

自家骨髄移植による悪性腫瘍・白血病の治療経験

天野芳郎¹⁾²⁾ 中畑龍俊¹⁾ 石井栄三郎¹⁾
 北原文徳¹⁾ 小池健一¹⁾ 岡根谷利一³⁾
 多田剛⁴⁾ 大平睦郎⁵⁾ 降旗謙一⁶⁾
 緒方洪之⁷⁾ 小宮山淳¹⁾

- 1) 信州大学医学部小児科学教室
 2) 国立療養所東松本病院小児科
 3) 信州大学医学部泌尿器科学教室
 4) 信州大学医学部脳神経外科学教室
 5) 国立がんセンター小児科
 6) 信州大学医学部臨床検査医学教室
 7) 信州大学医学部附属病院輸血部

Autologous Bone Marrow Transplantation for Malignant Tumor and Leukemia

Yoshiro AMANO¹⁾²⁾, Tatsutoshi NAKAHATA¹⁾, Eizaburo ISHII¹⁾
 Fuminori KITAHARA¹⁾, Kenichi KOIKE¹⁾, Toshikazu OKANEYA³⁾
 Tsuyoshi TADA⁴⁾, Mutsuro OHIRA⁵⁾, Kenichi FURIHATA⁶⁾
 Hiroyuki OGATA⁷⁾ and Atsushi KOMIYAMA¹⁾

- 1) *Department of Pediatrics, Shinshu University School of Medicine*
 2) *Department of Pediatrics, Higashimatsumoto National Hospital*
 3) *Department of Urology, Shinshu University School of Medicine*
 4) *Department of Neurosurgery, Shinshu University School of Medicine*
 5) *Department of Pediatrics, National Cancer Center Hospital*
 6) *Department of Laboratory Medicine, Shinshu University School of Medicine*
 7) *Transfusion Service, Shinshu University Hospital of Medicine*

Autologous bone marrow transplantation (ABMT) was performed in 19 patients with malignancies consisting of neuroblastoma (NB: n=7), acute nonlymphocytic leukemia (ANLL: n=3), germ-cell testicular tumor (n=3), brain germ cell tumor (n=3), Hodgkin's disease (n=1), retinoblastoma (n=1), and hepatoblastoma (n=1) between October 1989 and November 1992. Bone marrow cells from 6 patients with NB and those from a patient with ANLL were purged *ex vivo* using a combination of anti-NB monoclonal antibodies and immunobeads and by using 4-hydroperoxycyclophosphamide respectively. As preparation for ABMT, the patients with ANLL were treated with 16 mg/kg busulfan, 8g/m² cytarabine, 120mg/kg cyclophosphamide. The patients with solid tumors were mainly treated with 120-1000mg/m² etoposide, 80-200mg/m² cis-platin and/or 180mg/m² melphalan. All patients were engrafted between 8 and 42 days (median 21 days) after ABMT. One patient with ANLL and one with brain germ cell tumor died of cardiac failure and respiratory failure, respectively, within 4 months after ABMT. Four patients (germ-cell testicular tumor 1, retinoblastoma 1, NB 2) relapsed at 2, 5, 8 and 9 months after ABMT and 3 of them died of the tumor. The remaining 13 patients (68%) are alive in continuous complete remission with a median follow up of 17 months (range, 3 to 33 months) after ABMT. These results suggest that ABMT is an effective treatment for malignancies with poor prognosis. *Shinshu Med J* 41: 281-289, 1993

(Received for publication February 3, 1993)

Key words: autologous bone marrow transplantation, malignant tumor, leukemia, purging
 自家骨髄移植, 悪性腫瘍, 白血病, パージング

I はじめに

骨髄移植は現在、確立された治療方法として全世界で施行され、日本における施行症例数は年間300例を越えており、小児科領域では1991年6月までに、1,013例が日本小児科血液学会骨髄移植委員会に登録されている¹⁾。信州大学では、小児科を中心として1981年から1992年9月までに同系骨髄移植2例、同種骨髄移植20例、自家骨髄移植19例を施行した。最近の傾向として自家骨髄移植が増加しており、信州大学においても同様である。その理由としては、HLA適合同胞が得られない症例の存在、および無菌管理の確立、骨髄液の凍結保存法の確立、サイトカインの実用化などにより、より安全に自家骨髄移植を施行できるようになったことが挙げられる。

今回、1989年から施行している自家骨髄移植の治療成績と臨床上的の問題点を検討した。

II 症例および方法

A 症例

信州大学小児科、泌尿器科、脳外科で治療されていた19例で、1989年10月から1992年9月の間に自家骨髄移植を施行した。19例中16例は信州大学で移植し、3例は国立療養所東松本病院で移植した。症例の内訳は神経芽腫(NB)7例、急性非リンパ性白血病(ANLL)3例、精巣腫瘍3例、脳胚芽腫3例、網膜芽細胞腫、ホジキン病、肝芽腫がおのおの1例である。症例の詳細はTable 1に示した。NBは全例が進行例で7例中、6例がstage IV、1例がstage IIIであり、7例中1例が再発例であった。全例、厚生省神経芽細

Table 1 Patient characteristics

Case	Age/Sex	Disease	Stage	Status at ABMT	Duration from onset to ABMT(mo)	Previous Therapy
1	1/F	Neuroblastoma	IV A	1st CR	7	A1, OP, R
2	2/M	Neuroblastoma	III	1st CR	8	OP, A1, R
3	2/M	Neuroblastoma	IV A	1st CR	39	CDDP, VCR, CY, R
4	5/M	Neuroblastoma	IV A	1st CR	6	A1, OP, R
5	5/F	Neuroblastoma	IV A	1st CR	11	A1, OP, R
6	6/F	Neuroblastoma	IV A	1st CR	10	A1, OP
7	9/F	Neuroblastoma	IV A	2nd CR	74	A1, OP
8	4/M	ANLL	-	1st CR	8	VP16, MIT, araC, THP
9	13/F	ANLL	-	1st CR	19	DNR, araC, VP16
10	14/F	ANLL	-	2nd CR	24	DNR, DXR, MIT, araC
11	18/M	Testicular tumor	III B2	meta(+)	4	OP, CDDP, VP16
12	22/M	Testicular tumor	III B2	meta(+)	4	OP, CDDP, VP16
13	23/M	Testicular tumor	III A	meta(+)	7	OP, CDDP, VP16
14	15/M	Brain germ cell tumor	-	2nd CR	16	OP, R, CDDP, VP16
15	16/M	Brain germ cell tumor	-	1st CR	12	R, OP, CDDP, VP16
16	18/M	Brain germ cell tumor	-	2nd CR	64	OP, R, CDDP, VP16
17	10/M	Retinoblastoma	V	1st CR	5	CDDP, VP16
18	10/M	Hodgkin's Disease	IV	2nd CR	33	R, MOPP, CHOP, OP
19	1/F	Hepatoblastoma	III A	1st CR	6	DXR, VP16

Abbreviations: ANLL, acute nonlymphocytic leukemia; CR, complete remission; A1, vincristine, cyclophosphamide, pirarubicin, cisplatin; OP, operation; R, radiation therapy; CDDP, cisplatin; VCR, vincristine; CY, cyclophosphamide; VP16, etoposide; MIT, mitoxantrone; araC, cytosine arabinoside; THP, pirarubicin; DNR, daunorubicin; DXR, doxorubicin; MOPP, nitrogen mustard-N-oxide hydrochloride, vincristine, procarbazine, prednisolone; CHOP, vincristine, cyclophosphamide, procarbazine, prednisolone; meta (+), presence of residual metastasis

胞腫治療プロトコールに準じた治療を約4カ月間行い、腫瘍が縮小したところでprimary delayed operationを施行すると同時に自己骨髄を採取した。ANLLの3例は第1寛解期に自家骨髄を採取したが、1例は第2寛解期に移植した。精巣腫瘍は3例とも多発性の肺転移を伴っていた。2例は患側の高位除脳術を受けた後、cis-platinとetoposideあるいはpeplomycin投与を1クール施行し、骨髄採取を行った。他の1例は、他院で6カ月間化学療法を施行されていたが反応が悪いため自家骨髄移植の適応とした。精巣腫瘍の症例のみ、自家骨髄移植後に残存腫瘍を摘出した。脳胚芽腫は2例が再発例、1例は脊髄への転移がみられた初発例であり、手術および局所放射線療法を施行した後、骨髄採取を行った。網膜芽細胞腫の1例は視神経に浸潤しており、Reese-Ellsworthの分類でGroupVの症例であった。この例では、cis-platinを中心とした化学療法、眼球摘出、局所放射線療法を施行した後、骨髄採取を行った。ホジキン病の1例は右頸部リンパ節原発で腹腔リンパ節に再発した症例で再発後、CHOP療法を施行後、骨髄採取を行った。肝芽腫の1例は直径10cmの巨大な腫瘍でstage III Aで、手術中に腫瘍が自壊し予後不良と考えられた症例であった。手術後、2カ月間の化学療法を行い、その後、骨髄を採取した。

B 骨髄採取および凍結保存

骨髄の採取は化学療法後、充分骨髄造血能が回復した時期に行った。全身麻酔下で腸骨から、 3×10^8 /kg個の骨髄有核細胞をめどに骨髄液を採取した。血漿のみを除去して有核細胞を赤血球とともに保存した1例を除き、Hemonetics model 30を用いて有核細胞を収集するか、あるいはFicoll比重遠沈法を用いて単核細胞を収集した。収集した有核細胞、あるいは単核細胞は3%アルブミン、10% DMSOを加えて、最終細胞濃度をおよそ $2 \sim 5 \times 10^7$ /mlに調整しプログラムフリーザー (Cryomed社製)を用いて -40°C まで -1°C /分の一定の速度で凍結し、その後 -80°C まで -4°C /分の速度で凍結し -196°C の液体窒素中に保存した。

NBの6例については採取した骨髄液中に残存する可能性のある腫瘍細胞を、5種類のモノクローナル抗体(UJ13A, M340, UJ127.11, Thy1, 5.1. H11)と、immunobeads (Dyna-beads: Dynal)を用いて*ex vivo*で除去した(purging)後に凍結保存した。5種類のモノクローナル抗体はKemshedら²⁾のグループから厚生省癌研究班大平班に供与されたものを使用した。除去方法はKemshedら²⁾の原法に従った。簡単

に述べると、Ficoll比重遠沈法により得た骨髄単核球の2%が腫瘍細胞と仮定し、5種類のモノクローナル抗体(mouse IgG)を1次抗体として 4°C で1時間反応させる。次に洗浄して余剰な抗体を除去した後、sheep anti-mouse IgG抗体を表面にコートしてあるimmunobeadsを反応させる。最後にimmunobeadsが付着した腫瘍細胞を磁石を利用した除去装置(MaxStep™ Magnetic cell separation system)を用いて除去し、残った単核球を前述のごとく凍結保存した。

ANLLの1例では、4-hydroperoxycyclophosphamide (4-HC)による*ex vivo* purgingを行った。方法は骨髄単核球を10%自己血清を加えた培養液に 2×10^7 /mlになるように調整し、4-HCを $50 \mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度で添加、 37°C 30分間反応させた。30分後、直ちに 0°C の氷水に処理チューブを入れて反応を停止させ、4-HCを充分洗浄除去した後、前述のごとく凍結保存した。

C In vitro colony assay

一部の症例では、凍結保存する骨髄単核球(MNC)の一部を用いて*in vitro* colony assayを行い、保存した造血前駆細胞数を算定した³⁾。MNC 5×10^4 /ml, 30% fetal calf serum, 10% bovine serum albumin, 5×10^{-5} M 2-mercaptoethanol, 0.5% methylcellulose, erythropoietin 2U/ml, interleukin-3 100ng/ml, GM-CSF 10ng/mlを5% CO_2 存在下に 37°C 14日間培養し、形成されたコロニー(赤芽球バースト: erythroid burst forming unit (BFU-E)由来, 好中球-マクロファージコロニー: granulocyte-macrophage colony forming unit (CFU-GM)由来)数を算定した。

D 骨髄移植方法

骨髄移植は、患者を無菌状態にし、クラス100の無菌室内あるいは簡易クリーンベット(以下クリーンルーム)内で施行した。クリーンルーム入室4日前からtobramycin, vancomycin, nystatinの内服による腸内殺菌, tobramycin, vancomycin, amphotericin Bの吸入による気道内殺菌を行った。皮膚はクリーンルーム入室直前に0.02%グルコン酸クロルヘキシジン, 0.01%塩化ベンザルコニウム液による入浴, および1%グルコン酸クロルヘキシジンクリーム塗布によって無菌化した。患者の衣類, その他身の回りのものはオートクレーブあるいはガス滅菌した。

移植前処置は原疾患によって異なる。疾患別に、前

Table 2 Conditioning regimens

Disease	Conditioning Regimen
Neuroblastoma	VP16 100 mg/m ² day -7, -6, -5, -4, -3, CDDP 20 mg/m ² day -7, -6, -5, -4, -3, L-PAM 180 mg/m ² day -3, (TBI day -10, -9, -8)
ANLL	BU 1 mg/kgx4/day day -9, -8, -7, -4, araC 4g/m ² day-5, -4, CY 60 mg/kg day -3, -2
Testicular tumor	VP16 200 mg/m ² day -7, -6, -5, -4, -3, CDDP 40 mg/m ² day -7, -6, -5, -4, -3
Brain germ cell tumor	ACNU 150 mg/m ² day -7, VP16 200 mg/m ² day -7, -6, -5, -4, -3, CDDP 40 mg/m ² day -7, -6, -5, -4, -3
Retinoblastoma	CDDP 40 mg/m ² day -7, -6, VP16 40 mg/m ² day -7, -6, -5 L-PAM 90 mg/m ² day -4, -3
Hodgkin's disease	ACNU 150 mg/m ² day -8, VP16 200 mg/m ² day -7, -6, -5, -4 araC 400 mg/m ² day -7, -6, -5, -4, L-PAM 150 mg/m ² day -3
Hepatoblastoma	DNR 20 mg/m ² day -7, -6, -5, CBDCA 160 mg/m ² day -7, -6, -5, -4, -3 L-PAM 180 mg/m ² day -3

Abbreviations: L-PAM, melphalan; ACNU, nimustine; BU, busulfan; CBDCA, carboplatin; TBI, total body irradiation

Table 3 Hematologic recovery after ABMT and current status of the patients

Case	Cytokines	Recovery of peripheral blood			Duration of fever	Side effect	Current status
		Neutro>500	Reticulo>1%	Plt>5			
1	G	14	25	41	2		15m NED
2	G	17	49	49	13	UTI, Gallstone, HZ	9m NED
3	GM	31	35	25	1		19m NED
4	G	25	44	65	13	HC	20m Dead
5	M→G	29	30	53	1		11m Relapse
6	G	12	15	55	12	HZ, HUS	5m NED
7	GM→G	39	89	122	20		17m NED
8	G	42	59	180	4		6m NED
9	—	41	20	43	2	HC	30m NED
10	G	20	35	67	45	LD, CHF, Convulsion	2m Dead
11	G	8	12	13	0		33m NED
12	G	9	13	14	18	Sepsis	32m NED
13	G	21	22	19	7		8m Dead
14	G	13	34	25	3	LD	3m NED
15	G	15	21	23	1		13m NED
16	G	13	15	17	7	Pneumonia	4m Dead
17	G	22	34	31	4		19m Dead
18	G	13	23	25	2	LD	19m NED
19	G	13	20	40	2		14m NED

Abbreviations: G, granulocyte colony stimulating factor; GM, granulocyte-macrophage colony stimulating factor; M, macrophage colony stimulating factor; UTI, urinary tract infection; HC, hemorrhagic cystitis; HZ, herpes zoster; HUS, hemolytic uremic syndrome; LD, liver dysfunction; NED, no evidence of disease

処置方法を Tabel 2 に示した。症例 6 のみ化学療法と全身放射線照射 (TBI) を併用した。凍結骨髄は 37°C の恒温槽で急速解凍し、直ちに点滴静注した。

移植後, cytomegalovirus (CMV) による間質性肺炎予防のため, CMV 抗体高力価の γ -globulin 200mg/kg を 2 週間に 1 回定期的に補充した。CMV 抗体陰性の患者に対しては, 骨髄回復までの血小板, 赤血球輸血は CMV 抗体陰性ドナーからの血液を用いた。また, 移植後の骨髄造血能の回復を促進するため, 1 例の ANLL 症例を除く全例にサイトカインを移植後 1 ~ 4 日目から好中球数が充分回復するまでの期間使用した。サイトカインは granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF) を 16 例, granulocyte macrophage-colony stimulating factor (GM-CSF) を 2 例, macrophage-colony stimulating factor

(M-CSF) を 1 例に用いた。

III 結 果

A 治療成績

19 例全例に造血能の回復がみられ, 移植した凍結自己骨髄細胞が生着したと判定した。生着の確認は末梢血の好中球数が $500/\mu\text{l}$ を超えたことで判断した。生着までの平均日数は 20.9 日であった。赤血球, 血小板の回復は好中球の回復よりも遅れた例が多く, 移植日から網状赤血球が 1% を超えるまでの期間が平均 30.0 日, 血小板輸血を行わずに血小板が $50,000/\mu\text{l}$ になるまでの期間が平均 47.7 日であったが, 2 例 (症例 7, 14) で血小板の回復が著しく遅延した。

NB の 1 例 (症例 6) は前処置に 5 分割 10Gy の全身照射を行った。移植後, 93 日に herpes zoster に罹

Table 4 Harvested NCC, collected NCC or MNCs, cryopreserved cell numbers and cryopreserved precursors

Management	Case	Harvested		Collected		Purging	Cryopreserved		Cryopreserved Precursors	
		NCC ($\times 10^8/\text{kg}$)	NCC or MNCs (%)#	NCC or MNCs (%)#	(%)§		Cell Numbers ($\times 10^8/\text{kg}$)	(%)§	CFU-GM ($\times 10^4/\text{kg}$)	BFU-E
None*	2	3.7	3.7	(100)			3.7		5.0	ND
Model 30	9	4.0	3.1	(78)			3.1		16.4	ND
	11	2.2	1.4	(64)			1.4		1.2	ND
	12	3.2	2.8	(88)			2.8		20.0	ND
	13	1.8	0.92	(51)			0.92		ND	ND
	14	3.9	2.0	(51)			2.0		54.0	14.0
	15	2.0	1.0	(50)			1.0		ND	ND
	16	2.0	1.7	(85)			1.7		1.4	0.3
	17	4.0	2.2	(55)			2.2		9.4	ND
	18	4.3	2.3	(53)			2.3		5.0	1.3
	Mean		3.0	1.9	(64)					
Ficoll	10	2.5	0.32	(13)					15.8	4.4
	19	4.7	3.0	(64)					106.0	17.0
	1	3.2	0.73	(23)	MoAb+beads	0.42	(57)	9.6	2.6	
	3	2.8	0.25	(9)	MoAb+beads	0.09	(36)	0.24	0.2	
	4	3.5	0.54	(15)	MoAb+beads	0.28	(50)	1.5	0.07	
	5	6.2	0.45	(7)	MoAb+beads	0.19	(42)	1.5	ND	
	6	8.6	0.52	(6)	MoAb+beads	0.54	(104)	ND	ND	
	7	2.5	0.38	(15)	MoAb+beads	0.18	(47)	4.3	0.8	
	8	3.1	2.5	(81)	4HC	2.3	(92)	0	0	
	Mean		4.1	0.97	(24)					

Abbreviations: NCC, nucleated cell counts; MNCs, mononuclear cells; ND, not done

*: only plasma removal, #: the percentage of collected NCC or MNCs to harvested NCCs

§: the percentage of cryopreserved cell numbers to collected MNCs

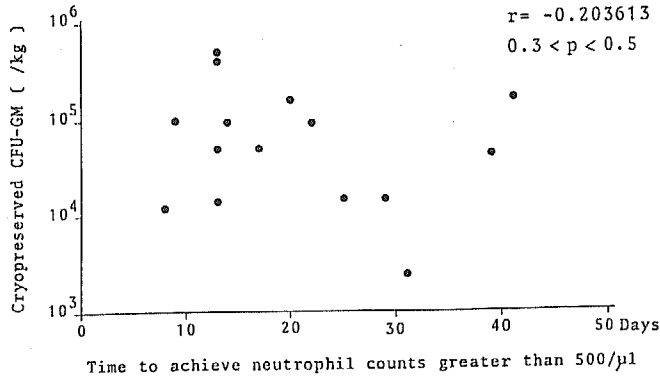


Fig. 1 Relationship between CFU-GM and Engraftment

患し、治癒後から hemolytic uremic syndrome (HUS) が発症した。

その他、移植後早期の合併症として発熱は19例中18例にみられたが、敗血症と診断されたのは1例のみであった。また、肝障害3例、出血性膀胱炎2例、尿路感染症1例、胆嚢胆管結石1例がみられたが、いずれも軽快した。Table 3に自家骨髄移植後に各症例に用いたサイトカイン、各血球回復までに要した日数、有熱期間、その他の副作用、現在(平成4年12月)の状態をまとめた。

19例中、13例(68.4%)は3カ月から33カ月間(平均16カ月、中央値14カ月)無病生存している。再発あるいはその他の原因で死亡した症例は5例である。NBの2例は移植後8カ月と9カ月時にそれぞれ原発部位、脳内に再発し、前者は再発後1年で死亡した。他の1例は脳内再発後、再発巣の摘出、化学療法により現在寛解中である。ANLLの1例は移植後67日に間質性肺炎、心不全のため死亡した。精巣腫瘍の1例は8カ月で肺、肝、脊髄転移のため死亡した。脳胚芽腫の1例は移植後4カ月の時点で誤嚥による窒息のため死亡した。RBの1例は移植後5カ月で髄液中に腫瘍細胞が出現し、再発後1年2カ月の経過で死亡した。

B 骨髄採取細胞数、凍結細胞数、および保存造血前駆細胞数

Table 4に骨髄液の処理方法別に採取有核細胞数、処理後有核細胞数、凍結細胞数、保存CFU-GM、BFU-E数を示した。採取有核細胞数は平均 3.6×10^9 /kgであった。Model 30を用いて、有核細胞を回収した9例の細胞回収率は64%であった。一方、Ficollを用いて単核球を回収した9例では細胞回収率は症例に

よってばらつきがあり、平均24%であった。NBに施行した *ex vivo* purging では濃縮された単核球の平均56%が回収された。4-HCによる *ex vivo* purging では同様に92%が回収された。保存CFU-GM、BFU-E数は、症例によるばらつきが大きく一定した結果は得られなかった。4-HCによる *ex vivo* purging を施行した1例ではCFU-GM、GFU-Eとも算定不能になり、immunobeadsによる *ex vivo* purging を施行した6例では低値をとる傾向がみられた。

4-HC処理を行った、ANLLの1例を除き、凍結したCFU-GMの算定を行った15症例について、CFU-GMと移植後好中球が500/μlを超えるまでの日数の相関関係を調べた。Fig. 1に示すごとく保存したCFU-GMと好中球の回復には有意な相関関係はみられなかった。また、BFU-Eを調べた症例は10例では、BFU-E数と、reticulocyte回復日に相関関係はみられなかった。

IV 考 案

自家骨髄移植の対象として、小児科領域では、進行性のNBが挙げられる。進行性NBは化学療法の進歩にもかかわらず依然として予後不良の疾患である。近年、Augustら⁴⁾が自家骨髄移植を併用した治療を試み、少数ながら無病生存例を報告してから、多くの施設で自家骨髄移植が行われるようになった。われわれの治療でも、まだ観察期間は短いもの従来の治療ではほとんど長期寛解の得られなかったと考えられる6例中4例に3カ月から20カ月の完全寛解が得られている。Mossら⁵⁾は進行性NB(stage III, IV)では、初発時約58.8%の症例で形態学的に骨髄に腫瘍細胞が浸

潤しており、各種のモノクローナル抗体による免疫染色を用いると77.0%の症例で腫瘍細胞が浸潤していると報告している。これらの腫瘍細胞は、数回の化学療法によってほとんどの症例で骨髄細胞中には2%以下に減少することが知られているが、自家骨髄移植に用いる骨髄にこれらの腫瘍細胞の混入があった場合それが原因で移植後再発する可能性が考えられる。そのためさまざまな方法を用いた purging が行われており、われわれは Kemshedら²⁾の immunobeads を用いた方法を施行した。Immunobeads 法による腫瘍細胞の除去率については、基礎的検討は行えなかったが、Treleavenら³⁾はわれわれと同じ方法で、99.9%の腫瘍細胞が取り除けたと報告している。一方、purging を行わないで移植しても purging をした場合の治療成績と変わらないとする報告もみられ⁷⁾、purging の意義についてはまだまだ確立されたものではない。優れた治療によって、骨髄採取時に腫瘍細胞の混入がほとんど無い状態であれば、purging をしない自家骨髄移植も充分有効な治療かもしれない。われわれの症例では、NB 6例中2例が再発しており、うち1例が原発巣に再発している。よりよい治療成績を得るためには、移植に至るまでの化学療法、放射線療法、手術の改良など、より有効な集学的治療法の開発が必要であると考えられた。

急性白血病での自家骨髄移植の適応としては、難治例、再発例で、HLAの一致した donor のいない症例が挙げられる。現時点では、ANLL、急性リンパ性白血病の再発例、予後不良と考えられる染色体異常を持つ症例などが適応となっている。ANLLについてはFAB分類のM4、M5はM1、M2に比し予後不良であり⁸⁾、FAB分類での型別に適応を決める様になりつつある。われわれは、本症の1例で4-HCによる purging を行ったが、ANLLにおける purging の意義もNBと同様まだ確定したものではない。67日目に死亡したANLLの症例は再発例で、初発時から移植に至るまでに daunorubicin, doxorubicin, mitoxantrone を総量でそれぞれ300mg/m²、160mg/m²、74mg/m²投与されており、移植時の前処置によって、急速に心筋障害が進んだ可能性があった。再発症例の salvage therapy としての自家骨髄移植は、根治の可能性があるので、それまでの治療による薬物の蓄積毒性などを考慮して適応を決定するべきであると考えられる。

進行した精巣腫瘍の70~80%はシスプラチンを中心とした治療で治癒する⁹⁾。しかし、一旦再発すると通

常の治療では20~30%が反応するのみ¹⁰⁾で、それらの症例は自家骨髄移植の適応と考えられる。われわれが施行した睾丸原発の本症の3例は、多発性の肺転移を伴った症例であり、2例は初発時から自家骨髄移植を考慮して治療し、良好な結果を得た。死亡した1例は前医での6カ月の化学療法に対する反応性が不良であり、また、移植時の全身状態も悪かった。今後、進行性の精巣腫瘍に対しては、予後因子¹¹⁾を考慮し、初発時から自家骨髄移植の適応を決め計画的に治療してゆくことが重要であると考えられた。

脳胚芽腫は、血液脳関門があるため化学療法が困難であることが考えられる。死亡した1例では、移植前の化学療法や放射線療法による中枢性の呼吸不全が、死因となった誤嚥に関与していたと考えられた。残存腫瘍細胞をできる限り少なくした段階で自家骨髄移植を行うことが治療に結び付くことを考え合わせると、手術、放射線治療、化学療法、自家骨髄移植をより有効に組み合わせて治療計画を立ててゆくことが重要であると考えられた。最近、小児の悪性脳腫瘍に対して、髄液への移行が良好な busulfan と thiotepa を用いた前処置による自家骨髄移植が報告されている¹²⁾。われわれは前処置に CDDP, VP-16, ACNU を用いたが、全例骨髄の回復が早く、重大な副作用もないことから、より強力な前処置が可能であると考えている。

小児のホジキン病、網膜芽細胞腫、肝芽腫に対する自家骨髄移植の報告は少ない¹³⁾。後2者は進行例では化学療法の効果が限られている腫瘍で、自家骨髄移植の適応、前処置の方法、手術、放射線療法との組合せ方法など問題が残る。

移植自体の副作用として、凍結保存してあった骨髄を解凍した際に細胞が集塊をつくること、幹細胞と一緒に凍結されていた赤血球が溶血することから肺塞栓、呼吸困難低血圧、ショック等が起こりうる報告されている¹⁴⁾。われわれの症例では保存骨髄を注入中に約半数に徐脈がみられたが、軽度の気分不快と、ヘモグロビン尿以外に異常はなかった。

移植早期に2例が死亡しているが、これらの症例は移植前の一般状態が不良であったことが早期死亡の原因と考えられた。1例にMRSAによる敗血症が発症したがこれは患者がほとんど薬剤の内服ができなかった症例で、通常の感染対策ができていれば予防できたと考えられた。

移植後、100日前後の合併症として、血小板の著しい回復遅延(症例7, 14)、herpes zoster(症例2,

6), HUS (症例6) がみられた。HUSを合併した1例では, 前処置にTBIを加えて腫瘍細胞の根絶を計った。Guinanら¹⁵⁾は, 31例(NB10例, ALL21例)の小児骨髄移植例でTBIと多剤併用化学療法の前処置(NBはVM-26, L-PAM, CTX, CDDP, ALLはVM-26, ara-C, CTX)を行って, 3~7カ月の間に14例(NB7例, ALL7例)にhemolytic anemia, hematuria, renal insufficiencyを発症したと報告している。今回の検討では, TBIを併用しなかった症例はHUSを合併しておらず, 多剤併用とTBIの組合せがHUSの発症要因と考えられた。

骨髄採取, 凍結保存については, 骨髄採取の時期を誤らなければ, Model 30, Ficollいずれを用いても十分な造血前駆細胞が得られた。今回の検討では, 症例によって得られた造血前駆細胞数にかなりのばらつきがみられたが, その原因として, 年齢, 前治療, 対象疾患, 採取時期などが異なるためと考えられた。

凍結保存した造血前駆細胞が解凍後どの程度のviabilityを保っているかの問題は, 以前にKoike¹⁶⁾が報告し, CFU-GM, BFU-E, erythroid colony forming unit(CFU-E)についてはそれぞれ46.7%, 39.1%, 22.4%が解凍後保持されていると報告している。移植

する骨髄前駆細胞と骨髄回復の速度との関係は興味深い問題であり, Spitzerら¹⁷⁾はCFU-GMと生着日に相関関係があると報告している。今回のわれわれの検討では両者に明らかな相関はみられなかった。その理由として, 症例数が少ないこと, 疾患による前処置が均一でないこと, *ex vivo* purgingの有無などがあげられる。今後症例数を増やし, さらに検討する必要がある。

V おわりに

自家骨髄移植は今後も一部の難治性の悪性腫瘍に施行されると考えられる。集学的治療の一環として自家骨髄移植を考え, 初発時からそれを組み込んだ優れた治療法の開発が望まれる。

謝 辞

自家骨髄移植は, 信州大学附属病院小児科, 泌尿器科, 脳神経外科および国立療養所東松本病院の看護婦さん達をはじめ, 第1外科, 放射線科, 輸血部のスタッフの皆さんの誠意ある協力のもとに行われました。ここに敬意を表し深謝いたします。

文 献

- 1) Bone Marrow Transplantation Committee: National registry of bone marrow transplantation in children. *Jpn J Pediatr Hematol* 6: 42-51, 1992
- 2) Kemsheid JH, Heath L, Gibson F, Katz F, Richmond F, Treleaven J, Ugelstad J: Magnetic microspheres and monoclonal antibodies for the depletion of neuroblastoma cells from bone marrow: Experiences, improvements and observations. *Br J Cancer* 54: 771-778, 1986
- 3) Nakahata T, Tsuji K, Ishiguro A, Ando O, Norose N, Koike K, Akabane T: Single-cell origin of human mixed hemopoietic colonies expressing various combinations of cell lineages. *Blood* 65: 1010-1016, 1985
- 4) August CS, Serota FT, Koch PA, Burkey E, Schlesinger H, Elkins WL, Evans AE, D'Angio GJ: Treatment of advanced neuroblastoma with supralethal chemotherapy, radiation, and allogeneic or autologous marrow reconstitution. *J Clin Oncol* 2: 609-616, 1984
- 5) Moss TJ, Reynolds PC, Sather HN, Romansky SG, Hammond GD, Seeger RC: Prognostic value of immunocytologic detection of bone marrow metastases in neuroblastoma. *N Engl J Med* 324: 219-226, 1991
- 6) Treleaven JG, Gibson FM, Ugelstad J, Rembaum A, Philip T, Caine GD: Removal of neuroblastoma cells from bone marrow with monoclonal antibodies conjugated to magnetic microspheres. *Lancet* 14: 70-73, 1984
- 7) Dini G, Lanino E, Garaventa A, Rogers D, Dallorso S, Viscoli C, Castagnola E, Manno G, Brisigotti M, Rosanda C, Pasino M, Rivabella L, Boni L, Marchese N, Ivani G, Rizzo A, Franzone P, Trasino S, De Bernardi B: Myeloablative therapy and unpurged autologous bone marrow transplantation for poor-prognosis neuroblastoma: report of 34 cases. *J Clin Oncol* 9: 962-969, 1991

自家骨髄移植

- 8) Creutzig U, Ritter J, Schellong G: Acute myelogenous leukemia in childhood. first ed, pp 17-95, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 1990
- 9) Hainsworth JD, Greco FA: Testicular germ cell neoplasms. Am J Med 75: 817-832, 1983
- 10) Loehrer PJ, Lauer R, Roth BJ, Williams SD, Kalasinski LA, Einhorn LH: Salvage therapy in recurrent germ cell cancer: ifosfamide and cisplatin plus either vinblastine or etoposide. Ann Intern Med 109: 540-546, 1988
- 11) Medical Research Council Working Party on Testicular Tumors.: Prognostic factors in advanced non-seminomatous germ-cell testicular tumors: Results of a multicenter study. Lancet 5: 8-11, 1985
- 12) Kalifa C, Hartmann O, Demeocq F, Vassal G, Couanet D, Terrier-Lacombe MJ, Valteau D, Brugieres L, Lemerle J: High-dose busulfan and thiotepa with autologous bone marrow transplantation in childhood malignant brain tumors: a phase II study. Bone Marrow Transplant 9: 227-233, 1992
- 13) 大平睦郎: 小児がんの自家骨髄移植. 癌と化学療法 17: 2299-2306, 1990
- 14) Davis JM, Rowley SD, Braine HG, Piantadosi S, Santos GW: Clinical toxicity of cryopreserved bone marrow graft infusion. Blood 75: 781-786, 1990
- 15) Guinan EC, Tarbell NJ, Niemaeyer CM, Sallan SE, Weinstein HJ: Intravascular hemolysis and renal insufficiency after bone marrow transplantation. Blood 72: 451-455, 1988
- 16) Koike K: Cryopreservation of pluripotent and committed hemopoietic progenitor cells from human bone marrow and cord blood. Acta Paediatr Jpn 25: 275-282, 1983
- 17) Spitzer G, Verma DS, Fisher R, Zander A, Vellekoop L, Litam J, McCredie KB, Dicke KA: The myeloid progenitor cell-Its value in predicting hematopoietic recovery after autologous bone marrow transplantation. Blood 55: 317-323, 1980

(5. 2. 3 受稿)