

造血臓器(骨髄)移植の基礎と応用

信州大学医学部第一病理学教室

(主任:河合博正教授)

助教授 浅野正英

The Fundamental Problems of Hematopoietic Organs
(Bone Marrow) Transplantation and Their Applied
Therapeutic Procedures

Masahide Asano

Department of Pathology, Shinshu University School of Medicine

「骨髄移植」とは「骨髄輸血」と異なり、投与された骨髄細胞が個体内で分化・増殖している状態であり、1951年にマウス及びラットへ骨髄移植が成功して(Lorenz)以来、現在は動物実験のみならず人体への応用の段階に来ている。又骨髄のみでなく、脾(Cole等1952)、胎児肝(Jacobson等1955)、胎児(Jacobson 1952)の移植も盛んに行われている。

移植前処置としてのX線照射線量は、所謂造血性死を来す線量が一番有効であり、従来は報告では、20~40r/hで850~1140r(Thomas等1959)、200~900r(Andrews 1959及びAndrews等1961)、50~600r(Tocantins 1958)、50~502r(Haurani等1960)、160~476r(芳賀 1961)の線量が照射されている。併し悪性腫瘍の治療には放射線照射の他、制癌剤を用いる事が多い。種々の薬剤に就てMakinodan等(1965)は中毒量に近い量であればある程、又免疫反応カーブの潜伏期或はlog期初期に投与すればする程、最も免疫反応を抑制すると述べ、Cortisone, ACTH, Hydro-cortisone, Nitrogen mustard, TEM, Endoxan, Thio-TEPA, 6MP, Thioguanine, 8-Azaguanine等を免疫反応を抑制する薬剤として挙げている。この中、Nitrogen mustardは特に効果があり、Dameshek等(1959)、Ambrus等(1959)及びThomas等(1965)は之を前処置として骨髄移植に成功し、又Beilby等(1960)はAminochlorambucilを用い成功している。一方Odell及び著者等(1958, 1960)はMyleranの前処置では骨髄移植による放射線障害防禦作用は弱いと報告している。如何なる制癌剤が如何なる癌に一番有効であるか、その大量投与で如何なる制癌剤が前処置として一番適当であるかは今後の研究にまたなくてはならない。

他人の骨髄細胞が宿主体内に移植が可能である条件に、抗体産生を抑制しなくてはならないと云う事が必要である。その為に望む事は自家或は同系移植であ

り、もし同種移植を行う時はABO式Rh式はもとより、なるべく同型を選ぶべきである。採取部位は胸骨、前及び後腸骨棘よりの採血が多いが、Haurani等(1960)は第5~7肋骨前面切除より、或は死体からは脊椎棘及び横突起より骨髄細胞を得ている。1ヶ所から2~3cc宛採取し、全体として10~150cc(Andrews等1961)を採血し、ヘパリン1000I.U.(島田1966)或はEDTA 1~15mg/ccか各種アミノ酸、V-B₁₂を加えたリンゲル液(白神1961)に入れる。之に生理的食塩水5~10ccを加え、1000r. p. m.で10分間遠沈するか、1000 meshで濾過するかして脂肪を取り除く。更に水性ペニシリン約5万単位を入れ、100cc/hの速度で静注する。保存する時は速心後、血清とグリセロール7:3の液を骨髄量と等量に入れ、-70°C~-80°Cに冷却して保存する。使用時には37~40°C温浴中で急速に溶かして用いる。この保存法に因しては、組織培養細胞でも応用され、Takano等(1961)は20%グリセロールが適当とし、所謂slow freezingでもfast freezingでも細胞保存率には変りがないと報告し、Ferrebee等(1957)はグリセロールは必要ないとし、Richards等(1962)はPVP(300,000 M. W.)の10%液が一層優れていると報告している。一般にPolyhydroxic alcohol, Lactose, Sucrose, Choline chlorideが保存効果があると云われている(Smith and Congdon 1960)。

原子爐の不慮の事故による放射能障害に骨髄移植が役立つ事はYugoslavia或はLos Alamosの事故で防禦出来た事から明らかであるが、制癌剤の多くは副作用として造血臓器障害を一番起し易いので(Asano等1963)、大量投与による副作用防禦としての骨髄移植が抬頭して来た。現在急性性白血病(Atkinson等1959, Thomas等1959, Andrews等1961, Tokantins 1958, Haurani等1960)、特に急性リンパ性白血病(McGovern等1959, Mathè等1959)、ホジキン病

(Heller and Yakulis 1958, Beilby 等1960), 悪性腫瘍 (Newton 等1959, Lacassagne 等1955), 再生不良性貧血 (三好 1961, 白神 1961) が骨髄移植により, 大量のX線照射及び制癌剤投与が可能になり寛解を起させている。

この骨髄移植を実施した時, 如何なる細胞系が有効であるかに就いては Congdon 等 (1956) は類白血病反応を示す末梢血の移植に成功し, 顆粒球系細胞, 特に分化・増殖の能力のある未熟顆粒球系細胞が有効であるとしている。勿論リンパ球は効果が無いと云われている (Smith and Congdon 1960)。骨髄細胞を有効であるとする学者で「再生説」を支持する者は移植された骨髄細胞は永久的に宿主骨髄細胞に置きかわるとし, 「代行説」を説く者は移植骨髄細胞は一時的に代行し, 後に宿主骨髄細胞が分化・増殖するとしている。一方「液体説」とは移植された骨髄内の液体性因子が宿主骨髄細胞を刺激恢復させると云う説である。何れにせよ有効な骨髄細胞数はマウスで 12×10^6 , 犬で $1.4 \sim 1.8 \times 10^9$, 仔牛で 1.2×10^9 , 人体で 2.7×10^6 , 或は ABO 式同型骨髄では 100×10^9 , O 型では $10 \sim 12 \times 10^9$ (白神 1961) と報告されている。この移植骨髄を採取する供髄者は幼若であればある程良く (Congdon 等1965), 宿主は幼若者より年令の或程度高いの方が良い成績を得ている (Abrams 1951, Cole and Ellis 1953)。何れにせよ照射前に移植しては何等効果がない。

移植された骨髄細胞を P^{32} でラベルし追究した Brown 等 (1955) によると, 注射後20~30分で肺・肝に, 90分後に骨髄・脾に認められ, Odell and Smith (1958) は S^{35} -methionine でラベルし15分後に肺に, 4時間以内に骨髄・脾・リンパ腺・胸腺に認めている。芳賀 (1961) は Cr^{51} でラベルし, 1週間後に肝に最も著明に, 次に骨髄・脾に認めた。一般に移植細胞が宿主内で, はたして分化・増殖しているかは, a) 供髄者の抗体としての特性を示す赤血球の産生 (Makinodan 1956, Lindsley 等1955), b) ヘモグロビン型 (Welling and van Bakkum 1958, Poop 等1959, Makinodan and Anderson 1957), c) 女性特有の分葉好中球核突起の存在 (Asano 等1966), d) 性染色体 (Ford 等1956, Porter 1957), e) 供髄者特有な血清蛋白分画 (Popp and Smith 1959), f) 供髄者の血清 γ -グロブリン (Phillips and Thorbecke 1966), g) キメラ特有の tolerance の産生 (Mathè 1965) 等の方法により決定されている。それによると動物実験で30日後既に宿主型細胞で置きかわる (Nowell 等1956) か, 或は50~64日後でも供髄者型細胞

である (Vos 等1956, Cole 等1957, Urso 等1958, Welling 等1959) かは夫々の例により異なり, 代行説が有力になっている。

同種或は異種骨髄移植を行うと, 動物実験では, 移植後から次第に体重が減少し始め, 立毛及び下痢が著しくなり遂には死亡する。これを二次疾患 (遅発反応) と云ひ, Mathè は人体で3型に, 即ち a) 遅発良性型: 骨髄移植後血液像が正常化してから1ヶ月後発症し, リンパ球減少症その他種々の症状が現われる型, b) 早発型: 骨髄移植後1ヶ月以内に重篤なリンパ球欠損, そのための感染及び免疫反応症状の現われる型, c) 潜在型: 感染症として水痘, 帯状疱疹が発症する型に分けている。一般的に二次疾患としての臨床症状は, 食欲不振, 悪心嘔吐, 下痢, 体重減少, 肝腫, 紅皮症, リンパ球減少, エオジン好性白血球増多であり, 組織学的にはリンパ装置の發育不全, 或は欠損, 皮膚角化症, 表皮腫で, 生化学的には異常な γ -グロブリン及び LDH パターンの出現, GOT, GPT, OCT 等の上昇である。併し造血臓器が障碍されている事は少く, この説明に免疫学的解釈が行われ (Congdon and Smith 1959), 移植骨髄細胞が抗原となり, 宿主細胞が抗体を形成すると Host-versus-graft 説と, 反対に宿主細胞が抗原となり, 移植骨髄細胞に抗体が生ずるとの Graft-versus-host 説がある。現在の所, 骨髄細胞に免疫反応を起す細胞は少く (Vos 1966), 又放射線照射により, 宿主の免疫反応に対応する細胞が完全に破壊されるかが問題になっている。一方, 二次疾患とリンパ腺悪性腫瘍を同一免疫反応のカテゴリーに入れる見方 (Dameshek and Schwartz 1959) と, 二次疾患を自己免疫であるとの解釈 (Oliner 等1961) も抬頭して来た。この二次疾患を起らない様にするには, Mathè によると移植骨髄細胞の -70°C 保存後の使用, 或は Amethopterin の使用が良いとされている。

経験した剖検例をこれらの諸問題で解釈してみた。

第1例 18才の男性。1963年11月全身疲労感, 発熱, 側頸部腫瘍を主訴とし某医院で結核症として治療していた。1964年1月信大丸田外科で「リンパ肉腫」の診断の元に Endoxan を1ヶ月投与し, 3月一旦退院した。4月嚥下・呼吸困難のため Co^{60} 600r 照射, 5月諏訪日赤病院外科へ入院。輸血・抗生物質・造血剤・デカドロン投与を実施したが, 末梢総白血球数300になった。9月20日より10月5日迄, ABO 式同型血液型の9名より同種骨髄 135cc を採取し, 9回に分けて静注した。同時に移植前からコルチゾン投与を

続けた。移植後急速に血液像は回復し、総白血球数は13,000迄改善した。11月末より頭痛が持続し、1965年6月経済的理由から自殺した(第1図)。移植骨髓細胞が果して移植されたかを Kosenow 法で検索した所、 $A+B$ が6以上の値に移植後22日後に認められたが、 $A+B/C$ は死亡迄0.4以上にはならなかった。側骨髓芽球が末梢血で死亡日に2%、骨髓像で70%を占めていた事が特異な像である。

剖検所見(S-1437)：骨髓は胸骨・椎骨・大腿骨共に赤色髄で、殆んどが側骨髓芽球で占められている(第2図)。この細胞の浸潤は更に肝(1820g)、脾(60g)、リンパ腺、特に腎間質に認められた。即本症例は単に移植された細胞或は宿主の細胞が各種造血臓器に認められたのみではなく、腫瘍性増殖し非白血性白血病の像を示した例である。現在迄、動物実験では移植細胞由来の悪性リンパ腫の発生のみが Uphoff and Law (1958) により報告されている。併し特異性血液細胞腫瘍は骨髓移植により、発生率が低下する報告が多く(渡辺 1964)、本例の如き症例は珍しい。

第2例 39才の男性。1965年5月右頸部腫瘍の為耳閉感があり、6月諏訪日赤病院外科を訪れた。7月より Endoxan 3,000mg, X線7,000r 局所照射を行い、自家骨髓移植を実施した。9月一旦退院したが、11月黄疽と共に頸部両側に腫瘍が多発したので再入院。原発巣不明の扁平上皮癌として、Mitomycin C 84mg/7日、X線2,400r/6日の治療を実施した所、末梢総白血球数500となった。その為1月8日O型5ヶ月胎児肝10g、13日A型3ヶ月胎児3g、18日A型4ヶ月胎児肝10gをA型の本患者に静注した。ステロイドホルモンも移植前から死亡迄投与した。移植後6日目に総白血球数8400となり、引続いて末梢血液像は正常であったが9月死亡した(第3図)。本例も Kosenow 法により6ヶ月に亘り女性供髓者の好中球を証明出来たし、6週間非A型赤血球を証明した。

剖検所見(S-1661)：骨髓は脊椎・胸骨・大腿骨共に赤色髄で、顆粒球系・赤血球系・栓球系細胞が多数認められる(第4図)。肝(1200g)、脾(85g)には髄外造血巣を認めない。腫瘍は扁平上皮癌である。即本例は胎児及び胎児肝の移植が Mitomycin C と X線併用の前処置で成功した例である。Jacobson 等(1956)は胎児肝は宿主に造血を余り起さないが、生存期を延長すると報告し、Porter (1959)は胎児肝移植は二次疾患を殆んど起さないと述べ、その優秀性を報告している。我が国は諸外国よりも胎児肝(3~4ヶ月)を容易に入手出来るので、この方面の研究を期待したい。

第3例 59才の女性。1958年2月顔面に腫瘍が多発し、市立岡谷病院で「細網肉腫」の診断の元に Nitro-min, X線照射を行った。退院後3回目の入院中、末梢総白血球数1900となり出血傾向を生じた。「汎骨髓癆」の診断の元に1964年11月28日から12月4日迄同種骨髓移植100ccを3回に亘って行った所、一時末梢血は改善したが、移植後約29日にして尿量減少し1965年1月死亡した(第5図)。

剖検所見(S-1343)：骨髓は胸骨・脊椎共に赤色髄で、第1及び第2例に劣るが、顆粒球系・赤血球系・栓球系細胞がかなり認められる。全身リンパ装置は萎縮發育不全を示し、形質細胞を認める(第6図)。本例は二次疾患が移植後1ヶ月以内に現われた症例である。

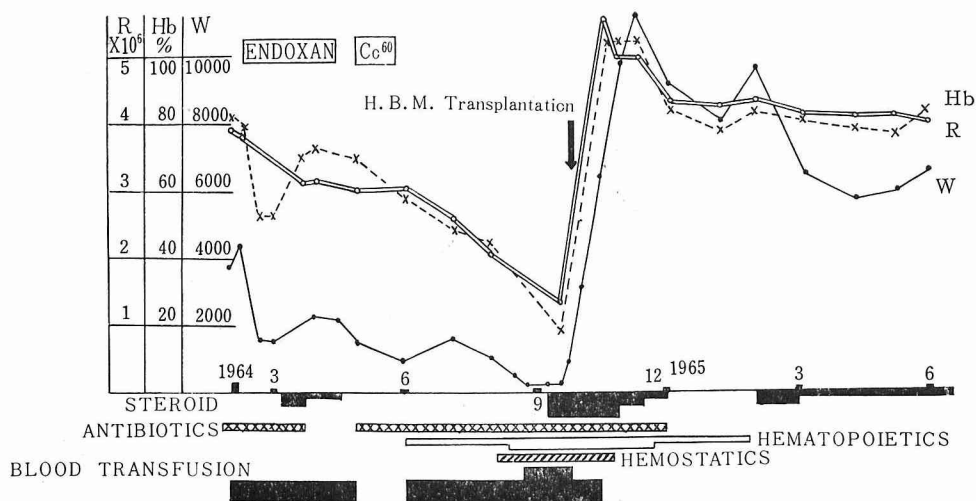
以上、造血臓器(骨髓)移植の諸問題を通覧し、3例の人体応用例から、前処置としての制癌剤の選択の必要性、今後の胎児肝移植の応用の必要性を強調した。

(第1及び第3例の詳細な所見は Asano 等(1966)に報告している。)

文 献

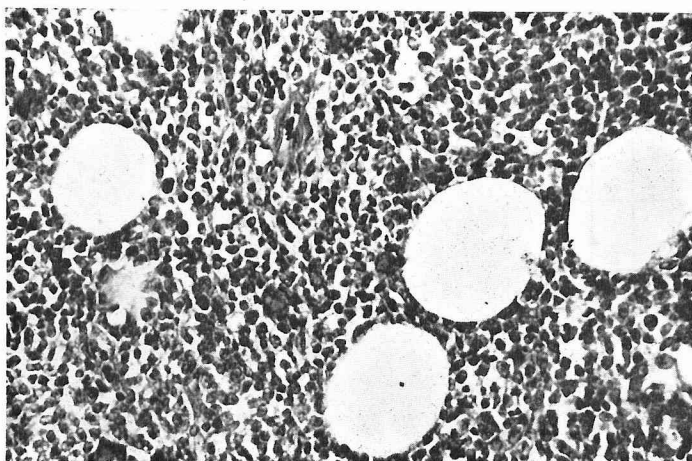
- ①Abrams H. L.: Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 76: 729-732, 1951
- ②Ambrus C. M., E. T. Feltz and J. W. Byron: Proc. Am. Assoc. Cancer Res., 3:2, 1959
- ③Andrews G. A.: Lancet II: 667-668, 1959
- ④Andrews G. A., B. W. Sitterson, A. L. Kretchmar and R. Tanida: Acta haematol., 26: 129-153, 1961
- ⑤Asano M., T. T. Odell Jr., T. P. McDonald and A. C. Upton: Arch. Path., 75: 250-263, 1963
- ⑥Asano M., K. Yamada and M. Shimada: Med. J. Shinshu Univ. 1966 in press
- ⑦Atkinson J. B., F. J. Mahoney, I. R. Schwartz J. A. Hesch: Blood, 14: 228-234, 1959
- ⑧Beilby J. O. W., I. S. Cade, A. M. Jelliffe, D. M. Parkin and J. W. Stewart: Brit. Med. J., 1: 96-99, 1960
- ⑨Brown M. B., B. B. Hirsch, C. S. Nagareda, S. K. Hochstetler, W. G. Taraghan, P. Toch and H. S. Kaplan: J. Natl. Cancer Inst. 15: 949-973, 1955
- ⑩Cole L. J., M. C. Fishler, M. E. Ellis and V. P. Bond: Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 80: 112-117, 1952
- ⑪Cole L. J. and M. E. Ellis: Am. J. Physiol., 173: 487-494, 1953
- ⑫Cole L. J., M. C. Fishler and M. E.

第1図

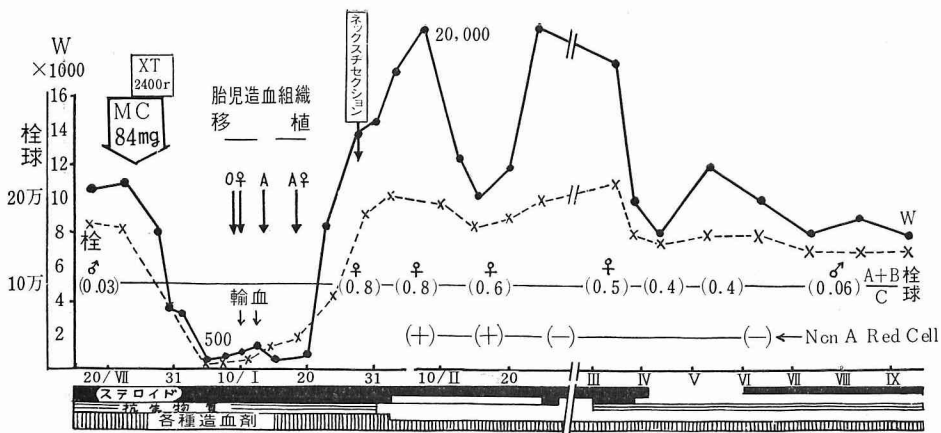


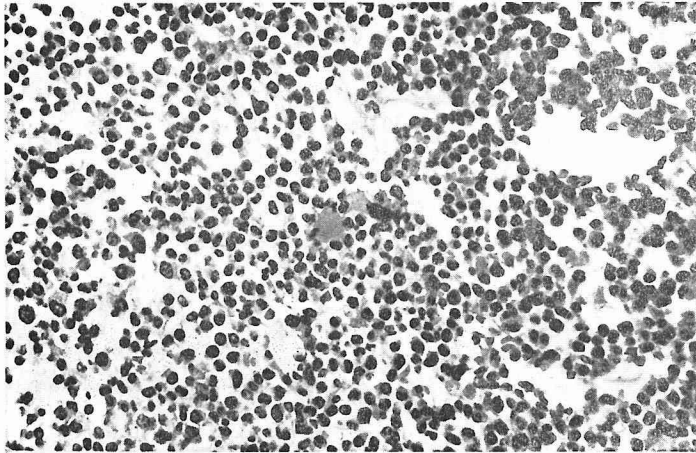
第2図 側骨髄芽球が腫瘍性増殖を示している第1例の胸骨骨髓

H-E染色 ×250

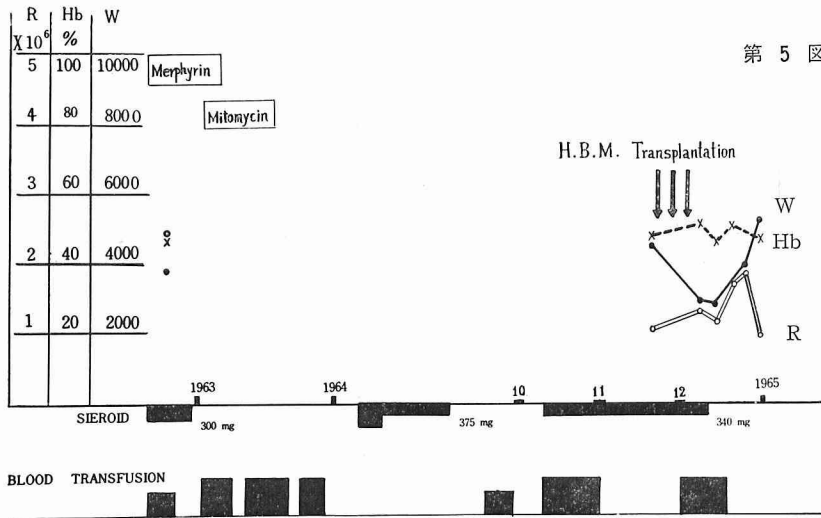


第3図

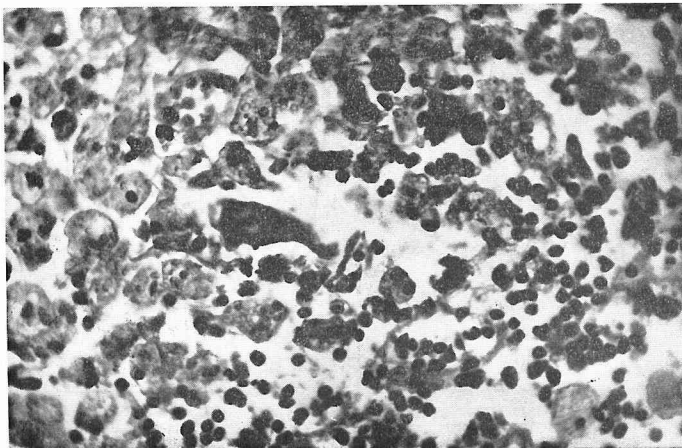




第4図 顆粒球系, 赤血球系, 粒球系細胞が多数認められる第2例の胸骨骨髓
H-E染色 ×250



第5図



第6図 著明なリンパ濾胞の萎縮を示す。二次疾患で死亡した第3例のリンパ腺
H-E染色 ×400

- Ellis : Radiology, **64** : 201-209, 1955 ⑬Cole L. J., J. G. Habermeyer and P. C. Nowell : Am. J. Physiol., **188** : 555-558, 1957 ⑭Congdon C. C., T. W. McKinley Jr., H. Sutton and P. Urso Jr. : Radiation Res., **4** : 424-434, 1956 ⑮Congdon C. C. and I. S. Urso : Am. J. Path., **33** : 749-767, 1957 ⑯Congdon C. C., M. A. Kastenbaum and D. A. Gardiner : J. Natl. Cancer Inst., **35** : 227-234, 1965 ⑰Dameshek W. and R. S. Schwartz : Blood, **14** : 1151-1158, 1959 ⑱Ford C. E., J. L. Hamerton, D. W. H. Barnes and J. F. Loutit : Nature, **177** : 452-454, 1956 ⑲Ferree J. W., D. Billen, I. S. Urso, W. C. Lu, E. D. Thomas and C. C. Congdon : Blood, **12** : 1096-1100, 1957 ⑳芳賀圭五 : 日血全書 **2** : 866-877, 1961. 丸善, 東京. ㉑Heller P. and V. Yakulis : Lancet, **I** : 1131-1132, 1958 ㉒Haurani F. L., E. Reppinger E. and L. M. Tocantins : Am. J. Med., **28** : 794-806, 1960 ㉓Jacobson L. O. : Cancer Res., **12** : 315-325, 1952 ㉔Jacobson L. O., E. K. Marks and E. O. Gaston : from Radiobiology Symposium edited by Z. M. Bacq and P. Alexander 122-133, 1955 Butterworths, London ㉕Jacobson L. O., E. K. Marks, M. J. Robson, E. O. Gaston and R. E. Zirkle : Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., **91** : 135-139, 1956 ㉖Kosenow W. and R. Scupin : Acta haemat., **15** : 349-363, 1956 ㉗Kauffman H. M., R. F. Clark and D. M. Hume : J. Surg. Res., **5** : 2-10, 1965 ㉘Kanazir D., B. Panjevac, O. Cecuk, G. Ristić and B. Kranjincanić : Radiation Res., **9** : 137, 1958 ㉙Lindsley D. L., T. T. Odell Jr. and F. G. Tausche : Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., **90** : 512-515, 1955 ㉚Lorenz E., D. Uphoff, T. R. Reid and E. Shelton : J. Natl. Cancer Inst., **12** : 197-201, 1951 ㉛Lorenz E. and C. C. Congdon : Ann. Rev. Med., **5** : 323-338, 1954 ㉜Lacassagne A., J. F. Duplan and N. P. Buu-Hoi : J. Natl. Cancer Inst., **15** : 915-921, 1955 ㉝McGovern J. J. Jr., P. S. Russell, L. Atkins and E. W. Webster : New Engl. J. Med., **260** : 675-683, 1959 ㉞Makinodan T. : Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., **92** : 174-179, 1956 ㉟Makinodan T. and N. G. Anderson : Blood, **12** : 984-992, 1957 ㊱Makinodan T., J. F. Albright, E. H. Perkins and P. Nettesheim : Med. Clin North Am., **49** : 1569-1596, 1965 ㊲三好和夫・白神 俣 : 日血誌, **24** : 672-681, 1961 ㊳Maxwell R. H. and J. K. Weston : Fed. Proc., **15** : 457, 1956 ㊴Mathè G., J. Bernard, L. Schwarzenberg., M. J. Larrieu, Cl. M. Lalanne, A. Dutreix, P. F. Denoix, J. Surmont, V. Schwarzmann and B. Cècra : Rev. franc. ètud. clin. biol., **4** : 675-704, 1959 ㊵Mathè G. : from Nuclear Hematology edited by E. Szirmai 275-338, 1965 Academic Press, New York ㊶Nowell D. C., L. J. Cole, J. G. Habermeyer and P. L. Roan : Cancer Res., **16** : 258-261, 1956 ㊷Newton K. A., J. G. Humble, C. W. Wilson, D. E. Pegg and M. E. G. Skinner : Brit. Med. J. **1** : 531-535, 1959 ㊸Odell T. T. Jr. and Smith L. H. : Acta haemat. **19** : 114-120, 1958 ㊹Odell T. T. Jr. and B. C. Caldwell : Radiation Res **9** : 162-163, 1958 ㊺Odell T. T. Jr., M. Asano and A. C. Upton : Report, 1st Pan-American Cong. Biol. Exptl. Path. in Caracas, 1960 ㊻Oliner H., R. Schwartz and W. Dameshek : Blood, **17** : 20-44, 1961 ㊼Phillips M. E. and J. Thorbecke : Int. Arch. Allergy, **29** : 553-567, 1966 ㊽Popp R. A. and L. H. Smith : J. Natl. Cancer Inst., **23** : 395-409, 1959 ㊾Popp R. A. and G. E. Cosgrove : Proc. Soci. Exptl. Biol. Med., **101** : 754-758, 1959 ㊿Porter K. A. : Brit. J. Exptl. Path., **38** : 401-412, 1957 ①Porter K. A. : Brit. J. Exptl. Path., **40** : 273-280, 1959 ②Richards V. and M. Persidsky : Blood, **19** : 521, 1962 ③Schwartz R., D. K. Misra and W. Dameshek : Blood, **15** : 137-145, 1960 ④Szirmai E. : from Nuclear Hematology edited by E. Zirmai 457-483, 1965 Academic Press, New York ⑤島田 暹 : 信州医誌, **15** : 15-20, 1966 ⑥白神俣 : 最新医学, **21** : 583-600, 851-864, 1961 ⑦Smith L. H. and C. C. Congdon : from Radiation Protection and Recovery edited by A. Hollaender 242-302, 1960 Pergamon Press, Oxford ⑧Takano K., M. Yamada and Y. Hirokawa : Jap. J. Med. Sci. Biol., **14** : 27-37, 1961 ⑨Thomas E. D., H. L. Lochte Jr., J. H. Cannon, O. D. Sahler and J. W. Ferree : J. Clin. Invest., **38** : 1709-1716, 1959 ⑩Thomas E. D., H. L. Lochte, J. H. Cannon,

- O. D. Sahler and J. W. Ferrebee: *J. Clin. Invest.*, **38**: 1709-1716, 1959 ⑪ Thomas E. D., J. L. Lochte and J. W. Ferrebee: *Blood*, **14**: 1-23, 1959 ⑫ Thomas E. D., S. Kasakura and A. P. Crisoffanini: *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **118**: 1019-1022, 1965 ⑬ Tocantins V. M.: *Blood*, **13**: 288-291, 1958 ⑭ Uphoff D. E. and Law L. W.: *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.*, **2**: 353, 1958 ⑮ Urso P., T. W. McKinley Jr. and C. C. Congdon: *Transplant. Bull.*, **5**: 60-63, 1958 ⑯ Vos O.: *J. Natl. Cancer Inst.*, **36**: 431-443, 1966 ⑰ Vos O., J. A. G. Davids, W. W. H. Weyzen and D. W. van Bekkum: *Acta Physiol. Pharmacol. Neerl.*, **4**: 482-486, 1956 ⑱ Welling W. and D. W. van Bekkum: *Nature*, **182**: 1117-1129, 1958 ⑲ Welling W., O. Vos, W. W. H. Weyzen and D. W. van Bekkum: *Intern. J. Rad. Biol.*, **1**: 143-152, 1959 ⑳ 渡辺 漸: *日血誌*, **2**: 846-877, 1961, 丸善, 東京