

されていることが特徴である。

3) 各国のバンクの臍帯血品質管理

米国では代表的な NY Blood Center の National Cord Blood Program に対してインタビュー調査を行った。基本的には FDA の GTP 基準に従い管理されている。HLA 検査は母体血と臍帯血の両方の検査を行っており、取り違いの有無を確認するシステムになっている。感染症のチェックにおいては、HIV-1, HIV-2, HTLV-1, HTLV-2, HCV, HBV, 梅毒に対しては、血清学的検査を行い、HIV, HCV, ウエストナイルウイルスに関しては、核酸増幅法による検査も行っている。異常ヘモグロビン症（鎌状赤血球症、ヘモグロビン C, E 病）は HPLC 法にて行っていることなどが特徴的である。またプロセッシングはクリーンルームでの処理を義務化しておらず、キャビネット内で処理している。ドイツでは基本的には GMP 基準に則った臍帯血のプロセッシング、品質管理が行われている。細胞の調整はクリーンルームで行われている。英国では細胞調整や品質管理に関する詳細は Committee on Microbiological Safety of Human Blood, Tissue and Organs (M. S. B. T. O) に準じて行われている。細胞調整はクリーンルームで行われている。

4) 臍帯血移植に用いる臍帯血の費用

今回調査した3カ国のバンクでは移植用臍帯血は有償であり、米国 NYBC では 22,490US\$, ドイツでは 19,000 ユーロ、英国では国内向けには 10,000£、国外向けには 22,400US\$ である。価格設定の根拠はいずれも輸送、検査、保存に関わる費用からコスト計算を行っており、当該臍帯

血以外の保存されている臍帯血にかかるコストは上乗せされていない。

2. 国内バンク調査

1) 臍帯血の位置づけ、規制の現状

現在わが国においては、臍帯血は血液製剤（医薬品）としても組織（医療用具）としての取り扱いが行われておらず、製造元である臍帯血バンクの施設および品質管理に関して既存の規制対象外となっている。臍帯血バンクネットワークでは「臍帯血移植のための技術指針」および共通の管理基準書を作成し、自主的に臍帯血の品質を保つ努力をしている。

2) 臍帯血プロセッシングに関する施設および GMP 対応の現状

臍帯血のセルプロセッシングは移植に不必要な赤血球、血小板、血漿を取り除き、凍害保護液などを加えて SHIPPING されるまで液体窒素保存されるまでの行程をいう。基本的な操作法は技術指針で定められているが、行程毎の操作法、使用試薬等の詳細は各バンクの標準作業手順書により管理され、バンクによって異なる。作業環境はどのバンクも衛生管理区域を設け、バッグへの注射針の穿刺を含む開放系操作では清浄度クラス 100 の安全キャビネット内での作業を行い、閉鎖系調整作業においても清浄度クラス 100,000 以下の清浄区域内で作業を行っている。各作業区域での作業員の更衣、手洗いの規準はネットワークの衛生管理基準書に定められてはいるが、開放系操作区域での無塵衣の着用は義務づけられていない。バンク毎に手洗い、更衣の手順書が作成されている。

3) 臍帯血の品質管理の現状

臍帯血の品質管理は、どのバンクも臍帯血バンクネットワークの臍帯血品質管理基準書に従い項目が決められ、検査を行っている。各バンクで試薬や機器、検査方法など異なっている。血球数測定やCD34 陽性細胞測定に関しては、ネットワークとして技術交流を行い、評価を行っている。

4) バンクの運営、コストの現状

補助金により臍帯血の保存、検査が行われているが、人件費、賃料、高熱水費などは運営母体が負担しているバンクが多い。野村総合研究所による出庫1臍帯血あたりの費用は180万円と試算された。

D. 考察

移植用臍帯血の取り扱いに関して、各国により異なることが今回の調査にて明らかになった。ドイツでは医薬品として位置づけられ、PEI が薬事法にあたるRichtlinien zur Transplantation von Stammzellen aus Nabelschnurblut1999にて、規制を行っている。一方米国、英国は臍帯血をTissueととらえて、臍帯血製品に特化した規制を設けている。わが国においては、医薬品にも組織（医療用具）にも規定されておらず、品質管理にあたっては、臍帯血バンクネットワークの自主基準に従っているというところが特徴であろう。臍帯血の品質管理に関しては、細菌、ウイルス感染のチェックはわが国を含め、各国での相違は認めない。性能を左右する幹細胞検査（CD34 測定、コロニーアッセイ法、HLA 検査）に関して各国で相違はないようである。施設に関しては、ドイツは無菌室でGMPに準拠

したプロセッシングを行っているが、米国ではバッグによる閉鎖系操作が中心となることや、セルプロセッシングのカテゴリーがminimally manipulated productと位置づけられているので、キャビネット内操作のみで行われている。わが国では、どのバンクもClass100,000以下の無菌室を備えているが、環境施設や更衣基準をきびしくしていくことよりも操作法を完全閉鎖系システムにしていくことの方がコスト、作業効率の点で重要であるという意見もあり、今後検討していく課題であると考えられた。臍帯血の費用はドイツ、米国、英国でほぼ同等の約200万円に設定されていた。野村総研の試算において、わが国の臍帯血バンクで調整される臍帯血の費用もだいたいこの金額となるが、今後臍帯血を輸血製剤として薬価をつけていくと、膨大な保存臍帯血が資産として捉えられて、巨額な税金のため、バンク運営に支障を来す問題点も指摘された。さらには明らかな処理過程における細菌のコンタミネーションや取り違いなど臍帯血バンクの過失から患者の健康被害が生じた場合の保証など整備しなければならない問題点が今回の調査により明らかになった。

E. 結論

わが国の移植用臍帯血は海外バンクと比較しても概ね同等の品質管理がなされていると考えられる。各国においては、医薬品あるいはTissueとしての臍帯血の定義づけがなされ、政府機関により基準が示されており、輸血製剤と同等の医薬品化を考える上で、これらの基盤整備が必要である。

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）

総括研究報告書

臍帯血医薬品化に関する調査研究

1-2 海外における臍帯血医薬品化の現状と取り組み

分担研究者：高橋 恒夫

東京大学医科学研究所 細胞プロセッシング研究部門客員教授

研究要旨

海外に於ける臍帯血移植、臍帯血バンクの状況、またその国の臍帯血の医療の中での位置づけを調べ、我が国において臍帯血を近い将来、医薬品として扱うことが可能か、またその意義について議論をすすめていく上で参考となる資料を得ることを目的とした。調査の対象は、臍帯血バンクに早くから取り組んでいるイギリス、ドイツ、米国の代表的な臍帯血バンクを選択し、現地調査を行い、またその国の臍帯血移植とバンクの管轄機関を訪問し聞き取り調査を行った。詳細は野村総合研究所の報告書の中にまとめた。各国によって臍帯血の取り扱いは異なるが、調査した3カ国のいずれにおいても、国は臍帯血の安全性の管理について深く関与しており、国際的な協力体制を踏まえながら臍帯血の将来性に期待して取り組んでいる様子が明らかであった。

A. 研究目的

海外における臍帯血移植とバンクの現状、それぞれの国の管轄機関の臍帯血への取り扱いについて調査し、我が国の今後の方針を決めていく上で資料となるものを揃えることを目的とした。

B. 研究方法

野村総合研究所の調査員とロンドン、デュッセルドルフ、ニューヨークの臍帯血バンクを現地調査、また現地の日本大使館職員のアテンドのもとに英国、ドイツ、米国の臍帯血を管轄する国の機関を訪問し聞き取り調査を行なった。

C. 研究結果

詳細は野村総研の報告書の中にまとめた。各国で臍帯血の取り扱い方は異なり特にドイツでは医薬品としての取り扱いがなされている。英国、米国は組織、あるいは血液に近い取り扱いでありEUの間でも異なっている。

D. 考察

臍帯血を医薬品として扱うことはドイツの例にみられるように技術的に可能で

ある。しかし、英国、米国にみられるように組織、あるいは血液に類するものとして扱ってもその安全性に大きな違いが生ずるかは明らかではない。今回の調査結果を解析し、わが国の現状に沿いつつ、これらの国々のバンクの優れた点、管轄機関の管理法を導入し、現在よりもさらに安全性、品質の高い臍帯血の患者、移植機関への提供が保証される臍帯血の製

ある。しかし、英国、米国にみられるように組織、あるいは血液に類するものとして扱ってもその安全性に大きな違いが生ずるかは明らかではない。今回の調査結果を解析し、わが国の現状に沿いつつ、これらの国々のバンクの優れた点、管轄機関の管理法を導入し、現在よりもさらに安全性、品質の高い臍帯血の患者、移植機関への提供が保証される臍帯血の製造、供給体制を整えていくことが必要であり、国の積極的な関与が重要であろうと考える。

E. 結論

臍帯血の取扱いは血液製剤のレベルに持っていくことが適切と（個人的に）考える。

F. 健康危険情報

該当せず。

G. 研究発表

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

臍帯血医薬品化に関する調査研究

1-2 国内バンク調査

分担研究者：伊藤 仁也

先端医療センター

研究要旨

わが国の臍帯血バンクは全国 11 の臍帯血バンクを日本さいたい血バンクネットワークとして統合し、臍帯血採取、調整保存、衛生管理、品質管理の基準の作成、データ管理を行うことにより運営されている。

移植用臍帯血はさいたい血バンクネットワークが定めた技術指針の基づき、各臍帯血バンクが採取、加工、出庫を行っているが、細胞プロセッシングや冷凍保存法、CD34 測定法やウイルス検査法などの品質管理はバンク毎に若干の違いがある。近年ドナープール拡大のための国際ネットワーク化や再生医療の細胞ソースとして用いるニーズが高まってきており、将来の臍帯血バンキング事業は輸血製剤と同レベルの品質管理、品質保証が求められると考えられる。本調査研究の目的は、国内の臍帯血バンクにおける品質管理の現状を把握し、今後の臍帯血バンクでの臍帯血の品質管理、品質保証、運用に役立てることを目的とし、11 の臍帯血バンクに対して質問紙法および対面面談により品質に関するアンケートを実施した。

環境面では全てのバンクでセルプロセッシングに必要な環境が整備されていると考えられた。品質管理試験項目はネットワークの基準書どおりに行われているが、測定法、測定機器、試薬に関しては各バンクで異なっていた。バンクの運営に関してはどのバンクも補助金に依存せざるを得ない実態があり、特に製造サイドの責任補償体制の不備などは今後の問題として重要な課題と考えられた。

A. 研究目的

わが国の臍帯血バンクは全国11のバンクをネットワークで結び、臍帯血バンクネットワークとして臍帯血情報を提供し、移植に用いられている。移植用臍帯血は技術指針の基づき、各臍帯血バンクが採取、加工、出庫を行っているが、細胞プロセッシングや凍結保存法、CD34測定法やウイルス検査法などの品質管理はバンク毎に若干の違いがある。近年、臍帯血移植成績が明らかになってきており、総細胞数よりもCD34陽性細胞数やコロニー形成細胞数が予後因子として重要なリスクファクターであることがわかってきた。また臍帯血中には組織幹細胞が豊富に含まれていることが明らかになってきており、今後、再生医療の細胞ソースとして用いるニーズが高まってきている。こういったことから将来の臍帯血バンキング事業は輸血製剤と同レベルの品質管理、品質保証が求められると考えられる。

また、造血幹細胞および組織幹細胞としての評価法の標準化といった幹細胞独特の品質保証がどの程度可能であるのか明らかにする必要がある。本調査研究の目的は、国内の臍帯血バンクにおける品質管理の現状を把握し、今後の臍帯血バンクでの臍帯血の品質管理、品質保証、運用に役立てることを目的とする。

B. 研究方法

あらかじめ調査項目を臍帯血医薬品化調査委員会にて選定し、日本臍帯血バンクネットワークに属する11のバンクに質問紙法および対面調査により、データを

収集した。

1. 対象とした臍帯血バンク

北海道臍帯血バンク

特定非営利活動法人宮城さい帯血バンク

東京臍帯血バンク

東京都赤十字血液センター臍帯血バンク

神奈川臍帯血バンク

東海大学さい帯血バンク

東海臍帯血バンク

京阪さい帯血バンク

特定非営利活動法人兵庫さい帯血バンク

中国四国臍帯血バンク

福岡赤十字血液センター臍帯血バンク

2. 調査項目

①臍帯血の位置づけ、規制の現状：臍帯血の定義、臍帯血プロセッシングに関する規制の有無、ドナー救済制度、製造者（バンク）の過失に対する補償など

②臍帯血プロセッシングに関する施設およびGMP対応の現状：施設基準、製造組織、品質管理法、製造管理法、運搬、および作業員

③臍帯血の品質管理の現状：ドナースクリーニング、感染症スクリーニング、無菌性、規格検査（総細胞数、CD34陽性細胞数、コロニー形成細胞数）、ドナー追跡調査

④バンクの運営、コストの現状

⑤臍帯血移植以外の再生医療に発展させた医療の現状

を我が国の臍帯血バンクおよび海外（米国、EU）の動向と比較しながら検討した。

C. 研究結果

1. 臍帯血の位置づけ、規制の現状

現在わが国においては、臍帯血は血液製剤（医薬品）としても組織（医療用具）としての取り扱いが行われておらず、製造元である臍帯血バンクの施設および品質管理に関して既存の規制対象外となっている。臍帯血バンクネットワークでは「臍帯血移植のための技術指針」（以下技術指針）および共通の管理基準書（提供管理、採取基準、品質管理、調整保存管理、衛生管理）を作成し、自主的に臍帯血の品質を保つ努力をしているのが現状である。一部のバンクはFACT(Foundation for the Accreditation of Cellular Therapy)および NETCORD のスタンダードを採用し、国際査察を受けている。また現在、製造者である各臍帯血バンクの過失で臍帯血に不具合が生じ、レシピエントに健康被害が出た場合のバンクや患者への補償制度はない。

2. 臍帯血プロセッシングに関する施設およびGMP対応の現状

①採取

臍帯血バンクネットワークの指針および採取施設基準、採取手順に基づいて各バンク10か所前後の臍帯血採取施設が登録されている。採取方法は施設により統一はされていないが、臍帯を消毒後臍帯静脈に採血用バッグに付属する穿刺針を用いて穿刺し、自然落下による採血を行う方法が一般的である。採取にあたっては、出産前問診、家族調査、出産後問診により遺伝性疾患のリスクおよび感染リスクを評価している。肉眼的にクロットがない、24時間以内に搬送が終了するもの、60ml以上採取されたものが搬送される。

②セルプロセッシング

臍帯血のセルプロセッシングは移植に不必要な赤血球、血小板、血漿を取り除き、凍害保護液などを加えて SHIPPING されるまで液体窒素保存されるまでの行程をいう。主な行程は技術指針で定められているが、各行程毎の方法、使用試薬等の詳細は各バンクの標準作業手順書により管理され、バンクによって異なる。わが国のバンクにおいては、単核球分画の濃縮にはHES法とTB法(Top and bottom法)のどちらかを採用している。また凍結保存はNY blood center法、CP-1による保存法などバンクにより異なり統一されていない。各作業区域での作業員の更衣、手洗いの規準はネットワークの衛生管理基準書に定められてはいるが、開放系操作区域での無塵衣の着用は義務づけられていない。各バンク毎に手洗い、更衣の手順書が作成されている。

③施設

どのバンクも衛生管理区域を設け、バッグへの注射針の穿刺を含む開放系操作では清浄度クラス100のクリーンベンチ、あるいは安全キャビネット内での作業を行い、閉鎖系調整作業においても清浄度クラス100,000以下の清浄区域内で作業を行っている。また衛生管理基準書や手順書を完備しており、GMPに準拠した調整が可能と考えられる。しかし実際にはコストや作業効率の関係もあり、毎作業毎の浮遊塵埃数、浮遊菌、落下菌の測定や運転バリデーションは行えないのが現状である。

④運搬

採取病院からバンクへの搬送に関して

は、バンク毎に異なっており、職員やボランティアが公共交通機関を用いて搬送する方法、民間の運送会社に委託契約し、搬送する方法がとられている。現在血液等の生体検体と一般の荷物を共に運送することは規制があるため、専用の契約が必要となり、割高になっている。搬送途中の温度モニタリングなどは必ずしも行われていない。バンクから移植病院へはドライシッパーおよび類似の液体窒素吸収型の搬送用容器を用いて担当医がバンクから移植病院に搬送することになっているが、日通航空での搬送が主に行われている。

⑤作業員

技術指針では作業員の資格に関しては、明記されていないが、定期的な教育訓練の実施が求められている。プロセッシングにあたる作業員は、バンクによっては、採用基準を臨床検査技師の有資格者に限定しているところもあるが、実際には規定を設けず、一定の教育訓練を終了した者が作業にあっている。また情報管理担当者はどのバンクも専任ではないものの個人情報管理できるスタッフをあらかじめ決めている。

3. 臍帯血の品質管理の現状

臍帯血の品質管理は、どのバンクも臍帯血バンクネットワークの臍帯血品質管理基準書に従い項目が決められ、検査を行っている。

- 1) 外観試験
- 2) 血球数検査
- 3) 造血幹細胞検査
- 4) 血液型関連検査
- 5) 感染症関連検査

6) HLA 検査

7) 無菌検査

検査の詳細は添付した臍帯血品質管理基準書に譲るが、各バンクで試薬や機器、検査方法など異なっている。血球数測定は自動血球測定装置を用いているが、測定機器はバンク毎に異なっている。ネットワークでは同一検体を配布して評価を行っている。混入している赤芽球のカウントを今後どうしていくのか問題もあるが、どのバンクも有核細胞数の違いはなかったと報告されている。CD34 陽性細胞測定に関しては、True count 法、ISHAGE 法のどちらかが行われている。またコロニーアッセイは使用培地を統一化し、技術交流会を実施している。厚生労働科学研究ヒトゲノム・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班」(班長加藤 俊一)にて同一検体の各バンクの測定値を比較しているが 20%以内のばらつきであったと報告されている。しかし、コロニーアッセイは 30-40%のばらつきがあったと報告されている。感染症検査の項目は技術指針どおりに行われているが、一部のウイルスについては核酸増幅法を取り入れているバンクもある。HLA 検査は A, B, DRB1 の血清型、low resolution DNA typing が行われているが、high resolution typing が行われているバンクもある。

4. バンクの運営、コストの現状

補助金により臍帯血の保存、検査が行われているが、人件費、賃料、高熱水費などは運営母体が負担しているバンクが多い。野村総合研究所による出庫 1 臍帯

血あたりの費用は180万円と試算された。

(計算方法は野村総研報告書参照)

5. 臍帯血移植以外の再生医療に発展させた医療の現状

現在、臍帯血バンクネットワークに登録された臍帯血を再生医療等に用いる場合の明確な規定は存在しない。各臍帯血バンクの倫理委員会、臍帯血バンクネットワークにおける事業運営委員会、倫理委員会で個別案件に関して協議される見通しである。Ex vivo 増幅臍帯血移植の臨床研究に関しては、平成17年11月30日に臍帯血バンクネットワーク事業運営委員会で審議、許可されている。

D. 考察

臍帯血移植成績が集積されるにつれて、生着あるいは生存に関する予後因子が多変量解析により明らかになってきている。国内外の臍帯血移植成績において臍帯血側の因子ではCD34陽性細胞数が生着および生存に関与していることが明らかになった。そういった意味においても移植用臍帯血は細胞製剤として無菌性を管理するだけでなく、造血幹細胞としてのクオリティーを保証することが重要であり、移植成績を左右するものである上で高度な品質管理、品質保証が求められる。現在わが国においては、運営母体の異なる11のバンクより臍帯血が提供されており、基本的な指針は臍帯血バンクネットワークにより示されているが、細胞調整法、検査法は各バンクにより少しづつ異なる。

安全性の観点から見れば、わが国の臍帯血バンクを通じて既に3000臍帯血の供給が行われたが、(2006.5) 現在までにバ

ッグの破損の報告はあるものの移植臍帯血が原因と考えられる感染症等の報告はないことなどから概ね安全な製剤が供給されていると考えられる。しかし、造血幹細胞としての性質を保証するための有核細胞数測定法、CD34陽性細胞測定法に関しては、使用機器、試薬、方法がバンク毎に異なることが今回の調査で確認された。またコロニーアッセイ法などに関しては、検査技師の熟練度などにより測定値にばらつきがでることも考えられ、ネットワークの技術交流会や厚生労働科学研究ヒトゲノム・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班」においてこれら測定法等の違いが、実測値にどのように影響を及ぼすのか統計学的手法を用いて品質管理の現状を把握することが重要と考えられた。セルプロセッシングに必要な設備に関しては、わが国の11のバンクは概ね無菌室を備えており、各バンクの標準作業手順書に従い、環境整備、清掃も行われている。しかし、プロセッシング毎の環境検査や運転バリデーションを行うことはコストの面でも難しく、厳密にはGMPに準拠しているとは言いきれないのが現状である。しかし、現在ほとんどの調整プロセスがbag to tubeの閉鎖系システムで行われており、必ずしも無菌室を必要としないという考え方もあり、さまざまな環境下におけるデータ収集が必要と考えられた。また各臍帯血バンクの運営に関しては、ボランティアや寄付に頼るところが大きく、人件費、原材料費、検査費、運搬費から試算した1臍帯血あたりの費用は180万円

と試算された。しかしこれは、出庫される臍帯血に比べ保存臍帯血の割合が多くなった場合には保存にかかる費用が大幅に上回ることになり、出庫に対するプールする臍帯血の需給計画を行うことは困難であるが重要であると考えられた。また臍帯血の有料化に伴い、出庫されずにプールされている臍帯血は資産として税金の対象となり、各臍帯血バンクの運営を困難にするという意見も見られた。さらには明らかな処理過程における細菌のコンタミネーションや取り違いなど臍帯血バンクの過失から患者の健康被害が生じた場合の保証など整備しなければならない問題点が今回の調査により明らかになった。

E. 結論

わが国の移植用臍帯血は臍帯血バンクネットワークで規定された技術指針に従い、異なる 11 のバンクで調整されているが、現在の臨床成績から判断すると概ね安全な臍帯血が供給されていると考えられる。海外バンクと比較しても概ね同等の品質管理がなされていると考えられる。しかし、調整法、品質管理法はバンク間で少しずつ異なっており、特に効能としての造血幹細胞の性質は今後、科学的に比較検討していく必要がある。臍帯血の費用設定に関しては、バンクの運営と深く関与しており、慎重に議論していく必要がある。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

特になし

V. 実施計画書

(急性白血病等患者に対する同種臍帯血由来 ex vivo 増幅 CD34 陽性細胞移植に関する臨床第 I 相／前期第 II 相試験)

急性白血病等患者に対する
同種臍帯血由来 *ex vivo* 増幅 CD34 陽性細胞移植に関する
臨床第 I 相/前期第 II 相試験

実施計画書

主任研究者：先端医療振興財団 先端医療センター 血液再生研究グループ

診療開発部再生医療診療科 伊藤 仁也

副主任研究者：先端医療振興財団 先端医療センター 血液再生研究グループ 田中 宏和

作成年月日：平成17年 3月 11日	第 1 版
平成17年 8月 19日	第 2 版
平成17年 9月 1日	第 2.1 版
平成17年 12月 7日	第 2.2 版
平成18年 2月 21日	第 3.0 版
平成19年 8月 7日	第 4.0 版
平成19年 12月 14日	第 4.1 版

厚生労働科学研究費補助金(ヒトゲノム・再生医療等研究推進事業)
「サイトカインで培養した増幅臍帯血による臍帯血移植の臨床研究」班

目次

0. シェーマ及び概要	1
1. 目的	3
2. 背景と根拠	3
3. 薬剤情報及び増幅 CD34 陽性細胞について	8
4. 診断規準および病期・病系分類	17
5. 適格規準	19
6. 登録	20
7. 治療計画	21
8. 有害事象の評価・報告・対応	28
9. 観察・検査・報告項目とスケジュール	34
10. 目標症例数と研究実施期間	38
11. エンドポイントの定義	38
12. 統計学的考察	39
13. 症例報告書の記入と提出	41
14. モニタリング	42
15. 倫理的事項	43
16. 試験の費用負担	46
17. プロトコルの改訂	46
18. 試験の終了と早期中止	46
19. 研究成果の帰属と結果の公表	47
20. 研究組織	47
21. 記録等の保存	50
22. 参考文献	52
付録 1-1. 説明・同意文書	
付録 1-2. 同意撤回書	
付録 2. 医薬品添付文書	
付録 3. Performance Status (ECOG)	
付録 4. 体表面積換算表	
付録 5. 倫理審査委員会承認連絡書	
付録 6. 臨床検査値施設規準域表	
付録 7. 試験分担医師一覧	
付録 8. 症例登録票	
付録 9. 重篤な有害事象発生時の報告・対応マニュアル	

付録 10. 造血幹細胞移植における複合的有害事象の評価規準

付録 11. FAB 分類

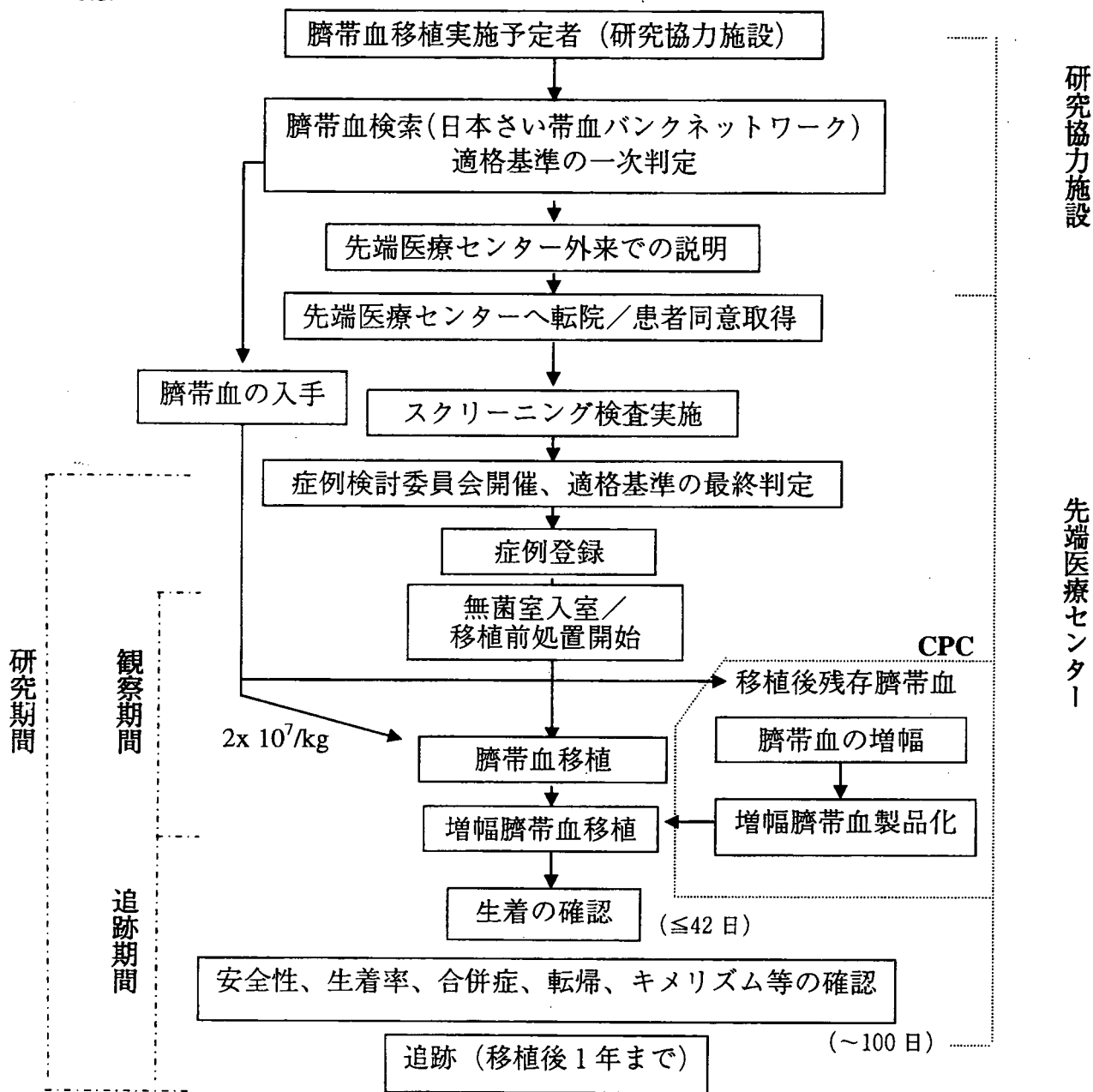
付録 12. 造血幹細胞移植の適応ガイドライン 2002 年版(抜粋)

付録 13. 骨髄異形成症候群(myelodysplastic syndrome, MDS)の FAB 分類と WHO 分類との対応

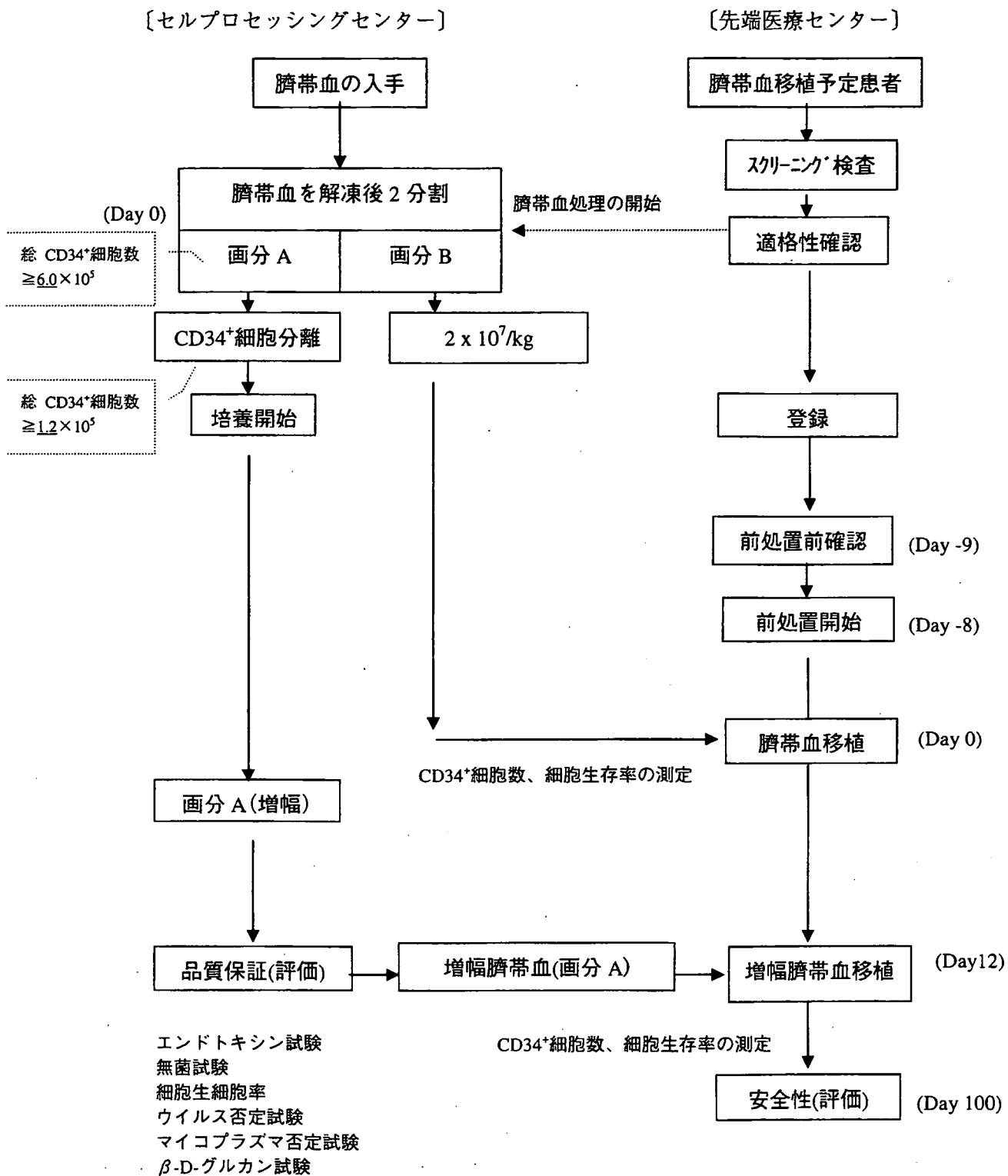
付録 14. MDS の国際予後スコアリングシステム(International prognostic scoring system, IPSS)

0. シェーマ及び概要

0.1. シェーマ



0.2. 臍帯血の移植および増幅 CD34 陽性細胞の製造・移植



1. 目的

本研究では、日本造血細胞移植学会の「造血幹細胞移植のガイドライン」に合致する患者で、骨髄移植および末梢血幹細胞移植において適切なドナーを得ることができない急性白血病、骨髄異形成症候群、及び一部悪性リンパ腫を対象として、臍帯血内の CD34 陽性細胞の一部を *ex vivo* 増幅して臍帯血移植を実施し、その安全性・効果を検討する。さらに、臍帯血内の CD34 陽性細胞および増幅培養した CD34 陽性細胞における輸注細胞数と生着率の相関を検討する。

2. 背景と根拠

2.1. 白血病の治療成績の現状

白血病の治療の基本は化学療法であるが、白血病の病型ごとに標準的化学療法による予後因子が明らかになってきている。白血病における造血幹細胞移植と化学療法の優劣に関する治療成績は我が国においても海外においてもまだ病型、病期、危険因子毎に層別化された前方視的比較試験が行われておらず、十分にエビデンスが得られているとはいえない状況ではある。ただし、いくつかの試験は行われている。急性骨髄性白血病に対しては、Zittoun らが、同種骨髄移植と自家骨髄移植と化学療法の治療成績を前方視的に比較した。その結果、同種骨髄移植が 4 年無病生存率、再発率とも他の治療群より有意に優れていた¹⁾。急性リンパ性白血病においては、未だに前方視的臨床比較試験は実施されていないが、IBMTR(The International Bone Marrow Transplant Registry)の同種移植成績と JALSG(Japan Adult Leukemia Study Group)の化学療法を比較した検討においては、30 歳以下では同種移植の成績がよく、30 歳以上では同等であったと報告されている²⁾。しかし、成人の急性リンパ性白血病の化学療法による長期寛解率は約 30%しかなく、造血幹細胞移植が必要と考えられている³⁾。慢性骨髄性白血病においては、IFN- α の登場により、化学療法の成績が格段に向上したが、IFN- α の反応性による予後との関連も明らかになってきており、反応が悪い例では造血細胞移植は有用な手段と考えられている⁴⁾。このような現状をふまえ、造血細胞移植学会では白血病の病型ごとに移植適応規準を設けて 2002 年に移植適応ガイドラインを作成した。本邦では 1980 年代より骨髄移植が施行されるようになったが、1994 年に末梢血幹細胞移植が保険適応となったのに引き続き、1998 年には臍帯血移植も保険適応となったことで造血幹細胞移植の選択肢が広がっている。現在では各々の移植の特性を考慮して患者に適した移植が実施されている。

どの移植幹細胞ソースを用いるかについては、現時点において治療成績を評価するための十分臨床データが蓄積されているわけではないが、最適な時期に移植できる点や移植片対宿主病(Graft Versus Host Disease: GVHD)や他の移植関連合併症が少ない点で、ヒト白血球抗原(Human Leukocyte Antigen: HLA)一致血縁者間移植が全ての病型、病期において第一適応になると考えられる。HLA 一致血縁者によるドナーがいない場合には、骨髄バンク登録非血縁者ドナーからの骨髄移植が行われることが一般的である。これらのドナーが見つからないとき、あるいはドナーコーディネートに時間がかかり、最適な移植時期である寛解維持が困難である場合などは、臍帯血移植が行われている。

2.2. 臍帯血移植について

臍帯血中には未分化で増殖能力の高い造血幹細胞が多数含まれていることが 1980 年代前半に明らかにされていたが、1988 年にフランスの Gluckman らのグループにより世界最初の臍帯血移植が Fanconi 貧血患者に対し実施された⁵⁾。一方、本邦においては 1994 年に東海大学の Hattori らのグループにより第 1 例目の臍帯血移植が急性骨髄性白血病患者に対して実施された⁶⁾。

2.3. 臍帯血移植の現状

骨髄移植では、血縁者にドナーを見出せない場合は公的機関である骨髄バンクにて非血縁者ドナーを検索する。ただし、骨髄バンクにおいても必ずしもドナー候補が見つかるわけではないのが現状で、いまだ十分なドナー登録者数が確保されているとはいえない。さらに、末梢血幹細胞移植は現時点においてドナーは血縁者のみに限られていることから、ドナーの負担が全くない臍帯血移植への期待は大きい。

臍帯血移植は、日本さい帯血バンクネットワークを通じ、予めさい帯血バンクに保存されている臍帯血を検索し、患者の HLA と一致または 1 ないし 2 抗原不一致までの臍帯血が選択され移植が実施されている。日本さい帯血バンクネットワークによると、平成 16 年 3 月 30 日現在、全国 11 バンクに保存され検索対象となっている臍帯血数は 18,419 個であり、平成 16 年度中には 2 万個を超えることが予想されている⁷⁾。また、平成 14 年度の臍帯血移植数は 294 例であり骨髄移植及び末梢血幹細胞移植が平成 13 年度をピークに減少に転じたのに反して年々増加傾向にあり、平成 15 年には累計で 1,000 例を超え、近年では臍帯血移植の約 8 割が 16 歳以上の成人を対象に実施されている (表 1)。

表 1. 本邦における移植の種類別件数の年次推移^{7,8)}

平成(年度)	10	11	12	13	14	15*
同種移植(総数)	1094	1181	1364	1560	1288	—
骨髄	940	989	972	943	713	—
末梢血	81	109	289	520	461	—
骨髄+末梢血	26	20	9	13	3	—
臍帯血移植	77	114	169	221	294	105
(累計)	(97)	(211)	(380)	(601)	(895)	(1000)

同種移植：平成 15 年度 日本造血細胞移植学会 全国調査報告書より、臍帯血移植：日本さい帯血バンクネットワーク HP より

*6 月 30 日現在の集計結果(臍帯血移植のみ)

2.4. 臍帯血移植の特徴

臍帯血移植の長所としては、ドナーの直接的負担がないことは言うまでもないが、ドナー検索から移植までの期間が短いことも大きな特徴の一つとしてあげられる。これは、臍帯血が凍結保存されている各臍帯血バンクがすでにネットワーク化されており、HLA の適合度について随時検索できるシステムが構築されていることによるものが大きい。さらに移植後

は、急性 GVHD の程度が軽く重症 GVHD の頻度が低いこと⁹⁾、HLA1 及び 2 抗原不一致移植が可能である¹⁰⁾ことなどがあげられるが、これは臍帯血中のリンパ球や Natural Killer(NK)細胞、抗原提示細胞などの免疫担当細胞が骨髄中の細胞に比べ未熟であるため¹¹⁾、免疫応答が低いことが原因と考えられる。特に T 細胞で特徴的なことは、臍帯血では抗原刺激を受けたことのないナイーブ T 細胞が大半を占めており、多くのサイトカインを産生するメモリー T 細胞の割合が極めて低値を示すとされている^{12,13)}。Saito ら¹⁴⁾によると、臍帯血移植後の免疫学的再構築が個体発生に従って起こるとすれば、良好な抗体産生は移植後 3 年、T 細胞サブセットである Th1 細胞の正常化に移植後 5 年程度必要であり、また Knutesn ら¹⁵⁾も同様に臍帯血移植後の NK 活性は移植後 180 日までに回復していると報告しており、新生児免疫能の回復とほぼ同様の所見が得られている。

一方、臍帯血移植では保存されている細胞数の問題から体重の重い患者には適応とならない場合が多く、主に 30kg 以下の小児患者が対象とされてきた。また、移植後の造血回復は一般的に遅く、特に血小板の生着が骨髄移植と比べ顕著に遅延すること¹⁶⁻¹⁸⁾が知られている。さらには臍帯血に由来する遺伝性疾患及び感染症が患者に伝搬する可能性もあることから、児の生後 6 ヶ月以上経過した時点の健康調査と母親の感染症情報を調査することを規定している¹⁹⁾。

臍帯血は分娩後の胎盤中の臍帯血管に残る胎児血液を採取したものであるため、採取血液量や細胞数には限度がある²⁰⁾。臍帯血移植実施のための技術指針によると、臍帯血移植に用いられる臍帯血は、原則として保存細胞数が患者体重(kg)あたり 2×10^7 個以上含むものとしており²¹⁾、本邦での成人に対する臍帯血移植はごく少数に限られていた²²⁾。ただし、成人患者においても十分量の臍帯血を移植すれば、その治療成績は骨髄移植と遜色ないと報告²³⁾もあり、今後さい帯血バンクにおける保存臍帯血数が増加すれば、成人患者への適応が増え、移植数も多くなることが予想される。

臍帯血移植後の造血回復が遅い理由としては、臍帯血中には胎生期最後の造血幹細胞が多数含まれるため、成人の骨髄や末梢血と比べ、より未分化な造血幹細胞の比率が高い¹¹⁾ことに起因すると考えられている。造血回復の中でも特に血小板の回復が遅延することは知られており、臍帯血移植後の血小板数の回復に、Rubinstein ら²⁴⁾は 50,000/ μ L 以上までに 16-250 日(中央値 90 日)、Gluckman ら²⁵⁾は 20,000/ μ L 以上までに 9-180 日(中央値 56 日)、50,000/ μ L 以上までに 1-8 ヶ月(中央値 2.4 ヶ月)、Kato ら¹⁸⁾は 50,000/ μ L 以上までに 21-96 日(中央値 46 日)を要したと報告している。また、Rubinstein らは多変量解析の結果、血小板数の回復は移植有核細胞数に相関し、移植有核細胞数の少ない患者ほど血小板数の回復が遅れる傾向にあると報告している(図 1)。

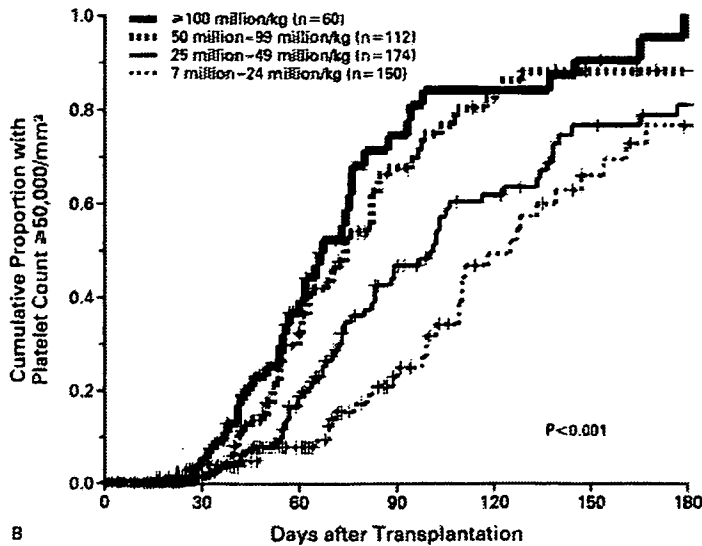


図 1. 非血縁者間臍帯血移植における移植有核細胞数と血小板数の回復²⁴⁾

2.5. *ex vivo* 増幅した臍帯血幹細胞について

これらの問題点を解決するため、凍結保存されている臍帯血幹細胞を *ex vivo* 増幅した後患者に移植する方法が検討されるようになった。これまでの基礎研究の結果により、NOD/SCID マウス中で長期に再構築されるヒト臍帯血中に含まれる造血幹細胞は、サイトカインを用いることにより数倍に増幅することが可能であることがわかり、これらは表面抗原、コロニー形成能などから造血幹細胞であることが確認されている。臍帯血から分離した CD34 陽性細胞の増幅効果は幾つかのサイトカインの組み合わせにより検討されたが、IL-6/sIL-6R、SCF、TPO、FL の組み合わせが最も効率よく増幅できることが明らかとなり²⁶⁾、これらのサイトカインの組み合わせにより 1 週間培養した細胞と培養しなかった細胞をそれぞれ別々の NOD/SCID マウスに移植した結果、培養した細胞を移植したマウスの方が明らかに血液細胞の頻度が高いという結果が得られた²⁷⁾。また、これらのサイトカインの組み合わせにより 1 週間培養することにより SRC(SCID repopulating cells)は 4 倍以上に増幅され、これらの細胞を移植されたマウスでは移植後 6 ヶ月以上経過しても末梢血中のヒト細胞の頻度が低下する傾向は認められなかった²⁸⁾ことから、臨床においても同様の効果が得られることが期待された。

ex vivo 増幅した臍帯血幹細胞が移植に応用可能となれば、従来臍帯血移植の対象とならなかった体重の重い患者も対象となるばかりでなく、生着不全の減少や生着日数の短縮が期待され、これにより無菌室入室期間の短縮や感染症治療薬の減量、輸血回数の軽減が見込まれている。

2.6. 移植細胞数と造血回復能及び予後との関係について

Magliaccio ら²⁹⁾は、2 抗原不一致までの臍帯血移植施行例 204 例において移植細胞数(総有核細胞数：Total Nuclear Cells (TNC)、コロニー形成細胞数(Colony Forming Cells(CFC))による造血回復能、及び移植関連合併症について検討したところ、移植細胞数が多くなるほど好中