

胞数を含む HLA 2 抗原不一致までの臍帯血が臍帯血バンクで見つかった患者、informed consent (IC) が文書で得られている患者、研究に支障を来す臓器機能障害がないこと。

4. 移植計画

前処置：12Gy の全身放射線照射(TBI)＋シクロフォスファミド (CY)120mg/kg ＋ リン酸フルダラビン (FL) 125mg/m² を用いる。詳細は図 2 に示す。

臍帯血移植：臍帯血を day0 (移植日) に 37°C の恒温槽で解凍した後、直ちに輸注する。

GVHD 予防法：GVHD 予防はシクロスポリンまたはタクロリムスと短期メソトレキサート(MTX)を使用する。

5. 評価項目

以下の項目について解析を行う。

主要評価項目：移植後 100 日までの生着。

副次的評価項目：生着速度、無イベント生存 (EFS) 率、全生存 (OS) 率、移植後 100 日生存率、急性 GVHD の頻度とその重症度、慢性 GVHD の頻度とその重症度、感染症合併頻度、前治療による毒性(移植後 28 日以内)。

6. 予定登録数と研究期間

予定登録数：30 例

登録期間：2 年

追跡期間：最終症例の移植後 1 年

研究期間：3 年

7. 研究組織

別表 (表 3) のとおり研究体制を組織した。

D. 考察

UCBT が開始された当初はドナー患者間の HLA 適合度のバリアーが低いことや急性 GVHD 発生が低いことから進行期や高

リスク患者積極的に行われた。しかし、これらのグループへの移植成績は本稿でも示したとおり満足すべき結果ではないと思われる。一方、移植時の患者の状態を配慮した場合には、骨髄移植の場合と同等の成績が得られることも明らかになっており、HLA 適合血縁ドナーが得られない場合には有用な選択肢になり得ることが示された。UCBT の問題点としては、感染症発生頻度の増加、拒絶頻度の増加、血小板回復の遅延、細胞数不足、DLI を行うことができない、免疫担当細胞の未熟性等などがある。これらを克服するための検討として、体外増幅細胞の移植、複数臍帯血移植などの試が実施されつつある。これと同時に、ドナー選択基準の改善、移植前処置法や GVHD 予防法を確立していくことが重要であると考えられる。UCBT での生着の遅延や拒絶には、遺伝子学的 HLA 適合度が関与している可能性が示唆されている。ドナー患者間の HVG 方向で不一致数が多い場合には好中球、血小板の生着率が低く、期間も長い傾向が明らかにされた。小児における造血細胞移植例においてこれまでに 88 例のリン酸フルダラビンを含む前処置使用されている。そのうち、シクロフォスファミド＋リン酸フルダラビン＋TBI (使用線量に関わらず) の組み合わせは 31 例 (血液悪性腫瘍は 15 例) に認められた。これらの症例に関する解析を行うことにより、本研究をより安全にかつ効率よく遂行できるものと考ええる。

図1 概要シエーマ
シエーマ

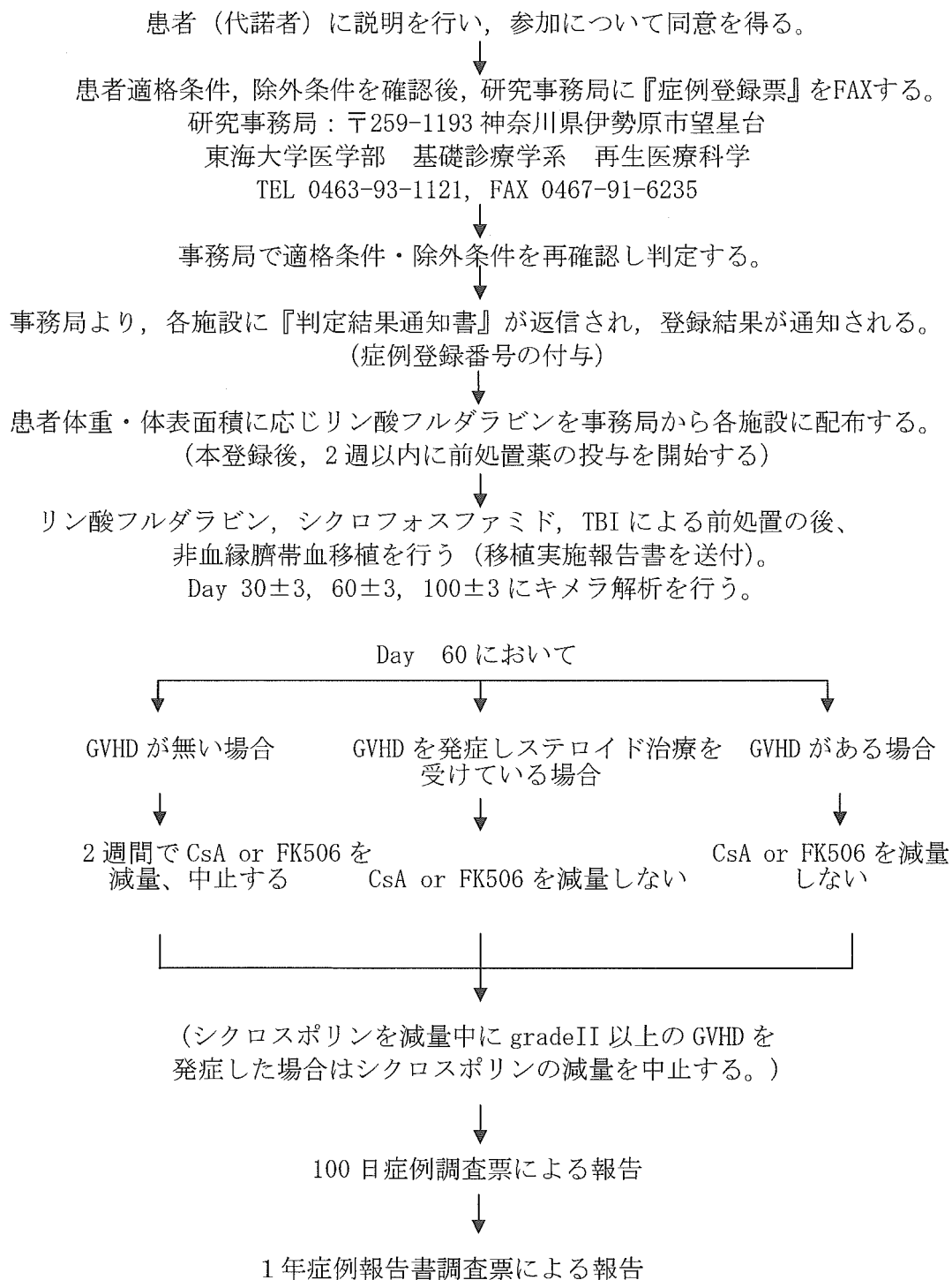


図 2

	Day	-8	-7	-6	-5	-4	-3	-2	-1	0
リン酸フルダラビン	25mg/m ² /day			↓	↓	↓	↓	↓		
シクロフォスファミド	60 mg/kg/day						↓	↓		
TBI*	12Gy:4or(6)分割		↓	↓	(↓)					
非血縁臍帯血移植	2×10 ⁷ cells/kg									↓

*Total 12Gy 4分割または6分割(2Gyx6),4分割の時 3Gy/dx4 でも可。

表1 UCBTにおける小児 ALL187例の前処置法

TBI 群		121 例
	TBI+CY+VP	44
	TBI+CY+CA	21
	TBI+CY	12
	TBI+PAM+Fludarabin	8
	TBI+PAM	7
	その他	34
non TBI 群		66
	BU+CY+VP	24
	BU+PAM	5
	その他	37
計		187

表2 UCBTにおける小児 AML84例の前処置法

TBI 群		68 例
	TBI+CY	15
	TBI+CY+VP	9
	TBI+CY+VP	8
	TBI+PAM	5
	TBI+PAM+VP	5
	その他	19
non TBI 群		23
	BU+PAM	6
	その他	17
計		84

表3 研究組織

研究グループとグループ代表者

主任研究者 東海大学医学部基盤診療学系再生医療科学教授 加藤 俊一
分担研究者 昭和大学藤が丘病院小児科助教授 磯山 恵一

研究事務局

登録事務局（責任者；加藤俊一、担当者；吉場史朗、事務；吉永希世子）
〒259-1193 伊勢原市望星台
東海大学医学部基盤診療学系再生医療科学
TEL 0463-93-1121(内線 2311) FAX 0463-91-6235

適応判定委員

名古屋第一赤十字病院小児科部長 加藤 剛二
昭和大学藤が丘病院小児科助教授 磯山 恵一

データセンター

〒466-8550 名古屋市昭和区鶴舞町 65
名古屋大学大学院医学系研究科予防医学/医学推計・判断学
NPO 法人 血液疾患臨床研究サポートセンター (C-shot)
TEL052-745-3116 FAX 052-745-3117

キメリズム検査施設

〒259-1193 伊勢原市望星台
東海大学医学部附属病院 細胞移植再生医療科 担当者 土田文子
FAX 0463-92-2695 TEL 0463-93-1121(代表)

研究協力者・プロトコール作成委員

佐賀大学医学部小児科助教授	石井榮一
大阪府立母子保健総合医療センター小児内科	井上雅美
横浜市立大学医学部小児科講師	後藤裕明
大阪市立総合医療センター血液腫瘍科部長	原 純一
茨城県立こども病院院長	土田昌宏
弘前大学医学部小児科	高橋良博
兵庫県立こども病院血液腫瘍科部長	小阪嘉之
名古屋第一赤十字病院小児科部長	加藤剛二
九州大学医学部保健学科教授	松崎彰信
埼玉県立小児医療センター血液腫瘍科医長	菊地 陽
名古屋大学大学院医学系研究科予防医学	熱田由子

効果・安全性評価委員

兵庫医科大学輸血部教授	甲斐俊朗
東京都立駒込病院血液内科部長	坂巻 壽

厚生労働科学研究費補助金 ヒトゲノム・再生医療等研究事業
分担研究報告書

臍帯血を用いる造血幹細胞移植技術の高度化と安全性確保に関する研究
研究課題 複数臍帯血同時移植法の確立に関する研究

分担研究者 甲斐 俊朗 兵庫医科大学輸血学 教授

研究要旨

複数臍帯血移植の臨床第1相試験の結果を踏まえ、高体重小児および成人に対する臍帯血移植の適応の拡大、安全性の向上を目的として複数臍帯血同時移植の臨床第2相試験の研究計画書を作成し、その実施体制を整備した。本研究参加施設は4施設であり、施設倫理委員会の承認後順次臨床研究が開始される。

A. 研究目的

臍帯血移植は、ドナーに全く負担がなく、迅速かつ患者の病状に応じた至適時期における移植やHLA不適合移植が可能で、重症の移植片対宿主病(graft versus host disease; GVHD)の発症頻度も低いという利点がある。一方、採取臍帯血量、細胞数には一定の限界があり、高体重小児や成人患者では体重当たりの移植細胞数が少なくなるために造血回復の遷延、生着不全の頻度が高いといわれている。日本さい帯血バンクネットワークでは、この移植のリスクを極力防ぐため、臍帯血提供基準の1つとして『 $2.0 \times 10^7/\text{kg}$ 以上の細胞数を含むものを提供する』と規定しており、従って我が国では血縁者、骨髄バンクにドナーが見つからず、また、血清学的にHLA2抗原までの不一致臍帯血があっても $2.0 \times 10^7/\text{kg}$ 以上の細胞数を含む臍帯血が見いだせない場合には移植の機会が得られない。このような患者への移植の可能性、さらには臍帯血移植の安全性向上のために、複数臍帯血同時移植の安全性および有用性、有効性を検討する。

B. 研究方法

1) 複数臍帯血移植臨床第1相試験と単一臍帯血移植の比較

欧米の一部施設で開始された予後不良造血器悪性腫瘍患者に対する複数臍帯血同時移植の報告を受け、我が国においても複数臍帯血移植の安全性を確認するため、日本さい帯血バンクネットワークの承認のもと、2003年3月より4施設(兵庫医科大学、東大医科研、大阪府立成人病センター、東海大)において『成人に対する複数臍帯血同時移植の臨床研究』が実施された。

(対象および方法)

対象は、HLA一致あるいは1抗原不一致血縁ドナー、HLA適合非血縁骨髄ドナー、HLA4/6以上適合の $3 \times 10^7/\text{kg}$ 以上の細胞数を含む単一臍帯血がみいだせない予後不良造血器悪性腫瘍症例であり、急性骨髄性白血病7例、急性リンパ性白血病3例(混合性白血病; 2例、Ph陽性白血病; 1例)、リンパ芽球性リンパ腫1例の計11例であった。年齢、体重の中央値はそれぞれ33歳(範囲; 19~52歳)、58kg(48~84kg)、移植細胞数は凍結時の細胞数で有核細胞の総数の中央値が $3.88 \times 10^7/\text{kg}$ (2.83-4.79)、CD34陽性細胞が $1.06 \times 10^5/\text{kg}$ (0.62-2.6)であった。移植病期は初回寛解期3例、第2

寛解期4例、第3寛解期1例、非寛解期3例であり、骨髄系白血病に対しては12Gy TBI+ CY(120mg/kg)+ 顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)併用シトシンアラビノシド(Ara C; 3g/m²x2/日 x 2日間)、リンパ系腫瘍に対しては12Gy TBI + CY(120mg/kg)の前処置で、GVHD予防法は、CSA+短期メトトレキセート(short MTX)で行った。

(結果および考察)

28日以内の早期死亡2例を除く全例に好中球、血小板生着がみられ、好中球数500/ μ l以上の到達日数は移植後22日(16-32日)、血小板数50000/ μ l以上の到達日数は移植後53日(32-98日)であった。移植後28日のキメリズム検査では生着した全例が1つの臍帯血由来となっていた。重症AGVHDは9例中1例(3度AGVHD)だけであり、生着9例のうち2例(両例とも非寛解期移植)に再発(移植後249, 281日)がみられたが、登録11例中7例が移植後397-791日(中央値; 609日)で無病生存(1年生存率; 64%)している。

日本さい帯血バンクネットワークに報告されている成人単一臍帯血移植症例(急性白血病第1/2寛解期移植112例)と比較すると(表1、2)に示したように、早期死亡例を2例認めるものの28日以降の生着不全、自己造血の回復は認められておらず、複数移植における生着臍帯血unitの細胞数は単一臍帯血移植生着例の細胞数と比較して有意に少ないにもかかわらず生着速度は劣ってはいない。また移植後1年の無イベント生存率に有意差はないが複数臍帯血移植の方が良い傾向が得られている(図1、2)。

2) 臨床第2相試験

これらの結果を踏まえ『複数臍帯血同時移植』の安全性を再確認するとともに、そ

の有用性・有効性を検討する多施設の参加による臨床第2相試験を厚生労働科学研究補助金『臍帯血を用いる造血幹細胞移植技術の高度化と安全性確保に関する研究』班で実施する。

C. 結果

本年度の分担研究では、複数臍帯血移植の臨床第2相試験のプロトコールを作成した。また、日本さい帯血バンクネットワークに研究実施に際しての複数臍帯血の提供を依頼し承認された。プロトコール概要は、第1相試験とほぼ同じであり、表3に示すような対象患者に、表4に示した基準で臍帯血を選択し、移植後1年の無イベント生存率を主要評価項目、造血回復までの期間、治療関連毒性、急性GVHDの発症頻度・重症度、慢性GVHDの発症頻度・重症度、移植後無病生存率、移植後全生存率を副次的評価項目としてその有用性・有効性を検討することになった。

研究参加施設の条件は、臍帯血移植を10例以上施行した実績のある施設である。44施設の登録があり、施設倫理委員会の承認が得られた施設から順次移植が実施されようとしている。予定登録症例は70例であり、登録期間、最終症例の登録後1年間の追跡観察を行う予定である。

D. 考察

複数臍帯血同時移植法はまだ始まったばかりであり世界的にも症例数が少なく、基礎的な裏付けも乏しい。今後、多施設に拡大し症例数を積み重ねていくとともに、複数臍帯血移植における生着の機序、複数ドナー由来の幹細胞のin vivoにおけるkineticsやcompetition、移植片対移植片反応、免疫学的再構築過程の研究を通してより安全な臍帯血移植を目指すことが科せられた重要な課題である。その上で、単一臍帯血移植との前方向視的な比較研究や、初期臨床研究が開始されたばかりのex vivo

増幅臍帯血移植との比較研究等を経て、造血幹細胞移植療法の中における複数臍帯血移植の役割が明らかにされてくるであろう。

複数臍帯血移植の臨床第1相試験は、兵庫医大血液・腫瘍科 原 宏を統括責任者として、東大医科研(井関 徹、高橋 聡) 東海大学医学部血液リウマチ内科(岸 賢治)、大阪府立成人病センター第5内科(平岡 諒)、兵庫医科大学輸血部(甲斐俊朗)、東海大学医学部基盤診療学系再生医療科学(加藤俊一)で実施されたものである。

E. 結論

複数臍帯血移植の臨床第2相試験のプロトコールを作成するとともに、実施準備体制を整備した。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) M.Misawa, S.Kai, M.Okada, T.Nakajima, K.Nomura, T.Wakae, A.Toda, H.Itoi, H. Takatsuka, T.Itsukuma, K. Nishioka, Y. Fujimori, H. Ogawa and H.Hara: Reduced-intensity conditioning followed by unrelated umbilical cord blood transplantation for hematologic malignancies: Rapid engraftment in bone marrow. *Int J Hematol* 83:74-79, 2006.
- 2) 甲斐俊朗: 複数臍帯血移植、移植 vol 60. 2005 (印刷中)
- 3) 甲斐俊朗、原 宏: 成人における臍帯血移植-複数臍帯血移植、血液・腫瘍科 50; 135-140, 2005.

2. 学会発表

- 1) S.Kai: Cord blood transplantation for adults with hematological malignancies in Japan. The 6th

Nagoya International Blood and Marrow Transplantation Symposium. 2005.5.21-22 (Nagoya)

- 2) 甲斐俊朗、三澤真人、大塚欣敏、高橋隆幸、小阪嘉之、村山 徹、原 宏: ワークショップ、HLA 適合度と臍帯血移植成績-兵庫さい帯血バンクからの報告第67回日本血液学会、第47回日本臨床血液学会合同総会、2005.9.18 (横浜)
- 3) 甲斐俊朗: シンポジウム、『幹細胞移植の現状と将来』、臍帯血バンクと臍帯血移植、第41回日本移植学会総会、2005.10.28 (新潟)
- 4) 甲斐俊朗: ワークショップ、『低温医学と血液診療』臍帯血移植の今後の展望、第32回日本低温医学会総会 2005.11.25 (筑波)

表 1, 患者背景

	Double-unit n=11	Single-unit n=112
Disease AML	7	55
ALL	3	57
LBL	1	0
Conditioning regimen	TBI/ araC /CY TBI/CY	various
GVH prophylaxis	CSA/sMTX	various
Clinical status at CBT		
CR1/2	7	112
others	4	
NCC of engrafted-unit	1.99 (1.51-2.93)	2.54 (1.70-5.49)

表 2, 早期死亡と生着不全

	early death	graft failure	auto -recovery
Double-unit CBT n=11	2	0	0
Single-unit CBT			
2.5x10 ⁷ /kg> n=53	3	8	3
2.5x10 ⁷ /kg=< n=59	5	7	0

Early death; death within 28days

表 3, 対象

- 1) 従来の治療では治癒が望めない造血器悪性腫瘍患者
 - * 急性骨髄性白血病; 初回寛解期以外
 - * 急性リンパ性白血病; 初回寛解期以外
 - * 極めて予後不良の初回寛解期急性白血病 (寛解導入に複数コースの化学療法を要した初回寛解急性白血病、Ph陽性急性白血病など) を含む
 - * 慢性骨髄性白血病; 移行期・急性転化期
 - * 治療抵抗性悪性リンパ腫
 - * 骨髄異形成症候群; RAEB-I, RAEB-II, および輸血依存性が高いあるいは高risk染色体異常を有するRA
- 2) 今回の臍帯血移植が初回造血幹細胞移植として行われる患者
- 3) 16歳以上、55歳未満の成人患者および高体重小児患者
- 4) 前処置開始前に、明らかな活動性の感染症を有していない患者
- 5) HIV抗体陰性の患者
- 6) 血縁者にHLA一致および1抗原不一致ドナーが得られない患者
- 7) 非血縁者にHLA一致ドナーが得られない患者、あるいはHLA一致ドナーがいても、患者の病態から早急に移植を必要とする患者
- 8) 患者体重あたり2.5x10⁷/kg以上の細胞数を含むHLA 2抗原不一致までの単一臍帯血がさい帯血バンクで見つからない患者
- 9) 前処置療法に用いる薬剤、ならびに急性GVHD予防に用いる薬剤に対して過敏症の既往のない患者
- 10) informed consent (IC) が文書で得られている患者 (患者が未成年の場合は保護者からもICを得る)

表4, 移植臍帯血の選択基準

- 1) 血清学的に HLA 2 抗原までの不一致かつ患者体重あたり細胞数 $2.5 \times 10^7/\text{kg}$ 以上の単一臍帯血がない場合に、移植総有核細胞数が $2.5 \times 10^7/\text{kg}$ 以上になるように2つの臍帯血を選択。
- 2) 細胞数 $2 \times 10^7/\text{kg}$ 以上の臍帯血を2つ用いることはしない。
- 3) $1.5 \times 10^7/\text{kg}$ 以上の細胞数を含む臍帯血を1つは組み入れる。
- 4) 患者と臍帯血の HLA 適合度は血清学的に HLA 2 抗原不一致までとするが可能な限り近いものを選択。
- 5) 2つの臍帯血間の HLA の適合度は可能な限り近いものを選択。
- 6) 2つの臍帯血は可能な限り1つの臍帯血バンクから提供をうける。
- 7) 患者、臍帯血とも、HLA-A,B, DR は DNA high (or middle) resolution typing を行う。また、HLA-C 抗原も明らかにしておく。

好中球生着

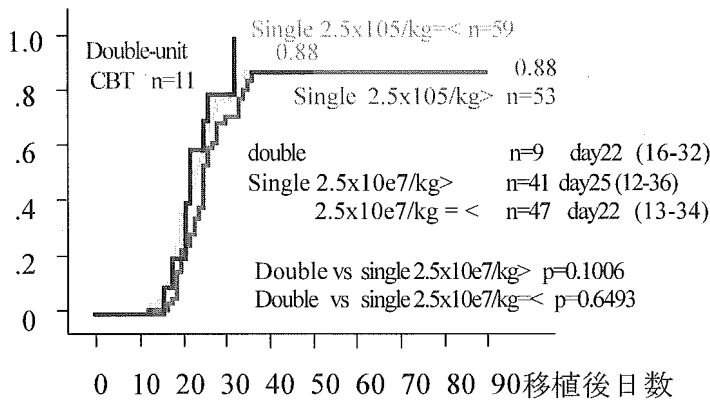


図1, 複数および単一臍帯血移植後の好中球生着

無イベント生存率

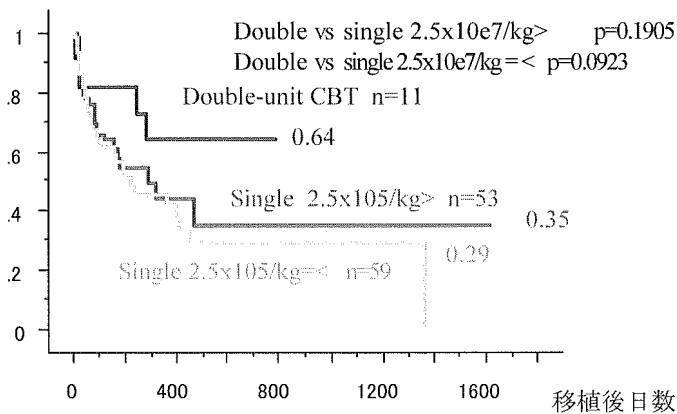


図2, 複数および単一臍帯血移植の無イベント生存率

厚生労働科学研究費補助金 ヒトゲノム・再生医療等研究事業
分担研究報告書

臍帯血を用いる造血幹細胞移植技術の高度化と安全性確保に関する研究
研究課題 非血縁者間臍帯血移植後の感染症に関する研究

分担研究者 加藤 剛二 名古屋第一赤十字病院小児血液科腫瘍科 部長

研究要旨

非血縁者間臍帯血移植後の非再発死亡の要因として感染症は重要であり、これまでの国内の移植例においては非再発死亡例中感染症が死因と考えられる症例は 49.6%であった。とりわけ移植後の敗血症の発症時期は移植後 10 日以内に集中しており、移植直後の感染症対策が特に重要と考えられた。真菌ではアスペルギールス症及びカンジダ症が、またウイルスではサイトメガロウイルス、HHV-6 感染症が頻度も高く重症化の原因となった。今後は移植成績向上のために非血縁者間臍帯血移植後の感染症に対してより適切な予防及び治療が重要と考えられた。

A. 研究目的

非血縁者間臍帯血移植後は HLA 適合ドナーが得られない場合の選択肢として近年その移植例が成人を中心に増加しつつある。しかしながらそれに伴う移植関連合併症としての感染症の克服は重要課題であり、その要因の解析は移植成績向上に必須と考えられるため国内の非血縁者間臍帯血移植後の感染症につき解析を試みた。

B. 研究方法

1997 年から 2005 年までに日本さい帯血バンクネットワーク（以下ネットワークと略）に参画する臍帯血バンクから供給された臍帯血を用いて移植が実施された非血縁者間臍帯血移植の 1872 例につき移植後の感染症の解析を行った。すなわち細菌、真菌、及びウイルスのそれぞれにつき感染症の症例数、起炎菌の種類、及び死因との関係につき調査した。なおこの研究に関してはネットワークに対して各地域バンクから報告された臍帯血並びに移植データを利用したがそれらデータは各地域バンクで匿名化されているため倫理的には問題ないと考えられる。

C. 研究結果

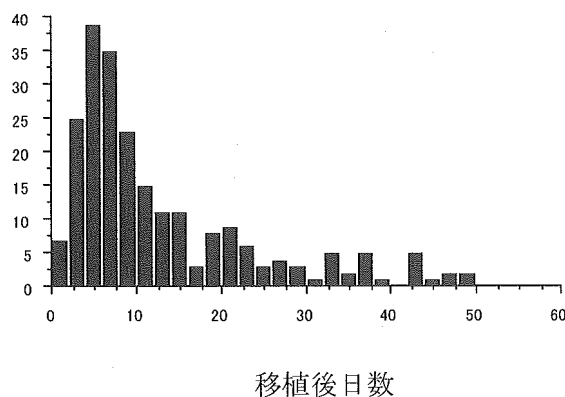
1. 非血縁者間臍帯血移植後の死因に占める感染症の比率

移植後 100 日報告がなされた 1872 例中、生存は 954 例、死亡は 918 例で死亡例中 621 例が移植関連合併症死であった。この移植関連死亡例における死因の分析では感染症と回答された症例は細菌感染 175 例、真菌感染 83 例、ウイルス感染 53 例、原虫感染 1 例、原因不明感染 26 例であった。感染症が死因となった症例は一部で相互に重複するためこれを整理すると 621 例中 308 例（49.6%）は何らかの感染症が死因の単独もしくは複合的な要因となっていた。

2. 細菌感染症

1872 例中、1290 例に何らかの細菌感染症がみられ、366 例が敗血症（内起炎菌証明例は 286 例）、肺炎 63 例であった。敗血症の発症日は移植直後に集中しており、特に 10 日以内に 139 例が集中していた（図 1）。

図1. 非血縁者間臍帯血移植後の敗血症発症日件数



また敗血症の起炎菌を表1に示すが *Staphylococcus* 属、*Pseudomonas* 属、*Enterococcus* 属が多く、*Staphylococcus* 属では *St.aureus* が40例検出され、中でも MRSA においては16例中11例で細菌感染が死因であった。また *P.aeruginosa* による敗血症が確認された35例の非再発死亡症例中、26例の死因が細菌感染とされており、その中でも特に多剤耐性緑膿菌敗血症の死亡率は高かった。さらにグラム陽性球菌においても *E.faecium* や *St.mitis* による敗血症の場合は死亡率が高かった。

表1. 敗血症の起炎菌

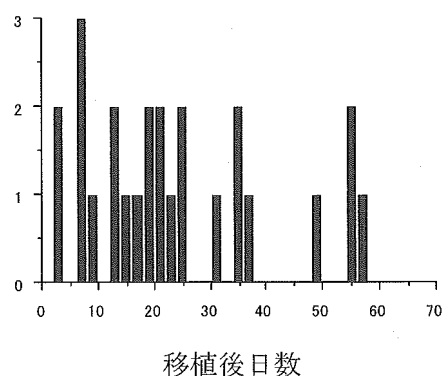
	例数
<i>Staphylococcus</i> 属	158
<i>Pseudomonas</i> 属	54
<i>Enterococcus</i> 属	53
<i>Streptococcus</i> 属	21
<i>Bacillus</i> 属	9
<i>E.coli</i>	8
<i>C.difficile</i>	5

3. 真菌感染症

アスペルギルス感染症：内臓真菌症として重篤な病態に至ることの多いアスペルギ

ルス感染症は35例にみられ内20例が非再発死亡であり、さらに10例の死因が真菌感染症であった。また感染部位は肺が最も多く、治療に対する反応性は不良な場合が多い。カンジダ症：カンジダ血症として同定されたカンジダ感染症は36例報告され、菌種としては *C.albicans*、*C.krusei*、*C.tropicalis*、*C.glabrata* 等が検出された。この内、前2者は非再発死亡のそれぞれ8例中7例、4例中3例において真菌感染症が死因となっていた。またカンジダ血症は移植後60日までにはほぼ連続的に生じており、敗血症の発症日とは様相が異なっていた(図2)。

図2. 非血縁者間臍帯血移植後のカンジダ血症の発症日件数



4. ウイルス感染症

1) サイトメガロウイルス (CMV) 感染症の臨床像

1872例中同ウイルス感染症と報告された症例は107例であり、その臨床的内訳は腸炎38例、肺炎29例、網膜炎12例、肝炎6例、であった(表2、一部重複)。またCMV感染症を有する117例中、再発死亡の16例を除いた91例中の非再発死亡例数は38例で内12例の死因がウイルス感染症と報告された。

2) 輸血ドナーの CMV 感染歴と移植後結果

移植後の輸血についてすべて CMV 陰性ドナーから輸血された症例は 116 例、一部陰性ドナーから輸血された症例は 22 例、すべてランダムドナーから輸血を受けた症例は 1177 例であった。また輸血ドナーが CMV 感染と同ウイルス感染症に与える影響として CMV 陰性ドナーから輸血された患者 116 例での同ウイルス感染は 26 例、同感染症は 1 例であり、非再発死亡例は 29 例 (25%) であったが死因としてのウイルス感染症は報告されなかった。移植前に患者の CMV 抗体価が判明している 852 例において陰性者と陽性者での CMV 感染及び感染症を比較した結果、陰性者 125 例中、同感染 31 例、同感染症 3 例であり、同陽性者 727 例中、同感染は 374 例、同感染症は 53 例であった。この結果より CMV 抗体陰性患者においては移植前にランダムドナーから輸血された症例では CMV 陰性ドナーから輸血を受けた症例と同等の CMV 感染および感染症の発症率であったと考えられる。

3) その他のウイルス感染症

CMV 以外のウイルス感染症としては 261 例で報告されており、HHV6 が 82 例、VZV が 60 例、アデノウイルスが 52 例、

BK ウイルスが 21 例、HSV が 14 例、EB ウイルスが 10 例、その他 7 例であった (表 3)。とりわけ CMV 感染症に次いで頻度の高い HHV-6 感染症では非再発死亡 24 例中 13 例の死因がウイルス感染症となっており、アデノウイルスと共に注意すべきである。

D. 結語及び考察

非血縁者間臍帯血移植は alternative donor からの移植法として近年その施行例が成人を中心として急増しているがまだ種々の移植関連合併症の比率が高く克服すべき問題が多い。とりわけ感染症は非再発死亡原因の筆頭であり、移植成績向上のためには今後も引き続き感染症対策を重要課題として取り組むべきと考えられる。

E. 研究発表

加藤剛二：臍帯血移植、非血縁者間骨髄移植、および HLA 不適合血縁者間移植の成績比較、第 67 回日本血液学会・第 47 回日本臨床血液学会 合同シンポジウム、2005.09.19 (横浜)

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

表 2. CMV 感染症

感染臓器	症例数	死亡例数	非再発死亡例数	ウイルス感染死亡例
腸炎	38	18	13	5
肺炎	29	21	18	6
網膜炎	12	4	4	0
肝炎	6	3	3	1
脳炎	3	3	2	1
その他	11	9	5	1

表 3. その他のウイルス感染症

ウイルス名	症例数	死亡例数	非再発死亡例数	ウイルス感染死亡例
HHV-6	82	34	24	13
Varicella zoster virus	60	12	6	2
Adenovirus	52	33	27	8
BK virus	21	10	7	1
Herpes simplex virus	14	3	3	0
EB virus	10	6	1	0
RS virus	4	4	3	1
JC virus	2	1	0	0
Measles	1	0	0	0

厚生労働科学研究費補助金 ヒトゲノム・再生医療等研究事業
分担研究報告書

臍帯血を用いる造血幹細胞移植技術の高度化と安全性確保に関する研究
研究課題 臍帯血の品質管理に関する研究

分担研究者 高梨美乃子 東京都赤十字血液センター 技術部長

研究要旨

本邦には 11 の臍帯血バンクがあり、15 カ所の調製保存施設にて活動している。臍帯血の品質の指標となる検査についての手技とその評価はすべての施設で同じではない。日本さい帯血バンクネットワークにて多施設比較試験を行ったところ、その誤差範囲が細胞数は約 10%、CD34 は約 20%、CFU-GM はそれ以上であった。抗 HLA 抗体の移植結果に及ぼす意義について基礎検討を行った。

A. 研究目的

臍帯血の品質を示唆する検査項目の設定とその多施設間比較試験を行い、臍帯血データのバンク間格差についての情報公開を求める声に応える。また臍帯血移植の安全性向上の為にレシピエント抗 HLA 抗体と移植結果について後方視的検討を行その意義を明らかにする。

B. 研究方法

(1) 本邦 11 臍帯血バンクの同意のもと、凍結前臍帯血検体を同時に各調製保存施設へ送付し、細胞数、CD34+細胞数、および可能であれば CFU-GM 数を算定した。結果を収集し比較検討した。凍結後検体を用いての多施設比較試験は、コロニーアッセイメディアムメーカーが全米骨髄バンク(NMDP)に提案した計画があるので、これに参加する。(2) レシピエント抗 HLA 抗体が移植結果に及ぼす影響について、臍帯血バンクにて保管している患者血漿を用いて後方視的検討を行った。抗 HLA class I

および class II 抗体を間接蛍光抗体法にて測定し、その特異性と臍帯血 HLA 抗原との交差可能性までを判定し移植結果を解析した。(3) 無菌検査の鋭敏化について、基礎検討を行った。

C. 研究結果

(1) 臍帯血の品質を反映する検査項目として凍結前検体を用いて細胞数、CD34+ 細胞数、CFU-GM 数を 3 回にわたって検討した。過去に検討した各調製施設におけるデータ再現性が 5%以内であった事をも含み、表示臍帯血数はほぼ安定して約 10%の誤差を含むものと考えられた。(第 1 回比較試験で、1 バンクについては検体条件が悪かったと推定された。)

細胞数 x10 ⁶	第1回	第2回	第3回
Mean ± SD	8.6 ± 0.6	8.6 ± 0.5	12.6 ± 0.6
max	10.1	9.3	13.7
min	7.5	7.4	11.4
95% CI	8.3 - 8.9	8.4 - 8.9	12.3 - 12.9

CD34+数測定はほぼ 20%の誤差を含み安定していると考えられた。コロニーアッセイは技術者間の判断基準の幅が大きく、過去に研修を行っているが、約 30-40%の相違を認めた。

(2) 東京都赤十字血液センター臍帯血バンクにて保管してある移植患者血清を用いてレシピエント抗 HLA class I または class II 抗体の有無とその特異性を判定した。移植後 21 日以内に死亡した 20 症例を除外し解析し得たのは 223 例であった。抗 HLA 抗体(class I または class II いずれか)陰性の 189 例中 24 例、および抗 HLA 抗体陽性の 34 例中 6 例で好中球生着を認めなかった。この 2 群間に統計的有意差は認められなかった。抗 HLA 抗体特異性と臍帯血抗原とが交差する 5 例中 2 例が生着しなかったが、その他の群との間に統計的有意差は認められなかった。

(3) 東京都赤十字血液センター臍帯血バンクでは最終産物 0.5ml のほかに HES 沈降赤血球 9.5ml を用いて無菌検査を行って

る。この結果、最終産物での検査結果のみを判定する場合に比べ、無菌試験の検出率を 88% 高める事ができた。臍帯血移植の安全性を向上させるべく、方法と感度について再検討すべきと考えられた。

D. 考察

臍帯血の品質の指標となる検査手技は施設によって異なる場合がある。臍帯血選択の際に表示されるデータのバンク間格差についての情報公開を求める意見があり、日本さい帯血バンクネットワークにて多施設比較試験を行った。細胞数算定は最も安定した検査法であり、機器管理用の標準血球測定においても約 10%の変動を許容している。現状の公開データは約 10%の範囲内で安定していると予想される。CD34+数は再現性も約 10%程度変動するが、約 20%の範囲内で安定していると予想された。CFU-GM は過去に検査担当者の研修を行ったが、検査値は約 4 割ほども変動すると示され、内外の臍帯血バンク関係者がコロニーアッセイを半定性試験と見なす所以である。複数施設を抱えるバンク内での検査値の相違はほぼ全体での相違と重なり、バンクによる検査値の傾向を特定する事は困難と考えられた。

レシピエント抗 HLA 抗体の存在は一般的に移植結果に負の影響を与えると考えられている。今回の後方視的検討では有意差を認めなかったが、今後は他バンクの協力を得て症例数を集積する予定である。

無菌検査には多くの培養系があり、各バ

ンクによって特定の方法を用いている。その感度についての多施設検討は将来の課題である。今後は採取後調製までの温度管理についても検討する計画である。

E. 結論

凍結前算定の細胞数は約 10%、CD34+ 数は約 20%の幅の相違を含むと考えられた。コロニーアッセイの相違は更に大きいものであった。移植成績に及ぼすレシピエント抗 HLA 抗体の意義についてはより多い検体数・症例数を集積する必要があると考えられる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

なし

H. 知的所有権の出願・取得情報

なし

厚生労働科学研究費補助金 ヒトゲノム・再生医療等研究事業
分担研究報告書

臍帯血を用いる造血幹細胞移植技術の高度化と安全性確保に関する研究
研究課題 成人における臍帯血移植（骨髄破壊的前処置法の標準化）

分担研究者 高橋 聡 東京大学医科学研究所先端医療研究センター血液腫瘍内科 講師

研究要旨

東京大学医科学研究所附属病院での成人患者に対する臍帯血移植について解析した。今後は、この結果を基に多施設での前方視的臨床試験を計画・実行し、同種移植療法の中における臍帯血移植の位置づけを検討する予定である。

A. 研究目的

東大医科研では、成人患者に対する臍帯血移植に積極的に取り組んでおり、良好な成績が得られている。多施設での前方視的臨床試験を計画するうえでの基礎資料とするために、医科研における臨床経験を解析する。

B. 研究方法

東大医科研では 1998 年 8 月から 2005 年 8 月までの 7 年間に 131 例の臍帯血移植をおこなってきた。この中で、成人患者に対する TBI 12Gy を含む標準的前処置を用いた初回移植は 100 例であった。

C. 研究結果

患者年齢は 38 (16-55) 才、体重は 55 (36-76) Kg、ドナーサーチ開始から移植までの期間は 2 (1-36) か月であった。移植臍帯血は、1 座不一致 22 例、2 座 51 例、3 座 25 例、4 座 2 例で、凍結時細胞数 2.4 (1.1-5.3) $\times 10^7$ /kg、CD34 陽性細胞数 0.9 (0.2-9.0) $\times 10^5$ /kg であった。生着前死亡例は 5 例、生着不全は 5 例であった。急性

GVHD (評価可能 90 名) は、II 度以上 55 名、III 度以上 7 名で、慢性 GVHD (評価可能 80 名) は 73 名が発症し、全身型は 22 名であった。2005 年 10 月 15 日における生存者は 76 名で、その中央観察期間は 905 日、3 年生存率は 72%。原疾患およびリスク別の患者数とイベント (再発、生着不全、死亡) 数、移植後 3 年無イベント生存率を以下に示す。

疾患	リスク	患者数	イベント数	3 年無イベント生存率
AML	標準	26	2	96%
	高	32	13	55%
ALL	標準	9	2	78%
	高	11	7	33%
MDS	標準	3	0	100%
	高	7	1	86%
CML	標準	0	0	-
	高	5	2	60%
ML	標準	2	2	0
	高	5	0	100%

D. 考察

以上の経験をふまえて当施設では、同種移植の適応があり、血縁ドナーがいない55歳以下の造血器腫瘍患者では、活動性感染巣および抗 HLA 抗体が存在しないことが確認された場合は、臍帯血を第一の移植細胞ソースと考えて治療方針について検討をおこなっている。

E. 結論

東大医科研における成人に対する臍帯血移植の経験によって、生着、GVHD、生存率において、安全かつ有効な治療法である可能性が示唆された。当科で実施中の臍帯血移植プロトコルを用いて、多施設での前方視的臨床試験を計画し、さらに安全性と有効性について確認されることが標準的治療法としての位置づけが得ることができるのか、検討が必要である。

F. 研究危険情報

特になし

G. 研究発表

1. Nakai K, Kanda Y, Fukuhara S, Sakamaki H, Okamoto S, Kodera Y, Tanosaki R, Takahashi S, Matsushima T, Atsuta Y, Hmajima N, Kasai M, Kato S. Value of chemotherapy before allogeneic hematopoietic cell transplantation from an HLA-identical sibling donor for myelodysplastic syndrome. *Leukemia* 19 396-401, 2005
2. Teshima T, Matsuo K, Matsue K, Kawano F, Taniguchi S, Hatanaka K, Nakao S, Tanimoto M, Hara M, Eto T, Wake A, Abe Y, Ono Y, Takemoto Y, Harada M, Takahashi S, Ishida Y, Takemoto Y, Imamura M, Imamura M, Masauzi N, Hirokawa M, Narumi H, Sunami K, Takaue Y. Impact of HLA mismatch on acute graft-versus-host disease and graft failure after reduced intensity conditioning allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Br J Haematol* 130:575-587, 2005.
3. Yanada M, Naoe T, Iida H, Sakamaki H, Sakura T, Kanamori H, Kodera Y, Okamoto S, Kanda Y, Sao H, Asai O, Nakai K, Maruta A, Kishi K, Furukawa T, Atsuta Y, Yamamoto K, Tanaka J and Takahashi S. Myeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia in adults: significant roles of total body irradiation and chronic graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant* 36:867-872, 2005.
4. Ooi J, Iseki T, Takahashi S, Tomonari A, Takasugi K, Uchiyama M, Konuma T, Fukuno K, Ohno N, Nagamura F, Uchimarui K, Tojo A, Asano S. Unrelated cord blood transplantation after myeloablative conditioning for patients with refractory anemia. *Int J Hematol*, 81: 424-427, 2005

5. Tomonari A, Takahashi S, Shimohakamada Y, Ooi J, Takasugi K, Ohno N, Konuma T, Uchimaru K, Tojo A, Odawara T, Nakamura T, Iwamoto I, Asano S. Unrelated cord blood transplantation for a human immunodeficiency virus-1-seropositive patients with acute lymphoblastic leukemia. Bone Marrow Transplant. 36:261-262, 2005
 6. Tomonari A, Takahashi S, Ooi J, Iseki T., Takasugi K, Uchiyama M., Konuma A., Futami M., Ohno N, Uchimaru K, Tojo A, Asano S. Human herpesvirus 6 variant B infection in adult patients after unrelated cord blood transplantation. Int J Hematol. May 81; 352-355, 2005
 7. Tomonari A, Takahashi S, Ooi J, Takasugi K, Ohno N, Konuma T, Shirafuji N., Tojo A, Asano S. Human herpesvirus 6 variant A infection with fever, skin rash, and liver dysfunction in a patient after unrelated cord blood transplantation. Bone Marrow Transplant. 36: 1109-10, 2005
 8. Kanda Y, Sakamaki H, Sao H, Okamoto S, Koderu Y, Tanosaki R, Kasai M, Hiraoka A, Takahashi S, Miyawaki S, Kawase T, Morishima Y, Kat S and Japan Marrow Donor Program. Effect of Conditioning Regimen on the Outcome of Bone Marrow Transplantation from an Unrelated Donor. Biol Blood Marrow Transplant 11(11): 881-889, 2005
 9. Takahashi S. Cord blood transplants for adults using myeloablative regimens. Biol Blood Marrow Transplant 11(11): 928-929, 2005.
- H. 知的財産権の出願・登録状況
特になし