

の基準に関する省令(平成9年厚生省令第28号)第17条第1項に求められる水準に達していることが要求されている。この症例の該当箇所を見ると、「第十七条 治験依頼者は、治験薬の品質の確保のために必要な構造設備を備え、かつ、適切な製造管理及び品質管理の方法が採られている製造所において製造された治験薬を実施医療機関に交付しなければならない」とされているが、これは錠剤などの通常の治験薬を対象にした治験薬 GMP である。錠剤や血漿分画製剤と、治療に用いようとする細胞では、そのプロセッシング方法は大きく異なる。たとえば、GMP ではバリデーションと呼ばれる項目がきわめて重要であるが、その中に製造手順が意図した通りに実施可能か検証する Performance Qualification(PQ)がある。これに従えば、膝臓移植の場合ドナーから提供された膝臓組織を用いて練習することが義務づけられる訳であるが、倫理上許されないのは自明である。

それでは、医薬品 GMP と治験薬 GMP の相違点は何処にあるのだろうか。「治験薬 GMP 運用通知(平成9年5月20日付薬監第70号)」ではその目的を3つあげている。治験薬の品質の均一性の保証、治験薬と市販後製品の同一性の保証、そして不良な治験薬から被験者を保護すること、である。治験薬 GMP の設備構造などハードの基準は、医薬品 GMP に比べ一部の施設については要求事項が緩和されている。これは医薬品と異なり、治験薬の製造においては、製造ロット数が少ない

ことや、治験の進行に伴い製造施設や設備が異なってゆくことに対する配慮がなされているからである。すなわち、治験薬 GMP では、後述する stepwise approach がハード面において考慮されている。我々は、細胞プロセッシングに特化した GMP で、かつ stepwise approach の考え方を取り入れ、ハードのみならずソフトも含めたコンセプトを institutional GMP (iGMP)として提唱してきた¹。iGMP と治験薬 GMP、医薬品 GMP の差異を表1にまとめたが、基本的に治験薬 GMP を踏襲している。すなわち、iGMP は、細胞プロセッシングの特殊性、TR が主に行われる大学などの事情、TR の開発段階に伴う stepwise approach の必要性を考慮したものではあるが、治験薬 GMP の細胞プロセッシング版と考えている(図1)。

2. 米国のシステム

米国における新薬や新規治療法を開発しようとする場合、わが国で言う「治験」であろうと、「臨床試験(TR)」であろうと、すべからく IND (Investigational New Drug)としてFDAに登録し、審査を受け承認を得ることが必要である。すなわち、米国ではどんな臨床試験や治験であつてもFDAが把握して指導を行っており、こ

¹ Maekawa T.: Current good manufacturing practices (cGMP) controlled cell processing for the development of novel advanced cell and gene therapy. Education program book pp.43-48, 2003. The 65th Annual meeting of Japanese Society of Hematology and The 45th Annual meeting of Japanese Society of Clinical Hematology.

前川 平: 先端医療開発に必要な GMP 準拠細胞プロセッシング- Institutional GMP 構築の必要性- 臨床血液、45:

の点「治験」として申請されたもの以外は、いわゆる「院内製剤」として特段把握もされず、また安全性も検証されず、薬事法の守備範囲外であるとして、医師の自主規制に任されているわが国とは大きく事情が異なっている。

細胞治療、再生治療に関して米国 FDA は、ヒト細胞を用いた治療法の特異性から、その作製(manipulation)において GMP と GTP(Good Tissue Practice)を遵守するように指導してきた。しかし、米国においてもほとんどの細胞治療や再生治療、また多くの TR は大学やベンチャー企業で行われており、製薬企業と同列に規制していたのでは開発のスピードが上がらないことが指摘されるなかで、FDA は柔軟な指導を行ってきた。今まで、この柔軟な対応方針を文書にしたものはなかったが、2006 年 1 月 FDA は、低分子化合物、生物製剤などを問わず、このような探索的 IND 臨床試験を実施する際のガイドラインを最終決定すると同時に、早期フェーズ I で用いる IND の GMP 製造に関するガイドライン草案を公表した²。GMP を柔軟に解釈するための指針である。本草案で注目すべき点を表 2 にあげる。この考え方は、われわれが従来から提唱してきた開発段階に応じた GMP、すなわち iGMP の概念と相通じるものであり、アカデミアと企業

32-38, 2004.

² Guidance for Industry, Investigators, and Reviewers- Exploratory IND Studies. (<http://www.fda.gov/cder/guidance/index.htm>)/ Guidance for Industry, INDs - Approaches to Complying with CGMP during Phase I (<http://www.fda.gov/cder/guidance/index.htm>)

とを問わず適応される。

D. 結論

わが国の現状は、遺伝子治療のガイドラインなどで当局への申請が義務づけられている治療法の開発以外は、各大学や研究所の倫理委員会で審査されるのみである。承認申請を目的としない臨床試験は薬事法の管轄外である。上述したように、「院内製剤」を用いた臨床試験で良好な結果が得られたとしても、承認申請の予定がなく、登録もされていない臨床試験の場合、総合機構で審査されることはなく、保険収載は不可能である。したがって、大学などで行われている臨床試験の成績をもとに、いざ承認申請を目的とした「治験」の段階に入ろうとしても、もう一度最初に戻って、安全性が検証され、品質の確保された GMP グレードの治験薬を用いて前臨床試験からやり直さなければならない。

わが国における「治験」は新薬承認申請のための資料収集を目的としているのに対し、米国の臨床試験は、開発と言うことをまず念頭に置き、ヒトに対して効果も安全性も未確認であるものを投与する行為を管理し、あたらしい治療法の開発を支援するという姿勢が大きく異なる。わが国では、治験の他に、「院内製剤」をもちいた「臨床研究」や「臨床試験」、「先進医療」、それに現在では先進医療に一本化された「高度先進医療」など、きわめて複雑なシステムが存在することに加えて、「薬事法」がもともと医薬品を管理す

るためにあり、あたらしい治療薬や治療方法の開発を目的として作られたものではないことが新規治療法開発の隘路となっている。さらに、先進医療は既承認の薬物しか用いてはならないとしており、未承認の薬物を使用した治療法は先進医療としては認められないという矛盾を抱えている。この出口のない迷路のような規制体系を整理し、シンプルで効率的なシステムを構築することが必要である。幸い、わが国には「医師主導型の治験」と言うトラックがあり、これをわが国独自の IND システムとして育て上げてゆくことが喫緊の課題である。

E. 健康危険情報

特記事項なし

F. 研究発表

1) 論文発表

1. Kimura, S., Maekawa, T.: Stem cell transplantation for Ph⁺ leukemias in the imatinib and post-imatinib eras. *In*, “Bone Marrow Transplantation: New Research.”(ed. By Davidson DF), Nova Science Publishers, Inc. review, pp.1-38, 2006.
2. Naito, H., Kimura, S., Nakaya, Y., Naruoka, H., Kimura, S., Ito, S., Wakayama, T., Maekawa, T. and Hirabayashi, K.: *In vivo* inhibitory effect of NS-187, a dual Bcr-Abl/Lyn tyrosine kinase inhibitor, on the proliferation of leukemic cells harbouring Abl kinase domain mutations. *Leuk Res*, 30(11):1443-1446, 2006.
3. Matsumoto, S., Okitsu, T., Iwanaga, Y., Noguchi, H., Nagata, H., Yonekawa, Y., Yamada, Y., Fukuda, K., Shibata, T., Kasai, Y., Maekawa, T., Wada, H., Nakamura, T., Tanaka, K.: Successful islet transplantation from non-heart-beating donor pancreata using modified Ricordi islet isolation method. *Transplantation*, 82(4):460-465, 2006.
4. Kimura, S., Ashihara, E., Maekawa, T.: New tyrosine kinase inhibitors in the treatment of chronic myeloid leukemia (review). *Curr Pharma. Biotech*, 7(5): 371-379, 2006.
5. Maekawa, T.: How to comply with cGMP during early phase of translational cell therapy at academia. *Clin Eval* 33(3):569-578, 2006.
6. Kimura, S., Niwa, T., Hirabayashi, K., Maekawa, T.: Development of NS-187, a potent and selective dual Bcr-Abl/Lyn tyrosine kinase inhibitor. *Cancer Chemo Pharmacol*, 58 Suppl 7:55-61, 2006.
7. Sato, K., Nogawa, M., Yuasa, T., Kimura, S., Segawa, H., Yokota, A., Maekawa, T.: A third generation bisphosphonate, minodronic acid (YM529), successfully prevented the growth of bladder cancer *in vitro* and *in vivo*. *Brit J Cancer*, 95 (10):1354-1361, 2006.
8. Yokota, A., Kimura, S., Masuda, S.,

- Ashihara, E., Kuroda, J., Sato, K., Kamitsuji, Y., Kawata, E., Deguchi, Y., Urasaki, Y., Terui, Y., Ruthardt, M., Ueda, T., Hatake, K., Inui, K., and Maekawa, T.: INNO-406, a novel BCR-ABL/Lyn dual tyrosine kinase inhibitor, suppresses the growth of Ph⁺ leukemia cells in the central nervous system and cyclosporine A augments its *in vivo* activity. *Blood*, 109(1):306-314, 2007.
9. Horie, N., Murata, H., Kimura, S., Takeshita, H., Sakabe, T., Matsui, T., Maekawa, T., Kubo, T., Fushiki, S. : Combined effects of a third-generation bisphosphonate, zoledronic acid with other anti-cancer agents against osteosarcoma. *Brit J Cancer*, 96(2):255-261, 2007.
 10. Horie, N., Murata, H., Nishigaki, T., Segawa, H., Yuasa, T., Kimura, S., Maekawa, T., Fushiki, S., Kubo, T. : The third-generation bisphosphonates inhibit tumor proliferation and induce apoptosis in murine osteosarcoma *in vitro*. (*Cancer Lett*, in press, 2006).
 11. Ashihara, E., Tsuji, H., Sakashita, Y., Haga, H., Yurugi, K., Kimura, S., Egawa, H., Manabe, T., Uemoto, S., Maekawa, T.: Anti-donor antibody in patients receiving ABO-identical and HLA-mismatched living donor liver transplants: effect on survival (*Transplantation*, in press, 2006)
 12. Kageyama, S., Iwaki, H., Inoue, H., Isono, T., Yuasa, T., Nogawa, M., Maekawa, T., Ueda, M., Kajita, Y., Ogawa, O., Toguchida, J., Yoshiki, T.: A novel tumor-related protein, C7orf24, identified by proteome differential display of bladder urothelial carcinoma. (*Proteomics*, in press, 2006)
 13. Yurugi, K., Kimura, S., Ashihara, E., Tsuji, H., Kawata, E., Kamitsuji, Y., Hishida, R., Takegawa, R., Egawa, H., Maekawa, T.: Rapid and accurate measurement of anti-A/B IgG antibody in ABO-unmatched living donor liver transplantation by surface plasmon resonance. (*Transfusion Med*, in press, 2006).
 14. Uchida, R., Ashihara, E., Sato, K., Kimura, S., Kawata, E., Taniguchi, K., Okamoto, M., Shimura, K., Kiyono, Y., Shimazaki, C., Taniwaki, M., Maekawa, T.: $\gamma\delta$ T cells kill myeloma cells by sensing mevalonate metabolites and ICAM-1 molecules on cell surface. (*Biochem Biophys Res Commun*, in press, 2007)
 15. 芦原英司、前川 平 : 結腸がん細胞に対する $V\gamma 9V\delta 2T$ 細胞の腫瘍細胞認識機構. *分子細胞治療*, 5(2): 98-100, 2006.
 16. 湯浅 健、野河正輝、木村晋也、前川 平 : RNAi 創薬 - 膀胱癌. *遺伝子医学MOOK* (中村義一編)、メディカルドゥ、東京、pp. 100-105, 2006.

17. 芦原英司、木村晋也、前川 平: siRNA のデリバリーシステム. 最新医学、61(6):1102-1109, 2006.
18. 笠井泰成: GMP/GLP/GCP. 分子細胞治療、5(4): 374-375, 2006.
19. 黒田純也、木村晋也、芦原英司、前川 平: ビスフォスフォネート製剤の抗腫瘍作用. 感染・炎症・免疫、36(2):152-155, 2006.
20. 河田英里、木村晋也、芦原英司、前川 平: 慢性骨髄性白血病に対する分子標的治療の現状と今後の展望. 血液フロンティア、16(9):1357-1370, 2006.
21. 西川昭子、村山敏典、笠井泰成、前川 平、福島雅典: 産業界、試験責任医師、および審査官のためのガイドランス—探索的 IND 試験— (邦訳). 臨床評価、33(3): 583-602, 2006.
22. 江副幸子、村山敏典、西川昭子、笠井泰成、川真田伸、中村憲正、福島雅典、前川 平: 産業界のためのガイドランス. INDs - 第 I 相試験における CGMP に準拠したアプローチ (邦訳). 臨床評価、33(3): 603-624, 2006.
23. 前川 平: 探索的臨床試験に求められる GMP 基準とは. 臨床評価、33(3): 625-627, 2006.
24. 前川 平: アカデミア発 CGMP への挑戦・1 - CPC 構造設備基準と探索臨床用 CGMP の普及に向けて. 臨床評価、33(3): 629-640, 2006.
25. 芦原英司、前川 平: Polo-like kinase-1 を標的とした RNA 干渉による新しいがん分子標的治療法. がん分子標的治療、4(3):193-201, 2006.
26. 万木紀美子、木村晋也、芦原英司、前川 平: 輸血に伴うトラブルと対処法. 臨床研修プラクティス、3(12):53-65, 2006.
27. 前川 平: 「日本における抗がん剤の臨床開発」欧米からの周回遅れを挽回するために—学の見地から—: イマチニブ耐性 CML に対する新規 Bcr-Abl/Lyn チロシンキナーゼ阻害剤の開発を例にあげて. 第一回抗悪性腫瘍薬開発フォーラム、癌と化学療法、34(2):301-304, 2007.
- 2) 学会発表 (細胞プロセッシング関係のみ)
28. Maekawa, T.: How to comply with cGMP during early phase of translational cell therapy at academia. 1st Franco-Japanese Translational Research Initiative (Kyoto, Japan) (24th February, 2006)
29. Maekawa, T.: Intelligently controlled cell processing is mandatory for the development of novel advanced cell and gene therapy (Invited lecture). 2006 Yonsei International Symposium of Laboratory Medicine (Eun-myeong Auditorium, Severance Hospital, Seoul, Korea) (8th June, 2006)
30. 前川 平: わが国における細胞治療・再生治療の発展と細胞プロセッシング - その現状と問題点 -. (特

別講演)
信州大学医学部附属病院先端医療
センター開設記念講演会
平成18年12月4日(2006)

31. 前川 平 : わが国における細胞治療

の発展と細胞プロセッシング—京都大
学の挑戦— . (特別講演)
第1回愛宕再生医療研究会 (東京、
慈恵医大) 平成19年1月13日(2007)

表1：治験薬GMPと医薬品GMPの要求事項の相違点とiGMPの考え方

iGMP	治験薬GMP	医薬品GMP
同右（査察必要）	治験薬の製造に許可は不要	医薬品製造業の許可の要件
同右（iGMPの製造管理責任者は通常プロジェクト毎に異なり、常勤のものが行う）	品質管理者（製造管理者に相当）は薬剤師のほか、大学で薬学、医学、歯学、獣医学、理学又は工学を修め、必要な教育訓練を受けた者等でもよい。	製造管理者は薬剤師に限る。
同右（iGMPの品質管理責任者は人員面から各プロジェクトの兼務が基本になり、常勤のものが行う）	治験薬品質管理者は治験薬の品目ごとに置く。複数の治験薬についての兼務を妨げない。治験薬製造施設に常駐していなくてもよい。	製造管理者は製造所毎に置く。
同右	製造等の記録類の保管期間は、他の治験関係記録と同様の期間（5年間）。	製造等の記録類の保管期間は3年（生物10年、特生30年）
同右	他の試験検査機関等の利用は、治験薬品質管理者の判断に委ねられ、特に制限していない。	他の試験検査機関等の利用制限がある。
同右（細胞治療に特化したバリデーションが必須）	治験薬開発段階の目的に応じたバリデーションを実施すればよい。	多岐にわたるバリデーションが要求されている。
同右	委託製造：治験薬の製造については許可は不要である。全部委託や再委託を妨げない。原薬等を含め、工程分断を妨げない。	委託製造：委託側、受託側とも製造業の許可が必要。全部委託や再委託は認めない。原薬等の工程分断の禁止。
同右	製造施設：製造用水供給設備、試験検査設備については備えなくてもよい。	製造所：製造用水供給設備、試験検査設備が必要。
大学、研究所など	製薬企業、治験薬GMP製造受託会社	製薬企業

表 2 : FDAのphase 1 GMP指針で注目すべき点

1. 臨床開発の段階に応じたINDの品質管理が可能であることを明記したこと。
2. 多種類のプロジェクトを請け負う大学などのCPCの実情を考慮し、同一の施設で多種類のINDを製造することを容認していること。
3. 清掃の管理などを確実にすることで、異なるプロジェクトを同一の部屋で時間を変えれば可能であることを明記していること。
4. 治療用ヒト細胞の製造に関するバリデーションに柔軟性を持たせたこと。
5. 無菌検査結果が判明する前に、出荷しなければならない状況を容認していること。

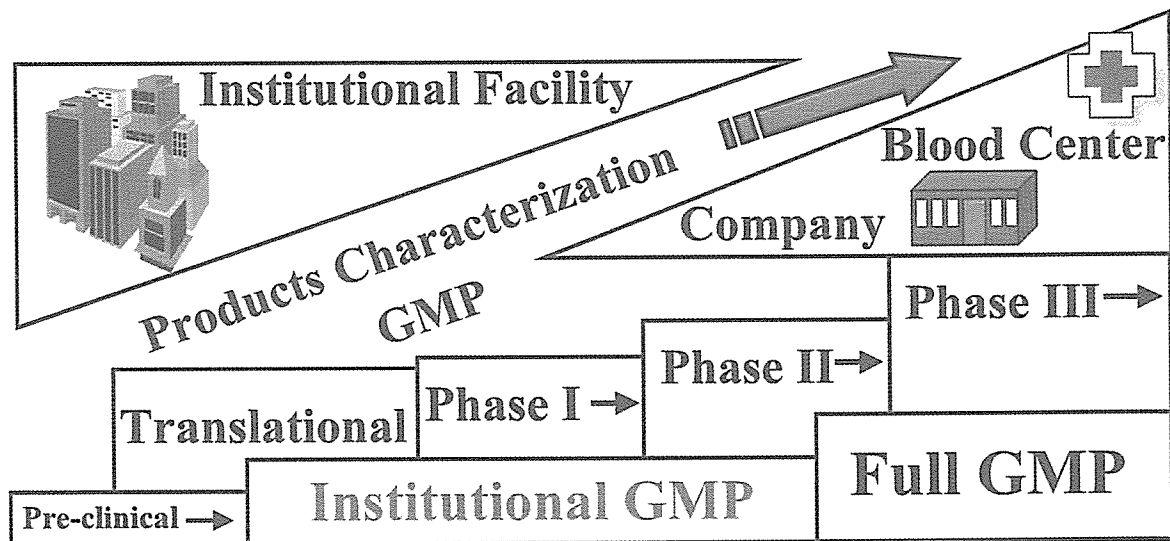


図1 : 細胞治療・再生治療のTRや医師主導型治験に特化した GMP (institutional GMP: iGMP) の指導體制の構築 (法令化するのではなく、指導システムをつくる) が必要。iGMPの考え方は、i) 細胞と錠剤などのプロセッシングは異なる、ii) 大学などで少数例を対象に行う薬事法外のTRには、医薬品で要求されるfull GMPは必要ではない、iii) フェーズが進むにつれ、GMPのレベルを上げてゆくべきである (stepwise approach)、iv) 再生治療などのTRや医師主導型治験に用いる細胞も、被験者の安全を守るために品質を担保する必要がある。

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： 細胞治療・再生医療の安全性に関する調査研究とガイドライン作成

- 【1】 GVL 効果を誘導するマイナー組織適合抗原-主要エピトープの研究
第 4 報 HLA 適合造血幹細胞移植における再発しにくいドナーの検索
-同種多型分子の利用-
- 【2】 ABO 不適合の CBSCT における A, B 抗原と抗 A 抗体、抗 B 抗原の共存状態の
前向き共同研究-胎児赤血球の成熟分化過程の研究-

塩原信太郎 金沢大学医学部附属病院輸血部助教授

(研究要旨) 平成 18 年度は 2 年間の結果を論文化し、次いでその結果から同種細胞療法後の再発予測式の検討を行った。また臍帯血移植後の赤血球抗原の分化成熟過程の多施設共同研究の研究を開始し MajorABO 不適合の臍帯血移植は溶血の潜在的危険が有り注意が必要であることを証明する研究を開始した。

A. 研究目的と方法

【1】 GVL 効果を誘導するマイナー組織適合抗原-主要エピトープの研究

長期生存例が増加している女性患者の出産例では胎児母体出血により、自己組織が再び抗原としてホストに暴露されることが明らかになった。妊娠継続には HLA の近い組み合わせが相応しいと考えられる。一方再発予防は長期生存を得る上で最も重要な因子である。われわれは従来検討してきた 5 種類の同種多型分子は GVHD よりむしろ GVL に関与し長期生存に有利であることを明らかにしたが (文献 1)、この 5 種類の多型接着分子は効果に差があり、49 b は GVL には全く関与していないことも明らかに出来た。そこでより少ないマイナー抗原で、相応しい

ドナー選択が可能かどうか、GVL 効果が GVHD よりも高い 4 種類の同種多型分子を組み合わせその有効性を検討した。対象は 1985 年から 2003 年の間に金沢大学骨髄移植班と新潟大学医歯学総合病院で、造血器腫瘍に対し HLA 適合ドナーから移植を受けた合計 108 例 (男性: 64 例、女性: 44 例) である。全例が骨髄破壊的な前処置を受けた後、十分な免疫抑制を受けていた。移植病期はスタンダードリスク群 67 例とそれ以外の病期で移植を行ったハイリスク群 41 例である。最低 2 年以上を観察し再発の有無を検討した。検査方法は患者とドナーの DNA を用いて HA-1、CD31 codon 125、CD31 codon 563、CD62L4 種類のアレルを決定し、不適合例は GVH 方向に不一致があり、HLA 拘束性を示す例を不適合例と診断した。統計解析は再発率低下に及ぼす各因子の影響は

、ロジスティック回帰分析により検討した。移植後の再発予測式はロジスティック回帰モデルで作成し、結果を ROC (receiver operating characteristic curve) 曲線で比較した。解析は JMP version 6(SAS)を用いた。

【2】 ABO 不適合の CBSCT における A, B 抗原と抗 A 抗体、抗 B 抗原の共存状態の前向き共同研究-胎児赤血球の成熟分化過程の研究-

輸血学会細胞治療委員会委員による自施設の検討結果や輸血学会の報告から、臍帯血移植後にまず回復する赤血球は、ヘモグロビン F を保有する胎児赤血球であり、短期間で成人赤血球に成熟することが推定された。胎児赤血球は膜表面に A、B 抗原が約 30 万しか発現せず、抗 A や抗 B 抗体と共存することが知られているが、 A B O 不適合の臍帯血移植例でも、回復した A、B 抗原と抗 A 抗体、抗 B 抗体が長期間共存する症例が少数ではあるが認められた。また、カラム凝集法では検出できない A、B 抗原量の少ない赤血球が増加する一時期があることも報告され、胎児赤血球は、段階的に成人赤血球に成熟すると推定される。これらの赤血球抗原は移植後、成熟しながら抗体を吸着するものと考えられる。しかし最近、骨髄非破壊的移植例では抗体産生が長期間認められる症例があり、遅発性の血管外溶血が危惧される。そこで、 A B O 不適合は C B S C T 後の溶血や合併症に関与していないか、多施設共同研究を行い明らかにする。適性輸血にも関与すると考えられる。〈対象〉 C B S C T 例、但し、CST と RIST は問わないまた、Major 不適合、major/minor 不適合、適合は問わない。〈検査〉、1、2 週間毎にヘモグロ

ビン F、抗体価。2、抗体価は自然抗体と免疫抗体を測定する。3 毎週、総ビリルビン (直接、間接)、LDH、4、毎月、H p <輸血>従来どおりの適合血輸血を行う。但し抗体の消失を確認してからドナー方の赤血球に変更する。〈方法〉1、I R B 2、患者さんの同意を得る〈費用〉費用 ; H b F は SRL に提出する。不規則性抗体が測定出来ない施設は、コア施設へ送る。〈目標〉10 例 100 検体 〈期限〉>1 年 〈来年の輸血学会で報告〉

C. 研究成果

【1】 GVL 効果を誘導するマイナー組織適合抗原-主要エピトープの研究

表 1 にそれぞれの因子の GVL 効果の強さを示す。再発率は CD62L、CD31 codon 563、HA-1、CD31 codon 125、CD49b の順に 5.9%、11.8%、16.6%、15.4%、33.3% であり適合例の再発率はそれぞれ 37.0%、32.4%、17.6%、29.7%、34.2%、であった。興味深いことに CD49b 不適合例の GVL 効果は認めなかった。表 2 は検討する mHag の数を変化させて、回帰式の適合性を検討した結果で、P 値が最も小さく、回帰式の予測精度が一番高く、予測数の割合が最も高いモデルを探した結果を示している。この検討から CD62L,CD31codon563,HA-1 の 3 種類の MHAG 中、何れか一つの不適合因子があれば再発率は最も低下し、再発を推定する回帰モデルの精度が 82% と高く、かつ 76% の移植患者に相応しいドナー検索が可能であった。図 1 は回帰式の精度を ROC 曲線で示す。AOC は曲線以下の領域を示し、回帰式の精度を示している。

【2】 ABO 不適合の CBSCT における A, B 抗原と抗 A 抗体、抗 B 抗原の共存状態の前向き共同研究-胎児赤血球の成熟分化過程の研究-

自施設の結果は

- 1、臍帯血移植後に胎児型ヘモグロビンを有する未熟な赤血球が増殖する。
 - 2、この胎児型赤血球は約 1 年かけて、中間型赤血球、成人型赤血球に成熟する。
 - 3、胎児型赤血球は A 抗原、B 抗原が少なく抗 A 抗体、抗 B 抗体と共存できる。
 - 4、胎児型赤血球は成熟につれて抗体を吸着し、網内系で処理される。
 - 5、ホストの抗体産生が残存し抗体が持続する場合は、肝脾腫がおき溶血が持続して致命的になる例もある。
 - 6、ABO 不適合臍帯血移植後の輸血は抗体の消失を頻回に検査後行う。
- 以上の結果を確認後に造血細胞移植学会と共同でガイドラインを作成する。

D. 考察と今後の展開

【1】 GVL 効果を誘導するマイナー組織適合抗原-主要エピトープの研究

今回の研究結果からロジスティック回帰モデルで移植後再発を予測できる推測モデルが可能となった。この回帰式は対象患者 76%に推定能 82%で再発しにくいドナーを推定できる。3 種類の mHag の不適合だけで再発予防効果を期待できる理由として、これらの多型分子は mHag の中でも最も抗原能力の高い同種多型分子であることが考えられる。同種多型分子は両方向のため、ドナー候補者を選択しやすい特徴もある。今後はこの回帰式を他

の集団で精度と感度をチェックする必要があるが、HLA 適合のドナーが複数いる場合にドナー選択が有用であろう。既移植例では再発しやすさに応じた免疫抑制剤の投与量や期間決定出来る可能性がある。HLA 適合 mHag 不適合ドナーの選択で移植の新しい展開が期待できる。

【2】 ABO 不適合の CBSCT における A, B 抗原と抗 A 抗体、抗 B 抗原の共存状態の前向き共同研究-胎児赤血球の成熟分化過程の研究-

以上の知見は輸血・細胞治療学会と造血細胞移植学会の交差点にある問題であり、造血細胞移植の専門家と輸血の専門家が合同で解決する課題と考える。従来造血細胞移植は ABO 不適合でも施行できたが、臍帯血移植やミニ移植の場合には ABO 不適合は予後不良因子の一つである。今後、本研究を持続させ、ガイドラインを作成したい。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

論文発表

- 1) Katagiri T, Shibara S, Nakao S, et al. : Mismatch of minor histocompatibility antigen contributes to a graft-versus-leukemia effect rather than to acute GVHD, resulting in long-term survival after HLA-identical stem cell transplantation in Japan. Bone Marrow Transplant. 38:681-686, 2006.

mHagによって異なるGVL効果 強さの差異

再発率 (%)

マイナー抗原	症例数	不適合例	適合例	P
CD62L	71	5.9	37.0	<0,05
CD31 codon563	51	11.8	32.4	
CD31 codon125	50	15.4	29.7	
HA-1	23	16.6	17.6	
CD49b	44	33.3	34.2	

片桐等 Bone Marrow Transplantation 2006 in press

表 1. それぞれの因子の GVL 効果

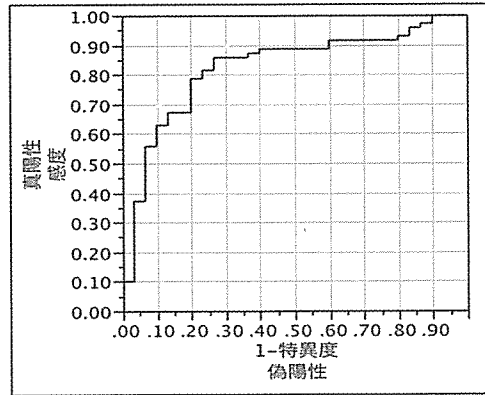
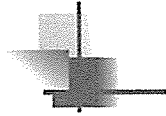
多変量解析による再発予測モデル mHag と適合性の検討

mHag					P値	精度	予測数(%)	
CD62L	CD31 codon563	HA-1	CD31 codon125	CD49b				
0	00	0	0	0	0.0278	79	76	
0	00	0	0	0	0.0107	80	76	
0	0	0	0	0	0.0033	82	76	
0	0	0	0	0	0.0168	79	67	
0						0.0033	80	67
-						0.12	74	-

施設、移植年月、疾患名、UR/R、PB/BM、from F to M、H/S at SCT に mHag の不適合の有無を加えた再発予測モデル

表 2. 再発予測モデル

再発予防予測式 (ROC曲線)



7因子
施設
移植年月
疾患名
UR/R
PB/BM
F to M/others
H/S at SCT
加えて
mHag(1 of the 3)

R2=0,22 P=0,0033
Non-relapse=positive
At least one mismatch of the 3 mHag
AOC= 0.82

図1. 再発予防予測式

A抗原の分化・成熟

A抗原とI i抗原の関係

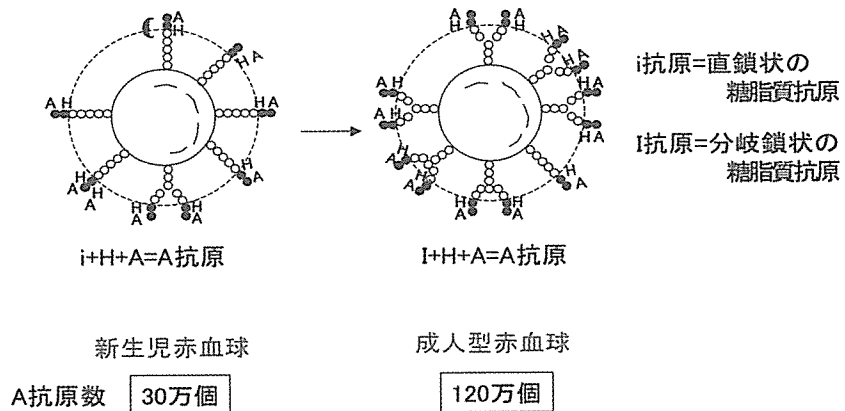


図2. 出産後の血液型抗原の分化成熟過程

『ABO 不適合 CBSCT における A、B 抗原と抗 A 抗体、抗 B 抗体の共存状態と相応
しい血液製剤の選択に関する前方視的調査研究』
研究計画書

日本輸血・細胞治療学会、細胞治療委員会

第一版 平成 18 年 10 月 17 日

目次

- 1、研究の概要
- 2、背景（本研究の意義と目的）
- 3、対象症例と研究期間
- 4、方法
- 5、検査項目
- 6、移植後の輸血
- 7、インフォームド・コンセント
- 8、個人に関する情報の保護と管理
- 9、試料等の保存と廃棄
- 10、費用負担
- 11、研究責任者等氏名
- 12、参考文献

付1 提供者に対する説明文書

付2 調査研究協力への同意書

1. 研究の概要

ABO 不適合臍帯血移植例では ABO 血液型抗原の不適合が移植成績を左右する可能性がある。そこで 2006 年以降の ABO 不適合臍帯血移植 (CBSCT) 例について血液型抗原の成熟過程と抗体価の推移を調査研究し、ABO 不適合移植例の潜在的リスクを把握し適切な輸血療法を確立することをめざす。

2. 背景

日本輸血・細胞治療学会の細胞治療委員会委員による自施設の検討や輸血学会の報告から、臍帯血移植後にまず回復する赤血球は、胎児ヘモグロビン (ヘモグロビン F) を保有する胎児型赤血球であり、短期間で成人型赤血球に成熟することが推定されている。胎児型赤血球は膜表面に A、B 抗原が約 30 万と少なく、抗 A や抗 B 抗体と共存しやすいが、ABO 不適合の臍帯血移植例でも、臍帯血幹細胞から再構築された A、B 抗原を保有する赤血球が抗 A 抗体、抗 B 抗体と長期間共存する症例が少数ではあるが存在することも明らかになった。さらに臍帯血移植後にはカラム凝集法では検出できない A、B 抗原量の少ない赤血球が増加してくることも明らかになり、胎児型赤血球は段階的に成人型赤血球に成熟すると推定される。骨髄移植や末梢血幹細胞と異なりこれらの赤血球型抗原は移植後時間を掛けて成熟しながら抗体を吸収するものと考えられる。しかし最近、骨髄非破壊的移植例では抗体産生が長期間認められる症例があり、網内系臓器への負担や溶血が危惧される。一方、臍帯血移植では Major ABO 不適合臍帯血移植例の予後が不良であることが報告され、このような ABO 不適合との関係も推定される。

このように ABO 不適合は臍帯血移植後の溶血や予後に関与している可能性があり、多施設共同で調査研究を行い、潜在的なリスクを明らかにすることが必要である。施設は細胞治療委員会委員の 6 施設と内容に賛同する施設で 30 例 100 検体を行うが、予測した結果が出た場合には造血幹細胞移植学会と共同の調査研究を行い、ガイドラインを作成する。

3. 対象症例と研究期間

- ① 臍帯血移植を予定している 30 例とする。
 - 1、RIST も骨髄破壊的全処置でもいずれも可能とする。
 - 2、コントロールとして BMT と PBSCT も行う
- ② 研究期間は、本研究の解析が終わり、論文発表等が全て終了するまでであるが、最長で平成 20 年 3 月 31 日とする。

4. 方法

- ① 各施設で 5、に示した検査を行う。

- ② 出来ない検査がある場合には、EDTA 加血 10ml（ヘパリン加血でも可）を採取し、4℃宅急便（着払い）で金沢大学医学部附属病院輸血部へ送る。
- ③ 患者氏名は匿名化し I D 番号で管理する。
- ④ 結果は年 2 回集計し、細胞治療委員会で検討する。

5、検査項目、

- a) 赤血球 A・B 抗原（試験管法、ゲルカラム法, 可能ならば FCM 法も行う
ゲルカラム法は用いた機種を明記する）
 - b) 抗 A・抗 B 抗体価（IgM および IgG 抗体価を測定）
 - c) 直接クームス試験および間接クームス試験（方法、機種を明記する）
 - d) ヘモグロビン F（ヘモグロビン分画）
ステップワイズ HPLC (SW-HPLC) で行う（SRL へ外注も可能とする）
 - e) 総ビリルビン（直接、間接）、LDH、ハプトグロビン（正常値を明記する）
 - f) 免疫グロブリンサブタイプ（SRL へ外注も可能とする）
- a)～d) の検査項目は移植後 2、4、6、8、12 週以後 1 か月毎検査を実施する。e) は適宜実施、また、f) は 3 か月毎に実施する。残余血清は保存する。

6、移植後輸血

ABO 不適合移植前後の輸血は、AABB technical manual に準じた適合血輸血を行う。但し赤血球輸血は抗体の消失を再確認してからドナー型に変更する。抗体価が再上昇する例もあるので十分な注意を要する。

7、インフォームド・コンセント

- ① 主治医はドナーと患者に対し、別紙説明文書（付 1.）を用いて、調査研究の意義、目的、方法、予想される結果、患者が被る可能性のある不利益、試料等の保存及び使用法等について十分な説明を行う。
- ② 患者もしくは代諾者等の十分な理解と同意が得られた場合には、別紙同意書（付 2.）にそれぞれ署名をお願いする。
- ③ 主治医は同意書をカルテとともに保管する。
- ④ 患者はいつでも調査研究内容について知りたい時には、本研究の研究責任者に尋ねることができる。
- ⑤ 患者本人がインフォームド・コンセントをえることが困難であると判断される場合には、その代諾者等からインフォームド・コンセントをえる。
- ⑥ 患者が未成年者の場合は、代諾者等よりインフォームド・コンセントを受けるとする。この場合においても、主治医は、提供者本人に分かりやすい言葉で十分

な説明を行い理解が得られるように努める。提供者が16歳以上の場合には、代諾者に加えて提供者本人からのインフォームド・コンセントも受ける。

- ⑦ 患者またはその代諾者等は、自らが与えたインフォームド・コンセントを、不利益を受けることなくいつでも撤回することができる。

8、 個人に関する情報の保護と管理

- ① 個人情報管理者は個人の診療情報を確認し、研究の対象として適当であると判断した段階で、全ての試料を連結可能匿名化し、研究責任者に提供する。
- ② 提供者等から本研究に対する同意の撤回があった場合には、当該提供者の試料や研究結果などを廃棄する。
- ③ 外部の研究機関に検査を委託する場合には、研究担当者は診療情報等の附随しない匿名化された試料のみを供与し、外部の研究機関にとっては完全に連結不可能の状態とする。

9、 試料等の保存と廃棄

- ① 原則として本研究終了時に試料は全て連結不可能匿名化した後に廃棄する。本研究終了時とは、本研究の解析が終わり、論文発表、申請等が全て終了する時期または平成20年3月31日のいずれか早い時期とする。

10、 費用負担

- ① 提供された試料の分析及び解析は、厚生労働省レギュラトリーサイエンス研究助成金または委任経理金によって行われ、提供者が費用を負担することはない。

11、 実施体制

研究責任者

塩原 信太郎	金沢大学医学部附属病院	輸血部臨床教授
甲斐 俊朗	兵庫医科大学	輸血部教授

共同研究者

山崎 宏人	医学系研究科細胞移植学	助手
幸道 秀樹	東京臍帯血バンク部長	
田野崎隆二	国立がんセンター中央病院臨床検査・細胞移植科	
池田 和真	岡山大学輸血部講師	
加藤 栄史	愛知医科大学輸血部助教授	
豊嶋 崇徳	九州大学遺伝子細胞療法部講師	

個人情報管理者

佐藤 英洋	金沢大学医学部附属病院	輸血部技師
-------	-------------	-------

12、参考文献

付1. 試料提供者に対する説明文書

【はじめに】

これから説明する内容は、あなたの造血幹細胞移植に関連してこの病院が行っている臨床研究の一つです。内容は移植後に血液型が変わることと輸血の際に必要なとなる輸血のことです。説明の中に少し専門的な内容が含まれますが、よくお読みになって、この研究に参加していただく事が適切かどうか十分検討してください。分かりにくい内容や不明な点がある場合や、さらに詳しい説明が必要な場合には、担当の医師に遠慮なくお申し出ください。

【本研究に関して御理解頂きたいこと】

研究に参加されない場合であっても不利益を受けることはありません。この研究に参加するかどうかはあなたの自由です。たとえ同意されなくても、今後の治療に不利益を受ける事は決してありません。この研究への参加する事を同意された後でも、あなたの自由意志でいつでも撤回することができます。また、それによる不利益を受ける事はありません。

説明文

患者_____様はこのたび ABO 式血液型が異なるドナーさんから造血細胞移植を受けられます。

移植した造血細胞が生着すると血液型は徐々にドナーさんの血液型に変わっていきます。骨髄移植と末梢血幹細胞移植の場合には、移植後約4—5ヶ月で完全にドナー型に変わります。しかしながら臍帯血移植や前処置を弱めた通称ミニ移植ではドナー型赤血球の回復が遅れたり、またせっかく増えた赤血球が溶血する例も観察され、ABO が不適合の臍帯血移植を受けられた患者さんの場合には、ABO 血液型抗原の不適合と輸血について少し詳しく調査する必要が出てきました。

これまでに輸血・細胞治療学会（旧輸血学会）細胞治療委員会による自施設の検討結果や輸血学会報告から、臍帯血移植後にまず回復する赤血球は、胎児ヘモグロビン（ヘモグロビンF）を有する胎児型赤血球であり、短期間で成人型赤血球に成熟すると推定されます。胎児型赤血球は膜表面のA、B抗原が約30万と少なく、抗Aや抗B抗体と反応しにくいですが、臍帯血移植後増えてくる赤血球も回復したA、B抗原と抗A抗体、抗B抗体が長期間共存する症例が少数ではある

が存在することも明らかになりました。また、臍帯血移植後の血液型は試験管法とカラム法では結果が異なる現象も明らかになってきました。以上から臍帯血移植後の赤血球は胎児型赤血球から段階的に成人型赤血球に成熟すると推定されます。これらの赤血球型抗原は移植後、成熟しながら抗体を吸収するものと考えられます。しかし最近、骨髄非破壊的移植例では抗体産生が長期間認められ、そのような症例では溶血が危惧されます。

そこで、今後 ABO 不適合の移植例について、血液型の推移と、抗A、抗B抗体価の推移、など輸血や輸血検査、溶血予防に必要な検査を定期的に約 1 年間調べさせて頂きたいのです。検査用検体は血液検査の残りを利用出来ますので新しい負担はありません。検査内容は特別困難なものはありませんが、フローサイトメトリーは施設によって出来ないところもあり、その場合には検体を他の施設に送ることもあります。その場合には個人情報はなく、番号を付与して送りますので情報の漏洩はありません。

研究期間

30 人の患者様に対して検査を予定していますので、それに達するまでですが、最長で平成 20 年 3 月 31 日とします。

臨床に必要な情報はその都度報告し従来同様の輸血療法に役立てます。

【研究結果の公表について】

研究結果は、個人が特定されない方法で学会発表や学術誌およびデータベース上で公表されることがあります。

【検体の取扱いについて】

検査の残りを利用し、あなたから提供された検体は、原則として本研究のためだけに用いさせていただき、研究終了時に誰の検体か分からないように（連結不可能匿名化）して廃棄します。

【費用負担に関する事項】

本研究に関わる費用をあなたが負担することは一切ありません。

【問い合わせ、苦情等の連絡先】

病気や今回の研究に関して疑問に思われることがあれば、下記に御連絡下さい。

連絡先： 〒920-8641 金沢市宝町 13-1
金沢大学医学部附属病院 輸血部
塩原信太郎
電話番号：076-265-2018
FAX 番号：076-234-4277