood and Marrow Transplantation Florence, Italy March 30-Apr. 2, 2008.
3. **Takahashi S**. CBT in Adults for Malignant Diseases in Japan. The First Cord Blood Transplant European Conference. Rome May 3-5, 2007

〔図書〕(計 1件)

Takahashi S. Walters Kluwer, Curr Opin Oncology 19(6): 153, 2007.

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

取得状況(計 0件)

〔その他〕

特になし

## 5 . 研究組織

### (1)研究代表者

高橋 聡(TAKAHASHI SATOSHI)  
東京大学医科学研究所・准教授  
60226834

### (2)研究分担者

2007 年度  
渡辺信和 (WATANABE NOBUKAZU)  
東京大学医科学研究所・特任助教  
10334278  
加藤和則 (KATO KAZUNORI)  
札幌医科大学・医学部・准教授  
66233780  
東條有伸 (TOJO ARINOBU)  
東京大学医科学研究所・教授  
00211681  
大井 淳 (OOI JUN)  
東京大学医科学研究所・助教  
20302606

### (3)連携研究者

2008 年度  
渡辺信和 (WATANABE NOBUKAZU)  
東京大学医科学研究所・特任助教  
10334278  
加藤和則 (KATO KAZUNORI)  
札幌医科大学・医学部・准教授  
66233780  
東條有伸 (TOJO ARINOBU)  
東京大学医科学研究所・教授  
00211681  
大井 淳 (OOI JUN)  
東京大学医科学研究所・助教  
20302606