

## 2) 輸血副作用発生時の治療

副作用の原因を臨床症状や臨床所見のみで診断することは、困難であるために対症的に行わざるを得ないが、細菌感染症・TRALIの疑いのある症例では、治療上の助言を行なっていること。

## 3) 輸血副作用の原因推定と副作用発生後の輸血製剤の選択

原因検索の検体検査の期間は現状では1～2週間を要することから、副作用発生後に輸血が再び必要になった場合は患者臨床所見等より、原因を推定し、血液製剤の選択の助言を行なっていること。

## 4. 輸血副作用対策のための輸血療法委員会活動

### 1) 副作用対応マニュアルの作成と広報活動

輸血療法委員会等で、輸血副作用発生時の対応を含むマニュアルを作成し、広報活動を行っていること。

### 2) 副作用発生時の原因製剤回収体制の整備

輸血療法委員会において、原因製剤の回収に関して、診療科の協力体制を構築すると共に、これらの業務が可能な検査技師の配置を含む輸血部業務（当直業務）体制の整備を行なっていること。

厚生労働科学研究費補助金  
医薬品医療機器等レギュラトリーサイエンス総合事業  
輸血用血液及び細胞療法の安全性に関する研究  
分担研究報告書

研究課題 輸血副作用の原因製剤回収および細菌培養検査、抗白血球抗体検査の実施に関するパイロットスタディ

分担研究者 藤井 康彦 山口大学輸血部 副部長  
浅井 隆善 静岡赤十字血液センター 所長  
佐竹 正博 東京都赤十字血液センター 副所長兼検査部長  
研究協力者 岡崎 仁 日本赤十字社中央血液研究所  
日野 学 日本赤十字社 血液事業本部安全管理課

研究要旨

輸血用血液の細菌汚染率および輸血時の副反応の頻度を調査する。また、混入病原体の同定と経路の検索を行う。この調査は、調査可能な施設を限定して、前方視的に実施する。同時に、担当施設における、全ての輸血副作用発生頻度を掌握する。さらに、白血球混入によると考えられる副作用であるTRALI（輸血関連急性肺障害）についても、前方視的調査を行い、予防対策を講じる。

A. 研究目的

細菌感染症さらに、TRALIなどの輸血副作用については原因製剤を確保して、原因製剤の検査を実施しなければ、診断が不可能である。この点が、これまで、これらの副作用の実態が明らかになっていない最大の要因である。これらの副作用の実態を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

1. 輸血副作用調査体制の整備  
臨床の場において、臨床症状の観察とともに、患者血液の細菌培養、輸血用血液の検査が不可欠である。これまでの調査が不十分であった原因のひとつとして、各施設での副作用調査体制が不十分な点が上げられる。このため、総合的な院内輸血副作用調査体制に必要な要件（参加施設要件）をとりまとめ、調査協力施設に提示し、調査体制の整備を促した。

2. 細菌感染症（TRALIを含む）等の前方視的調査

上記の副作用調査体制を含む調査票（別紙資料）を作成し、特定機能病院規模の輸血学会認定施設宛に調査内容を通知し、平成17年1月より、前方視的調査を開始した。

（倫理面の配慮）

輸血副作用の原因検索には、患者採血等を伴うために、輸血前に、輸血の同意書に追加する形で副作用発生時の原因検索のための同意とすることとし、各参加施設の輸血同意書を改善することとした。

なお、本調査研究は診療情報の2次利用にあたり、かつ患者個人情報については収集しないため、本研究自体に対する同意書は必要ないと考えられる。

3. 日本赤十字血液センターとの調査協力体制の確立

本研究は、日本赤十字血液センターが実施している副作用調査を補完する役割があり、協力体制の確立を行なった。

C. 研究成果

1. 輸血副作用調査体制の整備

副作用調査体制について、17施設より、整備が完了したとの報告があり、前方視的調査を開始した。なお、これらの施設以外に、調査体制整備の遅れから、次年度よりの参加予定となった施設があった

## 2. 細菌感染症（TRALIを含む）等の前方視的調査

調査期間1（平成17年1月～3月）の間で、3症例の登録があった。いずれも2℃以上の発熱を認め、呼吸困難などを伴ったが、原因製剤、患者血液の細菌培養、抗白血球抗体はいずれも陰性であり、原因の特定はできなかった。また、いずれの症

例も回復した。

## D. 考察

調査の前提となる副作用調査体制の整備が、各施設で進んでおり、今後登録数が増加すると予測され、輸血用血液の細菌汚染率および輸血時の副反応の頻度の確定できるものと思われる。

## G. 研究発表

### 1. 学会発表

第53回日本輸血学会総会シンポジウム4にて調査結果を発表予定（平成17年5月）

厚生労働科学研究費補助金  
医薬品医療機器等レギュラトリーサイエンス総合事業  
輸血用血液及び細胞療法の安全性に関する研究  
分担研究報告書

研究課題：「抗白血球抗体の血小板輸血、輸血副作用に及ぼす影響」に関する研究

分担研究者 佐竹正博  
東京都赤十字血液センター 副所長兼検査部長

研究要旨

血小板輸血不応状態における抗HLA抗体の検出に際して、従来のLCT法やAHG-LCT法では感度が十分でない場合があるが、フローPRA法はそれを補うとともに非特異反応を鑑別できる利点がある。特殊な血漿分画製剤等を投与されている患者では、抗体検出において非特異反応が出現することがあるので注意を要する。女性の患者で抗HLA抗体が男性の2倍の頻度で検出されることが確認された。発熱反応、アレルギー反応、ショック、TRALIなどの輸血副作用の発生に、抗白血球抗体が関与することを確認することは今回の調査では困難であった。

A. 目的

骨髓移植や悪性血液疾患の治療において長期に血小板輸血を行うと、抗白血球抗体や抗血小板抗体が形成されて、血小板輸血不応状態となる場合がある。この際、患者とHLA型を合わせた血小板製剤（PC-HLA）を輸血しなければならないが、これらの抗体が検出されずPC-HLA輸血の適応とされない場合も少なくない。これは抗体が実際に産生されていないのか、または抗体検出の

感度が十分ではないのかを検討する必要がある。また、抗体の検出にあたって技術上解釈が困難な例がしばしばあるので、その原因を調査することを目的とした。

一方、非溶血性輸血副作用において抗白血球抗体が何らかの原因となりうるかについて、過去の抗体の検出頻度を副作用の種類別に比較して検討した。

B. 方法

抗HLA抗体は伝統的にリンパ球細胞毒試験（lymphocytotoxicity test、LCT、テ

ラサキ法)で検出されてきた。反応系そのものは優れたものと言えるが、これで抗体が検出できなくとも患者は血小板輸血不応状態にあると考えられる例が少なくない。これはLCT法の感度が十分でなく、感度以下の抗体が存在して臨床的に不応状態を生じていることが考えられる。オリジナルのLCT法の感度を2~4倍上昇させたのが抗グロブリンLCT法 (anti-human globulin法、AHG-LCT法)である。全国の血液センターでは抗HLA抗体の検出はこのレベルまで行っている。フローサイトメトリーが整備されているセンターではこれを用いての抗体検出が時に用いられ、感度はさらに2~4倍高い。

LCT法やフローサイトメトリー法は、試験のたびに10~20人のドナーから新鮮なリンパ球を採取しなければならないことが実際には不都合が多く、感度もまだ十分でない時もある。ここでフローPRA法が試行的に導入された。これは、株化培養リンパ球の細胞膜HLA抗原を分離精製し、ビーズに結合させたもので、このビーズを何種類か混合することによりほぼすべてのHLA特異性に対応できるようにしたものである。これはHLAのclass Iとclass IIの両方について用意されている。東京都血液センターでは、2000年からこの方法をLCT法に併用し

て検討を開始した。予備検討として、特異性の明かとなっている500の抗血清を使用して反応性をみた。また過去の患者血清検体500例の反応性をみて特異性・感度に問題がないことを確認した。そのうえで、PC-HLA要請のある患者検体298例について実際の検査に導入した。これらの検討でまったく問題が認められず感度も良好であったために、2003年8月より東京都血液センターではPC-HLA要請の患者検体は、フローPRAでのみ検査を行うこととした。ただし、フローPRA法で抗体陽性との結果がでた場合には、LCT法でも反応性を確認している。フローPRA法の感度は、LCT法の最低8倍の感度がある。特異性によってこれは異なり、最大で64倍もの感度が得られる場合もある。

いっぽう血液センターには輸血による種々の副作用が報告される。あくまでも医療機関による自発報告であるので、報告するかしないかは主治医の判断による。あまりにも日常的な症例は報告されないこともあり、報告の頻度と副作用の種類は輸血副作用の全体像を表しているとは必ずしもいえない。しかし提供された患者検体については、発熱反応、アレルギー反応、ショック、TRALIなどについて、LCT法とフローPRA法を用いて抗HLA抗体、間接蛍光抗体法で抗顆粒球抗体の検出に務めている。

## C. 結果

### 1. PC-HLA 要請患者血清中の抗HLA抗体の検出感度と特異性

PC-HLA供給の要請があった患者については、患者血清が血液センターに送付され、抗体の有無が検討される。同時に患者HLA

タイピングも行う場合が多い。2003年に246例についてAHG-LCTとフローPRAを並行して抗体検索をした結果を示す。

		フローPRA	
		+	-
AHG-LCT	+	79	9
	-	18	140

AHG-LCT法で抗体の見つかる頻度は35.8% (88/246)、フローPRA法で見つかる頻度は39.4% (97/246)であった。実際には不応状態に至る前に抗体検索の依頼がある場合もあるので、この数字がいわゆる臨床的な不応状態での抗HLA抗体の存在する確率そのものとは言えないが、これに近いものであろうと想像される。

AHG-LCT法陽性、フローPRA法陰性の反応が問題であるが、2002年4月から2005年3月までのあいだに東京都血液センターで経験した中で4例は、LCTの反応が、HLA完全マッチのパネルを含めたすべての標的パネルリンパ球に反応するもので、自己抗体的パ

ターンを示していた。主治医に病歴等を尋ねると2例はanti-thymocyte globulinを投与しており、それが標的リンパ球に反応していることが明かとなった。フローに用いるビーズはその抗体のリガンドをつけていないため反応しないと思われる。さらに2例はWiscott-Aldrich症候群の症例であり、この疾患では自己免疫疾患が合併することがあり、その異常の一環として特異性は不明であるが抗リンパ球抗体が産生されたものであろう。このように、AHG-LCT法陽性、フローPRA法陰性の反応のうち臨床的に意味のある抗体は

	特異性		例数
LCT(+) Flow-PRA(-)	なし LCTすべて反応 (完全マッチパネルを含め)	ATG使用例	2
		Wiscott-Aldrich syndrome	2
LCT(+) Flow-PRA(-)	あり	B7	1
		A26+A33	1
LCT(+) Flow-PRA(+)	なし LCTすべて反応 (完全マッチパネルを含め)	CAMPAS IH Anti-CD52 mAb 使用例	2

少ないと思われるが、少なくとも3年間でAHG-LCT法陽性、フローPRA法陰性のグルー

プでHLAの特異性が明かとなったものは2例のみであった。1例はB7に対するもの、もう1例はA26+A33に対するものであった。後者はDTTによる還元試験により抗体がIgMクラスであることがわかっている。フローPRA法の2次抗体が抗IgGであることの弱点がここに出ているが、このような事例は全体でみると極めてまれであり、ほとんど常にフローPRA法が高感度で抗体を検出して

いることは間違いない。

LCT法でHLA完全マッチパネルを含めたすべてのパネルに反応し、非特異反応的であるにもかかわらずフローPRA法でも反応の出る患者が2例あり、検索したところ2例とも骨髄移植時に、抗体産生系を抑制するCAMBUS IH (anti-CD52 monoclonal antibody)を投与されていることがわかった。これも非特異的な反応である。

## 2. クロスマッチ陽性例の解析

現在のPC-HLAの医薬品としての承認事項には患者血清とのクロスマッチが陰性であることが明記されている。上記のように非特異反応と思われる場合にはクロスマッチは陽性となってしまうが、臨床的には問題とならないと思われるので、主治医にこれらのことを了解していただいたうえでクロスマッチ陽性の製剤を供給している。

ところが特異的な反応でクロスマッチ陽性となる例を最近2例経験した。それはC座抗原に対するもので、1例はCw1に対するもの、もう1例は確定はしていないがCw8に対するものと思われた。血小板上にはC座抗原はほとんど表現されていないので、そのPCを輸血しても大きな問題にはならないと思われる。

## 3. 男女による抗HLA抗体産生の違い

2003年の半年間にフローPRA法で抗体が検出される比率を男女別にすると、以下の表ようになる。女性の抗HLA抗体産生率は男性のちょうど2倍である。これは女性

の場合妊娠によってHLAアロ抗原で感作されており、輸血による免疫は二次免疫にあたり、より抗体が産生されやすいためと考えられる。

	検討症例数	抗HLA抗体陽性数
男性	117	30 (25.6%)
女性	129	67 (52%)

## 4. 血小板抗原 (HPA 抗原) に対する抗体と PC 輸血

HPA抗原に対して抗体ができる頻度は、246例の抗体検索中4例1.6%であった (HLA

抗体のできる頻度は上述のように35-40%である)。

2004年3月から2005年3月までのあいだ、東京都センターではHLA-HPA完全マッチの血小板製剤を5例に対して供給した。これに対し、抗HLA抗体がなく抗HPA抗体のみが検出された例は2例のみであった。これ

までいわれているとおり、ほとんどの場合はまずHLA抗原に対して抗体ができ、その後HPAに対して抗体ができてくることが確認された。

#### 5. HLA-PC の輸血回数

1995年8月から2004年6月までのあいだ東京都内ではPC-HLAを、638人の患者に対して合計9212製剤を供給した。これは1症例に平均14.4回PC-HLAを輸血したことになる。最長の患者は、1997年から約3年半にわた

って509回輸血したものである。その他1995年から2年半近く253回輸血した例、2001年から300回近く輸血を続け現在も継続している患者がいる。

#### 6. 輸血副作用における抗HLA抗体、抗顆粒球抗体の存在

輸血による副作用のうち非溶血性副作用として、発熱反応、アレルギー反応、ショック、TRALIの症例に対してHLA抗体、顆粒球抗体を検索している。2001年12月から2005年2月までのあいだ510件のこれら副作用について調べたところ、HLA class Iに対する抗体は59症例11.6%、class IIに対す

る抗体は8症例1.6%に認められた。また、2002年3月から2005年2月までの166件については顆粒球抗体も検索し、29件、17.5%に検出している。これらの副作用に関して抗顆粒球抗体も重要な役割をになっている可能性がある。

	期間	検討症例	抗体陽性者
抗HLA class I抗体	3年3ヶ月	510	59 (11.6%)
抗HLA class II抗体	3年3ヶ月	510	8 (1.6%)
抗顆粒球抗体	3年	166	29 (17.5%)

さらに個々の副作用についてそれぞれの抗体の検出頻度を次に示す。

副作用	抗体	症例数	抗体陽性数
発熱反応	HLA class I	299	37 (12.4%)



	HLA class II	299	5 (1.7%)
	顆粒球	33	6 (18.2%)
アレルギー反応(アナフィラキシーを含む、アナフィラキシーショックを除く)	HLA class I	87	12 (13.8%)
	HLA class II	87	1 (1.1%)
	顆粒球	39	5 (12.8%)
ショック(アナフィラキシーショックを含む)	HLA class I	117	13 (11.1%)
	HLA class II	117	1 (0.9%)
	顆粒球	56	9 (16.1%)
TRALI	HLA class I	167	13 (7.8%)
	HLA class II	167	2 (1.2%)
	顆粒球	132	22 (16.7%)
アナフィラキシーショック	HLA class I	20	3 (15.0%)
	HLA class II	20	1 (5.0%)
	顆粒球	9	2 (22.2%)

抗HLA class II抗体がどの副作用でも数%の検出率であり、これらに関与していることは少ないことが予想される。ここに挙げた副作用のうち、蕁麻疹等のアレルギー反応には一般的に抗HLA抗体の関与は考えられていないが、それでもHLA抗体の検出率は13.8%であり、その他の副作用での検出率が同様に10%内外であることは、これらの副作用での抗HLA抗体の関与が大きいものではないことを示唆している。

ここでの顆粒球抗体というのは、抗HLA抗体を血小板で吸収した後の血清について行っているもので、顆粒球特異抗原に対するものである。その検出率は抗HLA抗体よりもむしろ高く、これらの副作用ではこれらの抗体の方がその出現により大きくかわっている可能性がある。とくにTRALI（輸血関連急性肺障害）の場合には、顆粒球抗体が抗HLA抗体の2倍の検出率であり、この症候への積極的な関与がある可能性を示唆している。

### C. 考察

輸血患者における抗HLA抗体の検出は、血小板輸血不応状態において重要な臨床検査であるが、この検出感度において従来の

LCT法やAHG-LCT法はすでに十分とはいえないことがわかってきた。フローPRA法はそれらに比して高い感度を有している。ビ

ーズに結合させたHLA抗原は、細胞膜を可溶化しアフィニティカラムで精製したものであり、リンパ球膜上にある分子と立体的なコンフォメーションなどが異なる可能性が考えられるが、これまでのところ大きな問題は起きていない。AHG-LCT法陽性、フローPRA法陰性で非特異反応ではない例が2例見つかったが、LCTで見逃されている例数が圧倒的に多いことを考慮すれば、フローPRAで抗体スクリーニングすることのメリットの方が遥かに大きい。

血小板製剤を長期投与するのはほとんどが血液疾患患者であり、そのような患者は種々の免疫抑制剤や血漿分画製剤等を投与されることも多い。これらの製剤による抗体検出検査への非特異反応の影響は大きく、血液センターにこれらに関する情報も同時に伝えてもらうのがデータの解釈にとって都合が良い。Preliminaryなデータではあ

#### D. 結論

血小板輸血不応状態での抗HLA抗体スクリーニングには高感度のフローPRA法の導入が望ましい。また臨床上使用している血漿分画製剤等について情報を血液センター

るが、 $\gamma$ グロブリン製剤を大量に投与された患者では抗顆粒球抗体が高頻度に検出される傾向があるようである。

女性の患者で抗HLA抗体が男性の2倍の頻度で検出されることは、妊娠による一次免疫があるためと思われるが、これによるPC-HLAのprocurementや製剤の調製、輸血の戦略等に関して、特に留意しなければならないことはないようである。しいていえば、多産経産婦の女性患者では高い確率で抗体を産生してくるので、早くから抗体スクリーニングの準備をしておくことなどが注意点であろう。

発熱反応、アレルギー反応、ショック、TRALIなどの輸血副作用の発生に、抗白血球抗体が関与することを確認することは今回の調査では困難であった。ただ、抗顆粒球抗体についても抗HLA抗体と同様に注意を払っていかなければならないであろう。

に送ることがデータの解釈をよりスムーズにするとと思われる。非溶血性輸血副作用の原因探索には、抗顆粒球抗体も考慮に入れて引き続き検討していく必要がある。

#### E. 研究発表

1. 論文発表
2. 学会発表      ともになし。

#### F. 知的財産権の出願・登録状況

特になし。

厚生労働科学研究費補助金  
医薬品医療機器等レギュラトリーサイエンス総合事業  
輸血用血液及び細胞療法の安全性に関する研究  
分担研究報告書

研究課題：同種細胞療法の安全性と効果の調査研究

塩原 信太郎

金沢大学附属病院輸血部

研究要旨 【1】新しい医療と社会的合意に向けて

同種細胞療法は始まったばかりの細胞療法である。輸血部で取り扱うドナーリンパ球輸注療法や再生医療についても、その内容は始まったばかりである。このように新しい治療法を確立する場合には国民の支持が必要である。提供者(ドナー)のリスクが少ないことが望ましいがリスクのない医療行為は少なく、ドナーや細胞を丁寧に扱う“仕組み”が必要である。国民が受容している医療行為の中には、経済的や身体的に非常に負担になる医療もある。これまでの篤志家ドナーからの医療のリスクを調査研究し、社会的合意を得るにはどのような“仕組み”が必要か調査研究した。細胞提供者を安全に管理することを目的として全国の医療機関に対してアフエレーシス(特に血縁ドナーからのリンパ球採取および顆粒球採取)の現状を調査し、その問題点を明らかにすべくアンケート調査を実施した。現在の調査実施中でありその解析は次年度に行う予定である。

【2】『同種細胞療法の効果の調査研究』

造血細胞移植後の抗白血病(GVL)効果は同系移植では惹起されないことや同種移植ではPh1陰性のCMLでも発揮されることなどから移植されたドナーリンパ球の認識する標的抗原は腫瘍抗原ではなく同種抗原であると考えられる。そこでGVHDを惹起する抗原として報告された4種類の接着多型分子とマイナー組織適合抗原として分子レベルで確定しているHA-1の合計5種類の同種多型分子のGVL効果を検討し、多型分子の中でCD62L、HA-1、CD31がGVL効果の標的抗原として重要であることを調査研究した。

(1) 自称健康人の中に含まれる病人の割合。

骨髄バンクのドナー登録の要件は1)20才から50才までの健康人、2)骨髄提供の内容を十分理解している方、3)ドナー登録について家族の同意を得ている方(平成16年度まで)である。条件を満足した提供希望者は、その後調整医師による血圧と簡単な問診後に詳しい血液検査と健康チェックを行う。その後で、第三者や看護師の同席の上で提供意思や健康状態、家族の同意を確認した後に提供候補者になる。このような健康人

(提供候補者)を対象に最終的な健康診断を行うのが術前検診である。骨髄移植推進財団ドナー安全委員会の報告書を参考にすると3000人中63人が不健康あるいは病気と診断され、骨髄採取術中止となっている。その内容を表1に示す。

表1、  
自称健康人の中には2%の病人が含まれている。  
骨髄提供前の健康診断の結果、採取中

臓器別分類	症例数
1、感染症	2例
2、呼吸器障害	11例
3、循環器障害	10例
4、血数検査の異常	10例
5、生化学検査異常	6例
6、肝臓機能異常	3例
7、凝血症異常	4例
8、遺伝性疾患	1例
9、その他	16例
合計	63例 (3000例中)

(3)既に合意の得られている医療行為の危険性の比較

1、日赤の血小板成分採血の副作用頻度について

VVR	0.5%
クエン酸反応	0.038%
皮下出血・血腫	0.7%

日赤の血小板採取の症例中約0.5%にVVRなどの副作用が存在する。優れた環境とベテランの看護婦さんが血管を確保しても、0.5%に副作用が起きる。

2、骨髄バンクの骨髄採取術の短期副作用について

入院例	100%
3日入院	7%
4日入院	62%
5日入院	22%
6日入院	7%
7日以上入院	2%

3、骨髄採取術後の団体傷害保険適応例は

5000例中55例	(1,1%)
-----------	--------

4、骨髄提供の満足度

満足している	83%
何とも思わない	16%

回答無し	1%
後悔している	0%

(4)新しい同種末梢血幹細胞移植ドナーの有害事象(3100例中)

A:急性期有害事象	53例 (1.7%)
B:中長期傷害	33例 (1,0%)
C:腫瘤形成	14例 (0,4%)

JSHCTのHPに公表データの解析(H17年3月)

(5)①血小板採取、②骨髄採取、③末梢血幹細胞採取の医療行為の担当施設

① 赤十字血液センターの採血ルーム又は移動献血車② 骨髄バンク(骨髄移植推進財団、厚労省、日赤データセンター)③ 各施設による差異あり。輸血部、病棟、透析室

(5)ドナーを対象にした専用スタッフ

- ① 常駐
- ② 常駐(コーディネータ)
- ③ 施設に任される

(6) 適格基準以外の施行

- ① なし
- ② なし
- ③ あり

現在、血小板献血と骨髄バンクを介した他人への骨髄提供は社会的受容が得られているが、日本赤十字社や骨髄バンクなど、公共性、公平性、安全性を保つ組織の存在が、国民から信頼が得られる理由と考えられる。つまり、全身麻酔下で入院が必要なほどの身体的負担があってもドナーを支える“仕組み”があれば国民はその医療行為を受容する。一方、末梢血幹細胞採取は全例を造血細胞移植学会が登録しているが、まだ始まったばかりの医療のため社会的合意に達していない。長中期的な副作用の結果はまだ定まっていないが、ドナーを安全に安心して取り扱う“仕組み”を積極的に考え、作ってい

厚生労働科学研究費補助金  
医薬品医療機器等レギュラトリーサイエンス総合事業  
輸血用血液及び細胞療法の安全性に関する研究  
分担研究報告書

研究課題： 細胞提供者を安全に管理するために

分担研究者	甲斐 俊朗	兵庫医科大学輸血部教授
研究協力者	石田 明	慶応大学医学部 輸血部
	山崎 宏人	金沢大学大学院医学系研究科細胞移植学
	長藤 宏司	九州大学第1内科
	清水 透	慶応義塾大学経済学部教授
	田野崎隆二	国立がんセンター中央病院臨床検査部 幹細胞移植科

研究要旨 細胞提供者を安全に管理することを目的として全国の医療機関に対してアフレーシス（特に血縁ドナーからのリンパ球採取および顆粒球採取）の現状を調査し、その問題点を明らかにすべくアンケート調査を実施した。現在の調査実施中でありその解析は次年度に行う予定である。

#### A. 研究目的

造血幹細胞移植療法が確立され多くの難治性血液疾患や免疫不全症、先天性代謝性疾患の治療に応用されている。これらの治療は善意の造血幹細胞ドナーがいてこそはじめて可能な治療法であることはいままでのない。また、移植後の骨髓無形成期には輸血療法が不可欠であり、再発や混合キメラの状況においては幹細胞ドナーからのリンパ球輸血が行われることがある。血縁ドナーからの末梢血幹細胞採取に関しては日本造血細胞移植学会／輸血学会で作成された『同種末梢血幹細胞採取に関するガイドライン』があり、また世界に先駆けたドナー登録制度が実施されドナーの短期・中長期の安全性に関する調査が行われている。

アフレーシスドナーからの血小板、

リンパ球、顆粒球採取に関しては血液センターにおける『血小板・血漿採取のためのアフレーシスドナーの基準』、骨髓バンクの『非血縁ドナーからのリンパ球採取マニュアル』、顆粒球輸血研究会が作成した『顆粒球採取のガイドライン』等があるものの、各医療機関におけるアフレーシス実施の基準や、実施状況、副作用の出現頻度等明らかにはなっていない。

アフレーシスドナーの安全管理、安心して細胞提供を頂くための課題を明らかにし、克服することを目的とし全国の医療機関にアンケート調査を実施した。

#### E. 研究方法

アンケート調査（1次調査および2次調査）。

対象は日本骨髓移植推進財団認定移植

病院、日本さい帯血バンクネットワーク登録医療機関、および以前に顆粒球輸血研究会において顆粒球採取に関する調査を施行した全国406の医療機関である。

1次および2次調査票を資料1、2、3に示した。

#### D. 研究結果

1次調査の回収率は62%であり250施設からの回答を得た。1次調査によりドナーリンパ球採取/輸血および顆粒球採取/輸血経験のある施設に対し詳細な2次調査を実施中である。

#### D. 考察

平成16年度はアンケート調査票の内容の検討、送付で終わった。その内容の解析、即ち、アフェレーシスの実施状況とともに、アフェレーシスの実施体制、ガイドラインから外れた例への対応、移植医以外の一般内科/輸血部医師の関与、ドナー外来、輸血部での管理、血縁ドナーに対する倫理的問題の配慮さらにはアフェレーシスドナーの全例登録システム等本研究課題である『細胞提供者を安全に管理するために』については、2次調査の回収を待って今後詳細に検討していく予定である。

#### F. 健康危険情報

該当なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) 甲斐俊朗：成人のための臍帯血バンク - 成人の臍帯血移植の試み、分担執筆p108-115、血液成分治療、細胞療法の夜明けから臨床医療への応用(廣田 豊、原 宏編)、医薬ジャーナル社、大阪、2004. 10. 25.

2) 甲斐俊朗、国分寺晃、原 宏：EBM血液疾患の治療 2005-2006 VI. 支持療法・輸血 8,白血球除去フィルターと輸血副作用、p749-754。(押味和夫、別所正美、岡本真一郎、加藤 淳 編集)中外医学社、東京2004.

3) Tabata M, Kai S, Satake A, Waka e T, Toda A, Chin M, Nishioka K, Tanaka H, Itsukuma T, Yamaguchi M, Okada M, Takatsuka H, Misawa M, Hara H : Relationships between hematological recovery and overall survival in older adults undergoing allogeneic bone marrow transplantation. Internal Medicine 44 : 35-40, 2005.

4) 甲斐俊朗、原 宏：複数臍帯血移植、血液・腫瘍科Vol 50. 135-140, 2005.

#### 2. 学会発表

1) 甲斐俊朗、三澤真人：シンポジウム『多様化する臍帯血移植』、成人患者に対する臍帯血移植、第65回日本造血細胞移植学会、2004. 12. 17(岡山)

2) Kai S, Misawa M, Iseki T, Takahashi S, Kishi K, Kato S, Hiraoka A, Hara H. Double-unit cord blood transplantation in Japan. 46<sup>th</sup> annual meeting of the American Society of Hematology. 2004. 12. 4-7. (San Diego)

3) Akiyama H, Hara M, Hino M, Sao H, Hoshi Y, Ohto H, Kai S, Ochiai R, Morita K, Nakao Y. Second donation of bone marrow; Japan Marrow Donor Program (JMDP) Experience. 46<sup>th</sup> annual meeting of the American Society of Hematology. San Diego, 2004. 12. 4-7.

4) 三澤真人、戸田暁成、若江 武、糸井久幸、岡田昌也、高塚広行、原宏、藤盛好啓、甲斐俊朗、加藤俊一

；成人に対する複数臍帯血移植の5例、第65回日本造血細胞移植学会、2004.12.16

厚生労働科学研究費補助金  
医薬品医療機器等レギュラトリーサイエンス総合事業  
輸血用血液及び細胞療法の安全性に関する研究  
分担研究報告書

研究課題:細胞療法の安全性に関する基準作成

分担研究者:前川 平

(京都大学医学部附属病院輸血細胞治療部 教授)

研究要旨

近年、造血幹細胞移植の細胞源として、骨髄細胞のほかに、末梢血幹細胞、臍帯血が用いられるようになった。このなかで、臍帯血に関しては、臍帯血ネットワークに参加する各地の臍帯血バンクにおいて、一定のルールに従った方法により、採取・分離・保存が行なわれているが、末梢血幹細胞の採取に関しては、日本輸血学会および日本造血細胞移植学会によりまとめられた「同種末梢血幹細胞移植のための健常人ドナーからの末梢血幹細胞の動員・採取に関するガイドライン(改訂第3版)」を遵守して実施されているところである。しかし、骨髄細胞や末梢血幹細胞の分離・保存に関しては、各施設での自主規制にまかされており、さまざまな異なった方法で処理されているのが現状である。現在広く臨床応用されている通常の骨髄移植および末梢血幹細胞移植に用いる細胞の分離・保存に関して、一定の品質を保証するためのルールづくりを行なうことは喫緊の課題である。

A. 研究目的

近年、ヒトの身体を構成している細胞や組織を利用して医療に用いる細胞治療の開発研究が盛んに進められている。細胞治療とはヒト由来の細胞を輸注、移植することによって行う治療法の総称であり、造血器幹細胞移植、細胞移入免疫療法、遺伝子治療、再生医療などがこれに含まれる。従来から行われている輸血治療はその原型と言える。

これらのなかで、骨髄移植や末梢血幹細胞移植に代表される造血幹細胞移植はすでに

広く臨床応用されている。臍帯血に関しては、臍帯血ネットワークに参加する各地の臍帯血バンクにおいて、一定のルールに従った方法により、細胞の採取・分離・保存が行なわれているが、末梢血幹細胞の採取に関しては、日本輸血学会および日本造血細胞移植学会によりまとめられた「同種末梢血幹細胞移植のための健常人ドナーからの末梢血幹細胞の動員・採取に関するガイドライン(改訂第3版)」を遵守して実施されているところであるが、骨髄細胞や末梢血幹細胞の分離・保存に関しては、



各施設での自主規制にまかされており、さまざまな異なった方法で処理されているのが現状である。このような状況では、造血幹移植に用いられる移植用細胞の品質を一定に保つことは難しい。本研究は、現在広く臨床応用されている通常の骨髄移植および末梢血幹細胞移植に用いる細胞の分離・保存に関して、一定の品質を保証するためのルールづくりを行なうことを目的とするものである。

## B. 研究方法

分担研究者は、日本造血幹細胞移植学会のガイドライン委員であると同時に、日本輸血学会の細胞治療小委員会の委員である。現在、広く臨床応用されている通常の骨髄移植および末梢血幹細胞移植に用いる細胞の分離・保存に関する取り扱いガイドラインを両学会の合同で作成する予定である。現在予定している研究方法として、造血幹細胞移植を行なっている数施設から、骨髄細胞および末梢血幹細胞の分離・保存マニュアルを提出していただき、本研究班の案を策定した後、両学会の評議員に送付してパブリック・オピニオンを聴取し、最終的な「骨髄細胞・末梢血幹細胞の分離・保存に関するガイドライン」を作成し、両学会の理事会での承認を受けた後、公表する予定である。その時期は平成18年3月を予定している。

なお、細胞治療や再生治療に関するトランスレーショナルリサーチに必要な培養操作や遺伝子導入操作を必要とする細胞プロセッシングに関するルールづくりは本研究の対象ではない。

## C. 研究結果

現在、細胞免疫療法、遺伝子治療、再生医療などを含む細胞治療の開発研究が盛んに進められているが、細胞治療には細胞プロセッシング(Cell Processing)という細胞の調整、培養、加工などの工程が必要とされ、その工程には安全性と信頼性を担保する目的でGMP(Good Manufacturing Practice)に準拠した品質管理が必要とされている。しかし、現在広く臨床応用されている骨髄移植および末梢血幹細胞移植に関する細胞プロセッシングは第一カテゴリ(minimally manipulated)に分類され、米国FDAの判断でもGMPの規制は受けない。しかし、規制の対象にならないからと言って、いい加減で済まされるわけがない。国の承認は必要でなくても、院内で標準作業手順書(SOP: Standard Operating Procedure)を作成し、その操作方法などをしかるべき部署(たとえば輸血部)などにおいて管理すべきである。

## D. 考察

### I. GMPとは

GMP(Good Manufacturing Practice)とは医薬品などの製造管理および品質管理に関する国際基準である。医薬品では、研究開発段階から生産→流通→使用されるまでの一貫した品質の保障管理体制が要求されており、前臨床段階での安全性試験の実施についてはGLP(Good Laboratory Practices)が制定され、臨床試験研究実施の際のルールとしてはICH-GCP(International Conference on Harmonization - Good Clinical Practices)を遵守しなければならない。

現在、GMPは医薬品や治験薬だけでなく医薬部外品の一部や医療用具に対しても法制化が進められている。生物学的製剤(ヒトやその他の植物を除く生物に由来するものを原材料として製造される医薬品等で厚生労働大臣が告示するもの)等については、平成9年に『生物学的製剤等の製造管理及び品質管理基準』及び『生物学的製剤等の製造所の構造設備規準』(生物学的製剤等GMP)について」として薬発第506号が出されている。また、ヒト細胞・組織医薬品GMPは「細胞・組織医薬品等の取り扱いおよび使用に関する基本的考え方(薬務公報第1867号別添1、平成13年2月21日)」および「ヒト由来細胞・組織加工医薬品等の品質および安全性の確保に関する指針(同別添2)」として示されている。さらに、平成15年7月から施行されている改正薬事法で定められた「特定生物由来製品」(生物由来製品のうちヒト由来のもの)や「生物学的製剤等」についても、医薬品と同様の安全性と信頼性が求められており、この改正薬事法では生物由来製品の特性に応じた付加的な基準も設けられている。しかし、これらに関連した下位の法令は平成17年4月に公布される予定であり、わが国の細胞治療に関する規制や関連指針の整備はいまだ不十分である。

米国では治療用ヒト細胞の作製は、2001年1月にFDA(Food and Drug Administration)が提言したcGTP(current Good Tissue Practice : Current Good Tissue Practice for Manufacturers of Human Cellular and Tissue Based Products; Inspection and Enforcement; Proposed Rule)[<http://www.fda.gov>

/cber/rules/gtp010801pr.pdf]に準拠して行わねばならないとしている。cGTPは主に細胞治療による感染症の伝播を危惧したものであり、その防止策に関するルールや規制を記載したものである。

## II. GMPの規制を受ける細胞操作と受けない細胞分離・保存操作

GMPの規制を受ける細胞操作とは、一体どのようなものであろうか。米国FDAは、細胞操作が最低限度(minimally manipulated)である場合には特に規制の対象とならないが、それを上まわる有意な操作が行われる場合(more than minimally manipulated)には規制の対象となり、FDAの承認が必要であるとしている。

”minimally manipulated”の定義は、「操作がその組織の本来の性質(=再生や修復の機能をつかさどる能力に関する性能)を損なわない場合」とされている。また、”more than minimally manipulated”は、細胞を培養したり、骨髄細胞から血管内皮細胞を分離・培養したり、またサイトカインなどを用いてある細胞分画を増幅させたり、樹状細胞や抗原特異的細胞障害性T細胞の培養、遺伝子導入、膵臓ランゲルハンス島細胞を分離して門脈経路で肝臓に移植したりする場合などがこの範疇に含まれる。当然、将来的にはES細胞をもちいた再生治療も含まれよう。

細胞治療に関連する細胞プロセッシングの課程で、細胞機能をいかに保ち、その安全性と品質を維持し、保証するかということが重要な問題となってきている。細胞治療に関するガイドラインもその根底にはGMPがあり、GMPは

これらガイドラインの必須の要件として機能している。

#### E. 結論

骨髄細胞や末梢血幹細胞の分離・保存に関しては、各施設での自主規制にまかされており、さまざまな異なった方法で処理されているのが現状である。現在広く臨床応用されている通常の骨髄移植および末梢血幹細胞移植に用いる細胞の分離・保存に関して、GMP規制のような厳格なものではなくても、一定の品質を保証するためのルールづくりを日本輸血学会および日本造血細胞移植学会が主導するかたちで提唱することが必要である。

#### F. 健康危険情報

特記事項なし

#### G. 研究発表

##### 1). 論文発表

1. Matsumoto S, Okitsu T, Iwanaga Y, Noguchi H, Nagata H, Yonekawa Y, Yamada Y, Fukuda K, Shibata T, Kasai Y, Maekawa T, Shapiro AMJ, Tanaka K.: Insulin independence after the first case of living donor islet allo-transplantation in the treatment of unstable diabetes ( *The Lancet*, in press, 2005)
2. Sato, K., Kimura, S., Segawa, H., Yokota, A., Matsumoto, S., Kuroda, J., Nogawa, M., Yuasa, T., Wada, H., Maekawa, T.: Cytotoxic effects of  $\square\square$ T cells expanded *ex vivo* by a third generation bisphosphonate for cancer immunotherapy (*Int J Cancer*, in press 2005)
3. Yuasa T, Kimura S, Niwa N, Yurugi, K, Tsuji H, Egawa H, Tanaka, K., Asano, H., Maekawa, T.: Intraoperative blood loss during living related liver transplantation: analysis of 635 cases at a single center (*Transfusion*, in press 2005)
4. Nogawa, M., Yuasa, T., Kimura, S., Kuroda, J., Segawa, H., Sato, K., Koizumi, M., Maekawa T.: Zoledronic acid mediates Ras-independent growth inhibition of prostate cancer cells ( *Oncol Res*, in press 2004)
5. Nogawa, M., Yuasa, T., Kimura, S., Tanaka, M., Kuroda, J., Sato, K., Yokota, A., Segawa, H., Toda, Y., Okada, Y., Maekawa, T.: Intravesical administration of small interfering RNA targeting PLK-1 successfully prevents the growth of bladder cancer (*J Clin Invest*, in press 2005)
6. Yuasa, T., Tsuji, H., Kimura, S., Niwa, N., Yurugi, K., Egawa, H., Tanaka, K., Maruya, E., Saji, H., Asano, H., Maekawa, T.: HLA in Japanese patients with biliary atresia - a retrospective analysis in the patients with living donor liver transplantation - . *Hum Immunol* 66(3): 290-295, 2005.
7. Segawa, H., Kimura, S., Kuroda, J., Sato, K., Nogawa, M., Yuasa, T., Yokota, A., Hodohara, K., Fujiyama, Y., Maekawa, T.:

- The anti-leukaemic efficacy of the third generation bisphosphonate ONO5920/YM529. *Leuk Res*, 29(4): 451-457, 2005.
8. Yuasa, T., Nogawa, M., Kimura, S., Yokota, A., Sato, K., Segawa, H., Kuroda, J., Maekawa, T.: A third generation bisphosphonate minodronic acid (YM529), augments the interferon  $\gamma$ -mediated inhibition of renal cell cancer cell growth both *in vitro* and *in vivo*. *Clin Cancer Res*, 11: 853-859, 2005.
  9. Maekawa, T., Kimura, S., Kasai Y: Development of novel advanced cell and gene therapy and GMP-controlled cell processing. *JMAJ*, 48(2):1-4, 2005.
  10. Kimura, S., Yurugi, K., Yuasa, T., Tsuji, H., Segawa, H., Kuroda, J., Sato, K., Nogawa, M., Egawa, H., Tanaka, K., Maekawa, T.: Rapid quantitation of IgG antibodies specific for blood group antigens A and B by surface plasmon resonance. *Transfusion*, 45(1):56-62, 2005.
  11. Nogawa, M., Yuasa, T., Kimura, S., Kuroda, J., Sato, K., Segawa, H., Yokota, A., Maekawa, T.: Monitoring luciferase-labeled cancer cell growth and metastasis in different *in vivo* models. *Cancer letter*, 217(2): 243-253, 2005.
  12. Matsumoto, S., Kimura, S., Segawa, H., Kuroda, J., Yuasa, T., Sato, K., Nogawa, M., Tanaka, F., Maekawa, T., Wada, H.: Efficacy of the third-generation bisphosphonate zoledronic acid alone and combined with anti-cancer agents against small cell lung cancer cell lines. *Lung Cancer*, 47(1):31-39, 2005.
  13. Kimura, S., Segawa, H., Ito, C., Jyoko, N., Kuroda, J., Okada, M., Adachi, S., Nakahata, T., Yuasa, T., Filho, V.C., Furukawa, H., Maekawa, T. Inhibition of leukemic cell growth by a novel anti-cancer drug (GUT-70) from *Calophyllum brasiliense* that acts by induction of apoptosis via extrinsic pathway. *Int J Cancer*, 113(1):158-165, 2005.
  14. Tani, K., Azuma, M., Nakazaki, Y., Oyaizu, N., Hase, H., Ohata, J., Takahashi, K., OiwaMonna. M., Hanazawa, K., Wakumoto, Y., Kawai, K., Noguchi, M., Soda, Y., Kunisaki, R., Watari, K., Takahashi, S., Machida, U., Satoh, N., Tojo, A., Maekawa, T., Eriguchi, M., Tomikawa, S., Tahara, H., Inoue, Y., Yoshikawa, H., Yamada, Y., Iwamoto, A., Hamada, H., Yamashita, N., Okumura, K., Kakizoe, T., Akaza, H., Fujime, M., Clift, S., Ando, D., Mulligan, R., Asano, S.: Phase I Study of Autologous Tumor Vaccines Transduced with the GM-CSF Gene in Four Patients with Stage IV Renal Cell Cancer in Japan: Clinical and Immunological Findings. *Mol Ther*. 10(4):799-816, 2004.
  15. Kuroda, J., Kimura S., Segawa, H., Sato, K., Matsumoto, S., Nogawa, M., Yuasa, T.,