

200706012B

---

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 17～19 年度 総合研究報告書

---

平成 20 年 (2008 年) 3 月

主任研究者 加藤 俊 一

## 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17～19年（2005～07年）度の研究成果を総合研究報告書として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、3年間にわたって研究を実施した。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。2年度目に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、3年度目はそれぞれの研究において一定の成果をあげることができた。

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、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17～19年度の研究業績の全体をまとめたもので、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 臨床研究事務局
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	麻疹ウイルスに対する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	7
東 英一	
2. 臍帯血移植成績登録システムの開発	11
熱田 由子	
3. 臍帯血幹細胞骨髄内移植に関する研究	17
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）	19
磯山 恵一	
5. HLA および細胞数と臍帯血移植の成績	29
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	31
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	35
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	57
坂巻 壽	
9. 臍帯血の品質管理に関する研究	59
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）	63
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	67
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	71
谷口 修一	
13. 臍帯血採取方法の検討	77
中林 正雄	
III. 臍帯血の医薬品化に関する調査研究	85
IV. 研究成果の刊行に関する一覧表	95
V. 参考資料	115

# I. 総括研究報告

厚生労働科学研究 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  
総合研究報告書

主任研究者：所属施設 東海大学医学部基盤診療学系再生医療科学  
氏 名 加藤 俊一

分担研究者：東 英一（三重大学医学部）、熱田 由子（名古屋大学医学部）、安藤 潔（東海大学医学部）、磯山 恵一（昭和大学藤ヶ丘病院）、甲斐 俊朗（兵庫医科大学）、加藤 剛二（名古屋第一赤十字病院）、河原 和夫（東京医科歯科大学医学部）、坂巻 壽（東京都立駒込病院）、高梨 美乃子（東京都赤十字血液センター）、高橋 聡（東京大学医科学研究所）、高橋 恒夫（東京大学医科学研究所）、谷口 修一（虎の門病院）、中林 正雄（愛育病院）

## 1. 研究目的

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。

本研究班においては、臍帯血の採取に始まり、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した。

## 2. 研究方法

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たっては、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。

## 3. 研究結果及び考察

### 1) 臍帯血採取法の改良

臍帯血採取方法の比較検討を行い、カンガルーケア法が優れていることが明らかとなった。この研究の結果を基に「より細胞数の多いさい帯血採取のために」というDVDを作成し、日本さい帯血バンクネットワークの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を図った。

### 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、品質

評価法の標準化が推進された。

### 3) 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移植例について、移植細胞数、HLA 適合度、HLA 抗体と移植成績の関係、GVHD、感染症などの合併症の実態、疾患別の移植成績などが多角的に解析され、臍帯血移植の特徴が明らかにされた。

### 4) 臨床研究 (前方視的研究)

「複数臍帯血移植」、「小児臍帯血移植における前処置の至適化」、「成人臍帯血移植多施設共同臨床研究」の3つの多施設共同研究が進行中で、複数臍帯血移植については当初の計画を上回るペースで症例が登録され、その成果が期待されている。

### 5) 開発的基礎研究

「臍帯血の骨髄内移植法の開発」、「ヒト胎盤・臍帯血を用いた再生医療の開発」、「DC ワクチンを用いたウイルス感染予防法の開発」の3つの研究が進められ、DC ワクチンについては施設内倫理委員会の承認がえられ、第一相試験が開始された。

### 6) 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関して国内外の諸情勢を詳細に調査し、「現時点では多くの困難があるが、GMP レベルで運用する移行期を経過して、将来的にはGMP 基準を旨ざすことが望ましいこと」を厚生労働審議会造血幹細胞移植委員会に報告した。

## 4. 結論

移植される臍帯血の品質と安全性の向上、臍帯血移植の成績の向上を目的として、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、

研究成果を学会や公開シンポジウムなどを通じて医療現場と社会に還元することができたと考えている。

## 5. 研究発表

本研究費によることが明記されているもののみを以下に記載する。

### (1) 国内

口頭発表 (主任研究者のみ記載) 6件  
それ以外 (レビュー等) (主任のみ) 6件

### (2) 海外

口頭発表 (主任研究者のみ記載) 11件  
原著論文による発表 (主任+分担) 18件

主な論文発表 (本研究費によるもののみ)

\* 関連する研究成果の刊行については巻末に掲載した。

1. Ando K, Kato S, et al. Direct evidence for ex vivo expansion of human hematopoietic stem cells. *Blood*. 2006, 107: 3371-7.
2. Muguruma Y, Kato S, Ando K et al. Reconstitution of the functional human hematopoietic microenvironment derived from human mesenchymal stem cells in the murine bone marrow compartment. *Blood*, 2006, 107:1878-87.
3. Yahata T, Kato S, Ando K, et al. Clonal analysis of thymus-repopulating cells presents direct evidence for self-renewal division of human hematopoietic stem cells. *Blood*, 2006, 108: 2446-54.
4. Kametani Y, Kato S, Ando K, et al. Development of human-human hybridoma from anti-Her-2 peptide producing B cells in the immunized NOG mouse. *Exp Hematol*. 2006, 34:1240-8
5. Masuda H, Kato S, et al. Estrogen-

- mediated endothelial progenitor cell biology and kinetics for physiological postnatal vasculogenesis. *Circ Res.* 2007 ;101:598-606.
6. Nashida Y, Azuma E, et al. Development of a dendritic cell vaccine against measles for patients following hematopoietic cell transplantation. *Transplantation* 2006 82: 1104-1107.
7. Hirayama M, Azuma E, et al. Discrimination of acute graft-versus-host disease from infections by enumeration of peripheral blood IFN-g spot-forming cells. *Transplantation.* 2006, 81:632-635.
8. Hirayama M, Azuma E, et al. Evidence of graft-versus-tumor effect in refractory metastatic neuroblastoma. *Transplantation.* 2006, 82:142-4.
9. Zhang X, Takahashi T, et al. Successful immortalization of mesenchymal progenitor cells derived from human placenta and the differentiation abilities of immortalized cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2006, 351: 853-9.
10. Zhang X, Takahashi T, et al. Mesenchymal progenitor cells from chorionic villi of human placenta for cartilage tissue engineering. *Biochem Biophys Res Commun.* 2006, 340 : 944-52
11. Okada H, Takahashi T, et al. Expansion of V $\alpha$ 24+V $\beta$ 11+ NKT cells expanded from Cord blood mononuclear cells under Interleukin-15, IL-7 and Flt3-L depend on monocytes. *Eur. J. Immunol.* 2006, 36: 236-44.

主な学会発表（主任研究者のみ記載、\*は招待講演）

- 1\*. Kato S for JCBBN. Clinical results of CBSCT in Japan. 3<sup>rd</sup> Annual Meeting of Asian Hematology Association, Jeju, Korea, 2005 August.
- 2\*. Kato S for JCBBN. Cord blood transplantation and cord blood banking. XXX. International Society of Hematology. Istanbul, Turkey, 2005 October.
- 3\*. Kato S for JCBBN. Cord blood transplantation in childhood malignancy Japan. 1<sup>st</sup> Cord Blood Transplant European Conference. Rome, 2007 May.
- 4\*. Kato S. Hematopoietic stem cell transplantation in children. 3<sup>rd</sup> Asian Society of Pediatric Research. Tokyo, Japan, 2007 October.
5. Kato S for JMDP and JCBBN. Comparison of 6586 unrelated bone marrow transplants and 2713 unrelated cord blood transplants in Japan. 49<sup>th</sup> ASH Annual Meeting. Atlanta, USA, 2007 December.
- 6\*. Kato S. Cord blood transplantation in Japan. 2008 BMT Tandem Meeting. San Diego, USA, February 2008.

#### 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  
総合研究報告書

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、本邦で麻疹の流行を認めており、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を報告した。今回、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 株)を用いた MV に対する臨床応用可能な DC ワクチンを作成してその効果を *in vitro* で確認した。医学部倫理委員会の承認後に第 1 相臨床研究を開始した。

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- $\gamma$ )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(財)阪大微生物病研究会より供与され使用した。

(倫理面への配慮)

本臨床研究をヘルシンキ宣言(世界医師会第 18 回総会、1964 年)に準拠して施行する。即ち、患者福利の尊重、本人の自発的・自由意思による参加、インフォームド・コンセント取得、常識的な医学研究であること、などを基本原則としたヘルシンキ宣言を遵守する。これに反する倫理的問題点が生じれば臨床研究計画を中止する。

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、

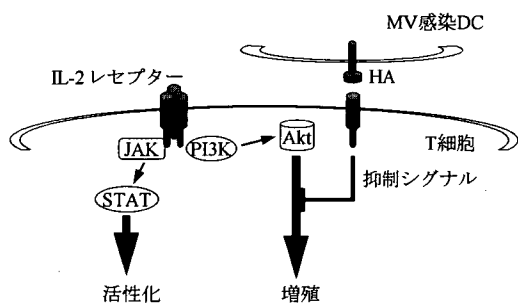


図 1 DC に発現した MV 蛋白 HA による免疫抑制機構

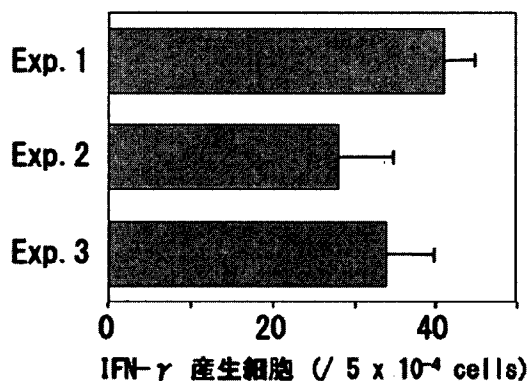


図 2 市販の MV ワクチン株 CAM を使用した抗 MV DC ワクチンの CTL 誘導効果。MV 非感染、あるいは、感染 DC を貪食した DC とナイーブ CD4 陽性、あるいは CD8 陽性 T 細胞を混合培養し、IFN- $\gamma$  の産生細胞を ELISPOT 法で測定した。抗 DC MV ワクチンは T 細胞による IFN- $\gamma$  の産生を誘導した。

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- $\gamma$  産生を誘導する事を確認した (図 2)。すなわち、既に報告した 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。

#### 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・助教

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。

臨床研究に向けて、DC ワクチンを GMP 基準に基づいた培養設備、培養用品を使用して作成することを確立した。MV DC ワクチンの作成に用いる MV は既に安全性が確立されている市販のワクチンであり、更に MV DC ワクチンの作成時には紫外線照射にて不活化して生きてきた MV は存在していないことを第三者機関である（財）阪大微研にて確認されている。これらの結果に基づいて、平成 20 年 1 月 11 日に三重大学医学部倫理委員会で平成 20 年 2 月 1 日より第 1 相臨床試験を開始する計画が承認された。

F. 健康危険情報 特記すべきことなし。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1) Nashida, Y; Kumamoto, T, Azuma, E, et al Development of a Dendritic Cell Vaccine Against Measles for Patients Following Hematopoietic Cell Transplantation Transplantation. 82:1104-1107, 2006.

2) Hirayama, M; Azuma, E, et al Evidence of Graft-versus-Tumor Effect in Refractory

Metastatic Neuroblastoma. Transplantation n. 82:142-144, 2006.

3) Hirayama M, Azuma E et al. Prediction of acute graft-versus-host disease and detection of distinct end-organ targets by enumeration of peripheral blood cytokine spot-forming cells. Transplantation 80: 58-65, 2005

4) Hirayama M, Azuma E et al. Discrimination of acute graft-versus-host disease from infections by enumeration of peripheral blood IFN- $\gamma$  spot-forming cells. Transplantation. Transplantation 81: 632-635, 2006

5) Terakura S, Azuma E et al. Hematopoietic Engraftment in Recipients of Unrelated Donor Umbilical Cord Blood Is Affected by the CD34 and CD8 Cell Doses. Biology of Blood and Marrow Transplantation 13:822-830, 2007

## 2. 学会発表

Kumamoto T, Azuma E et al. Development of Dendritic Cell Vaccine Against Measles for Patients Following Hematopoietic Cell Transplantation. (口演、American Society of Hematology 47<sup>th</sup> Annual Meeting, Atlanta, 2005)

## 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  
総合研究報告書

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つの登録を行う二重登録にはなつたが、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。

一元化・電子化登録による全国施設の移植登録を開始すること、登録データ (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) の質を向上させること、さらに 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 の配布

2006 年度に日本国内で造血細胞移植を行なっている成人施設に、2007 年に小児施設に 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. 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。

## 3. 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。

## 4. 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ーベースのプログラム(ソフトウェア)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。2007 年度には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. 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、従来の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。

#### 2. 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品質管理目的のため速やかに確認することを必要としている。昨年度までは 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。

#### 3. 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. 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 項目を中心に TRUMP の調査項目への追加や変更を行う。

#### 2. 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。

### 3. 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、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、平岡諦、加藤剛二、田淵健、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、山本一仁、気賀  
沢寿人、田淵健、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

熱田由子、鈴木律朗、吉見礼美、平岡諦、権藤久

司、田中淳司、土田昌宏、加藤剛二、田淵健、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  
PS-2-93

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**

骨髄内移植法を利用してマウス内でヒト造血微少環境を再構築するアッセイを開発した。臍帯血の骨髄内移植法は効率よい生着を達成するために有望な方法であるが、間葉系幹細胞を同時に移植することにより更に造血微少環境も再構築可能であり、臨床応用が期待される。また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**

われわれは NOD/SCID マウスへの骨髄内 (iBM) 移植法を利用して、ヒト臍帯血 CD34 細胞の生着効率の改善 (Blood, 101, 2905-2913, 2003)、マウス間葉系幹細胞の生着 (Blood 104, 3581-3587, 2004) を報告してきた。間葉系幹細胞は非造血系の骨髄幹細胞であり、骨髄内微少環境を提供していることが推測されているが、直接の証明はなされていない。今回われわれはヒト間葉系幹細胞を NOD/SCID マウスへ骨髄内移植し、その分化と造血維持機を検討した。

**B. 研究方法**

ヒト間葉系幹細胞 (MSC) および臍帯血 CD34 細胞をそれぞれレンチウイルスを用いて GFP および YFP で標識した。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<sup>+</sup>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<sup>+</sup>、CD33<sup>+</sup>、CD19<sup>+</sup>および CD3<sup>+</sup>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**

10<sup>6</sup>個の GFP<sup>+</sup> MSC を iv および iBM にて投与した。10 週後に生着している GFP<sup>+</sup> 細胞

を同定した。細胞の 70% は endosteal 領域に認められた。これらの細胞はヒト造血細胞と接して存在している像が多数認められた。機能を調べるためにマウス右脛骨に MSC を移植した後臍帯血 CD34 細胞を iv 移植し、生着を左右で比較した。右脛骨への生着率が有意に高く、含まれる CD34 細胞、コロニー形成細胞、SRC 数もいずれも右脛骨に多かった。以上の結果からヒト MSC 由来細胞はヒト造血幹細胞に対するニッチを提供することが明らかとなり、このアッセイを hematopoietic microenvironment repopulating cells (HMRC) アッセイとした。

さらに一個のヒト HSC の多分化能と自己複製能を初めて明らかにし、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。

**E. 結論**

ヒト間葉系幹細胞は骨髄内で造血微少環境を再構築する。ヒト造血幹細胞の個体内での動態をクローンレベルで明らかにした。

**F. 健康危害情報**

なし

**G. 研究発表**

別紙参照。

**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  
総合研究報告書

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 予防の確立

分担研究者 磯山恵一 昭和大学藤が丘病院小児科 教授

研究要旨

非血縁臍帯血移植で明らかにされてきた問題点の一つとして、移植後の生着不全が多いことがあげられる。それを克服し標準的な移植法を確立するための研究計画を策定した。また、研究計画策定にあたり日本さい帯血バンクを介して行われた小児急性骨髄性白血病に対する非血縁臍帯血移植成績を後方視的に解析し、成績と問題点を明らかにした。

小児における臍帯血移植至適前処置と  
GVHD予防の確立に関する研究の進捗状況

A. 研究目的

非血縁臍帯血移植における至適前処置および GVHD 予防を確立するため、非血縁臍帯血移植が適応となる小児急性白血病患者に対しリン酸フルダラビン、全身放射線照射、シクロフォスファミドを用いた前処置を行い、安全性・有効性を検討する。

B. リン酸フルダラビンを含む前処置法を使用した臍帯血移植の第 II 相試験計画  
研究の方法と概要

1. 対象疾患および患者：非血縁臍帯血移植が必要と考えられる 15 歳未満の急性白血病（図 1）。

2. 対象患者と選択基準

非血縁臍帯血移植が必要と判断された急性白血病でかつ、初回の造血細胞移植として行われる患者、年齢は 6 ヶ月以上 16 歳未満、体重あたり  $2 \times 10^7$ /kg 以上の細胞数を含む 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。

3. 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/m<sup>2</sup> を用いる。

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。