20070612A

厚生労働科学研究費補助金

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19年度　総括・分担研究報告書

主任研究者　加 藤　俊 一

平成20年（2008年）3月

はじめに

本報告書は、厚生労働科学研究費補助金「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 19 年（2007 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3年度目にあたる。

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。次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、本年度は一定の成果をあげることができたと考えている。

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って、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、欧米各国での実情調査と、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、2年度目以降は当研究班が主体となってわが国における今後のあり方の検討を行うこととなり、アドバイサリー委員会を中心として集中的な検討を行った。

本報告書は19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。

2008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	三重大学医学部付属病院・准教授 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・助教 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・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
	河原　和夫	東京医科歯科大学大学院・教授 医療政策学・政策科学	臍帯血の医薬品化に関する調査研究
	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・助教	
	松村　有子	東京大学医科学研究所・助教	
	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・准教授	
	山田　実名美	東北大学医学部・助教	
	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 造血幹細胞移植、再生医療科学	臨床研究管理
	町田　友香	東海大学医学部基盤診療学系	研究班事務

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・・・・・・・・ 9
東　英一

2. 臍帯血移植成績登録システムの開発・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 13
熱田　由子

3. 臍帯血幹細胞骨髄内移植に関する研究・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 19
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）・・・・・・・・・・・・・・ 21
磯山　恵一

5. HLA および細胞数と臍帯血移植の成績・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 31
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・・・・・・・・・・・・ 41
加藤　剛二

7. GMP を適用した場合の臍帯血の製剤化に要する費用の研究・・・・・・・・・・・・・・・・・ 45
河原　和夫

8. 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・・・・・・・・・・・・・・・ 67
坂巻　壽

9. 臍帯血の品質管理に関する研究・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 69
高梨　美乃子

10. 成人における臍帯血移植（骨髄破壊的前処置法の標準化）・・・・・・・・・・・・・・・・・ 73
高橋　聡

11. ヒト胎盤・臍帯血を用いた再生医療に関する研究・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 75
高橋　恒夫

12. 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・・・・ 79
谷口　修一

13. 臍帯血採取方法の検討・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 83
中林　正雄

III. 臍帯血の医薬品化に関する調査研究・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 89

IV. 研究成果の刊行に関する一覧表・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 97

V. 参考資料 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 107

I.　総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金　再生医療等研究事業
総括研究報告書

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

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、研究班発足時の研究計画に則り基礎的あるいは臨床的な研究が実施された。

（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すると同時に講習会などを開催して、カンガルーケア法の普及が図られた。

（２）臍帯血幹細胞評価法の標準化

昨年度に引き続き、日本さい帯血バンクネットワークの 11 の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、国内外の学会に報告するとともに論文化が進められた。

（４）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」については症例の登録と移植の実施が開始された。

「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完成し、参加各施設の倫理委員会での申請が進められ、症例の登録の準備が整った。

（６）開発的基礎研究

「臍帯血の骨髄内移植法の開発」と「ヒト胎盤・臍帯血を用いた再生医療の開発」については基礎的検討が進められ、「DC ワクチンを用いたウイルス感染予防法の開発」は施設内倫理委員会の承認がえられ、第一相試験の準備が整った。

（７）臍帯血の医薬品化に関する研究

現行の薬事法下での医薬品化には多くの困難があることを厚生科学審議会に報告した。

A．研究の目的と目標

本研究班の目的と目標については初年度に以下のような研究計画が立案された。

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な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、18 年度は中畑班と本研究班とで合同で実施することとなり、本年度においては本研究班が主体となって作業を進めることとなった。

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実施された。

（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っては、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３年度目にあたり、初年度と２年度目に開始された研究を推進し、ほぼ当初の計画どおりに実施することができた。

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、ヒト骨髄 CD34 陰性造血幹細胞の維持、増殖がストローマ細胞に由来する Angiopoietin-1 に依存することを示され、本アッセイ系を用いて臍帯血移植後の造血動態を明らかにすることが期待される。
- 東英一分担研究者を中心として、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、施設内の倫理委員会の承認をえて第一相試験が開始されることとなった。
- 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ると同時に、臍帯血間葉系細胞による免疫寛容誘導の可能性が示された。

（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すると同時に講習会などを開催して、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の 11 の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 24 例が登録され、合計 47 例の登録となり、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が進められ、症例登録の準備が整った。
- 磯山恵一分担研究者を中心として、小児おける至適治療法確立のための前向き臨床研究が参加施設での倫理審査が進められ、症例の登録と移植の実施が開始されている。
- 谷口修一分担研究者を中心として、高齢者における臍帯血ミニ移植後のＧＶＨＤ予防としてＭＭＦとタクロリムスを組み合わせて行うことにより安全性を高める可能性があることが示された。
- 加藤剛二分担研究者を中心として、小児急性リンパ性白血病の中で特に予後不良とされる乳児 ALL やフィラデルフィア染色体陽性 ALL における臍帯血移植の再発と生存に関するリスク因子が明らかにされた。
- 高梨美乃子分担研究者を中心として、移植時に患者血清中に臍帯血と反応する特異的 HLA 抗体が存在すると生着不全の可能性が高くなる可能性が示唆された。
- 熱田由子分担研究者らを中心として、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た。

（4）臍帯血の医薬品化に関する研究

アドバイサリー委員会において精力的な検討が行われ、現行の薬事法下での「医薬品」とするためには多くの困難があることから、なお継続的な検討が必要であることが判明した。検討結果については厚生科学審議会造血幹細胞移植委員会に中間報告を行った。

D．結論

移植される臍帯血の品質と安全性向上、臍帯血移植の成績向上を目的として、後方視的ならびに前方視的研究を実施し、臍帯血採取法の改良、品質評価法の標準化、移植方法の改良などについての提案を行うと同時に、研究成果を学会や論文として報告して医療現場と社会に還元した。

E．健康危険情報

なし

F．研究発表

（1）学会発表（*は招待講演）

1. Kato S, Kodera Y, Yamamoto K, et al. The safety and the risk of allogeneic bone marrow and peripheral blood stem cell donation; the results of nation-wide consecutive pre-transplant registration of related donors in Japan. The 49th Annual Meeting of American

Society for Hematology. Atlanta, USA, 2007 December.

2. Kato S for JMDP and JCBBN. Comparison of 6586 unrelated bone marrow transplants and 2713 unrelated cord blood transplants in Japan. 同上

3*. Kato S for JCBBN. Cord blood trans-plantation in childhood malignancy Japan. 1st Cord Blood Transplant European Conference. Rome, Italy, 2007 May.

4*. Kato S. Hematopoietic stem cell trans plantation in children. 3rd Asian Society of Pediatric Research. Tokyo, Japan, 2007 October.

5*. Kato S. Cord blood transplantation in Japan. 2008 BMT Tandem Meeting. SanDiego, USA, February 2008.

（2）論文発表

1. Atsuta Y, Suzuki R, Yoshimi A, Gondo H, Tanaka J, Hiraoka A, Kato K, Tabuchi K, Tsuchida M, Morishima Y, Mitamura M, Kawa K, Kato S, Nagamura T, Takanashi M, Kodera Y. Unification of hematopoietic stem cell transplantation registries in Japan and establishment of the TRUMP system. Int. J. Hematol. 2007;86:269-274.

2. Masuda H, Kalka C, Takahashi T, Yoshida M, Wada M, Kobori M, Itoh R, Iwaguro H, Eguchi M, Iwami Y, Tanaka R, Nakagawa Y, Sugimoto A, Ninomiya S, Hayashi S, Kato S, Asahara T. Estrogen-mediated endothelial progenitor cell biology and kinetics for physiological postnatal vasculogenesis. Circ Res. 2007 ;101:598 -606.

3. Kawase T, Morishima Y, Matsuo K, Kashiwase K, Inoko H, Saji H, Kato S, Juji T, Kodera Y, Sasazuki T; Japan Marrow Donor Program.High-risk HLA allele mismatch combinations responsible for severe acute graft-versus-host disease and implication for its molecular mechanism. Blood. 2007 ;110:2235-41.

4. Ozawa S, Nakaseko C, Nishimura M, Maruta A, Cho R, Ohwada C, Sakamaki H, Sao H, Mori S, Okamoto S, Miyamura K, Kato S, Kawase T, Morishima Y, Kodera Y; Japan Marrow Donor Program. Chronic graft-versus-host disease after allogeneic bone marrow transplant-ation from an unrelated donor: incidence, risk factors and association with relapse. A report from the Japan Marrow Donor Program. Br J Haematol. 2007; 137:142-51.

5. Ishiguro H, Yasuda Y, Tomita Y, Shinagawa T, Shimizu T, Morimoto T, Hattori K, Matsumoto M, Inoue H, Yabe H, Yabe M, Shinohara O, Kato S. Gonadal shielding to irradiation is effective in protecting testicular growth and function in long-term survivors of bone marrow transplant-ation during childhood or adolescence. Bone Marrow Transplant. 2007; 39:483-90..

6. Morishima Y, Yabe T, Matsuo K, Kashiwase K, Inoko H, Saji H, Yamamoto K, Maruya E, Akatsuka Y, Onizuka M, Sakamaki H, Sao H, Ogawa S, Kato S, Juji T, Sasazuki T, Kodera Y; Japan Marrow Donor Program. 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. 2007; 13:315-28.

7. Kato K, Kanda Y, Eto T, Muta T, Gondo H, Taniguchi S, Shibuya T, Utsunomiya A, Kawase T, Kato S, Morishima Y, Kodera Y, Harada M; Japan Marrow Donor Program. Allogeneic bone marrow transplantation from unrelated human T-cell leukemia

virus-I-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.

G．知的財産権の出願・登録状況

1．特許取得　なし

2．実用新案登録　なし

3．その他　なし

II.　分担研究報告

厚生労働科学研究費補助金　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：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　准教授

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)感染症の致命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 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 に貪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 に貪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、健常成人末梢血から 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。

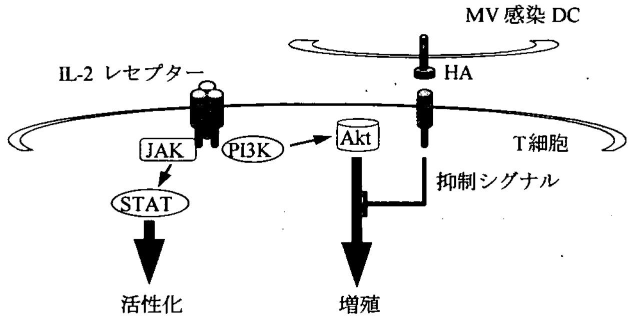

図 1　DC に発現した MV 蛋白 HA による免疫抑制機構

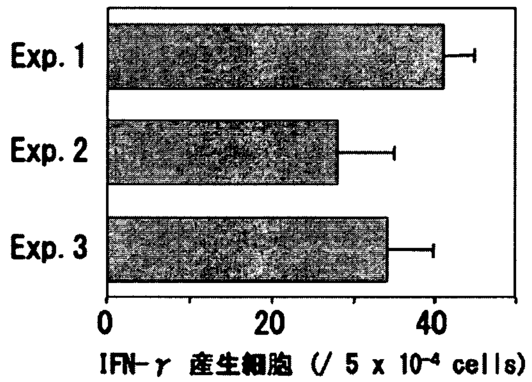

図 2　市販の MV ワクチン株 CAM を使用した抗 MV DC ワクチンの CTL 誘導効果。MV 非感染、あるいは、感染 DC を貪食した DC とナイーブ CD4 陽性、あるいは CD8 陽性 T 細胞を混合培養し、IFN-γの産生細胞を ELISPOT 法で測定した。抗 DC MV ワクチンは T 細胞による IFN-γ の産生を誘導した。

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。

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、第三者機関である（財）阪大微研にて MV の表示・確認検査が行われ生きた MV ウイルスは存在しないことが証明された。

共同研究者

熊本忠史・三重大学大学院医学系研究科・病態解明医学口座・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。この MV DC ワクチンには感染性のある生きた MV ウイルスは存在しないことが証明された。

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　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　助教

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、2007 年度から小児移植施設を対象に電子登録を開始した。電子登録開始後登録率は向上し、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、電子登録プログラムからの出力データを臍帯血バンクが移植後 100 日時点で収集し、一元化登録へは施設単位に念に 1 個の登録を行う二重登録にはなったが、施設における入力は 1 度となり、登録ツールの統一がなされた。

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。2006 年度には WG、委員会を中心に開発した造血細胞移植登録一元管理プログラム（Transplant Registry Unified Management Program, 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。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、臍帯血の品質管理の責任をもつために、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要求した。JCBBN および各臍帯血バンクはそれぞれが持つサーバーを Web 上でつなげるネットワークをもち、臍帯血および臍帯血移植臨床情報のデータベースを共用で管理するシステムを既に構築している。JCBBN および各臍帯血バンクが個々の移植症例において迅速に情報収集する体制を整えるとともに、登録施設における別途の負担増加を最低限にし、国内の一元化登録機能を用いた移植患者臨床情報収集方法の確立をこの研究目的とした。

B.　研究方法

B-1.TRUMP による一元化・電子化登録

1.　TRUMP の改良

入力施設における利便性の向上のために、TRUMP に以下を含む新たな機能を追加した。

- プログラム内に仕様に関する説明の記載
- 入力移植症例の検索機能や並べ替え機能
- 入力データの症例ごとの印刷機能

2.　施設アンケートの実施

2006 年度に一元化・電子化登録を初めて実施したが、成人登録施設を対象に 2007 年 1 月に登録に関するアンケートを実施した。アンケートに際しては、TRUMP の仕様に関する意見の収集、登録施設における入力状況の情報収集を行った。

3.　登録方法の簡便化の試み

TRUMP は、施設内のインターネットに接続していないコンピューターで管理されるコンピュータベースのプログラム（ソフトウエア）である。施設内では、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し、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匿名化・暗号化ファイルが保存される。登録匿名化・暗号化ファイルは 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でスタートした。この提出プロセスの簡便化の検討を行った。

B-2.　臍帯血移植登録の一元化に向けての調整

1.　登録ツールの統一の検討

JCBBN および各臍帯血バンクでは、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臍帯血の品質管理の目的で速やかに確認することを必要としている。昨年度までは各移植症例において移植後 100 日のタイミングで JCBBN 紙調査票を用いた患者情報収集が行われたが、今年度は TRUMP に新規搭載された印刷機能を用いて印刷された TRUMP 登録票での各バンクへの報告が開始された。

2.　登録の運用に関する検討

JCBBN および各臍帯血バンクが個々の移植症例において迅速に情報収集する体制を整えるとともに、登録施設における別途の負担増加を最低限にし、国内の一元化登録機能を用いた移植患者臨床情報収集方法の検討を JCBBN および造血細胞移植登録一元管理委員会と共同で行った。

C.　研究結果

C-1.TRUMPを用いた一元化・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、一元化・電子化登録開始後の2006年度が159施設、2007年度が170施設、小児領域施設の登録施設数の推移は2003年度が85施設、2004年度が69施設、2005年度が59施設、2006年度が47施設、一元化・電子化登録開始後の2007年度が74施設、といずれも一元化・電子化登録開始後に登録施設数の増加が認められた。登録移植件数も特に自家移植において、一元化・電子化登録開始後に大幅な登録移植件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、Operating SystemはWindowsに限定される。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。成人施設で紙媒体での登録を行ったのは2006年度に1施設、2007年度に1施設であり、小児施設においても2007年度に2施設と電子登録への移行は良好であった。

3. 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。

4. 施設アンケート結果

136成人施設から回答が得られた。TRUMPへの入力を医師のみが担当している施設が80%、医師と事務スタッフなどにより入力されている施設が8%で、入力専門スタッフが存在する施設が7%であった。施設における患者情報管理上の院内規制に関しては、電子カルテをインターネットにつながっているコンピューター上で管理している施設が11%に対して、インターネット上につながっているコンピューターでの患者情報管理を一切禁止している施設が25%と非常に多様であった。その他、個人名を含む状態で可能な施設が15%、匿名化されていれば可能な施設が34%であった。

5. 登録方法の簡便化の試み

上記施設アンケート結果を踏まえ、匿名化・暗号化登録データセットをインターネットにつながったコンピューターからWeb送信でJSHCTデータセンターに提出できるようなWeb画面を開発した。対応が困難な施設に関しては、一元化・電子化登録開始時と同じく郵送で提出される。

C-2. 臍帯血移植登録の一元化に向けての調整

1. 登録ツールの統一の検討

TRUMPに入力された移植症例ごとに入力データを印刷する機能を追加した。2006年度までは、各臍帯血バンク宛に別途紙調査票の郵送が行なわれたが、今年度は印刷された入力データを郵送し、各臍帯血バンクが受け付けるという体制が整った。これにより、施設における入力ツールがTRUMPで統一された。

2. 登録の運用に関する検討

将来的に一元化データベースを各登録が共有する方向性を踏まえ、一元化登録で統一されたTRUMPデータベース形式で、施設から直接JCBBNホームページを通じてJCBBNへ移植後100日の時点で個々の移植症例ごとに電子データ

をWeb登録する手順を準備することとなった。

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、成人施設・小児施設とも一元化登録前を上回る数の施設から登録があった。電子登録の採用を行わなかった施設は244施設中3施設（1.2%）であり、電子登録への移行状況は良好であった。

臍帯血バンクを介した非血縁者間臍帯血移植登録は、施設においての入力がTRUMPで統一された。JCBBNおよび各臍帯血バンクでは、臍帯血品質管理の目的に移植後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する状況を踏まえ、登録ルートは個々の移植症例において移植後100日の時点でJCBBNへ直接報告するという報告タイミングおよびルートと、一元化登録を担当するJSHCデータセンターへ年1回施設内の全てのTRUMP入力データを提出するという2登録ルートを有する登録となる。

E. 結論

2006年度から全国の成人移植施設を対象に、2007年度から小に移植施設を対象に一元化・電子化登録を開始した。登録施設数・登録数ともに増加し、電子登録への移行は良好であった。臍帯血バンクを介した非血縁者間臍帯血移植登録は、施設においての登録ツールがTRUMPで統一された。JCBBNおよび各臍帯血バンクの需要、登録施設における利便性を踏まえ、登録ルートおよびタイミングは2種存在することとなった。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Atsuta Y, Suzuki R, Yoshimi A, Gondo H, Tanaka J, Hiraoka A, Kato K, Tabuchi K, Tsuchida M, Morishima Y, Mitamura M, Kawa K, Kato S, Nagamura T, Takanashi M, and Kodera Y. Unification of hematopoietic stem cell transplant registries in Japan and establishment of the TRUMP system. Int J Hematol. 2007;86:269-74.
2. 熱田由子、鈴木律朗、吉見礼美、権藤久司、田中淳司、平岡諭、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　臨床血液 2007;48:1462-9.

2. 学会発表

熱田由子、鈴木律朗、吉見礼美、平岡諭、権藤久司、田中淳司、土田昌宏、加藤剛二、田渕健、河敬世、森島泰雄、三田村眞、加藤俊一、高梨美乃子、長村登紀子、小寺良尚

日本国内の造血幹細胞移植登録一元化初年度の報告

第69回日本血液学会・第49回日本臨床血液学会合同総会 2007年10月12日　(PS-2-93)

H.　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　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
本年度はヒト骨髄 CD34 陰性造血幹細胞の維持、増殖がストローマ細胞に由来する Angiopoietin-1 に依存することを示した。本アッセイ系を用いて臍帯血移植後の造血動態を明らかにすることが期待される。

A. 研究目的
造血幹細胞移植後の造血幹細胞の動態は不明な点が多い．成体マウス造血幹細胞は CD34 陰性であることが示されているが、ヒト骨髄 CD34 陰性造血幹細胞の動態は不明な点が多い。これは骨髄 CD34 陰性造血幹細胞の培養が困難であること、従って細胞表面マーカーが同定さえていないことに由来している。従って、骨髄 CD34 陰性造血幹細胞を in vitro で維持する条件が明らかになれば、造血幹細胞移植後における骨髄 CD34 陰性造血幹細胞の意義を明らかにできることが期待される。そこでわれわれはヒト骨髄 CD34 陰性造血幹細胞の培養条件の検討を行った。

B. 研究方法
同意の得られた健常人骨髄単核球細胞を解析に用いた。マウス骨髄ストローマ細胞株 HESS-5 にヒト Angiopoietin-1 の cDNA をレトロウィルスベクターを用いて導入し (AHESS-5)、発現をウェスタンブロットにより検出した。また培養上清中の Angiopoietin-1 は ELISA により測定した。SRC アッセイは NOD/SCID/gcKO(NOG) マウスを用いた。

C. 研究結果と考察
骨髄単核球細胞の Lineage 陰性 CD34 陰性分画では Tie-2 が弱陽性であり、その維持には Angiopoietin-1 が用量依存的に有効であった。そこで、AHESS-5 と共培養することにより、CD34 陰性細胞から CD34 陽性細胞を効率良く誘導することが可能となった。これらの細胞の幹細胞活性を確認するために、SRC アッセイを行ったところ骨髄系およびリンパ系の造血再構築能を確認する子ができた。

E. 結論
Angiopoietin-1 はヒト骨髄 CD34 陰性造血幹細胞の維持、増殖に必須の因子である。

F. 健康危害情報
なし

G. 研究発表
1. 論文発表

1) Nakamura Y, Ando K, et al.. Angiopoietin-1 induces SRC activity of human $CD34^-$ bone marrow cells. Exp Hematol 35, 1872-1883, 2007
2) Suzuki R, Ando K, et al.. Preferential hypermethylation of the *DKK-1* promoter in core-binding factor leukemia. Br J Haematol., 138, 624-631, 2007

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし