



## Episode 9

# 造血幹細胞移植医療の発展と 実験動物を用いた基礎研究

本コーナーのタイトル「Be Ambitious!」はウイリアム・エス・クラーク博士の名言“Boys, be ambitious like this old man”から拝借しました。「未来を自ら切り拓くべし」という後進への強い期待の意も込めて、長年に渡り、血液学の世界で活躍して来られた名誉会員の先生方から現役の先生方に向けた熱く且つ含蓄豊かなメッセージをお届けいたします。



北海道大学名誉教授  
(前：北海道大学大学院医学研究科内科学講座血液内科学分野教授)  
社会医療法人 北楡会 札幌北楡病院 内科顧問  
今村 雅寛

## はじめに



造血幹細胞移植医療の発展において、実験動物を用いた基礎研究が臨床応用を目指す際に与えた影響は大きいと言えます。そのあり様として、ヒトへの臨床応用を考えての実験動物を用いた前段階の研究、臨床現場で湧き出た疑問を解明するための研究などありますが、今後もその利点と欠点を弁えることで、臨床に還元される成果を生み出すものと思われます。ヒトとほかの動物を用いた研究では、種が異なることのほかに、遺伝学的に均一な近交系が用いられること、さらには処置法がやや異なることなどに課題もありますが、実験の組み方と結果の解釈である程度は埋め合わせることができることが多いと考えます。最近では、ヒトの検体を用いた研究や、日本造血細胞移植学会が蓄積しているデータベースの効果的活用による臨床成績の後方視的解析、あるいは全国的な研究組織を背景にした前方視的解析の結果を踏まえ、動物実験とは無関係に新しい知見を確認することで、より改良された造血幹細胞移植医療の発展に一步一步貢献していることは、疑う余地のないことです。しかし、本稿では造血幹細胞移植医療の格段の発展に貢献してきた実験動物を用いた基礎研究の成果を再確認することで、造血幹細胞移植医療のさらなる発展に繋がる基礎研究の在り方を探り、ひいてはこの分野の研究に取り組む臨床医が増加する一助となれば幸いと考え、いくつかの事例を紹介致します。果たして、50年ほど前のように、実験動物を用いなければ、ヒトの造血幹細胞移植医療に有用な目覚ましい新知見を得られないのか否か、また最近の分子標的療法やがん免疫療法などの目覚ましい進展を鑑みますと、“過激な(野蛮な?)”同種造血幹細胞移植医療の将来的な意義が懸念されますが、発展的に形を変えつつ存続すると思われる、若い研究者には、さらなる画期的成果を挙げられるような安全かつ負担の少ない同種造血幹細胞移植の実現に向けた研究を期待しています。

## 移植免疫研究への係わり



1973年、私が北海道大学卒業後図らずも在籍することになった北海道大学医学部附属癌研究施設病理部門(当時は小林 博名誉教授が主宰)では、マウスに比して格段に大きなラットを用いた研究を行っており、慣れないうちは嘔みつかれて指から血を流しながらがん免疫関連の実験をしていたことも、今は遠い過去のこととなりました。その後、一旦北海道大学医学部附属病院第三内科の血液グループで研修していましたが、1977年からがん免

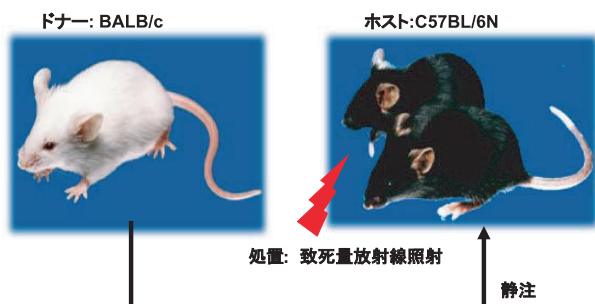
疫の研究のため、小林先生のご紹介で米国に留学することになりました。その研究施設では、近交系マウスを用いて研究を行うことが通常で、ラットとのサイズの差は如実であり、操作性の良さを実感しました。さらに、種々のリコンビナントマウスなど特殊な系のマウスも容易に入手でき、すべてディスポーザブル器具を用い、テクニシャンのいる研究環境の差にも感激したものです。マウスにおけるがん免疫研究での経験は、後に移植免疫研究を行う際に、結果として大いに役に立つことになりました。

1980年に帰国し、当時東京女子医科大学血液内科より母校に教授として戻られたばかりの故宮崎 保先生のご了解を得て北海道大学医学部附属病院第三内科血液グループに戻り、血液学の研鑽を積むことにしました。教授との面談時、その数年前から日本でも同種骨髄移植がなされ始めた頃で、その成績はまだ満足できるものではなかったこともあり、図らずも同種骨髄キメラマウスを作製しての移植片対宿主病 (graft-versus-host disease, GVHD) の制御に関する研究を私が開始することになりました (図1)。臨床の傍ら、マウスを用いた同種造血幹細胞移植に関する基礎研究を始めた1980年頃の日本には、正真正銘の基礎免疫学者数名が行う免疫応答解析の基礎的研究のための手段としての骨髄キメラマウスの利用を除いて、臨床応用を目指して、マウスモデルにおける同種造血幹細胞移植の研究を行う臨床医は殆ど見当たらず、その意味では“マイナー”な分野でしたが、最近少しずつ増えてきているのは喜ばしいことです。尤も、未だに研究者人口からすると少数派であることに変わりはありません。

1980年から1993年頃までマウスを用いた実験を行いました。途中1985年からは北楡病院血液内科部長の笠井正晴先生 (後に病院長、名誉院長) らと一緒に、大学と北楡病院で移植を立ち上げる準備もほぼ同時に開始しました。初めてのことで、準備することや周囲の理解を得ることに時間を要し、日本の先達より約10年遅れて1986年にヒトでの造血幹細胞移植を

施できました。自らのマウスを用いた研究は、内外での種々の仕事量の増加で纏まった研究時間の確保が徐々に難しくなり、1993年頃に一旦中断しました。また、1990年頃からは日本骨髄バンクの設立に向けて、各地区での円滑な運営を目指した地区調整医師やコーディネーターの養成に向けた準備をする役目も仰せつかり、中央との連携の下に、何度も東京での会議に出向いたり、北海道地区で会議を開催したりの日々があり、1991年に非血縁者間同種骨髄移植が始まってからは、日々のバンク活動の監督と地区で何か問題が起きた際の調整役もこなすことになり、2012年の定年退職まで続けました。このような中、動物実験が再開できたのは1997年に新設の講座に移って、その立ち上げに労力と時間を要している最中、大学院生のひとりがその分野の研究を希望した約10年後の2003年でした。この実験動物を用いた移植免疫研究の空白期間には、田中淳司准教授 (現:東京女子医科大学血液内科教授) が中心となってヒトの同種移植免疫研究を精力的に行ってくれました。顧みると、丁度この間に同種造血幹細胞移植関連の実験動物 (主にマウス) を用いた移植免疫研究が盛んになっていました。因みに、1980年頃のBlood誌に“実験動物を用いた同種移植免疫関連”の論文は皆無で、1984、1985、1988年に各1編、1989年に8編、1990年に5編でした。1991~1993年はまた減少し、1994~2001年まで年間約10~20編、2002年以降は年間20~30編となっています。論文数の増加は、当該雑誌の刊行数の増加 (1980~1988年:12号、1989年:16号、1990~2008年:24号、2009~2015年:51~52号) も影響していると思いますが、ヒトの同種造血幹細胞移植が世界的に増加するにつれ、臨床での課題を動物実験で解明すべく、基礎的な研究も活発に行われ、移植免疫の研究者数も増えていることが大きいと思います。1980年頃の移植免疫関連論文を掲載するほかの国際雑誌として、Transplantation, Immunobiology, Immunology, Journal of Immunology, Journal of Experimental Medicine, Nature, Science などが、時に実験動物 (主にマウス) を用いた同種造血幹細胞移植に関する報告もありましたが、それほど多くはありませんでした。実際、私および同僚は1980年代前半より1990年代前半まで、毎年マウスを用いた免疫寛容誘導に関する研究、サイトカインとGVHDに関する研究、免疫抑制剤の作用機序に関する研究などの結果を日本血液学会でも発表し続けてきましたが、やや異質な感じの演題と受け取られていたものと推察致します。

1980年頃の日本で近交系 specific-pathogen-free (SPF) マウスを入手することはできませんでしたが、まだ系統数も少なく、特殊なもの輸入するしかない状況でした。現在は利用できる系統数も増え、遺伝子改変動物も頻りに用いられており、その大きな変化には隔世の感があります。また、リンパ球サブセットや種々の



骨髄細胞移植 (非GVHD群): 骨髄細胞  $1 \times 10^7$  個/匹

骨髄細胞+脾細胞移植 (GVHD群): 骨髄細胞  $1 \times 10^7$  個+脾細胞  $1 \times 10^7$  個/匹

図1. 骨髄キメラマウスの作製

細胞や分子に対するモノクローナル抗体も存在しない時代で、T細胞に対する抗Thy 1.1血清と抗Thy 1.2血清は市販されていましたが、それ以外のサブセットに対するものは市販されていませんでした。さらに、マウス主要組織適合抗原（H-2抗原）に対する血清も自分で異種の系統のマウスを免疫して作成していた時代で、T細胞の純化は自作のナイロンウールカラムを通して行っていました。その意味では、家内制手工業の時代から工場制機械化を経ての産業革命に匹敵する、あるいはそれ以上の大変革が1990年頃から実験動物を用いた研究分野に見られています。

そもそも、SPFマウスを用いること自体、ヒトとは違った条件になりますが、雑菌マウスでは、強いGVHDと感染症で実験データが揃わない欠点があります。一方、SPFマウスでは、移植に用いる骨髄中のT細胞が少なく、そのまま致死量の全身放射線照射を施した同種異系マウスに移植しても、GVHDの重症度は極めて低く、ほとんどが生存してしまうため、GVHDの制御を目指した実験系として成立しません。そこで、わざわざ一定量の脾細胞（T細胞を含む）を骨髄細胞に混ぜて、適度のGVHDを誘導する条件設定が必要になります。また、用いるマウスの系により、放射線感受性が異なるため、各研究施設での致死量の検討も必要となります。さらに、マウスの飼育環境も実験結果に影響します。ドナーとホストの組み合わせも、主要組織適合抗原の完全に異なった場合、ホストにF1を用いる場合、非主要組織適合抗原のみ異なった場合などありますが、当時私は主要組織適合抗原の完全に異なったドナーとホストを用いて研究を始め、約2年半後に免疫寛容誘導に関する最初の論文を報告することができました。ここで用いた実験系は、ヒトの同種造血幹細胞移植の実情とは異なりますが、GVHDをある程度強くした条件での解析を選択しました。さらに、従来骨髄キメラマウスの作製には、致死量の全身放射線照射を用いることが多いのに比し、ヒトの前処置では抗がん剤の併用が多い点にも留意すべきですが、検討すべき課題によってはそれほど問題にならないことが多いと考えます。このように、あまりにも種々の条件が違いすぎて、マウスひとつとっても、動物実験で得られた結果が、すぐにヒトに役立つものとなるか否か懸念される方も多いと思われる。ただ、これから紹介する事実を見ていただくと、動物実験で得られた結果が、ヒトにも当てはまることが多いと納得できるものと推察致します。ただ、実験動物で得られた結果が、ヒトでは全く通用しないことも時に見られることも事実であり、楽観は許されません。ヒトと異種動物に存在する最大公約数的な普遍的現象を予め予測することができれば良いのですが、時にそうではないことがあるため、厄介なことになります。従って、いかに普遍的な結果を導くことができているか、あるいはヒトでの確認をいかにすべきかに細心の注意を払って、倫理的に支障のない形で臨

床応用を目指す必要がありますが、最後は決断を迫られることも多いのではと思います。これは、ヒトに近い哺乳動物を用いて研究を行っても、最終的には同じではないかと思えます。過去の実験動物を用いた研究結果を見て行きますと、ヒトに応用する際に勇気と英断をもって挑戦し続けてきたことで、現在の同種造血幹細胞移植の発展に貢献してきたことがよく理解できます。

私は、北海道大学で教室を主催した約14.5年間で25名ほどの新入教室員と一緒に仕事をしてきましたが、何名かの移植免疫研究の志向者がおり、その中の2名はまだ留学中で移植免疫の研究を続けています。私が大学を定年退職する約10ヶ月前に、それまで大きな無駄と非効率性を抱えながら三科で担当されていた血液内科の統合が正式に決定され、その後順次人事異動、病棟再編がなされて“新生血液内科”ができました。その後間もなく、2012年8月1日に豊嶋崇徳先生が後任として北海道大学大学院医学研究科内科学講座血液内科学分野教授として着任しました。現在、種々の研究の中でも、特にGVHDの機序の解明とその制御法の臨床応用に向けて、活発な研究が展開されており、若い研究者がさらに増えて成果を挙げつつあります。連綿と続く移植免疫研究の流れが、より大きなうねりとなって、安全かつ負担の少ない同種造血幹細胞移植法の確立に結び付くことを願う日々です。私のこれまでの人生の中で、“凶らずも”の転機が数回訪れました。学問的見地からは早くから狙いを定めて邁進することが望ましいに決まっていますが、反面予想できないからこそその面白さもあったのではないかとも思っています。北の大地に、継続的に血液学を学び、地域医療に貢献しながら研究し、そこで得られた成果を世界に発信できる足場ができたことは、私をはじめ関係諸氏のたいなる喜びです。

## 動物実験による 造血系再構築の確認



脾臓を鉛で遮蔽したマウスでは、致死量の全身放射線照射を行っても、生存できたとする1951年のJacobsonらの報告、マウスやモルモットの骨髄移植による造血系再構築を示した1951年のLorenzらの報告の後、1956年にFordらが骨髄細胞の注入による致死線量の全身放射線照射を受けたマウスの生存は、液性因子によるものではなく、細胞成分によるものであることを示し、骨髄移植による造血系再構築の実現可能性が確認されました。さらに、1956年にvan Bekkumらは静脈内に注入された骨髄細胞が骨髄内で増殖することをマウスで示しました。これらの結果を受けて、Thomasらが1957年に同様の事実をヒトでも確認しました（図2）。

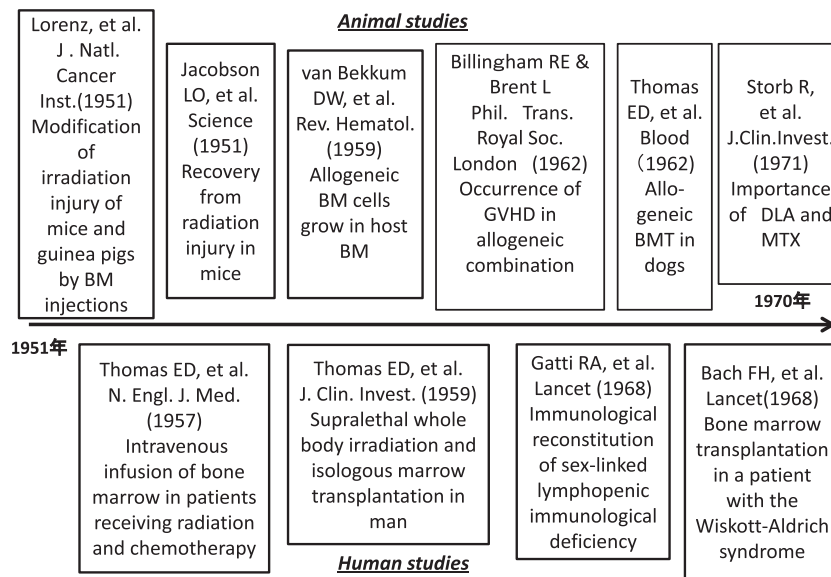


図2. 造血幹細胞移植の黎明期

動物実験におけるホストは致死量の全身放射線照射を施されているものが多く、造血幹細胞源としては、最初同系あるいは同種の骨髄細胞が使われました。末梢血幹細胞の利用は、マウスで1962年に Goodman & Hodgson によって、イヌでも同年 Cavins ら、サルでは1977年に Storb ら、ヒトでは1988年に Kessinger らによって報告されてきました。その後、臨床現場では臍帯血へと利用範囲の拡大がなされてきましたが、1958年には Urso がマウス胎児肝あるいは新生仔肝細胞移植で造血系再構築がなされることを報告しました。胎生期あるいは新生仔期の組織に造血能の旺盛な細胞が含まれていることが明らかになっていましたが、1972年には Ende & Ende が、初めてヒト臍帯血の有用性を示唆していました。1982年 Nakahata らのヒト臍帯血中に存在する造血幹細胞の *in vitro* での確認を踏まえて、1989年に Broxmeyer らによるヒト臍帯血の分離・保存研究の後、臨床応用の気運が高まり、同年 Ende ら、Gluckman らが臍帯血移植を実施したことが現在に繋がっており、ヒト臍帯血をマウスに移植した基礎研究はありますが、技術的な問題もあってか動物を用いた研究としては、マウス臍帯血をマウスに移植した研究は1997年 (Scaradavou ら) と遅れました。

## 移植片対宿主病の発見



1959年、Billingham & Brent はマウスの同種骨髄移植で骨髄細胞は生着しましたが、ホストに対する免疫反応 (wasting

syndrome, secondary disease, graft-versus-host disease あるいは runting syndrome, runt disease と呼ばれる) も起きることを示しました。その重症度は遺伝的要因が重要な役割を果たすことも1957年 Uphoff によって示されていました。さらに、この免疫反応は amethopterin, methotrexate, cyclophosphamide の投与で抑制されました (Uphoff 1958年, Lochte ら1962年, Santos & Owens 1969年)。1958年に Uphoff がマウス胎仔肝細胞移植では secondary disease が起こり難いことを報告後、1969年, Bortin & Saltzstein は、マウス胎仔肝細胞移植では T 細胞の少ないことに起因する現象であることを明らかにしました。実際、Boehmer らは1975年に、マウスでの主要組織適合抗原不一致ドナーからの移植の際に、T 細胞を除去しておくこと、致死性の GVHD が軽減されることを示しました。ヒトでも GVHD の回避には、ドナーとホストで主要組織適合抗原の一致していることが重要で、不一致の場合には GVHD の発生頻度と重症度が高まります (Thomas ら1971年, Reisner ら1981年, Hansen ら1990年, Morishima ら2002年)。移植造血細胞源からの T 細胞除去で GVHD は軽減されますが、逆に生着不全や白血病など悪性腫瘍の再発が増えます。ここで、ドナーとホストの主要組織適合抗原を一致させても、一定の頻度で GVHD が認められる原因として、マイナー組織適合抗原系の存在が挙げられます。マウスの主要組織適合抗原 (H-2 抗原) は Gorer & Snell によって、1936年にマウスの血液型に関連した抗原 (H-2 抗原) として発見され、マウスの皮膚移植片に対する拒絶と密接に結び付くことが示されていました。

同様の抗原が、ヒトでも Dausset により 1952 年に見つけれ、1958 年には Dausset & van Rood によって human leukocyte antigen (HLA) group が決定されました。その後、1964 年の第 1 回国際ワークショップで HLA 抗原系の整理がなされ、ヒトの移植医療全般に重要な情報として用いられるようになりました。主要組織適合抗原のほかに、主要組織適合抗原拘束性の免疫応答を誘導し、細胞性免疫を介した移植免疫に重要な役割を果たす非主要（マイナー）組織適合抗原系（マウスでは 1973 年に発見された Festenstein らの Mls 抗原が有名）が発見され、その後多くのマイナー抗原が同定されました。ヒトでも、Goulmy らの研究グループによって 1993 年に HA 抗原系が報告され、その後種々見つっていますが、その同定が容易ではないものもあるため、現実的にはその差を無視して、ヒトの同種造血幹細胞移植がなされています。

## 同種造血幹細胞移植の黎明期



Thomas らは、1950 年代にヒトへの造血幹細胞移植への足がかりを作るべく、雑種であること、家族構成の解りやすさ、血液採取および輸血の容易性などの観点で、ヒトへの応用に適したイヌを用いた研究に取り組みますが、その際にもやはりドナーとホストの主要組織適合抗原系 (dog leukocyte antigen, DLA) の一致、移植された造血幹細胞の拒絶を防ぐための前処置、移植後 GVHD の軽減のための免疫抑制が重要であることを示してきました (Ferrebee ら 1958 年, Thomas ら 1962 年, Epstein ら 1968 年, Storb ら 1971 年, Deeg ら 1982 年)。これらの基礎実験から得られた成果を踏まえて、ヒトの同種造血幹細胞移植の成績向上に向けた研究が 1970 年代から 1980 年代になされ、HLA 一致ドナーの選択、致死線量放射線照射 + 大量 cyclophosphamide (CY) による前処置、移植後 GVHD 予防のため免疫抑制剤投与 (短期 methotrexate + cyclosporine)、移植病期の考慮などの基本的な方法が確立されてきました (Powles ら 1978 年, Thomas ら 1979 年, Storb ら 1986 年)。また、無菌マウスを用いると雑菌マウスを用いた場合より、GVHD も軽減することが解り (Jones ら 1971 年, van Bekkum ら 1974 年)、白血球の生着までの感染予防の意味もあり、無菌室での治療がなされるようになりました。この際、腸管、気道、口腔内の無菌処置にも留意されてきましたが (Storb ら 1983 年, Petersen ら 1987 年, Beelen ら 1999 年)、後年過度になされていることが判明し、無菌管理の軽減 (簡略化) が図られてきました。無菌マウスで GVHD が少ない理由として、古くから腸内フローラの存

在と GVHD 発症との関連が指摘されてきており、最近それに関するマウスおよびヒトでの報告が相次いでおり (Jenq ら 2012 年・2015 年, Eriguchi ら 2012 年, Holler ら 2014 年, Mathewson ら 2016 年)、ひとつのトピックスとなっています。

## 移植片対宿主病による臓器障害のひとつとしての造血障害



急性および慢性 GVHD によって、障害を受ける臓器の範囲は異なりますが、造血障害も来すことは Elkins (1971 年), Rolink ら (1982 年) によってマウスを用いた研究で報告されていました。ここでは、私が少し関わってきた GVHD による造血障害について触れます。臨床の現場でも、GVHD に関連した造血障害と思われる症例に遭遇することが時にあります。この現象にはいくつかの原因がありますが、マウスの GVHD モデルで骨髓支持細胞の減少が見られ (Hirabayashi ら 1981 年)、ヒトでも同様のことが示されました (Okamoto ら 1991 年)。GVHD による造血障害の機序として、Fas や IFN- $\gamma$  の関与によるものであること示したマウスでの報告 (Mori ら 1998 年, Chen ら 2004 年) もありますが、造血ニッチの概念が提唱されてきてから、それに対する影響を示した報告として、マウスでは Shono ら (2010 年) の GVHD による骨芽細胞障害、Yao ら (2014 年) の GVHD による血管ニッチ障害の報告があり、ヒトでは Shono, Shiratori ら (2014 年) の骨芽細胞障害、Medinger ら (2015 年) の血管ニッチ障害の報告があります。

一方、GVHD が B 細胞の減少や機能異常を示すも報告もあり、マウスでは Seddik ら (1986 年), Xenocostas ら (1987 年, 1991 年), Baker ら (1997 年)、ヒトでは Storek ら (1993 年, 2001 年), Shono ら (2010 年), Kuzmina ら (2011 年), Sarantopoulos ら (2011 年) の報告があります。

このように GVHD による造血障害が、マウスとヒトで類似した現象として見つかってきました。そして、GVHD による各種臓器組織幹細胞の障害が、腸、皮膚などでも確認されてきているところです。

## 移植片対白血病効果の発見



1956 年に Barness らは、ラットにおいて GVHD を利用した同種免疫反応で抗腫瘍効果が誘導できることを報告していました。ヒトでも 1965 年に Mathé らが急性白血病症例に対する同

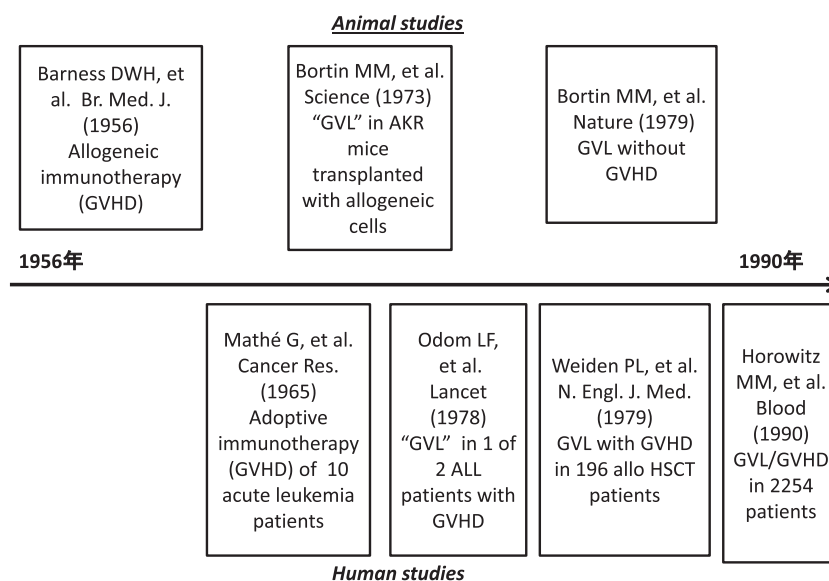


図 3. GVHD と GVL 効果の発見

種免疫療法の効果について報告していました。1973年 Bortinらは、白血病自然発症 AKR マウスを用いて、移植片対白血病 (graft-versus-leukemia, GVL) 効果が誘導されることを示しました。しかも、GVL 効果は必ずしも GVHD を介することなく誘導できました (Bortinら 1979年)。時を逸さず、同様の現象がヒトでも確認されました (Odomら 1978年, Weidenら 1979年, Horowitzら 1990年) (図 3)。

GVL 効果は GVHD と同時に認められることが多く、それらの分離も不可能ではないことがマウスを用いた研究で示唆されています。しかし、ヒトでそれらの分離を自由自在に操ることは、現時点では難しく、今後の大きな課題として残されています。時に、抗腫瘍効果を発揮させるために、免疫抑制剤の早期減量・中止やドナーリンパ球輸注 (DLI) も駆使して、敢えて GVHD を誘導する試みがなされ、効果的であることもこの現象の延長線上にあります。両刃の剣であることは言を待ちません。因みに、DLI に関しては、1967年に Thompsonら がマウスで、1976年に Weidenら が人で、免疫寛容に関する研究を行う際に、この方法を用いており、1993年に Johnsonら がマウスの GVHD を増強することなく、GVL 効果を誘導しました。ほぼ同時期にヒト慢性骨髄性白血病の同種造血幹細胞移植後再発において DLI が施行され、GVL 効果の誘導が確認されました (Bärら, 1993年)。その後、多くのヒトでの報告が相次ぎました (Slavinら 1995年, Collinsら 1997年)。

この DLI とセットで開発されてきた前処置法が、従来の骨髄破壊的ではなく、骨髄非破壊的なもので、ミニ移植とも呼ばれ、

ホストへの負担を少なくするため、一旦減弱した前処置で同種造血幹細胞移植を行い、混合キメラの状態にし、その後 GVHD を増強することなく完全ドナー型への転換を図る目的で、DLI を利用するものです。この際、前処置は弱くても、移植後に GVL 効果を効率的に誘導することで、同種造血幹細胞移植を成立させることができます。1981年, 1994年, 1995年, 1998年には Slavinら がマウスで、1997年には Giraltaら がヒトで、1998年には Slavinら もヒトで、1999年には Sykesら の研究グループよりマウスとヒトで同様の報告が相次ぎました。特に、DLI で混合キメラから完全キメラに転換する際の GVL 効果に注目が集まりました。マウスで得られた成果をヒトにも応用できたことが解る事例です。これにより、年齢適応拡大と若年者であっても、合併症を有する患者にも利用できる画期的なものとなり、現在に至っています。現在、種々の骨髄非破壊的前処置法が存在しており、再発や合併症の克服の面で課題がありますが、骨髄破壊的前処置が不適な症例には大きな福音となっています。

## 移植免疫における 免疫担当臓器, 担当細胞 および関連分子



移植免疫における胸腺, T 細胞, B 細胞の関与については、胸腺摘出あるいは胸腺移植の手法により 1962年に Goodら がマウスやラビットを用いて、1963年に Millerら がマウスを用いて

報告し、ヒトでもほぼ同様の免疫担当臓器、担当細胞が存在しています。

同種造血幹細胞移植に免疫寛容、GVHDやGVL効果はつきものであり、その成績向上のためには移植免疫の研究は必要不可欠です。マウスでの免疫学研究が盛んになったこともあり、先ずそこで得られた知見がヒトでも確認される作業が続いてきました。免疫寛容誘導における胸腺の役割、胸腺外末梢性免疫寛容機構のほか、マウスにおけるT細胞、B細胞、NK細胞 (Kiesslingら1975年)、制御性T細胞 (Treg) (Sakakuguchiら1985年)の発見、NKT細胞 (Fowlkesら1987年)、 $\gamma\delta$ T細胞 (Pardollら1987年)、樹状細胞 (Billingham & Medawar 1947年, Steinman & Cohn 1973年)の重要性など、種々の免疫担当細胞の発見とその機能的役割の解明がその代表例で、微妙な差異はありますが、類似した結果がヒトでも得られています。リンパ球サブセットもマウスで発見・分類された後、ヒトでも確認されました。さらに、これら免疫担当細胞の分化・増殖や活性化あるいは抑制に繋がる種々の分子 (サイトカイン、ケモカイン、接着分子、toll-like receptor など) も、多くの場合ヒトでも同様のものが後になって確認されてきました。サイトカインに関しては、MossmannのマウスTh1/Th2 (Mossmannら1986年)の発見後、GVHDを含む各種免疫応答における重要性も多数報告されてきており、私たちもヒト検体を用いて研究を行い、Th1/Th2バランスに関するいくつかの論文を1993年から1997年まで発表してきました。その後も、多数のサイトカインとGVHDとの関連性が示唆されておりますが、その中のひとつにTh17 (Parkら2005年)があり、これとマウスおよびヒトの急性GVHDとの関連性が示されてきました (Kappelら・Yiら2009年, Zhaoら2011年, Liuら2013年)。しかし、ほかに多くのサイトカインが見つかって、サイトカイン同士あるいはほかの分子や細胞との関連で、種々の作用を発揮するため当初の想像をはるかに超えて複雑な様相を呈しています。

## ハプロタイプ 不一致ドナーからの移植



ドナーと宿主におけるヒト主要組織適合抗原であるHLAの一致度が、移植後GVHDの発症頻度と重篤度に密接に関係しています。最近、親・兄弟からハプロタイプ一致ドナーを選択するハプロ移植がなされ、ドナー不足の限界を超えるものとして脚光を浴びています。ハプロ移植の基礎研究となるT細胞除去法の開発はマウスを用いて1978年にはなされておりました。すなわ

ち、マウス造血幹細胞はpeanut agglutininとsoybean agglutininに対する受容体を発現していますが、成熟胸腺細胞ではそれらがシアル酸で覆われており、凝集塊に造血幹細胞が豊富に含まれ、凝集しない細胞成分にT細胞が含まれます (Reisnerら1978年)。ヒトでは残存したT細胞を除くために羊赤血球によるT細胞の自然凝集を追加することで、1,000倍に除去効率が上がりました (Reisnerら1981年・1983年, O'Reillyら1986年)。これらの結果を踏まえ、ヒトでは1981年にReisnerらが、GVHD予防をしないハプロタイプ不一致ドナーからの同種骨髄移植において、soybean lectin (SBA)によるT細胞凝集と羊赤血球を用いたE-rosette形成によるT細胞除去法を用い、GVHDを回避できました。その後、GVHDの回避目的で抗体を用いた免疫学的T細胞除去法も用いられるようになりましたが、移植後の生着不全が多い点に課題があり、host anti-donor cytotoxic T lymphocyte precursorsの存在が原因と考えられました。血縁者間のHLA不一致ドナーの際には、ATGを前処置に加えることで、この問題を克服できましたが (Reisner & Martelli 1995年)、1989年Lapidotらのマウス、1992年Uharekらのラット、1995年のBachar-Lustigらのマウスを用いた基礎研究の後、ハプロ移植ではT細胞除去した後の大量の造血幹細胞を移植して初めて生着不全が減少しました。ヒトで大量のCD34陽性造血幹細胞を採取する方法は、1993年にG-CSFの臨床応用が可能になったことが大きく影響しています (Bensingerら1993年)。この方法でGVHDを回避しつつ、生着不全を克服できるようになりましたが (Aversaら1994年)、免疫能の再構築遅延による感染症のリスクは残されていました。その後、SBA凝集と羊赤血球を用いたE-rosette形成によるT細胞除去法のほかに抗体を用いたT細胞除去法も開発され、T細胞除去ハプロ移植では、ATGの*in vivo*投与は生着不全とGVHDの軽減に一定の効果はあるものの、T細胞除去が不十分な場合には重症GVHDが起こることが多く認められました (Kernanら1985年)。より選択的な特異性を有するモノクローナル抗体 (OKT3: 抗CD3抗体) も用いられ、1982年のPrenticeらのGVHD予防効果が満足できるものがあったとする報告もありますが、必ずしも満足できるものではなかったとの報告もあります (Filipovichら1982年, Haywardら1982年)。この理由はOKT3のヒト補体結合性の低さに由来していました。その後、ハプロ移植において、抗CD5モノクローナル抗体+ricin Aも試され、GVHDの制御は効率良くなされましたが、感染抵抗性が著しく低下しました (Henslee-Downeyら1996年)。一方、抗CD52モノクローナル抗体 (CAMPATH-1) では、ヒト補体結合性が保たれ、GVHD制御に効果的であることが判明しましたが、この抗体はT細胞のみならず、単球や樹状細胞も標的とす

るため、遷延化する免疫抑制による感染抵抗性の減弱は依然として課題とされています。現在、ヒト化抗 CD52 モノクローナル抗体 (alemtuzumab) が臨床現場で使われています。ただ、ハプロ移植における alemtuzumab の効果は、血縁 HLA 一致ドナーからの移植に比して不良とされています。1990 年代に入り、モノクローナル抗体を用いた T 細胞除去に、磁気ビーズを利用するようになり、さらに効率の良い T 細胞除去が可能になりました (CD34 陽性細胞の選択的採取)。この方法は、ハプロ移植にも用いられ、GVHD の制御と生着不全の回避では満足できるものでありましたが (Aversa ら 2005 年)、やはり遅延する免疫再構築による感染リスクは防げませんでした (Jakubowski ら 2011 年)。

このような折、予め T 細胞を除去しなくても、移植後の高容量 CY 投与で GVHD の軽減と生着不全の回避などが確保できるようになり、その方法が再認識され始めたのが、この 8 年位前からです。その背景に、1984 年頃から Mayumi らの研究グループによって継続的に報告されたマウスでの移植後 CY 投与による皮膚移植片に対する免疫寛容誘導に関する複数の論文があります。その後、Luzunik らが、2002 年にマウスモデルで同種造血幹細胞移植後 CY の効果を骨髄非破壊的前処置移植で示し、ヒトでの臨床応用 (phase I) が始まり、2008 年以降多くの関連論文が出されています。しかし、骨髄非破壊的前処置の場合には前処置強度の減弱と CY による alloreactive T cells の減少が GVL 効果の低下を誘導し、特に CML での再発率が高くなる点 (~50%) に課題があります (Luznik ら 2008 年)。McCurdy の 2015 年の報告では、必ずしも再発率が上がっていないとされていますが、現在そのリスクを回避するため、骨髄破壊的前処置でのハプロ移植が試されています。日本の全国的研究でも、前処置法はやや異なりますが、遜色のない成績が骨髄非破壊的前処置で報告されており (Sugita ら 2015 年)、骨髄破壊的前処置での臨床研究も進んでいます。

ハプロ移植の臨床応用の背景には、古くからのマウスでの研究成果を踏まえて、現在の状況に有機的に結び付いてきた経緯が明瞭に見て取れます。これは、マウスを用いた研究結果がヒトにも敷衍できた好例です。

## おわりに



本稿で触れた以外にも、多くの実験動物を用いた研究成果がヒ



図 4. 第 24 回日本造血細胞移植学会時の海外からの招待講演者を交えた懇親会 (2001 年)。学会のテーマのひとつは移植免疫でした。

ト同種造血幹細胞移植の成績向上に繋がった報告はあります。ヒトへの臨床応用を目指して、実験動物を用いる場合の課題として、1) 近交系動物を用いることが多いこと、2) 異種動物であることが指摘されてきました。1) に関しては、可及的多くの系統を用いて検討することである程度解決できます。2) に関しては、ヒトに近い哺乳類を用いることが望ましいのですが、多数例での解析や *in vivo* 実験の困難性、実験室・飼育室確保などで制約があります。また、それができたにしても、ヒトへの臨床応用を行う際には、やはり倫理指針を遵守した“決断”が必要になります。これまでの経緯を踏まえると、マウスなどの異種小動物で得られた結果が、少々の差異はあれ、ヒトでも類似したものとして認められることが多く、決して無意味ではないことが伺い知れます。種を超えてより普遍性の高い現象を見出し、ヒトへの応用が可能となるような実験系で研究を行うことの重要性を認識しつつ、成果を挙げる必要があります。実験動物を用いた研究と臨床研究の関係として、動物実験が先行し、得られた結果を踏まえて、ほぼ同時にヒトでの確認作業が進む場合と、動物実験がなされて相当の年数の後にその結果が役に立つ場合と二通りありますが、日頃より種々の情報を入手し、現在抱えている課題の克服に有益なものを見出すことが肝要と思われます。理想は前者の形で、現在進行形でお互いにレベルアップしていくことだと思いますが、すぐにヒトへの臨床応用に結び付かなくても、後年必ず役立つときが来ると信じて今の研究に励むというのも、自己満足かもしれませんが許容されると考えています。“図らずも”創設時の仕事に携わることが多い日々でしたが、結果良ければすべて良しとしたいものです (図 4)。