

文献：

- 1) Kurtzberg J, Laughlin M, Graham ML, Smith C, et al. Placental blood as a source of hematopoietic stem cells for transplantation into unrelated recipients. *N Engl J Med* **335**: 157-166, 1996.
- 2) Gluckman E, Rocha V, Boyer-Chammard A, Locatelli F et al. Outcome of cord-blood transplantation from related and unrelated donors. *N Engl J Med* **337**: 373-381, 1997.
- 3) Kernan NA, Bartsch G, Ash RC, Beatty PG, et al. Analysis of 462 transplantations from unrelated donors facilitated by the national marrow donor program. *N Engl J Med* **328**: 593-602, 1993.
- 4) Chalmers IMH, Janossy G, Contreras M, and Navarrete C. Intracellular cytokine profile of cord and adult blood lymphocytes. *Blood* **92**: 11-18, 1998.
- 5) Cairo MS and Wagner JE. Placental and/or umbilical cord blood: an alternative source of hematopoietic stem cells for transplantation. *Blood* **90**: 4665-4678, 1997.

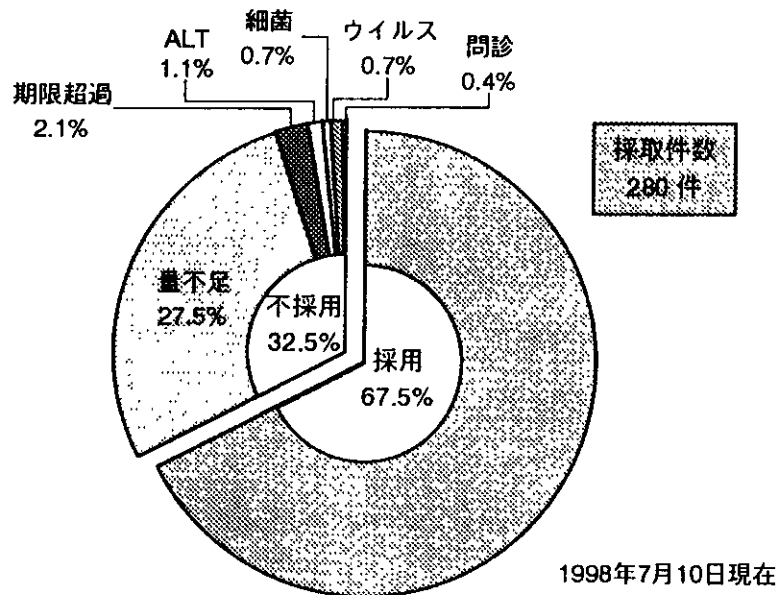
厚生科学研究
「造血細胞移植と免疫応答に関する研究」班
研究報告書

分担研究者 北海道赤十字血液センター 所長 関口 定美
研究協力者 同上 研究部 佐藤 典宏

I 北海道臍帯血バンクにおける細胞保存の現状

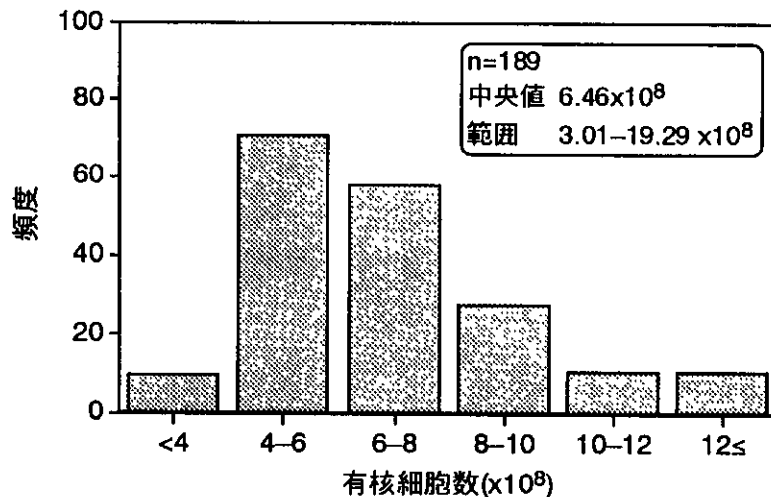
1 臍帯血保存の採否

1996年2月から1998年7月10日まで280件の臍帯血を採取した。以下の基準を満たす臍帯血を保存した。①採取から24時間以内に処理を開始 ②有核細胞数 5×10^8 以上 ③感染症検査（肝機能検査を含む）陰性または正常（臍帯血および母体血） ④細菌検査陰性 ⑤家族歴、病歴、問診で感染症、遺伝性疾患の疑いがない ⑥新生児の生後6カ月時の健康調査で異常なし。採否の内訳は以下の通りである。



2 保存細胞数の分布

凍結保存した臍帯血の保存時の有核細胞数は以下の通りであり、中央値は 6.46×10^8 であった。移植細胞数を患者体重あたり 2×10^7 以上とすると、体重20kg、50kgの患者に使用できる確率はそれぞれ94.3%、13.6%であった。



3 6カ月後の健康調査の回収状況

方法は以下の通りである。①同意のための説明の際に6カ月後の健康調査について依頼 ②臍帯血提供に対するお礼の文書（出産後に渡す）の中で健康調査について再度依頼 ③出産後7カ月を経過した時点で郵送にて健康調査票を発送 ④解答がない場合は1カ月後に再度発送 ⑤3回発送しても解答がない場合は断念。結果は、これまで113通発送し、解答が得られたのは99通で回収率は87.6%。2回目または3回目の発送で解答してくる場合もあるので、最終的には90-95%の回収率になると予想される。

II 凍結後の解凍洗浄の成績

凍結法は以下の通りである。①臍帯血をHESを用いて赤血球を除去した ②凍害保護液を添加し25mlとした（最終濃度 DMSO 10%、dextran 1%）。③プログラムフリーザー（または簡易凍結法）で -80°C まで冷却し液体窒素中に保存した。解凍及び洗浄法は以下の通りである。①37°C の温浴中で解凍した ②洗浄液（1/2容の5% albumin、1/2容の1% dextran）を緩除に添加した ③遠心後上清を除去し、洗浄液と同じ溶液に再浮遊した。解凍および洗浄の結果は以下の通りである。

凍結・解凍による細胞回収率

		有核細胞 (%)	コロニー形成細胞 (%)
全例	(n=19)	93.8±14.0	89.2±18.4
プログラム法	(n=9)	89.2±12.9	87.5±20.7
簡易法	(n=10)	101.6±10.0	90.8±17.1

洗浄による細胞回収率

	有核細胞 (%)	コロニー形成細胞 (%)
凍結前との比較 (n=19)	91.4 ± 16.7	91.9 ± 20.7
洗浄前との比較 (n=19)	97.0 ± 9.7	103.8 ± 20.1

平成10年度 厚生科学研究「造血細胞移植と免疫応答に関する研究」班
神奈川臍帯血バンクにおける当院の役割と経験
昭和大学藤が丘病院小児科 磯山恵一

緒言 臍帯血を用いた移植を効率的に行うためには、臍帯血バンクを設立し非血縁者間の移植が可能となる組織を作ることが必要である。我々は、神奈川県立こども医療センターを事務局とした臍帯血の供給システム「神奈川臍帯血バンク」を設立し非血縁者間臍帯血移植に関する研究を行ってきた。本研究では、これまでに我々の単一施設で担当してきた臍帯血の採取、保存、提供に関する成績と、それに伴う問題点について検討を行ったので報告する。

採取、処理、保存、搬出：神奈川臍帯血バンクの基準および臍帯血採取保存のガイドラインに従い採取、処理、保存を行った。採取は、児娩出し臍帯結紮後の胎盤娩出前にACD5mlを含む100mlシリンジまたはCPD5ml含有の血液採取バックを使用して行った。術者は産婦人科医が担当している。血液処理-保存は採取後24時間以内に行い液体窒素内に保存した。同時に有核細胞数、細菌培養、ウイルス学的検査、血液型測定、造血前駆細胞(CD34⁺細胞、CFU-GM、BFU-E、CFU-Mix、CFC)等の測定および血清保存を行う。HLA検査は専用のチューブで冷凍保存したサンプルを神奈川県赤十字血液センターへ送付し測定している。血液提供、搬出は、神奈川臍帯血バンクの審議委員会で審議され提供可能であると認定された場合に行い、各移植施設からの担当者に対し当施設において引き渡しを行う。

採取に関する情報(表1)：1998年6月末までに当施設で保存し事務局へ登録した検体数は200である。正常分娩に対する採取(保存)率は19.1%であった(常時採取が可能となった1997年2月-1998年4月まで)。この成績はNYBCの採取施設であるMt. Sainai病院での1996-1997年の採取率をやや下回る程度ある。

細菌、真菌培養成績(表2)：血液処理後に実施した血液培養検査では、登録された検体182件のうち5件(2.7%)で細菌培養が陽性となった。菌種は産婦人科領域で特異的に検出される細菌ではなく、ドナーおよび母体に治療を要する状態の発生はなかった。同時に行った造血幹細胞培養の汚染は認められなかった。

ドナー健康調査(表3)：登録検体182例における先天性代謝異常検査(ガスリー検査)陽性例はなかった。生後1ヵ月検診の受診率は80%であり、遺伝性疾患等の疾患の発見も認められなかった。健康調査票の回収率を検討する目的で、登録後3か月以上経過したドナー150例の健康調査を郵送による調査票で行った。調査票発送後38日間に68.7%が回収され、2例は宛先不明で返送された。遺伝性疾患等の記載はないが、貧血、肝機能障害が各1件(同一症例で経過観察中)記載され精査を行う必要があると考えられた。健康調査の成績は移植の際に重要であり、回収率、回収期間の短縮等に検討の余地があると思われた。

臍帯血提供情報(表4)：1998年4月までに当施設から搬出、提供した検体は6件(表中#82は予定)である。7検体の有核細胞viabilityは平均81.6%であった。パイロットチューブを用いたviabilityの測定結果は、バック血液に比較しやや低値となる傾向があった。

表 1 臍帯血採取に関する情報

分娩総数(1997.2~1998.4)	839例
正常分娩総数	718例
採取数	137件
採取率*	19.1%
採取量(mean±SD)	60.4±23.1
総有核細胞数(mean±SD)	4.2±2.4×10 ⁸
CD34+細胞数(mean±SD)	126.9±14.3×10 ⁴
CFU-GM	51.8±3.3×10 ⁴
BFU-E	61.5±6.1×10 ⁴
CFU-Mix	13.3±1.2×10 ⁴
CFC	136.3±11.6×10 ⁴

*採取数/正常分娩総数×100

お7日の健康状況調査票

- 1) お母さまのお名前 _____
- 2) お子さまのお名前: _____
お子さまの生年月日・平成__年__月__日
- 3) これまでに、お子さまの健康状態について、何か心配がありましたか?
() なし
() あり(具体的な内容・
() かかりつけ医に相談した

平成 年 月 日

記入者のご氏名: _____ 医師 母、父、その他()
ご協力ありがとうございました。

表 2 細菌培養成績

培養検体: 血球分離後、凍結直前(DMSO混合前)の血漿2-4mlを使用。
培養ボトル: Pedi-Bact T™ Aerobic Culture Bottle (Organo Teknika社)
培養液: BHI培地 40ml
培養, 同定: BacT/Alert (Organo Teknika社) 35℃, 7日間培養し判定を行う。
結果: 細菌培養陽性率=5/182(2.7%)

昭和大学臨江病院小児科/神奈川臍帯血バンク
磯山恵一

お問合わせ先: 〒227 東京都東港区豊洲1-30
昭和大学臨江病院小児科 TEL: 045-971-1151, FAX: 045-972-7601

検体#	採取日	菌種	NC(×10 ⁸) /CFC(×10 ⁴)	ドナーの状態
55	97.3.11	Bacillus sp.	5.0/525.0	哺乳力低下
95	97.6.17	Corynebacterium sp.	2.63/157.8	心室中隔欠損
103	97.7.23	Gram (-) 桿菌	5.65/356.0	アトピー性皮膚炎
104	97.7.25	Corynebacterium sp.	6.63/119.3	上室性頻脈
108	97.7.29	Staph epidermidis	11.25/450.0	アトピー性皮膚炎

表 3 ドナー健康調査結果

調査票回収率	103/150件 (68.7%)
回収期間	38日
最短~最長	1~31日
不明	2件
採取からの期間	3~24ヶ月
ガスリー陽性例	0件
1か月検診実施例	120/150件 (80.0%)
ドナー不的確例	0件

表 4 臍帯血提供情報

検体#	提供先	採取量 (ml)	NC (×10 ⁸)	CFU-GM (×10 ⁵)	Viability (%)	移植細胞数	
						採取時(/kg)	移植時(/kg)
51	九州がんセンター	110	10.6	169.6	84(77**)	3.9×10 ⁷	3.3×10 ⁷
59	九州がんセンター	70	5.09	101.8	91	2.8×10 ⁷	2.5×10 ⁷
60	藤が丘	80	3.75	48.8	80	2.5×10 ⁷	1.9×10 ⁷
64	横浜市大	55	2.48	66.8	81	2.2×10 ⁷	1.8×10 ⁷
82	藤が丘*	40	1.30	18.2	81	2.2×10 ⁷	1.8×10 ⁷
112	九州大	53	3.46	24.2	**78	4.3×10 ⁷	3.3×10 ⁷
123	国立がんセンター	90	6.58	72.3	**79	4.9×10 ⁷	3.9×10 ⁷
(平均値)		71	4.92	67.3	81.6	3.2×10 ⁷	2.7×10 ⁷

*移植計画中, **パイロットチューブ

調査票に記載された内容および結果

アトピー性皮膚炎	4
心室中隔欠損症	3
胃軸捻転症	1
胃食道逆流現象	1
メレナ	1
上室性頻脈	1
肝機能障害	1
貧血	1
便秘	1
(計)	14

造血細胞移植と免疫応答に関する研究, Ⅱ
平成10年7月17日

名古屋市立大学 医学部小児科学教室

東海臍帯血バンクの現状 (1998年7月15日現在)

矢崎 信

登録患者数: 74 名
東海地区: 23 名(31%)
他地区: 51 名(69%)

適合臍帯血数: 26
HLA完全一致: 4
HLA 1座不一致: 22

HLA予備検索依頼: 22 名

移植患者数: 9 名
東海地区: 6 名
他地区: 3 名

移植予定患者数: 3 名

Table 1 INDICATIONS OF UNRELATED UCB TRANSPLANTATION

Case	Indication	JMDP Search	JMDP Donor
0007-66	No donor	Yes	No
0005-50	No donor	Yes	No
0003-06	No donor	Yes	No
0020-50	No donor	Yes	No
0028-51	No donor	Yes	No
0024-71	No donor	Yes	No
0044-50	No donor	Yes	No
0056-63	No time	Yes	Yes
0047-77	No donor	Yes	No

Table 2 DEMOGRAPHIC INFORMATION

Case	Diagnosis	Age/Sex	Weight	Trasplant Date
0007-66	ALD	10/M	30	9/24/97
0005-50	ALL, 2REL	3/M	14	10/8/97
0003-06	MDS, REAB-t	11/M	48	11/19/97
0020-50	ALL, 2CR	2/F	9	11/27/97
0028-51	AML(M5), 1CR	3/F	13	3/18/98
0024-71	ALL, 2CR	10/M	40	4/13/98
0044-50	AML, 2REL	14/F	31	5/21/98
0056-63	AML, 2CR	5/F	21.7	7/14/98
0047-77	JCML	0.9/M	11	7/17/98

Table3 CHARACTERIZATION OF UCB UNITS SELECTED

Case	CB	Volume(ml)	Weight	Cells x 10 ⁷ /kg	CFU-GM x 10 ⁴ /kg
0007-66	1051-323M	84	30	2.38	6.95
0005-50	085-253F	60	14	3.59	1.54
0003-06	027-263M	76	48	2.02	1.21
0020-50	026-323F	100	9	10.44	12.43
0028-51	002-323F	75	13	6.61	4.1
0024-71	113-362M	95	40	4.33	6.68
0044-50	055-322F	84	31	2.75	2.67

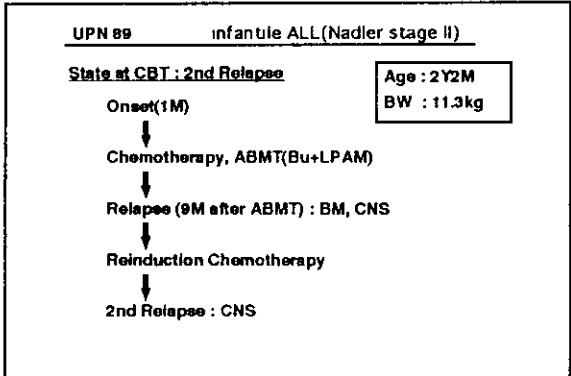
Table 5 Engraftment

5/27/98

Case	Age	Cell/kg	WBC>1000	Neutro>500	Ret>1%	PL>2 x 10 ⁴	PL>5 x 10 ⁴	Last PL	Current Status
K.I.	10	2.38	19	19	35	39	44	34	Died day+77 VOD
T.M.	3	3	27	27	51	>91			Died day+91 relapse
Y.F.	11	2	>19	>19	>19	>19			Died day+19 Sepsis
H.I.	2	10.4	18	18	25	57	57	51	Died day+85 IP
A.S.	3	6.61	31	31	>45	>45		44	Died day+45 Pn, PAH, IP
K.K.	10	4.33	12	11					Engrafted 44+day
A.H.	14	2.75							Engrafted 7+day

3 抗原不一致(haplotype identical)の同胞同臍帯血移植を行った2例

大阪府立母子保健総合医療センター小児内科
井上雅美、河 敬世



Preconditioning regimen
CSI 6Gy + TBI 12Gy + thio-TEPA 600mg/m² + Cy 120mg/kg

HLA compatibility
Haplotype identical

Transplanted CB-MNC
MNC count 2.7 x 10⁸ cells(2.4 x 10⁷ cells/kg)
CD34(+) cells 5.4 x 10⁵ (4.8 x 10⁴/kg)

GVHD prophylaxis CMV prophylaxis
CSA only DHPG pre CBT

Interval between ABMT and CBT
15Ms

Engraftment

	CBT(G-CSF+)	ABMT(G-CSF+)
WBC > 1,000/μl	day 17	15
Neutro > 500/μl	day 17	18
Reti > 1%	day 28	22
Plt > 20,000/μl	day 47	18
Plt > 50,000/μl	day 54	27

Confirmation of Engraftment : day 28 (FISH, XY→XX)

aGVHD : Grade III
Skin : Stage 3 (60%)
Liver : Stage 2 (T.B. 5.67 mg/dl)
Gut : Stage 4

cGVHD : extensive type

CMV enteritis (day 154)

Profile of UPN 160 at diagnosis (1Y5M, Male): NBL

<u>Tumor marker</u>	VMA/HVA	64,4270.2 mg/mgCr
	NSE	350 ng/ml
	ferritin	337 ng/ml
	LDH	3,605 IU/L
<u>Primary tumor</u>	Rt. adrenal gland (10 x 11 cm, across the midline)	
<u>Metastasis</u>	BM, Bone (rt. humerus, rt. tibia, costae), para-aortic LN	
<u>Stage</u>	IVa	
<u>Result of mass screening at 7M</u>	negative	

Biological Feature of Tumor Cell (BM)	
N-myc copy number	32 copies
DNA ploidy	diploid
Histology of Tumor (after chemotherapy)	
Poorly differentiated NBL / Ganglioneuroblastoma	

Preconditioning regimen of SCT	
1st megatherapy	
IFO 12.5g/m ² + LPAM 210mg/m ²	
2nd megatherapy	
TBI 12Gy + thioTEPA 800mg/m ²	
GVHD prophylaxis : FK506 + MTX + mPSL	
Interval of SCTs	129 days

Profile of harvested stem cells		
	1st: auto BM	2nd: allo CBT HLA haplotype identical sister (3Ag mismatch)
Cell processing	MNC separation	Total nuclear cell collection (HES)
NCC (x10 ⁶ cells)	60.0	6
NCC (x10 ⁷ cells/kg)	54.5	6.7
MNC (x10 ⁵ /kg)	7.8	-
CD34+ cells (x10 ⁵ /kg)	11.1	6.7
CFU-GM (x10 ⁵ /kg)	-	0.53

Hematological reconstitution after SCT		
	1st: auto BM	2nd: allo CBT HLA haplotype identical sister (3Ag mismatch)
	day after SCT	
WBC > 1,000/ml	13	36
Neutro. > 500/ml	13	36
Plt. > 20,000/ml	43	110
Ret. > 1%	40	61
GVHD	Grade 0	
Confirmation of engraftment	day 34 : FISH (sex chromosome)	

Summary of two cases underwent 3Ag mismatch-CBSCT from sibling		
	UPN 89	UPN 160
Disease	ALL	NBL
CBSCT as 2nd graft	relapse after ABMT	double megatherapy
1st graft	ABMT(purged)	ABMT(unpurged)
Interval btw grafts	15 Mo	129 days
Preconditioning regimen	CSI+TBI+thioTEPA+Cy	TBI+thioTEPA
GVHD prophylaxis	CSA alone	FK506+MTX+mPSL
CMV prophylaxis	DHPG	DHPG
Inflused CB cells (x 10 ⁵ /kg)	2.4(MNC)	6.7(NCC)
CD34+ cells(x 10 ⁵ /kg)	0.48	6.7

Summary of two cases underwent 3Ag mismatch-CBSCT from sibling		
	UPN 89	UPN 160
Engraftment	day	day
Neutro. > 500/ml	17	36
Plt. > 20,000/ml	26	110
Ret. > 1%	47	61
aGVHD	grade III	grade 0
cGVHD	extensive type	none
CMV	CMV enteritis	none
Other complications	pericardial effusion	none
Outcome	DFS 28M+	Survive 5M+ on disease

北部九州に於ける臍帯血移植へのとりくみ

福岡県赤十字血液センター 佐藤博行

1) 臍帯血移植のための組織の構築

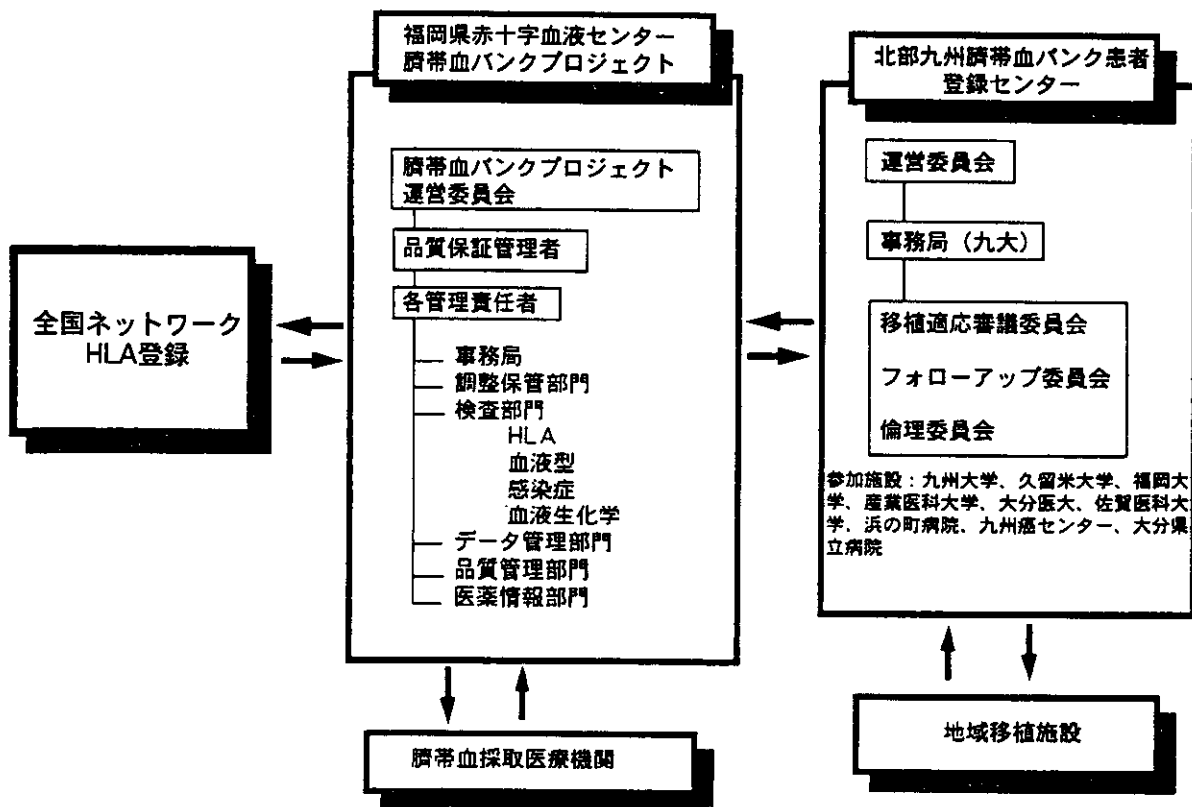
血液センターに於ける臍帯血の採取、保存に伴い、移植施設を中心に組織設立の気運が高まり、設立準備委員会が発足し、定期的な会合を重ねた結果、下図に示された組織が設立された。血液センター内に臍帯血バンクプロジェクトが設立され、臍帯血の採取病院との連繋のもとに保存、諸検査、及び既設の骨髓データセンターに準じたデータ管理を行い、臨床側に患者登録センターが設立され、北部九州の参加施設からの患者登録、患者の移植適否の決定、移植後のフォローアップを中心に担うこととなった。両組織は互いに協力して移植が円滑に行われる取り決めがなされ、本年5月より稼動状態に入った。

2) 保存臍帯血のquality control

現在、輸血用血液をはじめとして生物学的製剤にはGMPの遵守がWHOの勧告により、世界的に義務づけられており、移植を目的とした臍帯血の保管管理にもGMPに準じたquality controlが求められることは必然であり、実際にGMPに基づいた輸血用血液の製造を行っている血液センターでは、臍帯血についても同様の理念に沿った組織的管理体制の整備を行い、間もなく完成の運びとなるであろう。

3) 臍帯血の微生物学的安全性の検討

移植を望む患者にとって、臍帯血は、骨髓移植とは異なり、微生物学的安全性の面で利点をもつであろうことは想像に難く無い。則ち、CMV陰性の患者に複数の適合臍帯血が見い出された時、優先的にCMV陰性の臍帯血を選択することができるであろう。実際にこのような事が我が国に於いて可能かどうかを検討する為の基礎となる調査をblood-borne infectionを起こすウイルスの中からCMV、リンパ腫やカポジ肉腫に関連性をもつHHV-8、造血幹細胞傷害性をもったヒトパルボウイルスB19について調査をおこなった。母体がウイルスを持っていないければ由来する児の臍帯血も同様にウイルスを持っていないと判断されることから、出産後1週間以内に採血された母親の血液を対象とした。その結果、CMV陰性は14.9%、HHV-8陰性は90.5%、B19陰性は100%であった。この結果から、微生物学的安全性の高い臍帯血移植が可能な確率は、CMVは患者のHLAのタイプと保管臍帯血数に依存しており、必ずしも不可能では無いと思われる。HHV-8やB19は、是非は別として、臍帯血の保管の時点で排除することは可能であると思われる。



班臍帯血HLAデータ管理部の現状

班臍帯血HLAデータ管理部

(愛知県赤十字血液センター検査二課)

1. 目的

非血縁者間臍帯血移植の円滑な実施と成績向上のために現存する9臍帯血バンクの連携は有意義であり、そのあり方として当面HLAを含む臍帯血情報並びに移植を希望する患者情報を一ヶ所に集めHLAの中央照合を行う。

2. 臍帯血情報の登録

1) 各地域臍帯血バンクが班研究の臍帯血ネットワークシステム整備のためにリストアップする臍帯血は、原則として平成8年度厚生科学研究費補助金、骨髄移植調査研究事業B班(浅野班のガイドラインに沿った臍帯血とし、次の条件を満たしていることとする。

a) 採血後6ヶ月を経過し移植に使用可能な臍帯血。

b) 保存チューブが複数(3バイアルが望ましい)保存されている臍帯血。

c) HLAタイピングのA・B・DRまたはDRB1ロウレゾリューションが確定している臍帯血。

d) 登録保留または抹消されていない品質が保証される臍帯血。

2) 各地域の臍帯血データを月末に締めフロッピーディスクにて毎月5日必着で臍帯血HLAデータ管理部へ郵送する。

a) ファイル名は「地域臍帯血バンクID-送付年月」とする。

例 1-9807.K3 2-9807.CSV

b) データの形式は次のとおりとする。

データは全て英数字の1バイト文字のみ使用し、漢字・ひらがな・カタカナは使用しない。また、1.2Mバイトまたは1.4MバイトのMS-DOSフォーマットのフロッピーディスクにK3またはCSV形式で出力する。

3) データ項目及び順

バンクID、臍帯血ID、保存細胞数、HLA-A(1)、(2)、HLA-B(1)、(2)、HLA-DR(1)、(2)

4) フロッピー送付先

〒489-8555

瀬戸市南山口町 539-3 愛知県赤十字血液センター検査二課内

厚生科学研究費補助金 感覚器及び免疫アレルギー等研究事業

「造血細胞移植と免疫応答に関する研究班」臍帯血HLAデータ管理部

TEL 0561-85-4295 FAX 0561-85-4299

3. HLA適合臍帯血の検索

1) 主治医より班事務局へ送付された実施マニュアルの様式2. 患者HLA情報、様式9. HLA検索依頼書がHLAデータ管理部へFAXされる。

2) 患者のHLA情報を確認後コンピューターにて登録臍帯血との適合検索を実施する。

3) 様式10. 適合臍帯血検索結果報告書(1)、様式11. 適合臍帯血検索結果報告書にて主治医宛に報告する。

4. 登録状況(7月16日現在)

1) 臍帯血登録

現在3施設登録済

東海大学臍帯血バンク 148

東海臍帯血バンク 356

北部九州臍帯血バンク 48

合計 552

2) 患者登録

患者検索数 10名

内、適合臍帯血が見つかったもの 3名

胎仔マウスAGM領域由来ストローマ細胞のヒト造血幹細胞に及ぼす影響

東京大学医科学研究所癌病態学研究部 中畑龍俊、辻浩一郎、許明江

【目的】

ヒト造血幹細胞のin vitro増幅法の開発は、造血幹細胞移植における重要な課題の一つといえる。しかし、従来の造血因子の組合せによる増幅法は、少なくとも造血幹細胞の増幅という点では必ずしも満足のいくものではなく、全く新たなアプローチが求められている。

一方、最近のマウス胎生期造血の解析より、二次造血造血幹細胞は胎生10～11日のaorta-gonad-mesonephros (AGM)領域において著明に増幅された後、胎児肝に移行することが明らかとなった。このことより、胎生10～11日のAGM領域には造血幹細胞の増幅を支持する分子が発現されていると予想される。そこで我々は、胎生10.5日のAGM領域からストローマ細胞株を樹立し、マウス及びヒト造血幹細胞に及ぼす影響を検討した。

【結果】

胎生10.5日マウスAGM領域からストローマ細胞株、AGM-S3を樹立した。flowcytometryによる解析では、AGM-S3細胞はVCAM-1、CD13、Sca-1を発現しており、endothelial cellに近い性状を有していると考えられた。

AGM-S3細胞は、マウス骨髄Lin-c-Kit+Sca-1+細胞との共培養系において、多能性造血前駆細胞を含む種々の造血前駆細胞およびCFU-Sの増幅を支持した。また、AGM-S3細胞をヒト臍帯血CD34+CD38-細胞と6週間共培養すると、顆粒球系前駆細胞、赤芽球系前駆細胞ばかりでなく、多能性造血前駆細胞も増幅された。さらに、AGM-S3細胞は臍帯血単核球との共培養により、NOD/SCIDマウスの造血を再構築し得る造血幹細胞を少なくとも4週間維持することができた(図)。

RT-PCRによる各種サイトカインの発現の検討では、AGM-S3細胞はSCF、IL-6、OSMを発現していたが、これらのサイトカインではAGM-S3細胞の造血支持能を説明できなかった。また、AGM-S3細胞のヒト造血幹細胞に対する作用には、両者の細胞接着が必須であったことより、AGM-S3細胞は未知の膜結合型の造血支持分子を発現していると推測された。

【結論】

胎生10.5日マウスAGM領域由来ストローマ細胞株、AGM-S3は、マウスばかりでなくヒト造血幹細胞をも支持し得る膜結合型分子を発現していると考えられた。今後、この分子を同定し、ヒトホモログを単離することにより、有効なヒト造血幹細胞の体外増幅法を開発していく予定である。

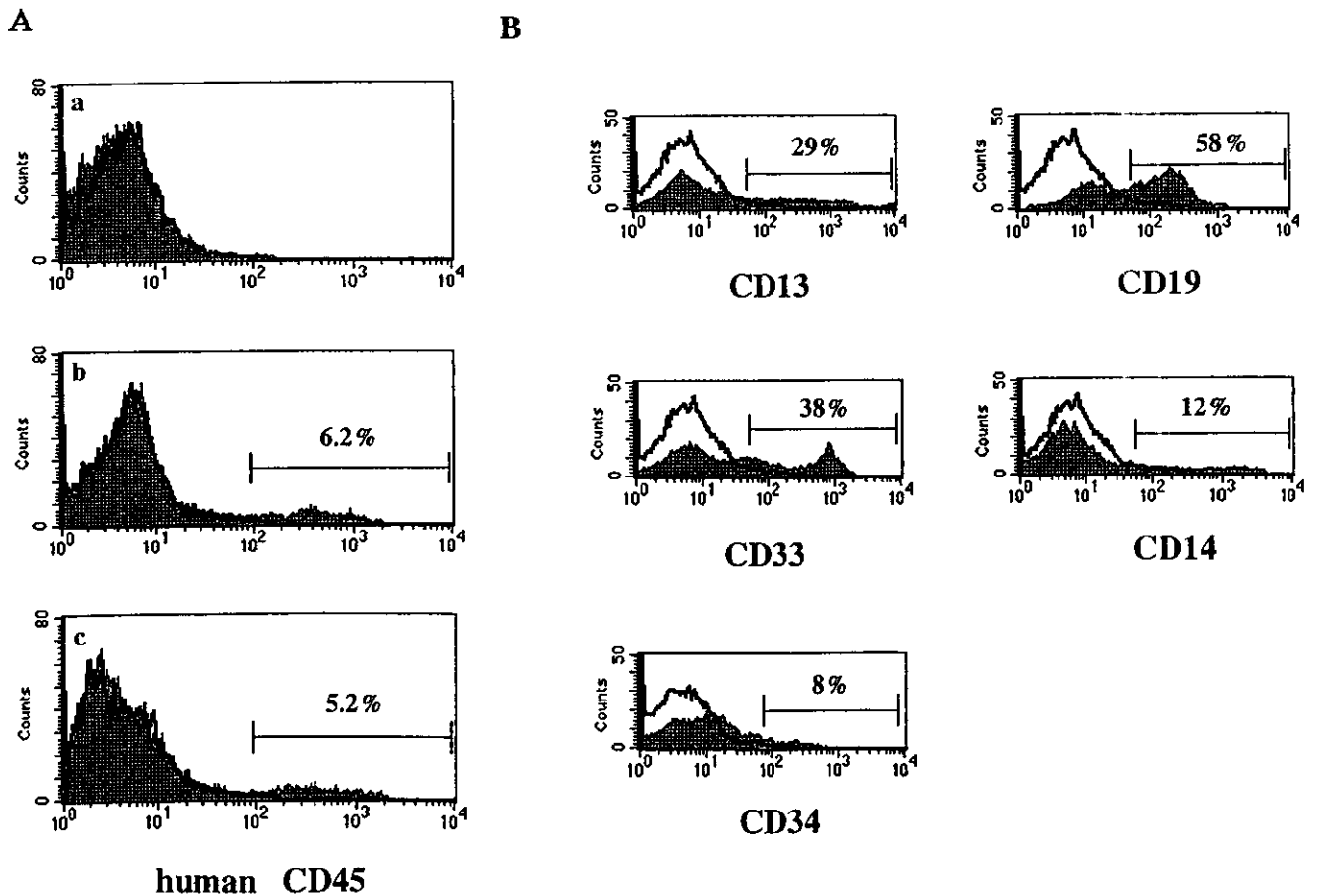
図A：移植後5週のNOD/SCIDマウス骨髓細胞におけるヒトCD45+細胞の検討

(上) 移植を受けなかったNOD/SCIDマウス

(中) 1×10^6 個の臍帯血単核球を移植されたNOD/SCIDマウス

(下) AGM-S3細胞と4週間共培養された 1×10^6 個の臍帯血単核球を移植されたNOD/SCIDマウス

図B：図A（下）のヒトCD45+細胞における各種血球系マーカーの発現



研究課題 異人種間骨髄移植の整備と成績向上に関する研究

分担研究者	池田康夫	慶應義塾大学医学部内科学教授
研究協力者	岡本真一郎	慶應義塾大学医学部内科学講師
研究協力者	赤座達也	日本赤十字中央血液センター研究部部长

目的：国際間での非血縁者骨髄の供給率を高め、移植を円滑かつ効率よく遂行するために必要な、本邦骨髄バンク（JMDP）のシステム及び移植医療体制の確立を目指し、そのために必要な検討を行い具体的な改善点を明確にする。

研究方法：

（1）海外ドナーを用いた異人種間骨髄移植例の検討。引き続き海外ドナーを用いた移植成績を国内JMDPドナーを用いたそれと比較検討し、現状の成績を明確にする。加えて海外ドナーのDNAサンプルを用いた両者のHLA、DNAタイピンで（DRB1、DRB3、4、5、及びClass I Allelesの一部）の結果及び、人種・移植細胞数・骨髄の運搬時間と移植成績、合併症（特にGVHD）の頻度、重症度との関係を検討する。

（2）WMDA、BMDW等の資料をもとに臍帯血バンクと骨髄バンクとの連携について世界の現状と方向性を明らかにし、これらをもとにわが国における両者の現実的な協力体制について検討を加える。

（3）BMDWのプログラムを介して現在提携を結んでいない諸外国の骨髄バンクにドナーサーチを行う場合の問題点をその経験の中から明らかにして行く。

研究結果（平成9年度）：

海外骨髄バンクとの提携の有用性：

1998年6月の時点でNMDPに237、TCTMDRに120件preliminary searchがかけられ、NMDPに53%、TCTMDRに4.2%の確率で“111” match donorが見いだされている。NMDPで見いだされた“111” match donorの人種はAsian / Pacific Islander (API) が28.9%と最も多く、次いでCaucasian (22.3%)、Hispanic (16.4%)、Japanese (6.4%)となっている。一方、NMDP / TCTMDRを含む海外骨髄バンクからも、636件のCompassionate searchの依頼があり、42人の患者にHLA適合ドナーが見いだされている。この患者の人種もAPIがやはり26%と最も多く、次いでCaucasian、Hispanicの順になっている。

海外ドナーを用いた非血縁者間骨髄移植例の検討：

1998年6月までにNMDPより32、TCTMDRより1例の骨髄提供を受け移植が施行されている。ここに提携以前にNMDPのTransplant Centerとして名古屋第1赤十字病院において施行された移植11例を加えた33例を対象として検討を行った。

3-1 ドナー：平均年齢は33(20-56)で、75%は40才以下であった。人種は、7割がAPI (Japanese 4, Korean 1, Filipino 1を含む)であった。

3-2 HLA disparity：HLA Class Iの血清学的レベルでの不一致は、3例(12%)、DNAレベル(A2, 26 B39, 61)でのそれは、14例中2例(14%)で認められた。同様にHLA Class IIの血清学的レベルでの一座不一致は、2例(6%)、DNAレベルでのそれは、22例中10例(45%)で認められた。

3-3 Search Turnaround Time：Preliminary Searchから、実際の移植までの期間中央値はNMDPで175日(90-335)、TCTMDRで177日であった。また、Formal Searchからの中央値は、各々153日(72-275)、143日であった。

3-4 生着：大多数の症例が採取開始より24時間以内に輸注が終了した。生着は、早期死亡の2例、移植直後の2例を除いた29例全例で確認された。

3-5 急性GVHD：具体的なGVHD予防法については、今回検索し得なかった。18%の症例では、急性GVHDが認められなかった。一方評価可能な28例中、Grade II-IV、III-IVのGVHDは、各々43%、36%に認められた。ドナー年齢、患者の年齢、ドナーの人種と重症GVHDの発症頻度との間に相関関係は認められなかったが、進行病期(44%vs 17%)、HLADRB1不適合(71%vs 20%)で頻度が高まる傾向が認められた。Class Iのdisparityについては、今回検索し得なかった。

以上のpreliminaryな結果より海外バンクとの業務提携の有用性が確認されたと思われる。以後、異人種間骨髄移植の成績向上のためには、GVHDのより選択的かつ効果的な抑制法の開発、HLA disparityと移植成績の解析に基づいた免疫反応を起こしにくいドナー選択の指標の確立等が必要であることが示唆された。

骨髓移植推進財団国際協力委員会
委員長 岡本真一郎先生

平成10年3月3日

厚生科学研究「造血細胞移植と
免疫応答に関する研究」班
主任研究者 小寺良尚

時下ますますご清栄の段、大慶に存じます。

さて当研究班ではかねてより研究課題の一つであります「造血細胞移植の供給率と成績向上に関する研究」の一環といたしまして貴財団と現在提携関係に無く、従って日本人患者さんが正式ドナー検索開始から移植に至るまでの様々な手続きを貴財団に依頼出来ない海外骨髓バンクに対して、これらの手続きを研究事業として行うことにより、これらバンクにおける日本人が患者さんである場合のHLA適合率から移植成績までを検討してまいりましたが、この度別紙の如き中間結果を得ました。つきましては今後は日本、米国、台湾、韓国の骨髓バンクでドナーの得られない患者さんに対し、貴財団から当研究班をご紹介いただいた上で同研究を継続することにより、これら患者さんのお役にも立ちたいと考えますので御審議下さいますようお願いいたします。尚、研究協力者といたしまして中村真貴子氏が現在事業を行っております。

海外骨髄ドナー登録機関の費用と現況

名古屋第一赤十字病院
前 NMDP-TC 中村真貴子

調査対象海外バンク

Anthony Nolan Bone Marrow Trust (イギリス)
Athens Bone Marrow Donor Registry (ギリシア)
Australia Bone Marrow Donor Registry (オーストラリア)
Canadian unrelated Bone Marrow Donor Registry (カナダ)
Europdonor Foundation (オランダ)
FGM-France Greffe de Moelle (フランス)
German National Bone Marrow Donor Registry (ドイツ)
Singapore Bone Marrow Donor Registry (シンガポール)
Swiss Bone Marrow Donor Registry (スイス)

調査項目

1. 検索から移植までにかかる費用
2. 現況
3. 名古屋第一赤十字病院登録患者の上記の海外登録機関における検索の成果

注意

1. 費用の支払いは相手国通貨で送金するのですが、比較のために日本円に換算しています。円相場変動により変化があるので、あくまで参考として下さい。
2. ドナー登録数は、97年11月現在です。
3. ここには、HLA-A,B,DR以上の一致ドナーの見つかった患者についてのみ記述しています。

Anthony Nolan Bone Marrow Trust

T e l : 44-171-284-1234

F a x : 44-171-284-8226

1. 費用
不明

2. 現況

登録ドナー数	279,984
DR タイピング	56%
DNA タイピング済みドナー	88,684

3. その他

97年に、名古屋第一赤十字病院登録患者に HLA-ABDR 一致ドナーが見つかったか、DRB1 の不一致で、進行しなかった。

Athens Bone Marrow Donor Registry

T e l : 30 - 1 - 6453759

F a x : 30 - 1 - 6402149

1. 費用

正式検索	25,000	
タイピング		
DR	12,500	
AB血清学的	10,000	
DRB1 (3,4,5)	30,000	
DQB1	30,000	
DPB1	30,000	
HLA class I	30,000	
採血 CT 用	25,000	+ 送料
健康診断	15,000	
骨髄採取	200 万円	+ 運搬費用
キャンセル		
健康診断前	50,000	
健康診断後	150,000	

100 ドラクマを 50 円として換算

2. 現況

登録ドナー数	846
DR タイピング	74%
DNA タイピング	13

3. その他

97年11月に、名古屋第一赤十字病院登録の患者に HLA-ABDR 一致のドナーが見つかったが、ドナー妊娠のため保留となっている。

Australia Bone marrow Donor Registry

T e l : 612-9-229-4464

F a x : 612-9-229-4413

E-mail : aus@abmdr.org.au

1. 費用

初期サーチ (1年間)	50,000
登録更新	20,000

正式検索	150,000
HLA-DR タイピング	8,436
検体採取	60,000
送料	実費
移植調整	150 - 250 万円 + 運搬実費
	1 A \$ を ¥ 7 8 で換算

2. 現況 (97.11 現在)

ドナー数	112,864
DR タイピング	42%
DNA タイピング	

3.

95 年より、正規登録した患者数は 3 名であり、これまでに HLA-ABDR 一致ドナーは 3 名あり、そのうち 1 名のドナーから、96 年に骨髄提供を受けた。

初期検索に課金する例外的な機関である。ここでは、相手の機関との reciprocal な料金設定をしているため、日本の財団の料金をオーストラリアドルに換算して料金体系を作った。しかし当時の 1 A \$ は 76 円以下であったが、現在では 90 円近くにあがったため、料金はかなり高くなっている。

最近ニュージーランドの登録ドナーも、同時に検索できるようになったためドナー数は急増した。

Canadian Unrelated Bone Marrow Donor Registry

T e l : 1-604-8795269

F a x : 1-604-8794255

E-mail : cndubmdr@axionet.com

1. 費用

HLA Class II タイピング	35,750
DRB1,3,4,5 タイピング	45,500
DQB1 タイピング	26,000
検体採取	26,000
送料	実費
移植調整	253.5 万円 + 運搬実費
キャンセル料	
Information session	48,750
ドナー健康診断	78,000
自己血保存 (1 ユニット)	15,600
work-up 調整	182,000
採血	26,000
感染症検査	26,000
	US\$ を ¥ 130 で換算

2. 現況 (97.11 現在)

ドナー数	163,843
------	---------

DR タイピング	25%
DNA タイピング	26,234

3. その他

HLA-AB 一致ドナーは、名古屋第一赤十字病院登録の患者に多く見つかったが、DR までの一致は出ていない。

Europdonor Foudation

T e l : 31 - 71 - 5268002

F a x : 31 - 71 - 5210457

E-mail : Europdonor@Rulif2.leidenuniv NL

1. 費用

正規検索	17,500
HLA タイピング	49,000
DRB1,B3,B4,B5 タイピング	28,000
DQB1	9,800
DPB1	12,250
DNA タイピング A,B	8,400

検体採取	31,500
検体送料	実費
説明	21,000
健康診断	49,000
感染症検査他	24,500
自己血保存 (1 ユニット)	10,500
移植調整	175,000
骨髄採取	1,452,500
キャンセル料	112,500 + 実費

1 ギルダールを¥70で換算

2. 現況 (97.11 現在)

ドナー数	24,087
DR タイピング	97%
DNA タイピング	7,944

FGM—france Greffe de Moelle

T e l : 33-1-53 38 87 40

F a x : 33-1-48 03 02 02

1. 費用

HLA AB タイピング	11,880
--------------	--------

DR タイピング	30,800
DNA タイピング	94,600
検体採取	33,000
送料	実費
移植調整	187 万円 + 運搬実費

フランスフランを¥22で換算

2. 現況 (97.11 現在)

ドナー数	90,662
DR タイピング	59%
DNA タイピング	33,526

3. その他

運営資金 40%は国家、60%は民間団体の出資金である。登録ドナーの平均年齢は 37 歳。海外への骨髄提供も盛んで、93 年度の新規登録患者数の 4370 人のうち国際登録が 3700 人と多くヨーロッパの移植移動の中心ともいえる。海外担当部門が充実している。

名古屋第一赤十字病院登録の患者のうち 2 名が、FGMに HLA-ABDR までの一致ドナーが見つかった。

German National Bone Marrow Donor Registry

T e l : 49 - 731 - 95430 - 0

F a x : 49 - 731 - 95430 - 50

E-mail : secretary@zkrd.de

1. 費用

HLA -DR タイピング	30,000
DRB1 タイピング	41,250
検体採取	45,000
検体送料	実費
移植調整	1,650,000
キャンセル料	112,500 + 実費

1 マルクを¥75で換算

2. 現況 (97.11 現在)

ドナー数	850,781
DR タイピング	25%
DNA タイピング	108,808

3. その他

これまでに、名古屋第一赤十字病院登録患者に多くの AB split の一致ドナーは見つかっている。しかし、6 座一致はなかった。

ドイツ総人口と比較すると、人口 96 人に一名ドナー登録者があり、これに匹敵するのはアメリカ以外考えられない。しかし DR タイピング済みのドナーの少なさから見ると、何らかの事情で登

録から、タイピングへの移行に障害があるのではないか。移植数もドナー数に比べると少ない。

Swiss Bone Marrow Donor Registry

T e l : 41-31-330-0440

F a x : 41-31-332-5991

1. 費用

DR タイピング	55,000	
検体送料	55,000	+実費
移植調整	約 2,700,000	+運搬実費
キャンセル料	300,000	

1 スイスフランを¥100 で換算

2. 現況 (98.1 現在)

ドナー数	14,148	
DR タイピング	95%	
DNA タイピング	12,399	(97.11)

Singapore Bone marrow Donor Programme

T e l : (65) 7723315

F a x : (65) 7775720

1. 費用

タイピング		
AB	26,500	
DRB1	37,500	
採血 CT 用	37,500	+送料
骨髓採取	170 万円	+運搬実費

1 S \$ を 7 5 円として換算

2. 現況 (98.1 現在)

ドナー登録数	19,813	
HLA-A,DR タイピング	80%	
DNA タイピング	1,600	

3. その他

96 年より、名古屋第一赤十字病院から正規検索を開始した患者は、11 名である。

しかし、この機関は、ドナーの登録時に H L A—A、DR、DRB 1 を検査するため正規検索は B のタイピングとなる。このバンクの構成人種は中国人、マレー人のおおき、これまでに H L A の 6 座の一致ドナーは、みつかっていない。