

200832040A

---

厚生労働科学研究費補助金

免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業

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 20 年度 総括・分担研究報告書

---

研究代表者 加藤 俊 一

平成 21 年 (2009 年) 3 月

## はじめに

本報告書は、厚生労働科学研究・免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業「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」班における平成20年度（2008年度）の研究成果をまとめたものである。

本研究班は平成17～19年度の1期3年の研究成果を踏まえて、平成20年度より2期目の研究班として継続が認められたものである。1期目に引き続き、臍帯血移植に関する基礎的研究、臍帯血の採取と分離・調整・保存などの臍帯血バンク事業に関する研究、臍帯血移植に関する臨床的研究を系統的かつ網羅的に組織した。研究分担者のほとんどは1期目からの継続であるが、新たに数名の研究分担者に加わりいただき、より充実した研究体制を整えることができたと考えている。

1期目の成果としては、臍帯血採取法としてカンガルーケア法を推奨することを日本さい帯血バンクネットワークに提案したこと、臍帯血の品質評価法の標準化を推進したこと、造血幹細胞移植データの一元化を達成したこと、過去の臍帯血移植の成績を解析して学会報告や論文として数多く報告したこと、臨床研究支援システムを確立し複数臍帯血移植などの前向き臨床研究を実施したこと、臍帯血の医薬品化の可能性について検討した結果を厚生労働審議会造血幹細胞移植委員会に報告したこと、などがあげられる。

一方、1期目だけでは十分達成できなかった課題も少なからずあり、多施設共同の前向き臨床研究のうち複数臍帯血移植以外の研究は研究計画書の作成、参加施設の倫理委員会での承認、症例の登録と移植などに予想以上の時間を要したため、多くを2期目に積み残す結果となった。幸い、これらの臨床研究も症例の登録と移植の実施が開始され、研究期間内に成果を出せるものと期待している。

本年度の成果の1つとして、移植前に患者が保有する抗HLA抗体が移植する臍帯血中の不適合HLA抗原と反応するような場合には生着不全の頻度が高くなることが明らかにされたことがあげられる。従来から患者血液中の抗HLA抗体が臓器や造血細胞の生着を妨げているのではないかと考えられていたが、造血幹細胞移植においては明確なエビデンスが少なかった。臍帯血移植において患者の抗HLA抗体が生着不全の原因となることが明確になったことにより、今後は移植前の抗HLA抗体の測定と、その結果に基づいた臍帯血の選択が日常診療の中に取り入れられていくものと思われる。

本報告書は2期目初年度の研究業績の全体をとりまとめたもので、研究分担者ならびに研究協力者の方々に厚く御礼を申しあげる次第である。

2009年3月

研究代表者 加藤 俊一

### 研究班の構成

	氏名	所属・役職・専門	役割分担
研究代表者	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
研究分担者 (五十音順)	東 英一	三重大学医学部附属病院・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
	足立 壮一	京都大学医学研究科・講師 発達小児科学	小児臍帯血移植の GVHD 予防法の確立
	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	臍帯血移植臨床研究の管理と統計学的解析
	安藤 潔	東海大学医学部内科学系・教授 血液学	臍帯血の骨髄内移植法の開発
	磯山 恵一	昭和大学藤が丘病院・教授 小児血液学	小児臍帯血移植至適前処置法の確立
	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
	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・准教授 造血幹細胞移植	臍帯血移植後の精緻なキメリズム解析法の開発
	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）
	田野崎 隆二	国立がんセンター中央病院臨床検査部・医長 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）
	長村 登紀子	東京大学医科学研究所・講師 輸血部	臍帯血移植データベースの確立
	正岡 直樹	東京女子医科大学・准教授 同附属 八千代医療センター婦人科・科長	臍帯血採取法の改良に関する研究
	森尾 友宏	東京医科歯科大学医学部・准教授 同細胞治療センター・センター長	臍帯血移植における DLI の開発
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. 麻疹ウイルスに対する DC ワクチンの開発	9
東 英一	
2. 小児臍帯血移植の GVHD 予防法の確立	13
足立 壮一	
3. 臍帯血移植臨床研究の管理と統計学的解析	17
熱田 由子	
4. 臍帯血の骨髄内移植法の開発	23
安藤 潔	
5. 小児臍帯血移植至適前処置法の確立	25
磯山 恵一	
6. 複数臍帯血の同時移植法の確立	29
甲斐 俊朗	
7. 臍帯血移植の感染症要因の解析と対策の検討	33
加藤 剛二	
8. 臍帯血の医薬品化に関する調査研究	37
河原 和夫	
9. 臍帯血の品質管理と評価法に関する研究	69
高梨 美乃子	
10. 臍帯血移植後の精緻なキメリズム解析法の開発	73
高橋 聡	
11. 高齢者臍帯血移植における GVHD 予防法の確立	75
谷口 修一	
12. 成人における臍帯血移植 (骨髄破壊的前処置法の標準化)	79
田野崎 隆二	
13. 臍帯血移植データベースの確立	81
長村 登紀子	
14. 臍帯血採取法の改良に関する検討	83
正岡 直樹	
15. 臍帯血移植における DLI の開発	85
森尾 友宏	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	91
IV. 参考資料	107

# 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

研究代表者 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

わが国の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2期目の研究計画に則り基礎的あるいは臨床的な研究を実施した。

(1) 開発的基礎研究

クローンレベルでの臍帯血移植後の造血動態が初めて明らかにされた。

「DC ワクチンを用いたウイルス感染予防法の開発」は健康人を対象とした第一相試験が開始された。また「ex vivo 増幅臍帯血T細胞輸注療法の臨床研究」は自施設での倫理委員会承認の下、探索的臨床研究が開始され、全国の施設に対するアンケート調査が行われた。

(2) 臍帯血採取法の改良

安定した臍帯血を採取する方法を開発するため採取バッグの改良を計画し、採取量の増加が得られるかどうかの検討を開始した。

(3) 臍帯血幹細胞評価法の標準化

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比較と再現性試験(白血球数、生細胞率、CD34 陽性細胞数、コロニー形成試験など)を実施し、標準的方法の検討を進めた。また、患者血清中の HLA 抗体が臍帯血と特異的に反応する場合には生着不全が増加することが示された。

(4) 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症例について、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。

(5) 臨床研究(前方視的研究)

「複数臍帯血移植」については1期目に引き続き順調に症例登録と移植実施が行われた。「成人臍帯血移植多施設共同臨床研究」、「高齢者における臍帯血移植に関する研究」、「小児臍帯血移植におけるシクロスポリン至適使用法の検討」については症例の登録と移植の実施が開始された。

(6) 臍帯血の医薬品化に関する研究

1期目に引き続き、臍帯血の医薬品化に関して費用試算を中心とした検討を継続した。

## A. 研究の目的と目標

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2期目の研究計画に則り基礎的あるいは臨床的な研究を実施することを目的とした。

## B. 研究計画

研究内容は臍帯血移植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、それぞれの研究分担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つ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期目の初年度にあたり、1期目から継続された研究をさらに推進し、ほぼ当初の計画どおりに実施することができた。

研究分担者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おりとおりのであるが、主な研究結果を以下に記述する。

## (1) 基礎的研究

- ・ 安藤潔研究分担者を中心として、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系を用いて、臍帯血移植後の造血動態が明らかにされた。移植された幹細胞は宿主骨髓ニッチに静止期で存在し、移植後に急速にクローンサイズを増大させて造血再構築を行うことがヒト造血幹細胞で初めて明らかにされた。
- ・ 東英一研究分担者を中心として、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た。本年度は健康人にワクチンを接種し、その安全性と効果について検討が行われた。
- ・ 森尾友宏研究分担者を中心として、「ex vivo 増幅臍帯血T細胞輸注療法の臨床研究」が自施設の倫理委員会の承認の下、探索的臨床研究が開始され、全国の施設に対するアンケート調査が行われた。

## (2) 臍帯血提供体制の基盤整備

- ・ 正岡直樹研究分担者を中心として、安定した臍帯血採取方法の安定化を目的として採取バッグを改良し、採取量の増加が得られるかどうかの検討を開始した。
- ・ 高梨美乃子研究分担者を中心として、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比較と再現性試験を実施し、標準的方法の検討を進めた。今年度は白血球数、生細胞率、

CD34 陽性細胞数、コロニー形成試験などについて検討した。

### (3) 臨床的研究

- ・ 甲斐俊朗研究分担者を中心として、複数臍帯血移植の臨床研究が順調に進捗した。本年度までに 55 例が登録され、合計 47 例で移植が実際されている。2008 年 6 月にはモニタリング検討会を実施し、有害事象を中心として詳細な検討を行った。
- ・ 田野崎隆二研究分担者を中心として、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進められ、3 例の症例登録と移植が実施された。
- ・ 磯山恵一研究分担者を中心として、小児における至適治療法確立のための前向き臨床研究が開始されたが、登録例が少ないため、2008 年 10 月にて臨床研究を終了した。
- ・ 足立壮一研究分担者を中心として、小児臍帯血移植におけるシクロスポリン至適用法の検討のための臨床研究が開始された。
- ・ 谷口修一研究分担者を中心として、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が高まり、MMF が有望な薬剤であることが示された。
- ・ 加藤剛二研究分担者を中心として、臍帯血移植後の真菌感染症に関する詳細な解析が行われ、臍帯血移植の成績向上のためには、真菌感染症に対する予防と治療対策の重要性が示された。
- ・ 高梨美乃子研究分担者を中心として、

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頻度が高くなることが示された。

- ・ 高橋聡研究分担者を中心として、HLA ミスマッチ造血幹細胞移植後の新規キメリズム解析法が開発され、フローサイトメトリーを用いて細胞系列毎の精緻なキメリズムの解析が可能であることが示された。
- ・ 熱田由子研究分担者を中心として、質の高い臨床研究の進捗管理体制が確立され、複数臍帯血移植、成人臍帯血移植、小児臍帯血移植の 3 つの臨床研究のデータ管理が行われた。
- ・ 長村登紀子研究分担者らを中心として、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 レジストリーによる移植報告一元管理システム (TRUMP) のデータベース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

- ・ 1 期目のアドバイサリー委員会における検討により、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が判明し、厚生労働審議会造血幹細胞移植委員会に中間報告を行った。
- ・ 2 期目においても河原和夫研究分担者を中心にして、臍帯血を医薬品化した場合のコストをバンク毎に試算した結果、1 採取あたりの費用は約 15～70 万円、1 出庫あたりの費用は約 274～1240 万円とバンク間で大きく異なることが判明した。



#### 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することができたと考えている。

#### E. 健康危険情報

前向き臨床研究において、通常の造血幹細胞移植でみられる有害事象が発生したが、本研究固有の健康危険情報はなかった。

#### F. 研究発表

##### 1. 著書

加藤俊一. 移植造血幹細胞のソース (骨髄移植・末梢血幹細胞移植・臍帯血移植について) Annual Review 2009 血液、中外医学社、pp28-35、2009.

##### 2. 論文発表

Oda M, Kato S, et al. Survival after cord blood transplantation from unrelated donors as a second hematopoietic stem cell transplantation for recurrent pediatric acute myeloid leukemia. *Int J Hematol*, 2009 (in press).

Ishiguro H, Kato S, et al. Growth and endocrine function in long-term adult survivors of childhood stem cell transplant. *Clinical Pediatric Endocrinology*, 2009;18(1):1-14.

Atsuta Y, Kato S, et al. Disease-specific analyses of unrelated cord blood transplant compared with unrelated bone marrow transplant in adult patients with acute leukemia. *Blood*, 2009;113(8):1631-8.

Yoshida F, Kato S, et al. Possible role of artificial oxygen carriers in transfusion medicine: A retrospective analysis on the current transfusion

practice. *Artificial Organs*, 2009; 33(2):127-132.

Kawaguchi A, Kato S, et al. Effects of liposome-encapsulated hemoglobin on human immune system: Evaluation in immunodeficient mice reconstituted with human cord blood stem cells. *Artificial Organs*, 2009;33(2):169-176.

Yahata T, Kato S, et al. Quiescent human hematopoietic stem cells in the bone marrow niches organize the hierarchical structure of hematopoiesis. *Stem Cells*. 2008;26:3228-36.

Yabe M, Kato S, et al. Fatal giant cell myocarditis after allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2008;41(1):93-4.

Yasuda Y, Kato S, et al. Progressive multifocal leukoencephalopathy after allogeneic bone marrow transplantation for Wiskott-Aldrich syndrome. *Pediatr Int*. 2008;50(2):238-40.

Narimatsu H, Kato S, et al. Chronic graft-versus-host disease following umbilical cord blood transplantation: retrospective survey involving 1072 patients in Japan. *Blood*. 2008; 112(6): 2579-82.

Nagamura-Inoue T, Kato S, et al. Unrelated cord blood transplantation in CML: Japan Cord Blood Bank Network analysis. *Bone Marrow Transplant*. 2008;42(4):241-51.

Yoshimi A, Kato S, et al. Unrelated cord blood transplantation for severe aplastic anemia. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2008;14(9): 1057-63.

Kawase T, Kato S, et al. HLA mismatch combinations associated with decreased risk of relapse:

Implications for molecular mechanism.  
Blood. 2008 Nov 7.

加藤俊一. 臍帯血移植の今後. 総合臨床,  
2008, Vol157, No. 4, 632-638.

加藤俊一. 骨髄バンク、臍帯血バンクの歩  
みと今後の展望. 小児科診療.  
2009;72(2):377-385.

3. 学会発表 (\*は招待講演)

Suganuma E, Kato S, et al. Bone Mineral  
Density(BMD) in survivors who under-  
went Hematopoietic Stem Cell Trans-  
plantation (HSCT) during childhood. A  
long term follow-up and effectiveness  
of Hormone Replaced Therapy (HRT).  
Pediatric Academic Societies and Asian  
Society for Pediatric Research Joint

Meeting, May 2008 (Hawaii)

Kato S. \* Cord blood banking and cord  
blood transplantation. ISBT XXXth  
International Congress, June 2008  
(Macao).

Kato S. \* Report from Japan and Asia.  
First Cord blood Transplant 20th  
Anniversary Netcord bank organization  
10th Anniversary. Oct 2008 (Canne)

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

臍帯血を用いる造血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

研究分担者 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) などのウイルス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、HCT 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、MV に対するワクチンを作成し、健康人に接種することにより、その安全性と効果を検討した。

共同研究者

熊本忠史・三重大学大学院医学系研究科・病態解明医学講座・小児発達医学・助教

平山雅弘・三重大学医学部附属病院・小児科・講師

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、CMV、EBV、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。

抗 MV-DC ワクチンを健康成人に接種し、安全性と効果を検討した。副反応として、接種部位の腫脹、発赤、熱感などの局所症状と、発熱、発疹などの全身症状の有無をみた。また、効果判定として、接種前後の血清抗 MV 抗体価を測定した。また、接種前後の抗 MV-メモリー B 細胞を以下の方法で測定した。

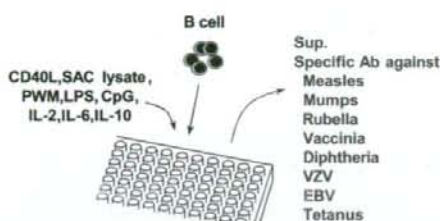


図1. メモリーB細胞の測定

接種前後の末梢血からマイクロビーズ法を用いて分離したB細胞をCD40, SAC lysate, PWM, LPS, CpG, IL-2, IL-6, IL10 の存在

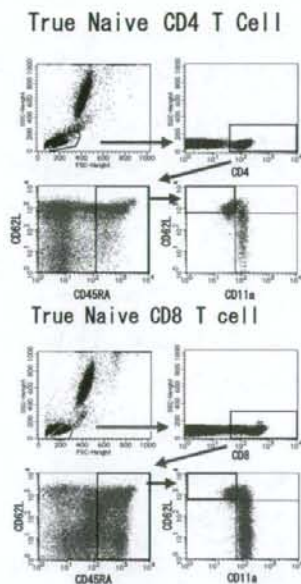


図2. True naive T細胞

下で培養する。これらの刺激により、抗MV抗体をはじめ、ムンプスウイルス、風疹ウイルスなど、種々のウイルスに対する抗体産生が誘導される(図1、Amanna IJ, et al. N Engl J Med. 357:1903, 2007)。培養上清中

に含まれる抗MV抗体価をELISA法で測定し、接種前後の抗体価を比較することにより、抗MV-DC ワクチン接種による抗MV-メモリーB細胞の反応を検討した。

一方、ワクチン接種至適時期の判定方法について検討した。従来、HCT患者などの免疫回復の指標として、末梢血 naive CD4 陽性 T 細胞数や、CD4/CD8 比が用いられてきたが、最近、CD45 陽性、CD62L 陽性、CD11a 陰性の T 細胞 (true naive T 細胞、図2) 数が重要であることが報告された (Napolitano LA, et al. J Clin. Invest. 118:1085, 2008)。今回我々は flow cytometry 法を用いて HCT 後患者の末梢血 true naive T 細胞を測定した。



図3. 抗MV-DCワクチンの副反応

### C. 研究結果

抗MV-DC ワクチンの安全性を評価するため、健康成人に  $1 \times 10^5$  細胞の抗MV-DC ワクチンを接種した。発熱、発疹などの全身症状はなく、接種部位の発赤・腫脹・熱感などの局所反応も認めなかった(図3)。

図4. 抗MV抗体価

	Pre	Post
EIA	30.7	33.8
HI	8	8
NT	8	4
PA	>512	>512

抗 MV-DC ワクチンの有効性を評価した。接種前、接種2ヶ月後の抗MV抗体価をEIA

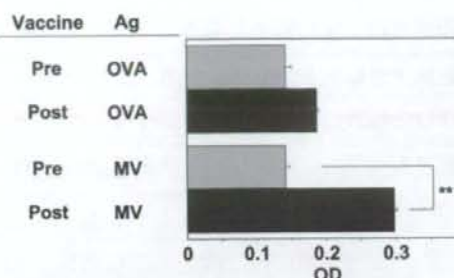


図5. MV特異的メモリーB細胞

一B細胞は、ワクチン接種により、有意に増加した(図5)。

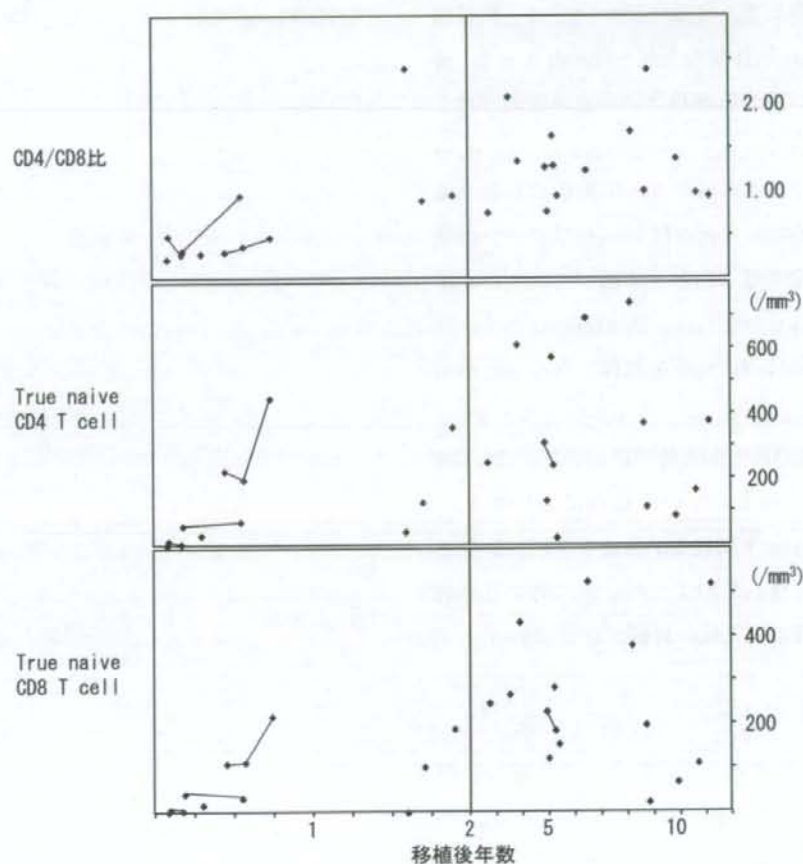


図6. HCT後の患者の末梢血CD4/CD8比とtrue naïve T細胞

法、HI法、NT法、PA法(全てSRLに測定を依頼)で測定したが、抗体価の上昇を認めなかった(図4)。しかし、抗MV-メモリ

ワクチン接種至適時期を検討した。CD4/CD8比はHCT後の時間に比例して上昇する傾向にあったが、true naïve T細胞の

測定では、HCT 後 1 年以下であっても高値を呈する症例を認めた。一方、HCT 後 18 ヶ月以上経過し、CD4/CD8 比が 1 を超える症例であっても、true naïve T 細胞数が少ない症例も認めた (図 6)。

#### D. 考察

抗 MV-DC ワクチンを健常成人に接種したが、特に副反応を認めず、安全であることが示唆された。有効性については、接種前後で抗 MV 抗体価の上昇を認めなかった。接種前、すでに抗 MV 抗体価が高値であったことが原因であると推測された。一方、抗 MV 抗体を産生するメモリー B 細胞の有意な増加を認めた。本法が抗 MV-DC ワクチンの効果を測定する方法として適していることが示唆されるとともに、抗 MV-DC ワクチンが生体内で抗 MV 免疫を惹起しうることが示唆された。

HCT 後の免疫回復時期について、CD4/CD8 比が十分回復している症例においても、true naïve T 細胞数が低値の症例が散見された。今後、このような症例に対するワクチン接種の有効性の評価が必要である。

#### E. 結論

DC ワクチンの手法を用いて作成した抗 MV-DC ワクチンの安全性と有効性を *in vivo* で証明するとともに、HCT 後患者への臨床応用が可能であることを証明した。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

論文発表

- 1) *Experimental Hematology*. 36: 1343-1353, 2008
- 2) *Journal of Pediatric Hematology Oncology*. 30:917-919, 2008

#### 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 免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業  
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：小児臍帯血移植におけるシクロスポリン至適使用法の検討  
(3時間点滴のTDM)

研究分担者 足立壮一 京都大学大学院医学研究科発達小児科学 講師

研究要旨

造血細胞移植において免疫抑制剤のシクロスポリンの標準的投与方法は未だ確立していない。しかし、ネオーラル®(シクロスポリン内服薬)が導入されてからは、ネオーラル®の薬物動態と効果およびシクロスポリンの薬理作用が検討され  $AUC_{0-4}$ 、 $C_2$  値(内服2時間後の血中濃度)および  $C_{max}$  が効果に相関することが明らかになった。そこで、小児臍帯血移植でのシクロスポリン3時間点滴における  $C_3$  値を設定してシクロスポリンの体内薬物動態を検討する治療研究を開始した。

A. 研究目的

造血幹細胞移植においてシクロスポリンの目標血中濃度値、至適使用量および点滴静注時間等シクロスポリンの使い方は各施設の経験に基づき行なわれている。小児造血幹細胞移植においては、京都大学小児科より、パイロット試験として、3時間点滴の有用性と点滴時の  $C_3$  値(シクロスポリン投与後3時間の血中濃度)や内服時の  $C_2$  値の検討について報告がある。そこで、これまでの報告やパイロット試験などを参考にして、3時間点滴における  $C_3$  値を設定してシクロスポリンの体内薬物動態を多施設にて検討する。

B. 研究方法

小児臍帯血移植において、シクロスポリン注射液(CyA-IV;サンディミュン®注射液)を1.5mg/kgの3時間点滴で1日2回行ない、投与後3時間値( $C_3$ 値)目標値としてCyA使用量を調節して、シクロスポリンの体内薬物動態を検討し、CyAの標準的な

使い方を確立する。Day29以降から、サンディミュン注射液の2倍量(シクロスポリン量として)の経口剤ネオーラルに切り替えて、同様の検討をする。また、合わせて、急性GVHDの抑制効果に適切な血中濃度を検討する。

用量調節

サンディミュン®注射(CyA-IV)、投与開始後、Day3に、血中濃度を測定し、用量調節を行う。

血中濃度の目標値は、投与後3時間値( $C_3$ 値)が、800ng/mlを下回らず、1500ng/mlを超えないようにする。トラフ値( $C_0$ 値)が、300ng/mlを上回った場合は、副作用が発現しない限り継続する。

経口摂取が可能になった場合は、ネオーラル®(CyA-MEPC)を注射投与量の倍量を投与し、投与開始約3日後に、血中濃度を測定する。

用量調節方法



C3 値を A ng/ml として、以下の計算式に基づいて調節する。

800ng/ml を下回った場合

$(900/A) \times (\text{現在の使用量}) = (\text{新たな使用量})$

1,500ng/ml を上回った場合

$(1,400/A) \times (\text{現在の使用量}) = (\text{新たな使用量})$

(評価項目)

以下の項目について検討する

主要評価項目：シクロスポリンの体内薬物動態の検討

副次的評価項目：移植後 50 日間の急性 GVHD の発生率、急性 GVHD および腎障害と CyA 血中濃度 (C3 値, C2 値, C0 値) の関係、安全性(副作用)

(予定登録数と登録期間)

登録期間：2年

追跡期間：1年

研究期間：3年

(研究組織、参加施設と登録)

総括責任医師：

京都大学大学院医学研究科発達小児科学  
足立 壮一

研究事務局

京都大学大学院医学研究科発達小児科学  
松原 央

研究参加施設

当該研究に対する参加募集を行っており、小児造血細胞移植を行なっている施設から 6 施設の参加表明があった。

倫理面への配慮

本試験を施行するにあたり、京都大学の倫理委員会の承認を得た。また各参加施設にも施設内の倫理委員会の承認を得て実施している。対象患者の個人情報とは特定されないように厳格な配慮をし、その情報管理は厳密に取り扱うものとした。

#### C. 研究結果

2009 年 1 月末時点での登録症例数は 3 例である。登録予定数は 10 例であり、現在も登録受付を継続中である。

#### D. 考察

本研究を開始する以前に当科で検討した臍帯血移植 10 例に対する CsA の 3 時間点滴静注法では、以下の結果が得られている。

①C3 値が  $AUC_{0-12}$ 、 $AUC_{0-6}$  に強い相関を示した。②移植後早期は、用量を調節した後でも目標 C3 値である 800ng/ml 以上に達しない例が多かった。③急性 GVHD (Grade II) の発症を 3 例に認めたが、いずれも皮膚のみであった。④内服変更後も 3 時間点滴法と同様の動態を示した。⑤CsA による重篤な腎障害、脳症などは認めなかった。

これらの結果を基に、多施設での安全かつ有効な結果が得られるかの検討が必要である。

#### E. 結論

少数例の検討だが、シクロスポリン 3 時間点滴静注法にて目標血中濃度に到達させることで、重篤な GVHD、腎毒性、神経毒性はおこさず有効な結果が得られると考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

予定あり

2. 学会発表

- 1) Hiroshi Matsubara, Souichi Adachi, Itaru Kato, Tatsuya Morishima, Satoshi Saida, Aki Shinzato, Katsutsugu Umeda, Ken-Ichiro Watanabe, Tatsutoshi Nakahata. Three hour drip infusion of cyclosporine A and C3 monitoring in pediatric cord blood transplantation. 6<sup>th</sup> Meeting of the EBMT Pediatric Diseases Working Party. Poznań Poland. 2008. 6. 2 (Bone Marrow Transplantation 42 Issue S2, S121, 2008)
- 2) 松原央、足立壮一、加藤格、才田聡、森嶋達也、新里亜紀、梅田雄嗣、渡邊健一郎、中畑龍俊. シクロスポリン 3 時間点滴静注法と C3 モニタリングについて—小児臍帯血移植 10 例の検討— 第 70 回日本血液学会総会, 京都 2008. 10. 11

H. 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

厚生労働科学研究費補助金 免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業  
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 臍帯血移植臨床研究の管理と統計学的解析

研究分担者 熱田 由子 名古屋大学医学部 造血細胞移植情報管理・生物統計学 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、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2006年から造血細胞移植登録の一元化・電子化がなされたが、このシステムを用いた臨床試験への応用と、臍帯血移植臨床試験のデータ管理の質の向上を研究課題とした。造血細胞移植登録一元管理プログラム（TRUMP）を用いた一元化登録においては登録施設・登録症例数の増加を認めている。臍帯血移植臨床試験では、TRUMP 調査項目を電子データで、TRUMP 調査項目以外の項目を紙調査票で収集する方法を取り、収集患者情報の質の向上と同時に登録施設の負担を軽減する工夫を行った。臍帯血臨床試験データ管理では、試験進捗管理・患者情報データ管理において、各種手順書を作成し、手順に従ったデータ管理を行うことにより合理的に質の高いデータ管理を実施した。

A. 研究目的

臍帯血移植臨床研究（前向き臨床試験を含む）の質の向上を目的とし、以下の2点に重点をおいた活動をおこなった。

A-1. 造血細胞移植登録プログラム（TRUMP）を用いた一元化登録の推進とTRUMPの臨床試験への応用。

2006年から開始した本邦における造血細胞移植登録の電子化・一元化登録の推進は、本邦における造血幹細胞移植実施状態の把握における貢献のみならず、その成績を明らかとする登録研究(registry study)において、その質の向上に多大な貢献が期待される。一方、2007年1月に行われた施設アンケートから、登録や臨床試験の症例報告書の記入において医師のみが担当している施設が回答した136施設中109施設（80%）、医師

+事務担当者の施設が11施設（8%）と、約9割の施設において医師が登録や症例報告書記入の担当の中心となっており、専属CRCやデータマネージャーなど専門のスタッフがいる施設は9施設（7%）にとどまっていることが判明しており、登録施設の負担を最大限に考慮する必要がある。臍帯血移植を含む造血幹細胞移植臨床試験においては、大抵の場合、TRUMP 調査項目は基本項目として調査対象となる。そのため、同じ移植症例において、同じ項目を重複して入力・記載する必要のない体制を整えることは重要であり、TRUMPの臨床試験への応用は一つの解決策となる。

A-2. 臍帯血移植臨床試験におけるデータ管理の質の向上。

本研究班において計画された以下の3つ

の臨床試験におけるデータ管理を担当し、管理データの質の向上に努めた。臨床試験より導き出される結論は、実地臨床をささえるエビデンスとなるため、収集・解析される臨床情報が正確に処理されることが倫理的・科学的見地より重要である。

- 複数臍帯血同時移植の臨床第Ⅱ相試験
- 成人における骨髄破壊的前処置による非血縁者間臍帯血移植の移植方法に関する研究  
(東京大学医科学研究所附属病院の移植法を用いた多施設第Ⅱ相臨床試験)
- 小児急性白血病に対するリン酸フルダラピンを用いた前処置の安全性・有効性に関する検討

## B. 研究方法

### B-1. TRUMP による一元化・電子化登録の推進

#### 1. TRUMP 項目の調整

TRUMP は 2004 年から 2 年間をかけて開発され、当時独立して移植データを収集していた 4 組織 (日本小児血液学会、骨髄移植推進財団、日本さい帯血バンクネットワーク、および日本造血細胞移植学会) の調査項目を融合させ、TRUMP 調査項目が作成された。このあと 2005 年 8 月に日本さい帯血バンクネットワーク調査項目が変更されたものが TRUMP 調査項目に反映されていなかったため、この調整が行われた。同時に 2008 年度の TRUMP version up では、欧米の造血幹細胞移植基本調査項目を網羅するような調査項目の変更が行われている。

#### 2. TRUMP の臨床試験への応用

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登録用の匿名化・暗号化ファイルが保存される。この書き出し機能には、学会登録用のすべての症例を対象とした書き出し機能と、個々の症例を対象とした書き出し機能が存在する。後者の書き出し機能を用いて、臨床試験における患者基本・臨床情報の収集の効率化および質の向上を図った。具体的には、患者情報の収集を TRUMP データ (電子データ) および TRUMP 調査項目以外の臨床試験収集データに分け、後者のみの紙調査票で患者情報を収集する方法とした。

### B-2. 臍帯血移植臨床試験におけるデータ管理

#### 1. プロトコールレビュー

研究者が執筆したプロトコールをレビューし、データ管理観点、統計学的観点、臨床試験方法論観点から試験計画案の改善に寄与した。

#### 2. 調査票の作成

TRUMP 調査項目以外の収集項目を対象とした紙調査票を設計した。記入ミスが少ないようにチェック形式の項目をベースとし、自由記載欄はできる限り縮小した。

#### 3. 患者登録・進捗管理

登録患者の試験遂行が滞りなく行われ、必要な患者情報が滞りなく収集される体制を構築するために、患者登録・進捗管理においては別途手順書を作成し、情報収集の