
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

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

平成 18 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 加藤 俊 一

平成 19 年 (2007 年) 3 月

はじめに

本報告書は、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」の一つである「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」班における平成18年（2006年）度の研究成果をまとめたものである。本研究班は臍帯血移植の技術の高度化と提供される臍帯血の品質向上を目的として平成17年度に組織され、本年度は2年度目にあたるとる。

初年度においては、臍帯血の採取から分離保存、品質評価方法、臍帯血移植の成績解析、臨床研究の進め方などについて基本的な計画の立案を行い準備の整った研究から開始された。本年度はこれらの研究計画に基づいてそれぞれの研究が本格的に進められた。

わが国における臍帯血移植あるいは臍帯血バンク事業は国際的にも注目されており、臍帯血バンクのシステムや移植成績について正確な情報を海外に向けて発信する必要がある。また、臍帯血バンクのあり方や臍帯血の品質管理については国際的な標準化と協調が求められている。

そのような観点にたつて、厚生労働省では平成17年度に厚生労働科学研究ヒトゲノム・再生医療等研究事業「サイトカインによる増幅培養臍帯血による臍帯血移植の臨床試験」班（主任研究者：中畑龍俊教授）に「臍帯血医薬品化に関する調査研究」を委託し、アメリカ、ドイツ、イギリスなどにおける海外の実情調査と、国内の臍帯血バンクでの実態調査を行った。その結果を踏まえて、本年度は中畑班と当研究班が合同でわが国における今後のあり方の検討を行うこととなった。

本報告書は18年度の研究業績をまとめたもので、分担研究者ならびに研究協力者の方々に厚く御礼を申し上げる次第である。

2007年3月

加藤 俊一

研究班の構成

	氏 名	所 属 ・ 役 職 ・ 専 門	役 割 分 担
主任研究者	加藤 俊一	東海大学医学部基盤診療学系・教授 造血幹細胞移植、再生医療科学	研究計画立案・総括
分担研究者 (五十音順)	東 英一	三重大学医学部附属病院・助教授 細胞移植	麻疹ウィルスに対する DC ワクチンの開発
	熱田 由子	名古屋大学医学部・助手 生物統計学, 臨床試験方法論	臍帯血移植成績登録システムの開発
	安藤 潔	東海大学医学部内科学系・教授 血液学	臍帯血の骨髄移植法の開発
	磯山 恵一	昭和大学藤が丘病院・助教授 小児血液学	小児における臍帯血移植 (至適前処置と GVHD 予防法の確立)
	甲斐 俊朗	兵庫医科大学・教授 輸血学	複数臍帯血の同時移植法の確立
	加藤 剛二	名古屋第一赤十字病院・部長 小児血液学	臍帯血移植時の感染症要因の解析と対策の検討
	坂巻 壽	東京都立駒込病院・部長 造血幹細胞移植	成人における臍帯血移植 (固形腫瘍への適応の拡大)
	高梨 美乃子	東京都赤十字血液センター・部長 輸血学	臍帯血の品質管理と評価法の確立
	高橋 聡	東京大学医科学研究所・講師 造血幹細胞移植	成人における臍帯血移植 (骨髄破壊的前処置法の標準化)
	高橋 恒夫	東京大学医科学研究所・客員教授 血液免疫学	臍帯血と胎盤を用いた再生医療の開発
	谷口 修一	虎の門病院血液科・部長 造血幹細胞移植	高齢者における臍帯血移植 (骨髄非破壊的前処置法の確立)
	中林 正雄	愛育病院・院長 産婦人科学	臍帯血採取法の改良
研究協力者 (五十音順)	井関 徹	千葉大学医学部・講師	移植成績解析
	小島 勢二	名古屋大学大学院・教授	
	長村 登紀子	東京大学医科学研究所・助手	
	松村 有子	東京大学医科学研究所・助手	
	宮腰 重三郎	東京都老人医療センター・医長	
	麦島 秀雄	日本大学医学部・教授	
	森 慎一郎	国立がんセンター中央病院・医長	
	森尾 友宏	東京医科歯科大学医学部・助教授	
	山田 実名美	東北大学医学部・助手	
	湯地 晃一郎	東京大学医科学研究所・助教	
研究班 事務局	吉場 史朗	東海大学医学部基盤診療学系・講師	臨床研究管理
	矢部 普正	東海大学医学部基盤診療学系・講師	
	吉永 希世子	東海大学医学部基盤診療学系	

目 次

I. 総括研究報告書	1
加藤 俊一	
II. 分担研究報告書	
1. DC ワクチンを用いた臍帯血移植後のウイルス感染予防法の開発に関する研究	5
東 英一	
2. 臍帯血移植成績登録システムの開発	7
熱田 由子	
3. 臍帯血幹細胞骨髄内移植に関する研究	11
安藤 潔	
4. 小児における臍帯血移植（至適前処置と GVHD 予防法の確立）	13
磯山 恵一	
5. HLA および細胞数と臍帯血移植の成績	21
甲斐 俊朗	
6. 小児急性リンパ性白血病に対する非血縁者間臍帯血移植に関する研究	25
加藤 剛二	
7. 成人における臍帯血移植の固形腫瘍への適応拡大に関する研究	29
坂巻 壽	
8. 臍帯血の品質管理に関する研究	33
高梨 美乃子	
9. 成人における臍帯血移植（骨髄破壊的前処置法の標準化）	35
高橋 聡	
10. ヒト胎盤・臍帯血を用いた再生医療に関する研究	37
高橋 恒夫	
11. 日本さい帯血バンクネットワークを介して行われた非血縁者間臍帯血ミニ移植の解析	41
谷口 修一	
12. 臍帯血採取方法の検討	45
中林 正雄	
III. 研究協力報告書	
1. 成人 AML における臍帯血移植の成績	47
井関 徹	
2. 後天性再生不良性貧血に対する非血縁者臍帯血移植の治療成績に関する研究	51
小島 勢二	
3. CML における臍帯血移植の成績	57
長村 登紀子	
4. 成人急性リンパ性白血病に対する臍帯血移植の成績	59
松村 有子	
5. 本邦における臍帯血移植後の GVHD について	65
宮腰 重三郎	
6. 先天性代謝疾患に対する臍帯血移植の成績	69
麦島 秀雄	

7. 臍帯血移植後の感染症の検討	73
森 慎一郎	
8. 先天性免疫不全症に対する臍帯血幹細胞移植成績	77
森尾 友宏	
9. 悪性リンパ腫に対する臍帯血移植の成績	83
湯地 晃一郎	
IV. 研究成果の刊行に関する一覧表	89
V. 参考資料	97

I. 総括研究報告

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

主任研究者 加藤 俊一 東海大学医学部基盤診療学系再生医療科学 教授

研究要旨

わが国における臍帯血バンク事業における臍帯血の品質の向上と、臍帯血移植における成績の向上を目指して、臍帯血の採取から臍帯血幹細胞の分離・保存、臍帯血提供体制、臍帯血の移植と長期経過調査にいたるまでの一連のプロセスのすべてについて検証するために初年度に立案された研究計画に則り、基礎的あるいは臨床的な研究が開始された。

(1) 臍帯血採取法の改良

初年度にまとめられた臍帯血採取方法の改良のためのDVD「より細胞数の多いさい帯血採取のために」を日本さい帯血バンクネットワークに参加している臍帯血採取施設に配布し、カンガルーケアの普及が図られた。

(2) 臍帯血幹細胞評価法の標準化

日本さい帯血バンクネットワークに参加している臍帯血バンクにおいて実施されている臍帯血幹細胞の品質評価方法についてバンク間での施設間比較と再現性試験が実施され、標準的方法の検討が進められた。

(3) 非血縁者間臍帯血移植の成績解析（後方視的研究）

わが国において実施され調査票の報告が提出されている2713例について、移植細胞数やHLA適合度と移植成績の関係、GVHD、感染症などの合併症の実態、疾患別の移植成績を解析し報告した。

(4) 造血細胞移植データ一元化

造血細胞移植データの一元化にあたり臍帯血移植の報告方法について、日本造血細胞移植学会、日本小児血液学会、骨髄バンク、日本さい帯血バンクネットワークの4者間で協議が進められ、本年度から一元化プログラムを用いた報告が開始された。

(5) 臨床研究（前方視的研究）

「複数臍帯血移植」については順調に症例登録と移植実施が行われている。

「小児臍帯血移植における前処置の至適化」については研究計画書が完成し各施設の倫理委員会への申請が行われている。

「成人臍帯血移植多施設共同臨床研究」については研究計画書がほぼ完成し、各施設の倫理委員会への申請にむけての準備が進められている。

(6) 開発的基礎研究

臍帯血の骨髄内移植法の開発、DC ワクチンを用いたウイルス感染予防法の開発、ヒト胎盤・臍帯血を用いた再生医療の開発などの基礎研究が進められた。

A. 研究の目的と目標

研究計画における目的と目標については初年度に以下のように立案された。

臍帯血移植は骨髄移植、末梢血幹細胞移植に次ぐ第3の造血幹細胞移植として1990年代から臨床応用が開始され、ドナーにおけるリスクがなく、必要時に迅速に移植が実施できるという利点から、近年小児のみならず成人においても移植数が増加している。

わが国において臍帯血移植が実施されるようになってからまだ10年ほどしか経過していないため、また成人における移植が開始されてから数年程度であるため、移植法としての評価はまだ十分には定まっていまいと言わざるをえない。

本研究班においては、臍帯血の採取から始まり、臍帯血幹細胞の分離と保存、臍帯血の提供体制、臍帯血の移植と長期経過調査にいたるまでの一連のプロセスのすべてについて検証し、わが国における臍帯血移植と臍帯血バンク事業が一般医療として確立されるための研究を組織的に行うことを目的とする。

なお、平成17年度に厚生労働科学研究ヒトゲノム・再生医療等研究事業「サイトカインによる増幅培養臍帯血による臍帯血移植の臨床試験」班（主任研究者：中畑龍俊教授）において実施された「臍帯血医薬品化に関する調査研究」について、本年度は中畑班と本研究班とで合同で実施することとなった。

B. 研究計画

研究内容は臍帯血移植と再生医療に関する基礎的研究、臍帯血の提供体制に関する基盤整備、臍帯血の移植方法の改良と確立に関する臨床的研究の3つに大別して、それぞれの分担研究者を中心として立案された研究計画に基づいて、順次開始されている。

（倫理面への配慮）

これらの基礎的あるいは臨床的研究の実施にあつては、国の諸指針に基づいて被験者となる患者の人権に十分配慮するとともに、個人情報への厳格な管理を行った。

また、動物を用いた基礎実験の実施にあたっては動物愛護の精神に基づいて適切な配慮と処置を行った。

C. 研究結果

本年度は研究班として2年度目にあたり、初年度に行われた全体的な研究計画の立案と研究実施のための基盤整備の成果を基に具体的な研究が進められ、ほぼ当初の計画どおりに進行するこ

とができた。

分担研究者毎の研究結果はそれぞれの分担研究報告書に詳細に記述されているとおりであるが、主な研究結果を以下に記述する。

1. 基礎的研究

- ・ 安藤潔分担研究者を中心として、臍帯血の骨髄内移植法に関する基礎的検討が進み、クローンレベルで造血幹細胞の動態を解析するアッセイ法が開発された。
- ・ 東英一分担研究者を中心として、臍帯血移植後のウイルス感染症に対する新しいDCワクチンの開発に関する基礎的検討が進み、麻疹ウイルスに対する臨床応用可能なDCワクチンが作成された。
- ・ 高橋恒夫分担研究者を中心として、臍帯血を利用した再生医療の開発に関する基礎的検討が進み、臍帯血由来間葉系幹細胞の特徴が明らかにされた。

2. 提供体制の基盤整備

- ・ 中林正雄分担研究者を中心として、初年度にまとめられた臍帯血採取方法の改良のためのDVD「より細胞数の多いさい帯血採取のために」を日本さい帯血バンクネットワークに参加している臍帯血採取施設に配布し、カンガルーケアの普及が図られた。
- ・ 高梨美乃子分担研究者を中心として、日本さい帯血バンクネットワークに参加している臍帯血バンクにおいて実施されている臍帯血幹細胞の品質評価方法についてバンク間での施設間比較と再現性試験が実施され、標準的方法の検討が進められた。

3. 臨床的研究

- ・ 甲斐俊朗分担研究者を中心として立案された複数臍帯血移植の臨床研究の研究計画に基づき臨床研究が開始され、参加施設の倫理委員会における承認を経て患者登録が開始された。本年度は23例が登録され、当初の目標どおりの進捗状況であった。
- ・ 高橋聡分担研究者を中心として、成人における至適治療法確立のための前向き臨床研究の研究計画が確定し、参加施設での倫理審査を進める予定である。
- ・ 磯山恵一分担研究者を中心として、小児における至適治療法確立のための前向き臨床研究の研究計画の立案が完了し、参加施設での倫理審査が進められている。
- ・ 谷口修一分担研究者を中心として、自施設における検討と全国集計の解析により、高齢者における至適治療法確立のための臨床研究が進められている。
- ・ 加藤剛二分担研究者を中心として、臍帯血

移植後の感染症に関する詳細な解析が進められ、細菌感染症についてのリスク因子の検討が行われている。

- ・ 熱田由子分担研究者を中心として、これらの臨床研究を実施するための基盤整備と、臨床成績解析のための基盤整備が進められ、臨床研究の進捗管理、データの一元化体制が確立した。

D. 結論

臍帯血移植の安全性確保を目的として、臍帯血採取法の改良のためのDVDを作成し、臍帯血採取施設への啓発活動を行った。

臍帯血幹細胞の品質評価法を標準化するために、国内の施設間比較と再現性試験を実施した。

臍帯血移植技術の高度化と標準化を目的として、小児、成人、高齢者のそれぞれにおける至適治療法を検討するための臨床研究を立案し、参加施設内での倫理審査を経て症例の登録と移植の実施を開始した。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表
 - 1) Ishiguro H, Kato S, et al. Gonadal shielding to irradiation is effective in protecting testicular growth and function in long-term survivors of bone marrow transplantation during childhood or adolescence. *Bone Marrow Transplant*, in press, 2007
 - 2) Morishima Y, Kato S, et al. Effects of HLA allele and killer immunoglobulin-like receptor ligand matching on clinical outcome in leukemia patients undergoing transplantation with T-cell-replete marrow from an unrelated donor. *Biol Blood Marrow Transplant* 13:315-28, 2007
 - 3) Kato K, Kato S, et al. Allogeneic bone marrow transplantation from unrelated T-cell leukemia virus-negative donors for adult T-cell leukemia/lymphoma: retrospective analysis of data from the Japan Marrow Donor Program. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2007; 13:90-9
 - 4) Kametani Y, Kato S, et al. Development of human-human hybridoma from anti-Her-2 peptide producing B cells in the immunized NOG mouse. *Exp Hematol* 34:1240-8, 2006
 - 5) Yahata T, Kato S, et al. Clonal analysis of thymus-repopulating cells presents direct evidence for self-renewal division of human hematopoietic stem cells. *Blood* 108: 2446-54, 2006
 - 6) Muguruma Y, Kato S, et al. Reconstitution of the functional human hematopoietic micro environment derived from human mesenchymal stem cells in the murine bone marrow compartment. *Blood* 107: 1878-87, 2006
 - 7) Kobayashi R, Kato S, et al. Outcome in patients with Wiskott-Aldrich syndrome following stem cell transplantation: an analysis of 57 patients in Japan. *British Journal of Haematology* 135: 362-6, 2006
 - 8) Ando K, Kato S, et al. Direct evidence for ex vivo expansion of human hematopoietic stem cells. *Blood* 107: 3371-7, 2006
 - 9) Yabe H, Kato S, et al. Allogeneic haematopoietic cell transplantation from alternative donors with a conditioning regimen of low-dose irradiation, fludarabine and cyclophosphamide in Fanconi anaemia. *Br J Haematol.* 134: 208-12, 2006
 - 10) Imamura M, Kato S, et al. Current status of hematopoietic cell transplantation for adult patients with hematologic diseases and solid tumors in Japan. *Int J Hematol.* 83: 164-78, 2006
2. 学会発表（特別講演、シンポジウム）
 - 1) 加藤俊一、臍帯血バンクと臍帯血移植、第54回日本輸血学会総会、大阪、2006年6月9-11日
 - 2) Kato S. Hematopoietic stem cell transplantation in children with hematologic disorders. 第2回少子高齢化に関する国際シンポジウム、札幌、2006年9月23-24日
 - 3) 加藤俊一、臍帯血移植、第68回日本血液学会総会・第48回日本臨床血液学会総会、福岡、2006年10月5-8日。
 - 4) Kato S. Japan Marrow Donor Program (JMDP); organization and activities. 11th Congress of the Asia Pacific Bone Marrow Transplantation, Nagoya, Oct. 26-29, 2006
 - 5) Kato S. Cord blood banking and cord blood transplantation. 16th Lake Shirakaba Conference, Dec. 6-7, 2006
 - 6) 加藤俊一、社会的適応状況：移植後10年以降のQOL、第29回日本造血細胞移植学会総会、福岡、2007年2月16-17

II. 分担研究報告

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 DC ワクチンを用いた臍帯血移植後のウイルス感染予防法の開発に関する研究

分担研究者 東 英一 三重大学医学部附属病院細胞移植療法部 助教授

研究要旨

臍帯血移植(CBT)を含む造血細胞移植(HCT)後の免疫抑制期において、サイトメガロウイルス(CMV)、Epstein-Barr ウイルス(EBV)、アデノウイルス(ADV)などの感染症は時に重症化し、致命的となる。また、本邦など、時に麻疹の流行を認める地域においては、造血細胞移植後の麻疹ウイルス(MV)感染症の致死率が高いことも報告されている。今回、我々は、樹状細胞(DC)ワクチンの手法を用いて、市販のMV ワクチン(阪大微研 CAM)を用いて MV に対する臨床応用可能な DC ワクチンを作成し、その効果を *in vitro* で確認した。

A. 研究目的

CBT などの HCT 後の免疫抑制下において、効果的に抗ウイルス免疫を誘導するワクチンを開発する。DC ワクチンの手法を用いて、MV、EBV、CMV、ADV などのウイルスに対するワクチンを作成する。

B. 研究方法

抗ウイルス DC ワクチンは、各種ウイルス感染細胞を紫外線(UV)照射によりウイルスを不活化した後、DC に食食させることにより作成する。今回の研究では、MV に対する DC ワクチンを作成する。MV 感染 DC を自己 DC に食食させることにより、抗 MV DC ワクチンを作成する。UV 照射によりアポトーシスに陥った被感染細胞からウイルス抗原を認識した DC は、自己 T 細胞にウイルス抗原を提示する能力を獲得し、抗ウイルス免疫を惹起する(図 1)。

抗 MV DC ワクチンによる、細胞障害性 T 細胞(CTL)誘導能などの自己 T 細胞活性化は、インターフェロンガンマ(IFN- γ)産生細胞の誘導能を ELISPOT 法で測定することにより確認する。臨床応用可能な抗 MV-DC ワクチンの作成のために細胞の培養には、Clinical grade のヒト血清アルブミン(バクスター)を使用し、MV は現在日本で生ワクチンとして市販されている CAM 株を(株)阪大微生物病研究会より供与され使用した。

C. 研究結果

MV は DC に感染し MV 蛋白を産生する。その一つである Hemagglutinin (HA) 蛋白は DC 細胞表面に発現し、DC が T 細胞に抗原

提示する際、T 細胞の増殖を抑制するシグナルを伝達する。これにより、MV は生体内で免疫抑制状態を惹起する(図 2)。我々は、MV 感染が DC に及ぼす影響をみる目的で、健康成人末梢血から DC を培養し、市販 MV ワクチン CAM 株を感染させた。抗 MV DC ワクチンが自己 T 細胞、特にナイーブ CD4、および、ナイーブ CD8 T 細胞の IFN- γ 産生を誘導する事を確認した(図 2)。すなわち、前回報告した MV の Nagahata 株と同様に抗 MV DC ワクチンが MV 特異的免疫を惹起することを *in vitro* で証明した。

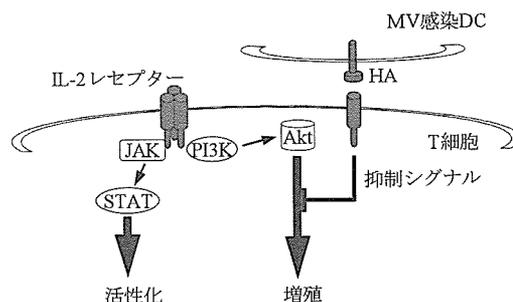


図1 DCに発現したMV蛋白HAによる免疫抑制機構

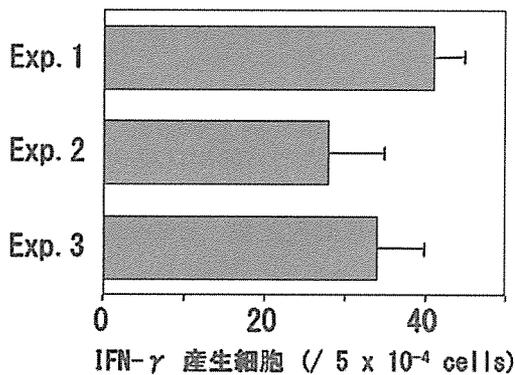


図2 市販のMVワクチン株CAMを使用した抗MV DCワクチンのCTL誘導効果。MV非感染、あるいは、感染DCを貪食したDCとナイーブCD4陽性、あるいはCD8陽性T細胞を混合培養し、IFN- γ の産生細胞をELISPOT法で測定した。抗DC MVワクチンはT細胞によるIFN- γ の産生を誘導した。

D. 考察

日本小児血液学会・造血細胞移植委員会が2002年5月に行った本邦におけるHCT後のMV感染症の全国調査によれば、調査した170施設中21施設(12%)で合計37名の麻疹発症があり、そのうち3名(8%)が死亡し、34名は軽快した。また、本邦での一般人口における小児・成人の麻疹の最近の急増に伴い、HCT後の麻疹症例も最近3年間で全症例の76%と増加傾向にあることがわかった。このような現状にもかかわらず、HCT後の症例にMV生ワクチンを行っているのは170施設中30施設(18%)であった。MV生ワクチン接種により一過性の免疫抑制を来すことが、臨床現場でワクチン接種を躊躇させる一因となっていると推測された。

米国Centers for Disease Control and Prevention (CDC)の勧告ではHCT患者へのMV生ワクチンの接種は、HCT後2年経過している患者で、かつ、免疫抑制剤を服用していないなどの免疫抑制状態にない患者に限られている。また、HCT後1年の患者に対するMV生ワクチン接種を試みた報告では、抗MV免疫獲得率は46%と低値であった。

前年度に報告したように、我々が開発した抗MV DCワクチンは、HCT後1年以内の患者から作成した場合も有効であるだけでなく、CBTなどMV非感染ドナーからのHCT後の患者や、GVHDや免疫抑制剤服用中などの強度の免疫抑制下にあるHCT患者においても有効である事が推

測された。

今後、臨床試験を実施するにあたって抗MV DCワクチンに感染性を有するMVの残存がないことの確認するためにMVの表示・確認検査を計画している。

共同研究者

熊本忠史・三重大学大学院医学系研究科・病態解明医学講座・小児発達医学・助手
平山雅浩・三重大学医学部附属病院・小児科・講師

E. 結論

DCワクチンの手法を用いて作成した臨床応用可能な抗MV DCワクチンが、HCT患者に効果的に抗MV免疫を惹起しうることを、*in vitro*で証明した。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

論文発表

- 1) Transplantation.82:1104-1107, 2006.
- 2) Transplantation.82:142-144, 2006.

H. 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 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 臍帯血移植成績登録システムの開発

分担研究者 熱田 由子 名古屋大学医学部造血細胞移植情報管理学 助手

研究要旨

日本国内における造血幹細胞移植患者情報をより正確に、迅速に把握するためのシステムおよびツールをつくることを目的とし、現在存在する4つの登録（日本造血細胞移植学会、日本小児血液学会、日本骨髄バンク、臍帯血バンク）が協力して登録の一元化の検討と登録プログラムの開発を行なった。2006年度から全国の成人移植施設を対象に電子登録を開始した。電子登録初年度の登録率は昨年度より向上し、電子登録への移行は良好であった。登録患者情報の質の向上のため、登録プログラムには不備データチェック機能を搭載した上で、提出情報の詳細な確認を行うデータ管理方法を採用した。臍帯血バンクを介した非血縁者間臍帯血移植登録は、従来どおり臍帯血バンク登録と電子化登録の二重登録が行われたが、早急な一元化に向けて調整が行なわれている。

A. 研究目的

2005年度まで造血幹細胞移植症例の登録（患者情報報告）先は、日本骨髄バンク(JMDP)（非血縁者間骨髄移植）、臍帯血バンク（臍帯血移植）、小児血液学会（小児施設におけるすべての移植）、日本造血細胞移植学会(JSHCT)データセンター（非血縁者間骨髄移植を除いたすべての移植）の4つに分かれていた。施設における登録作業は多大な労力を必要とするが、さらに多重登録の手間が生じていた。また、それぞれのデータベースにて用いているコードが異なるため、複数のデータベースをまとめて解析を行う際に困難が生じているなどの問題点があった。

本邦における造血幹細胞移植患者情報に関して、移植施設における実施件数・移植成績をより正確に、迅速に把握するためのシステムおよびツールをつくり、各施設における移植データベースおよびそれぞれの登録のデータベースのデータの質の向上を目的とした。

2004年3月に4登録の代表からなる一元化Working Group (WG) が一元化登録の体制構築を目的にJSHCT内に設置された。2006年7月には新たにJSHCT内に造血細胞移植登録一元管理委員会が設置された。2005年度には造血細胞移植登録一元管理プログラム(Transplant Registry Unified Management Program, TRUMP)の開発が行なわれた。2006年度にはTRUMPを用いた電子登録が成人施設を対象に開始された。2007年1月から小児施設における小児領域の登録が開始された。

日本国内には11の独立した臍帯血バンクが存在し、活動を行っている。臍帯血データおよび移植患者の臨床情報に関しては、紙媒体の調

査票にて各バンクが収集し、管理をおこなっている。11のバンクが共同で運営している日本さい帯血バンクネットワーク(JCBBN)の活動によりそれぞれのバンクが独自に調査をおこなっていた調査票が共通調査票に統一されている。移植登録の電子化・一元化にあたり、11の独立した臍帯血バンクにおいてそれぞれデータ管理を行っており混乱を防ぐために準備期間が必要であること、移植後100日時点での患者臨床情報をそれぞれの臍帯血バンクが速やかに確認することを必要としていること、JCBBNでのデータ管理のためTRUMP調査項目と臍帯血調査項目との整合性確認と調整を必要としたことからJCBBNは2006年度からの電子化・一元化登録移行を見送り、2006年度は電子化・一元化登録へ向けての詳細な調整を行った。臍帯血バンクを介した非血縁者間臍帯血移植(UR-CBT)の登録は、2005年度までと同様に二重登録(2006年度はTRUMPを用いた電子登録および臍帯血バンクへの紙媒体での調査票を用いた登録)を行なったこととなる。

B. 研究方法

B-1. TRUMPを用いた電子化登録

1. TRUMPの配布

日本国内で造血幹細胞移植を行なっている成人施設を対象に、TRUMPを配布した。配布方法は、JSHCTホームページ内のID、パスワード管理がされている会員のページからのダウンロードとした。TRUMPは次の3点、入力施設における利便性、患者情報の安全性、入力情報の質に重点をおき開発された。以下にその具体的な内容を記す。

① 入力施設における利便性

施設内においては、患者氏名や患者生年月日などの個人識別情報を用いて管理できるプログラムとした。学会あるいはバンクへの提出データファイルはワンクリックでコンピューター上に保存できるようにし、施設内での移植成績の解析等を行いやすくするために、CSV形式でのファイル出力機能を追加した。定義や付表はプログラム内で可能にされている。

② 患者情報の安全性

施設において TRUMP はインターネットに接続されていないコンピューター内で、患者個人名などの患者個人情報と患者臨床情報を合わせて管理できるプログラムとした。学会あるいはバンクへの提出データは、匿名化・暗号化された提出ファイル (TRUMP ボタンワンクリックで作製) とし、CD-R などの記憶媒体に記憶させた上で、郵送で JSHCT データセンターに提出される手順をとった。

③ 入力情報の質

入力後「登録」ボタンをクリックすると入力ミスや矛盾データを警告するために「エラー一覧」として表示される機能を追加し、登録データの正確性を上げるためのデータクリーニング機能を追加した。さらに入力移植症例一覧画面にて、全ての必須項目が入力されているかどうかを単純に○×であらわす機能を追加した。

(倫理面への配慮)

4 登録への患者情報登録は既に 10 年以上前から行なわれているが、電子化・一元化登録への移行にあたり、日本造血細胞移植学会倫理委員会での承認を得た。登録は匿名化された患者臨床情報の登録であり、電子データは暗号化された上で、JSHCT データセンターに届く。

2. 登録の運用スケジュール

例年 1 月に前年 1 年間に施行された造血幹細胞移植の「台帳登録」(1 症例 10 項目ほどの移植件数の把握のために必要な最低限の調査項目のみの登録)を行い、7 月には全ての必須項目の入力を求める「本登録」が行われる。加えて JMDP を介した非血縁者間骨髄移植症例では移植後 100 日時点での個々の移植症例の臨床情報のデータセット提出が行なわれることとなった。JMDP では 2005 年度までの紙媒体での登録の際に、徹底した移植後 100 日調査票の提出案内と督促を行なうことにより 99%を超える良好な

調査票提出率を保っていた。そのため、電子登録でも同様に個々の移植症例単位で移植後 100 日時点での報告が移植施設に義務付けられた。移植施設からは JSHCT データセンターに提出データセットが郵送で届き、JSHCT データセンターで登録内容の確認を行なった後に、JMDP に提出の報告がなされる。提出が無かった施設や不備データでの提出であった施設に対しては、JMDP から督促などの連絡がなされる。

3. 提出データの内容確認

JSHCT データセンターでは、提出された登録データセットに関して、必須項目が未入力になっているものの有無、および矛盾する入力情報の確認を行った。確認結果は、登録施設に報告され、入力情報に不備がある場合は再提出を依頼した。登録施設へは、入力不備のデータの患者 ID、不備項目、不備入力内容とその理由をリストアップした、具体的な不備内容情報を報告した。

B-2. 臍帯血移植登録の一元化に向けての調整

A. TRUMP 調査項目と臍帯血バンク調査項目間の整合性の確認

TRUMP 調査項目は 4 登録の調査項目を元に、4 登録の代表により結成された一元化 WG で 2005 年度までの 2 年間で決定されたものである。4 登録の調査項目はほぼ網羅されているが、検討の過程で登録間の調査項目の相違の調整がなされたものや再検討がなされたものがあり、特に疾患分類や疾患特有の情報に関しては、最新の分類などが反映されたため、従来 of 分類を用いている登録の調査項目で反映されなかったものもある。したがって、TRUMP の調査項目とそれぞれの登録における従来の調査項目の間には相違が生じる。臍帯血バンクを介した UR-CBT の登録に関しては、JCBBN でのデータ管理のため TRUMP 調査項目と臍帯血調査項目との整合性確認と調整を必要とした。JCBBN 移植データ管理小委員会を中心に、整合性の確認を行った。確認はそれぞれのデータテーブル構造をもとに 1 項目ごとに調査項目・選択肢などの整合性を見た。

B. 登録の運用方法の検討

JMDP と同様に、JCBBN も個々の移植例における移植後 100 日時点での臨床情報の提出を必要とした。そのため、登録の運用スケジュールとその方法に関する検討をおこなった。

C. 研究結果

C-1. TRUMP を用いた電子化登録

1. 登録施設数

成人領域施設の登録施設数の推移は 2003 年度が 164 施設、2004 年度が 151 施設、2005 年度が 137 施設、2006 年度が 159 施設と前年度に比べ登録施設数の増加が認められた。

2. 登録形態

TRUMP は Microsoft Access をベースに開発された入力プログラムであるため、その使用にあたり、OS は Windows に限定される。全施設で今年度からの電子登録への移行を目標としたが、登録率を下げないためにも TRUMP と同じ調査項目の紙登録票も作製し、電子登録が困難な施設における紙媒体での登録も受け付けた。2006 年度に登録がなされた 159 施設のうち、紙媒体での登録を行ったのは 1 施設であった。

3. 提出データの質

「B 研究方法」の 1 の③に記載したとおり、TRUMP では入力ミスや矛盾データを警告するエラーチェック機能を搭載した。さらに入力移植症例一覧にて、全ての必須項目が入力されているかどうかを単純に○×で表示されている。

初回提出時、全ての入力移植症例が○だった施設は 159 施設中 62 施設 (39%) であった。

4. 登録情報の安全性

匿名化・暗号化されたデータセットを記憶媒体に記憶させた上での郵送で登録がなされたため、患者個人情報の漏洩はなかった。

C-2. 臍帯血移植登録の一元化に向けての調整

1. TRUMP 調査項目と臍帯血バンク調査項目間の整合性の確認

JCBBN 共通調査項目 534 項目のうち、TRUMP の項目と完全に一致しないものは 97 項目 (18%) であった。97 項目のうち、42 項目に関しては、2005 年度に JCBBN 共通調査項目の改訂が行なわれたものが反映されていなかったものであった。これらの項目のなかで、JCBBN データ管理小委員会委員が特に重要とした 18 項目を含め TRUMP の調査項目への追加や変更の検討を行う。この検討は、JSHCT 造血細胞移植登録一元管理委員会で予定されている。

2. 登録の運用方法の検討

JMDP と同様に、JCBBN も個々の移植例における移植後 100 日時点での臨床情報の提出を必要とした。JMDP では、2005 年度までの紙媒体での調査票を用いた登録での 99% を超える極めて良好な登録率を維持することを目的として、移植後 100 日のタイミングでの移植担当医への

登録データ提出案内や督促を継続して行なうこととした。提出データの質は問うが、このタイミングでの提出データを即解析に用いることを目的とした提出ではない。一方、JCBBN では移植後 100 日時点での臨床情報を、速やかに 11 それぞれの該当臍帯血バンクにおいて確認が出来る体制を要求した。目的は臍帯血品質管理のためである。2006 年度は具体的な運用方法に関して、JCBBN で検討が続けられた。JSHCT データセンターでは、JMDP の場合と同様な個々の症例の 100 日時点での登録データセットの書き出しが可能な機能を TRUMP に追加した。

D. 考察

疫学情報・人口統計学的情報は臨床研究を行ううえでの土台となるものであり、それらの情報収集体制の整備は極めて重要である。

4 登録の協力のもと、電子化・一元化された登録を 2006 年度から行なった。登録形態の変更や調査項目数の増加などから、登録率の低下が危惧されたが、2005 年度を上回る数の施設から登録があった。2006 年度からの電子化・一元化登録への移行ができたのは、4 登録のうち JSHCT 成人領域と JMDP であったが、2 登録が協力体制をとることにより良好な登録率が得られたと考えられる。また、電子登録の採用を行わなかった施設は 159 施設中 1 施設 (0.6%) であり、電子登録への移行状況は良好であった。登録患者情報の質の向上のため、TRUMP にはエラーチェック機能を搭載したが、それでも入力不備なしのデータを登録できたのは 39% であった。データセンターでは、登録患者データ全ての確認を行い、不備がある場合は登録施設に報告をし、再提出の依頼をおこなったが、こういったデータ管理の重要性が認識された結果である。

臍帯血バンクを介した UR-CBT に関しては、2006 年度も 2005 年度までと同様の二重登録であった。登録施設の負担を考え、早急に登録を一元化していく必要があると考える。

登録の一元化に関する以下の論文を作成し、現在投稿中である。

Yoshiko Atsuta, Ritsuro Suzuki, Ayami Yoshimi, Hisashi Gondo, Junji Tanaka, Akira Hiraoka, Koji Kato, Ken Tabuchi, Masahiro Tsuchida, Yasuo Morishima, Makoto Mitamura, Keisei Kawa, Shunichi Kato,

Tokiko Nagamura, Minoko Takanashi, and Yoshihisa Koderu. Unification of hematopoietic stem cell transplant registries in Japan and establishment of the TRUMP system.

熱田由子、鈴木律朗、吉見礼美、権藤久司、田中淳司、平岡諦、加藤剛二、田渕健、土田昌宏、森島泰雄、三田村眞、河敬世、加藤俊一、長村登紀子、高梨美乃子、小寺良尚。本邦における造血細胞移植登録の一元化と「移植登録一元管理プログラム(TRUMP)」の作成。

E. 結論

2006 年度から全国の成人移植施設を対象に電子登録を開始した。電子登録初年度の登録率は昨年度より向上し、電子登録への移行は良好であった。登録患者情報の質の向上のため、登録プログラムには不備データチェック機能を搭

載した上で、提出情報の詳細な確認を行うデータ管理方法を採用したが、充実したデータ管理の重要性が認識された。臍帯血バンクを介した UR-CBT 移植登録は、従来どおり臍帯血バンク登録と電子化登録の二重登録が行われたが、早急な一元化に向けて調整が行なわれている。

G. 研究発表

学会発表

熱田由子、鈴木律朗、吉見礼美、山本一仁、気賀沢寿人、田渕健、土田昌宏、加藤俊一、森島泰雄、加藤剛二、浜島信之、小寺良尚：日本における造血幹細胞移植登録事業の一元化、第 68 回日本血液学会・第 48 回日本臨床血液学会合同総会 OS19-2

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

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 臍帯血幹細胞骨髄内移植に関する研究

分担研究者 安藤 潔 東海大学医学部 教授

研究要旨

本年度はヒト造血幹細胞のクローンレベルでの動態を解析するアッセイを開発した。本アッセイ系を用いて臍帯血移植後の造血動態や複数臍帯血移植のクローンの変動を明らかにすることが期待される。

A. 研究目的

臍帯血移植や成人に対する複数臍帯血移植を安全に効率よく行っていくためには移植された臍帯血の動態を解析することが重要である。

マウスにおいては一個の HSC がマウスの生涯に亘り造血を営んでいること、すなわち一個の HSC が多分化能と自己複製能を有することが示されている。しかし、ヒト HSC が本当に多分化能と自己複製能を兼ね備えた真の幹細胞であることの直接的な証拠はいまだに得られていない。HSC 集団はどのような活性をもった幹細胞によって構成されているのか、またどのような体内動態を示すのかについての知見は、移植医療の向上に重要であるが、個々のヒト HSC が有する幹細胞活性を検討する良い実験系が存在しないことなどから不明な点が多い。そこでわれわれはヒト造血幹細胞のクローンレベルでの動態解析を行った。

B. 研究方法

一個のヒト HSC の生体内動態を解析するために、レンチウイルスベクターで遺伝子標識した臍帯血 CD34⁺細胞を NOG マウスに移植し、その一次および二次移植マウスより CD34⁺、CD33⁺、CD19⁺および CD3⁺細胞それぞれを回収、linear amplification-mediated (LAM)-PCR 法を利用して、ウイルス遺伝子挿入部位を指標としたクローン解析を行った。

C. 研究結果と考察

一次および二次移植における長期骨髄再構築能を示すクローンは、骨髄球系およびリンパ球系すべての系列を産生する多分化能と自己複製能を有するヒト HSC で構成されていた。すなわち、一個のヒト HSC の多分化能と自己複製能を初めて明らかにしたり、さらに、個々のヒト HSC の自己複製能には、非常に活性の高いものから、stem cell pool から枯渇してしまうものまで、多様性があるということを示した。

D. 結論

ヒト造血幹細胞はクローンレベルで T 細胞系列を含む多分化能および自己複製能を持つことを示し、また、移植などのストレスにより自己複製能が低下することを示した。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

論文発表

- 1) Ando K, et al. Blood, 107, 3371-3377, 2006
- 2) Yahata T, et al. Blood, 108, 2446-2454, 2006

G. 知的財産権の出願・登録状況

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 小児における臍帯血移植（至適前処置と GVHD 予防法の確立）

分担研究者 磯山 恵一 昭和大学藤が丘病院小児科 助教授

研究要旨

造血幹細胞移植の一つとして非血縁臍帯血移植は重要な治療法の選択肢となっている。日本ではこれまでに約 3,500 例が、日本さい帯血バンクネットワークを介して実施されてきた。今回、小児急性骨髄性白血病 163 例の臍帯血移植結果を解析した。その結果、好中球および血小板生着は輸注 CD34 陽性細胞数が関係することが示され、生存率は標準危険群が高危険群に比較し有意であることが明らかにされた。血縁ドナーが得られない小児急性骨髄性白血病に対する移植には、臍帯血は選択可能な方法であると考えられた。

A. 研究目的

目的：日本さい帯血バンクネットワークを介した移植は 3,000 例をこえるが、個々の疾患についての成績は報告されていない。今回、小児急性骨髄性白血病に対する非血縁臍帯血移植の成績を解析し問題点を明らかにすることを目的とした。

背景：臍帯血移植は、1988 年、Gluckman らにより世界で初めて行われた。この成功は同種造血幹細胞移植に新分野を開き、2004 年末までに 3,000 例を越す臍帯血移植が行われている。臍帯血移植は、ドナーに負担が全くないばかりでなく、患者の病状に応じた至適時期に移植できる利点がある。また、臍帯血に含まれる免疫担当細胞は未熟でありそのため GVHD の発症率が低く、HLA 不適合の移植が可能であるという利点を有している。他方、臍帯血移植では他の造血幹細胞移植に比較して生着の割合が低いことが問題点の一つである。以上のような臍帯血移植の特徴が、適応とされる疾患に対して共通のものであるかを知ることは極めて重要なことであると考えられる。最近の症例数の増加と追跡期間の長期化、さらにデータベースの改善は、個別疾患の解析を可能にしているものと考えられる。今回、小児急性骨髄性白血病

(AML) に関する解析を行い、問題点を明らかにした。

B. 研究方法

対象および評価項目：1999 年 8 月から 2005 年 12 月までに日本さい帯血バンクを介して移植を行った年齢 16 歳未満の小児 AML を対象とする後方視的研究である。評価項目は、移植後の好中球生着、血小板生着、無イベント生存率、全生存率、再発率、急性 GVHD 発生率、非再発移植関連死亡率である。各評価項目と患者および臍帯血の特性との関係について単変量解析を行った。統計解析：生存率は Kaplan-Meier 法を、累積発生率は逆 Kaplan-Meier 法を使用した。単変量解析は、Log-rank test を使用し $P < 0.05$ を有意として評価した。単変量解析で $P \leq 0.1$ を示した結果について Cox hazard model による多変量解析を行った。

C. 結果

1. 患者および移植臍帯血の特徴（表 1、2）：症例数は 163 例であった。患者および臍帯血の特徴は表 1 に示した。移植時患者年齢中央値は 4.23(0.5-15)歳、患者体重中央値は 14.8(5-65)kg

であった。移植細胞数（臍帯血凍結時）中央値は $5.0 \times 10^7/\text{kg}$ ($1.85\text{-}15.1 \times 10^7/\text{kg}$)、移植 CD34 陽性細胞数中央値は $1.35 \times 10^5/\text{kg}$ ($0.11\text{-}246.3 \times 10^5/\text{kg}$) 移植時の患者の状態と症例数は、第一寛解 38 例、第二寛解 32 例、第三寛解以上 4 例、非寛解 65 例であった。第一、二寛解を標準危険群、それ以外を高危険群として分類した。GVH 方向 HLA 適合度は、完全一致 30 例、1 不一致 80 例、2 不一致 17 例、HVG 方向では、完全一致 35 例、1 不一致 71 例、2 不一致 21 例であった。

2. 生着：移植 90 日での好中球生着率は、82.4%、中央値 28 日であった（28 日以内の死亡例を除く）（図 1）。単変量解析では、標準危険群が高危険群に比較し有意に生着率が高く（84.6% vs 71.4%, $P=0.0097$ ）、移植 CD34 陽性細胞数が多い場合（ $\geq 1.38 \times 10^5/\text{kg}$ ）が少ない場合（ $< 1.38 \times 10^5/\text{kg}$ ）に比較し有意に生着率が高かった（86.4% vs 61.6%, $P<0.0001$ ）（図 1）。多変量解析では、CD34 陽性細胞数が生着に影響を与える因子となった（CD34 陽性細胞数 $< 1.38 \times 10^5/\text{kg}$:relative risk=0.46, 95%CI 0.31-0.76, $P=0.0016$ ）。

移植 180 日での血小板生着率は、62.5%、中央値は 78 日である（図 2）。標準危険群が高危険群に比較し有意に生着率が高く（64.3% vs 47.1%, $P=0.07$ ）、CD34 陽性細胞数が多い場合（ $\geq 1.38 \times 10^5/\text{kg}$ ）が少ない場合（ $< 1.38 \times 10^5/\text{kg}$ ）に比較し有意に生着率が高かった（73.8% vs 36.2%, $P=0.001$ ）（図 2）。多変量解析では、移植時の患者状態（高危険群：RR=0.38, 95%CI 0.27-0.89, $P=0.0008$ ）と CD34 陽性細胞数（ $< 1.38 \times 10^5/\text{kg}$:RR=0.41, 95%CI 0.27-0.89, $P=0.007$ ）が独立した予後因子となった（CD34 陽性細胞数 $< 1.38 \times 10^5/\text{kg}$:）。HVG 方向の HLA 適合度と好中球、血小板の生着率に差は認められなかった。

3. 生存率：6 年全生存率は 42.2%であった。単変量解析では、移植時標準危険群が高危険群に比較し（63.3% vs 22.1%, $P<0.0001$ ）（図 3）、移植既往無しは有る群に比較し有意に生存率が高かった（65.6% vs 17.4%, $P=0.017$ ）。多変量解析では、

移植時の患者状態（高危険群：RR=4.1, 95%CI 2.25-7.13, $P<0.0001$ ）が予後因子となった。

6 年無イベント生存率は 40.1%であった（図 3）。単変量解析では、移植時標準危険群が高危険群に比較し無イベント生存率が高かった（58.8% vs 0.0%, $P<0.0001$ ）。しかし、移植既往の有無では両者に差は認められなかった。多変量解析では、移植時の患者状態（高危険群：RR=3.76, 95%CI 2.34-6.15, $P<0.0001$ ）が予後因子となった。染色体異常のリスクと生存率との間に有意差は認められなかった。

4. 再発：全体の再発率は 29.3%であった。単変量解析では、移植時年齢 4.5 歳未満は 4.5 歳以上に比較し有意に再発が高く（35.8% vs 20.5%, $P=0.008$ ）、高危険群は標準危険群に比較して有意に再発率が高かった（43.5% vs 15.6%, $P=0.0001$ ）。GVH 方向 HLA 不一致度は再発率に影響を与えなかった。多変量解析では、移植時年齢 4.5 歳未満（RR=2.29, 95%CI 1.25-4.21, $P<0.007$ ）と移植時高危険群（RR=3.22, 95%CI 1.67-6.24, $P<0.005$ ）が各々独立した予後因子を示していた。

5. 急性 GVHD：grade 2-4 の急性 GVHD 発生率は、47.9%であった。移植既往が有る場合には、無い症例に比較し有意に発生率が高かった（66.9% vs 47.3%, $P=0.03$ ）。しかし、GVH 方向 HLA 適合度（図 4）や TBI の有無による前処置の差、GVH 予防法による発生率に差は認められなかった。多変量解析でも独立した発生因子は認められなかった。

6. 慢性 GVHD：発生数は limited type 17 例（11.4%）、extensive type 25 例（16.7%）、判定困難例が 6 例、認められなかった症例は 93 例（65.7%）であった。

7. 移植関連死亡：1 年以内の移植関連死亡は 28.9%であった（図 5）。単変量解析では、移植時高危険群が標準危険群比較し有意に発生率が高か

った (51.5% vs 13.6%, $P=0.018$) (図 5)。移植既往の有無や、血清 CMV 抗体の有無、TBI の有無による前処置の差、GVH 予防法による発生率に差は認められなかった。

D. 考察

日本における小児急性骨髄性白血病に対する臍帯血移植成績の報告はこれが最初のものである。生着率はこれまでの報告と同様骨髄移植に比較し低いことが改めて示された。しかし、最近の欧米の報告と同様に CD34 陽性細胞数が影響を及ぼすことが明らかにされた。造血細胞を示す細胞数と生着との関係が明らかにされたことは、今後小児 AML の臍帯血移植のドナー選択に際し重要な因

子となると考えられる。生存率では、染色体異常の種類など他の危険因子の有無に関わらず、移植時標準危険群であること生存率を向上させることが示された。これまでの報告と同様に、患者が良い状態で移植を行うことの必要性を改めて示したものと考えられる。他方、HLA の適合度との生存率との間に有意な結果が得られなかった。これは、症例数が他報告に比較し少ないことが影響している可能性は否定できない。移植が必要な場合で血縁ドナーが得られない時には、臍帯血ドナーも選択肢になり得ると思われる。今後は、生着率の向上や前処置の工夫を行うことで差あれなる成績の改善を行っていく必要がある。