

タイミングに担当医師に電子メールで通知し、報告データ（電子および紙媒体）の提出が遅れた場合にはやはり電子メールで督促を行えるような進捗管理プログラムを試験ごとに作成した。

4. 有害事象報告時の対応

有害事象が発生した際に速やかに研究代表者に報告がなされ、研究代表者および効果安全性評価委員会との合議のもと当該事象に対する対応を決定するまでの一連の流れを滞りなく管理できるような手順書を作成した。

5. データの入力・チェック・問い合わせ

TRUMP 入力データに関しては、TRUMP の論理チェック機能によるデータチェックを施行し、紙調査票データにおいてはダブルエントリー法での入力を行う。未記入データや矛盾データなどは問い合わせの対象となる。

4. モニタリング

データセンター内で報告データの確認を行うセントラルモニタリングを施行した。登録・進捗状況の確認、逸脱症例の検討、試験安全性情報の確認をモニタリングにおける主要確認項目とした。

C. 研究結果

C-1. TRUMP を用いた一元化・電子化登録の推進と TRUMP の臨床試験への応用

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、2008 年度が 182 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、2008 年度が 71 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. TRUMP の臨床試験への応用

TRUMP への入力/紙調査票への記入を担当する医師の負担軽減のために臨床試験での患者情報収集は、TRUMP 電子データおよび紙調査票データの二本立て形式をとった。複数臍帯血試験では、12/36 例で、提出の際に TRUMP 電子データ (CD-R) の同封がなされてなく、再度提出の督促をおこなっている。2 形式に提出データがわかれているため、一方、特に電子データが忘れられやすい傾向があったため、提出案内の文書および督促文書の改善をおこなった。

C-2. 臍帯血移植臨床試験におけるデータ管理

1. 登録・進捗管理

登録・進捗管理手順書および手順書に従ったプログラム作成により、登録患者の進捗管理は滞りなく行われた。患者情報の提出は、提出期限より遅れることが多く、調査票提出の督促の必要のない症例はまれであった。

2. モニタリング

複数臍帯血同時移植の臨床第 II 相試験においては、2008 年 6 月にモニタリング検討会を実施し、試験進捗状況、患者情報収集状況、安全性情報、逸脱患者情報の確認を

中心とした会議を行った。結果はモニタリングレポートとしてまとめられ、参加各施設に配布された。患者情報収集時における問題点も明らかにされ、以後の改善策がとられている。

D. 考察

臍帯血移植を含む造血幹細胞移植において、registry studyを生み出す良質な移植データベースは重要であり、registry studyが生み出す知見の重要性は欧 (the European Group of Blood and Marrow Transplantation) 米 (Center for International Blood & Marrow Transplant Research) からの報告からも明らかである。

登録を推進すると同時に、臨床試験の推進につなげられることを目的とし、TRUMPの臨床試験への応用を試みた。同じ調査項目を2度入力/記入する手間が減少するというメリットがあるが、一方、臨床試験において提出するデータが2種類になるというデメリットがあり、一方のみの提出がなされることが多いという問題も明らかとなった。参加施設において経験を積み重ねていくことにより、またデータセンターからの案内・督促の方法の改良によりこういった問題は改善していくことと予想される。

造血幹細胞移植を対象とした臨床試験は、収集が必要な調査項目が多いが、これらの項目に関しても経験を重ね、収集項目を最小限にする努力、収集方法の改善を検討し続ける必要がある。

E. 結論

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) が協力して造血細胞移植登録の一元化・電子化が2006年よりなされたが、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。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Yazaki M, Atsuta Y, Kato K, Kato S, Taniguchi S, Takahashi S, Ogawa H, Kouzai Y, Lobayashi T, Inoue M, Kobayashi R, Nagamura-Inoue T, Azuma H, Takanashi M, Kai S, Nakabayashi M, and Saito H. Incidence and Risk Factor of Early Bacterial Infections after Unrelated Cord Blood Transplantation. Biol Blood Marrow Transplant. in press
2. Atsuta Y, Suzuki R,

Nagamura-Inoue T, Taniguchi S, Takahashi S, Kai S, Sakamaki H, Kouzai Y, Kasai M, Fukuda T, Azuma H, Takanashi M, Okamoto S, Tsuchida M, Kawa K, Morishima Y, Kodera Y, and Kato S, for the Japan Marrow Donor Program and the Japan Cord Blood Bank Network. Disease-specific analyses of unrelated cord blood transplant compared with unrelated bone marrow transplant in adult patients with acute leukemia. Blood. in press.

2. 学会発表

熱田由子、鈴木律朗、長村登紀子、谷口修

一、高橋聡、甲斐俊朗、坂巻壽、香西康司、笠井正晴、福田隆浩、東寛、高梨美乃子、岡本真一郎、土田昌宏、河敬成、森島泰雄、小寺良尚、加藤俊一、骨髓移植推進財団、日本さい帯血バンクネットワーク共同研究

成人急性白血病における非血縁者間骨髄移植と非血縁者間臍帯血移植成績の白血病型別の比較

第70回日本血液学会総会 2008年10月12日 京都 プレナリーセッション(口演)

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 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 臍帯血幹細胞骨髄内移植に関する研究

研究分担者 安藤 潔 東海大学医学部・教授

研究要旨：本年度は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クセシ系を用いて、臍帯血移植後の造血動態を明らかにした。移植された幹細胞は宿主骨髄ニッチに静止期で存在し、移植後には急激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。

A. 研究目的

臍帯血移植や成人に対する複数臍帯血移植を安全に効率よく行っていくためには移植された臍帯血の動態を解析することが重要である。

マウスにおいては一個の HSC がマウスの生涯に亘り造血を営んでいること、すなわち一個の HSC が多分化能と自己複製能を有することが示されている。しかし、ヒト HSC 集団がどのような活性をもった幹細胞によって構成されているのか、またどのような体内動態を示すのかについての知見は、移植医療の向上に重要であるが、個々のヒト HSC が有する幹細胞活性を検討する良い実験系が存在しないことなどから不明な点が多い。そこでわれわれはヒト造血幹細胞のクローンレベルでの動態解析を行った

B. 研究方法

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⁺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⁺、CD33⁺、CD19⁺および CD3⁺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

NOG マウスに移植されたヒト造血幹細胞は CD34⁺CD38⁻のフラクションに存在することが二次移植により証明され、これらの細胞は内骨

膜領域に PCNA 陰性細胞として存在することが示された。また二次移植後に長期骨髄再構築能を示すクローンは、一時移植宿主内では小さなクローンサイズで存在することが示された¹⁾。

E. 結論

移植されたヒト幹細胞は宿主骨髄ニッチに静止期で存在し、移植後には急激にクローンサイズを増大させて造血再構築を行う。

F. 健康危害情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yahata T, Muguruma Y, Yumino Y, Sheng Y, Uno T, Matsuzawa H, Ito M, Kato S, and Ando K. Quiescent human hematopoietic stem cells in the bone marrow niches organize hierarchical structure of hematopoiesis. *Stem Cells* 26, 3228-3236, 2008
- 2) Hozumi K, Mailhos C, Negishi N, Hirano K, Yahata T, Ando K, Zuklys S, Hollander G, Shima D, Habu S. Delta-like 4 is indispensable in thymic environment specific for T cell development. *J Exp Med*. 205, 2507-2513, 2008

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
小児急性骨髄性白血病に対する非血縁臍帯血移植の成績

研究分担者 磯山 恵一 昭和大学藤が丘病院小児科教授

研究要旨：造血細胞移植の一つとして非血縁臍帯血移植は重要な治療法の選択肢である。日本ではこれまでに約 5,000 例が日本さい帯血バンクネットワークを介して実施されてきた。今回、小児急性骨髄性白血病 163 例の臍帯血移植結果を、初回移植症例と再移植症例に分類して解析した。初回移植群 (141 例) では、予後不良因子である染色体異常を有する症例においても生存率の改善が認められていた。再移植群 (22 例) では、前処置に reduced intensity conditioning (RIC) を使用した場合には myeloablative conditioning (MAC) を使用する場合より成績が良い傾向であることが示された。

A. 研究目的

目的：日本さい帯血バンクネットワークを介した移植は 5,000 例をこえるが、小児造血器疾患ごとの成績は報告されていない。今回、小児急性骨髄性白血病に対する非血縁臍帯血移植の成績を解析し問題点を明らかにすることを目的とした。

背景：臍帯血移植は、1988 年 Gluckman らにより世界で初めて行われた。2008 年末までに 5,000 例を越す臍帯血移植が行われている。臍帯血移植は、ドナーに負担がなく患者の状態に応じて移植時期を設定できる利点がある。また、成人ドナーに比較し感染症リスク低いことや、GVHD の発症率が低く HLA 不適合の移植が可能であるという利点を有している。一方、臍帯血移植では他の造血幹細胞移植に比較して生着の割合が低いことが問題点の一つである。今回、小児急性骨髄性白血病 (AML) に関する解析を、初回移植例¹⁾と再移植例²⁾で行い問題点を明らかにした。

B. 研究方法

対象および評価項目：1999 年 8 月から 2005 年 12 月までに日本さい帯血バンクを介して移植を行った年齢 16 歳未満の小児 AML を対象とする後方視的研究である。評価項目は、移植後の好中球生着、血小板生着、無イベント生存率、全生存率、再発率、急性 GVHD 発生率、非再発移植関連死亡率である。各評価項目と患者および臍帯血の特性との関係について単変量解析を行った。統計解析：生存率は Kaplan-Meier 法を、累積発生率は逆 Kaplan-Meier 法を使用した。単変量解析は、Log-rank test を使用し $P < 0.05$ を有意として評価した。単変量解析で $P \leq 0.1$ を示した結果について Cox hazard model による多変量解析を行った。

C. 結果

1. 初回移植例について

1) 患者の特徴：症例数は 141 例であった。患者および臍帯血の特徴は表 1 に示した。移植時患者年齢中央値は 4.0y(0-15)歳、患者体重中央値は 14.9kg(5-65kg)であった。

移植細胞数（臍帯血凍結時）中央値は 5.03(1.85-15.1)、移植 CD34 陽性細胞数中央値は $1.43 \times 10^5/\text{kg}$ ($0.06-38.3 \times 10^5/\text{kg}$)移植時の患者の状態と症例数は、第1寛解(CR1)39例、第2寛解(CR2)33例、第3寛解(CR3)4例、非寛解(non CR)65例であった。GVH 方向 HLA 適合度は、完全一致 32例、1 不一致 91例、2 不一致 17例であった。

2) 成績

好中球生着率（移植 90 日）:82.4%、中央値 28 日であった（28 日以内の死亡例を除く）。多変量解析では、CD34 陽性細胞数が生着に影響を与える因子となった（CD34 陽性細胞数 $<1.35 \times 10^5/\text{kg}$:HR=0.46, 95%CI 0.31-0.76, P=0.0016）。血小板生着（移植 180 日）は 62.5%で中央値は 78 日である。多変量解析では、移植時の患者状態（CR1-3 群: HR 2.24 (95%CI: 1.32-3.81, P=0.0028)と CD34 陽性細胞数 ($<1.35 \times 10^5/\text{kg}$: HR3.55 (95%CI:2.02-6.25, P<0.0001)が独立した予後因子となった。生存率:6年全生存率、無病生存率は 65.6%、53.3%であった。多変量解析では、両者とも移植時の患者状態（CR1-3 群）が予後良好因子となった（HR=0.269, 95%CI:0.15-0.50, P<0.0001, HR=0.24, 95%CI:0.15-0.4, P<0.0001）。染色体異常のリスクと生存率との間に有意差は認められなかった。

再発:6年再発率は 41.3%であった。多変量解析では、移植時 nonCR 群、4歳未満例が独立した予後不良因子であった（HR=0.25, 95%CI 0.14-0.49, P<0.0001, HR=0.46, 95%CI 0.23-0.91, P=0.028）。GVH 方向 HLA 不一致度は再発率に影響を与えなかった。

急性 GVHD: grade 2-4 の急性 GVHD 発生率は、40.1%であった。GVH 方向 HLA 適合度、TBI の有無、GVH 予防法による発生率に差は認められなかった。多変量解析

でも独立した発生因子は認められなかった。

慢性 GVHD: 2年発生率は 13.1% (limited type 10例、extensive type 5例)、判定困難例が 24例認められた。

移植関連死亡: 早期(100日以内)移植関連死亡は 28.9%であった。単変量解析では、移植時高危険群が標準危険群比較し有意に発生率が高かった（51.5% vs 13.6%, P=0.018）(図5)。移植既往の有無や、血清 CMV 抗体の有無、TBI の有無による前処置の差、GVH 予防法による発生率に差は認められなかった。

2. 再移植症例について

1) 患者の特徴

22例が再移植として臍帯血移植が行われた。初回移植は自己移植 8例、臍帯血移植 7例、非血縁骨髄移植 7例であった。再移植時の患者の状態は CR 2 が 7例、CR 3 が 2例、他は non CR である。再移植時の移植前処置は、RIC 10例、MAC 12例であった。

2) 成績

生存率: 5年全生存率は 31.3%であった。単変量解析で、移植時寛解状態であること ($58.3\% \pm 18.6\%$ vs $17.1\% \pm 10.8\%$, P=0.025)と移植年代が 2000 年以降 ($55.1\% \pm 13.9\%$ vs $0.0\% \pm 0.0\%$, P=0.01)で有意に成績が良かった。また、再移植時の移植前処置の比較では、RIC が MAC より予後良好な傾向が認められた ($60.0\% \pm 15.5\%$ vs $9.7\% \pm 9.1\%$, P=0.08)。

生着: 90日好中球生着率は 69.6%、180日血小板生着は $39.1\% \pm 10.1\%$ 。単変量解析では誘因な因子は得られなかった。

GVHD: Grade 2 以上の急性 GVHD 発生率は 62.6%であった。生存している 9例中、慢性 GVHD 発生は 3例(limited type 2例、extensive type 1例)であった。

早期移植関連死亡: 100日以内の TRM 発

生は 24.6% であった。単変量解析で、GVHD 予防に MTX を使用した場合は、非使用に比べ TRM 発生が低い傾向であった ($8.8\% \pm 8.0\%$ vs $49.2\% \pm 17.7\%$, $P = .056$)。再発: 22 例中 5 例が再発した。5 年再発率は 43.9% であった。単変量解析では 2 度以上の急性 GVHD 発生例で再発が低い傾向が認められた ($22.1\% \pm 14.1\%$ vs $75.0\% \pm 21.0\%$, $P=0.08$)。

死因: TRM10 例中 5 例が感染症 (細菌感染 3 例、真菌 1 例、不明 1 例) で、原病死 5 例であった。再移植時に頻度の高い出血性膀胱炎の発生は認められなかった。

D. 考察

本邦における小児急性骨髄性白血病に対する臍帯血移植の長期成績の報告はこれが最初のものである。生着率はこれまでの報告と同様骨髄移植に比較し低いことが示されたが、CD34 陽性細胞数が影響を及ぼすことが明らかにされた。造血細胞を示す細胞数と生着との関係が明らかにされたことは、今後小児 AML の臍帯血移植のドナー選択に際し重要な因子となると考えられる。初回移植の場合には、生存率では、骨髄移植などの従来の移植成績にほぼ匹敵するものであった。染色体異常の種類など他の危険因子の有無に関わらず、移植時寛解状態であることが生存率を向上させることが示された。再移植症例では、移植成績は厳しいものの前処置として RIC の有用性を検討する必要がある。移植が必要な場合で血縁ドナーが得られない時には、臍帯血ドナーも選択肢になり得ると思われる。今後は、生着率の向上や前処置の工夫を行うことで成績の改善を行ってゆく必要がある。

文献

1. Isoyama K, et al. Long-term Outcome of

Cord Blood Transplantation from Unrelated Donors as an Initial Transplantation Procedure for Children with Acute Myeloid Leukemia in Japan. Submitted.

2. Oda M, Isoyama K, et al. Survival after Cord Blood Transplantation from Unrelated Donor as a Second Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Recurrent Pediatric Acute Myeloid Leukemia. *Int J Hematol*. 2009. In press.

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
複数臍帯血移植に関する研究
-臨床第II相試験進捗状況-

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
研究分担者 甲斐 俊朗 兵庫医科大学輸血部 教授
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
寄付講座

(研究要旨) 複数臍帯血移植の安全性、有用性・有効性を検討する臨床第II相試験は目標症例数70例として2006年3月から開始された。IRBの承認が得られた参加施設は39施設であり、2006年4月の第1例目の登録後2008年12月現在55症例の登録がなされている。2008年6月にはモニタリング検討会を実施した。

A. 研究目的

臍帯血移植が適応となるが、単一臍帯血では移植に必要な細胞数が十分でない成人および高体重小児患者の造血器悪性腫瘍患者を対象として、2つの臍帯血を同時移植し、その治療法の有用性、有効性を検討する。

B. 対象および方法

同種造血幹細胞移植以外の従来の治療では治癒や長期生存の確立が極めて低い病状で、適当な血縁ドナー、非血縁骨髄ドナーがみつからず、単一臍帯血では移植に必要な細胞数が十分でない成人および高体重小児患者の造血器悪性腫瘍患者を対象とする。骨髄系造血器悪性腫瘍に対しては、12Gyの全身放射線照射(TBI)+cyclophosphamide(CY)+G-CSF 併用 cytosine arabinoside(ara-C)を、リンパ系造血器悪性腫瘍に対しては、12Gy TBI+CYを移植前処置に用い

る。定めた基準に合致するように選択した2つの臍帯血を day0(移植日)に 37℃の恒温槽で解凍した後、順次輸注する。

移植後1年における無イベント生存率を主たる評価項目として解析する。

C. 進捗状況

(施設及び症例登録)

2008年12月26日現在、IRB承認施設は39施設であり、症例登録数は目標症例数70例に対して55例で47例に移植が実施されている。

IRB承認を得ているものの症例登録のない施設が16施設あり、登録数1例の施設が14施設、2例の施設が2施設、3例が3施設、4例、5例、8例および11例の登録が各1施設である。移植後100日の初回報告が38例なされている。プロトコールの中止が20症例、そのうち登録後移植未実施でプロトコール中止例が6例であった。

移植中止の理由は、JMDPでドナーが見つかりUBMTへ変更になった症例、白血病再発のため血縁ミスマッチ移植に変更された例が各1例、待機中に再発し全身状態の急激な悪化のため中止となった症例が4例である。

(有害事象報告)

本臨床試験では、1) 移植前処置開始から移植後100日までに発生した全ての死亡、2) 予期されないGrade 4 (life threatening)の非血液毒性、3) 不生育あるいは二次性不生育、のいずれかに該当する有害事象発症時には急送報告を、また、1) 移植後101日以降でプロトコール治療との因果関係が否定できないすべての死亡(明らかな原病死は該当せず)、2) 予期されるGrade 4 (life threatening)の非血液毒性、3) 予期されないGrade 3 非血縁毒性、4) 永続的または顕著な障害(二次癌等)、5) その他重大な医学的事象の発症時には通常報告を行なうことになっている。

2008年12月末現在、19例(26回)の有害事象報告がある。

不生育、二次不生育、生育遅延例がそれぞれ6例、1例、3例あった。不生育6例の内4例が100日以内に、1例が100日以降に死亡している。その他の100日以内の死亡例は3例(小脳出血1例; day7 死亡、grade5の非血液毒性2例; day 7, 22 死亡)、100日以降の死亡は5例(再発・原病による呼吸不全死; day151、エンドキサン心筋症に続く多臓器不全による死亡; day132、capillary leak症候群・心不全とその後の頻発する感染症による多臓器不全による死亡; day183、再発・肺臓炎/ARDSによる死亡; day266 および間質性肺炎疑いによる死亡; day289 が各1例)である。

それ以外の有害事象としてgrade 4の非血液毒性(肺炎に対する人工呼吸器管理)1例、予期しないgrade 3の低酸素血症の合併の報告がある。

いずれの症例も、効果安全性委員会で試験継

続可能であるとの判断を得、70例の登録を目標に試験を継続中である。

D. 健康危険情報

なし。

E. 研究発表

1. 著書

なし

2. 論文発表

1) Okada M, Fujimori Y, Misawa M, Kai S, Nakajima T, Okikawa Y, Satake A, Itoi H, Takatsuka H, Itsukuma T, Nishioka K, Tamaki H, Ikegame K, Hara H, Ogawa H. Unrelated umbilical cord blood transplantation using a TBI/FLAG conditioning regimen for adults with hematologic malignancies. Biol Blood Marrow Transplant. 2008 Aug;14(8):896-903. Blood Marrow Transplant. 2008 Sep;14(9):1057-63

2) Yoshimi A, Kojima S, Taniguchi S, Hara J, Matsui T, Takahashi Y, Azuma H, Kato K, Nagamura-Inoue T, Kai S, Kato S; Japan Cord Blood Bank Network. , Unrelated cord blood transplantation for severe aplastic anemia. , Biol Blood Marrow Transplant. 2008;14 (9): 1057-63.

3) Nagamura-Inoue T, Kai S, Azuma H, Takanashi M, Isoyama K, Kato K, Takahashi S, Taniguchi S, Miyamura K, Aoki K, Hidaka M, Nagamura F, Tojo A, Fang XM, Kato S. Unrelated cord blood transplantation in CML: Japan Cord Blood Bank Network analysis. Bone Marrow Transplant. 2008 42;241-51.

4) Narimatsu H, Miyakoshi S, Yamaguchi T, Kami M, Matsumura T, Yuji K, Murashige N, Kusumi E, Kodama Y, Komatsu T, Sakamaki H, Kouzai Y, Okada M, Osugi Y, Kobayashi R, Inoue M, Takahashi S, **Kai S**, Kato K, Inoue-Nagamura T, Taniguchi S, Kato S.: Chronic graft-versus-host disease following umbilical cord blood transplantation: retrospective survey involving 1,072 patients in Japan. *Blood*. 2008 15;112:2579-82.

3, 学会発表

1) 甲斐俊朗: シンポジウム『造血幹細胞移植: MHC の役割を考える』 3) 臍帯血移植における HLA 適合性、日本組織適合性学会第 17 回大会、2008.9.22 (大阪)

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 非血縁者間臍帯血移植における真菌感染症

研究分担者 加藤剛二 名古屋第一赤十字病院小児医療センター血液腫瘍科・部長

研究要旨：非血縁者間臍帯血移植においては非再発死亡の死因に占める感染症の頻度が高い。その起炎菌としては細菌、ウイルスおよび真菌等が挙げられ、それぞれにおいて重篤な感染症の発症がみられる。今回真菌による感染症の頻度、原因を検討した結果、カンジダ血症およびアスペルギルス感染症はそれぞれ1.8%、6.6%で発症しており、共に非発症例と比較して生存率の有意な低下が認められた。臍帯血移植の成績向上のためには今後真菌感染症に対する対策が必須と考えられる。

A. 研究目的

非血縁者間臍帯血移植においては骨髄移植と比較して移植後生着まで期間が有意に長く、また臍帯血細胞が免疫学的にナイーブであるために種々の感染症に対して脆弱な状況にある。感染症の原因としては細菌、ウイルス、真菌等が起炎菌として検出され、臨床的にも重篤な症状を呈することが稀ではない。とりわけ真菌感染症は薬剤抵抗性である場合が多く、その改善は移植成績向上のためには急務であると考えられる。今回、非血縁者間臍帯血移植後の真菌感染症の臨床てき病態につき検討を行った。

B. 研究方法（倫理面の配慮）

日本さい帯血バンクネットワークを通じて1997年から2006年までに移植された2713例を対象とした。真菌感染

症の内、カンジダ血症、アスペルギルス感染症、およびそれらを含む真菌感染症全体の発症率および発症症例の生存率の解析を行った。さらに急性白血病においては各真菌症発症にかかわる有意な危険因子の抽出を行った。なお臍帯血移植後の移植成績報告に際しては各症例の氏名を含む個人情報は匿名化されているため個人への倫理面での配慮はなされていると考えられる。

C. 研究結果

1. 対象症例：1997年から2006年までに非血縁者間臍帯血移植が実施された2713例を解析対象とした。症例の内訳はALL660例、AML754例、MDS433例、悪性リンパ腫337例、その他529例であった。移植前の保存時核細胞数の中央値は $2.75 \times 10^7/\text{kg}$ であり、

同 CD34 陽性細胞数の中央値は $0.87 \times 10^5/\text{kg}$ であった。患者とドナーの血清学的 HLA 適合度は 6/6 が 398 例、5/6 が 1170 例、4/6 が 1116 例、3/6 が 13 例、不明が 16 例であった。

- 1) カンジダ血症：本症の発症例数は 48 例であり、発症日は移植前の 6 例において day -11 から day 0、移植後の 42 例では day 11-136 であった。day 100 における累積発症率 (1-KM で計算) は 1.8% であり、検出菌種は *C.albicans* 15 例、*C.krusei* 11 例、*C.glabrata* 4 例、*C.parapsilosis* 3 例、その他 6 例であった。またカンジダ血症発症例の生存率は 26.4% であり、非発症例では 35.6% と前者で有意に低かった ($p < 0.01$)。
- 2) アスペルギールス症：臍帯血移植の 100 日報告では 192 例に認められており、その内「確実例」は 42 例で「疑い例」は 150 例であった。またその発症時期は移植前 34 例、移植後 158 例であった。その day 100 における累積発症率 (1-KM で計算) は「確実例」で 1.3%、「確実例+疑い例」では 6.6% であった。その検出菌種は *Aspergillus* のみの記載がある 50 症例以外に *A.fumigatus* 6 例、*A.terreus* 2 例、*A.flavus* 1 例であった。またアスペルギールス発症例の生存率は 20.3% であり、非発症例の 36.6% と比較して有意に低かった ($p < 0.01$)。

- 3) 急性白血病におけるアスペルギールス発症にかかわる危険因子の検討：急性白血病 1414 例においてアスペルギールス発症にかかわる移植前の予後不良因子につき検討した。単変量解析では成人、移植歴、第三寛解期以降の移植時病期 (ハイリスク)、骨髄非破壊的移植、GVHD 予防薬として MTX を用いないこと、が挙げられたが多変量解析では成人 ($p = 0.028$) とハイリスク ($p = 0.012$) が危険因子となった。
- 4) 急性白血病におけるすべての真菌症発症にかかわる危険因子の検討：急性白血病 1414 例においてすべての真菌症 (カンジダ血症、アスペルギールス症、およびその他の真菌症) にかかわる移植前の予後不良因子につき検討した。単変量解析では成人、移植歴、ハイリスク、骨髄非破壊的移植、GVHD 予防薬として MTX を用いないこと、が挙げられたが多変量解析ではハイリスク ($p = 0.005$) のみが危険因子となった。
- 5) 真菌症における死因分析：各真菌症発症例において死因に真菌症が記載 (複数回答) されている症例はカンジダ血症 48 例中 18 例、アスペルギールス症 192 例中 61 例、すべての真菌症 332 例中 99 例であり、約 3 分の 1 の症例において真菌症が死因と関係していると考えられた。(表 1)

D. 考察

非血縁者間臍帯血移植における真菌感染症に関する報告は少ないが侵襲性真菌感染症の発症頻度は7.4%から22.0%であり、侵襲性アスペルギルス症の発症頻度は4.2%から23%と報告されている。またその危険因子はIII度以上の急性GVHD、day30における好中球減少、プレドニゾロンの投与等であった。またミネソタからの報告では臍帯血移植が他の移植細胞源（骨髄、末梢血）と比較して真菌感染症の発症頻度に有意差はないとされている。

E. 結論

国内の非血縁者間臍帯血移植における真菌感染症につき解析を行った。その発症率（day 100）はカンジダ血症1.8%、アスペルギルス症で確実例1.3%、確実+疑い例6.6%であった。急性白血病における多変量解析による移植前の危険因子はアスペルギルス症で成人およびハイリスク、“すべての真菌症”でハイリスクであった。移植後の死因に真菌症の比率は高く、今後真菌症に対するより強力な予防ないし治療が必要である。今後は移植後の諸因子も含め詳細な検討がさらに必要である。

F. 健康危険情報

本研究における健康危険情報は無い。

G. 研究発表

1.論文発表:

1)Yoshimi A, Kojima S, Taniguchi S, Hara J, Matsui T, Takahashi Y, Azuma H, Kato K, Nagamura-Inoue T, Kai S, Kato S; Japan Cord Blood Bank Network. Unrelated cord blood transplantation for severe aplastic anemia.

Biol Blood Marrow Transplant. 2008
14:1057-63.

2)Nagamura-Inoue T, Kai S, Azuma H, Takanashi M, Isoyama K, Kato K, Takahashi S, Taniguchi S, Miyamura K, Aoki K, Hidaka M, Nagamura F, Tojo A, Fang X, Kato S; Japan Cord Blood Bank Network. Unrelated cord blood transplantation in CML: Japan Cord Blood Bank Network analysis.

Bone Marrow Transplant. 2008
42:241-51

2.学会発表:

加藤剛二、吉見礼美、伊藤悦朗ら、小児ALLに対する非血縁者間臍帯血移植成績、第30回日本造血細胞移植学会総会

H. 知的財産権の出願・登録状況 なし

図1. カンジダ血症の発症と生存率

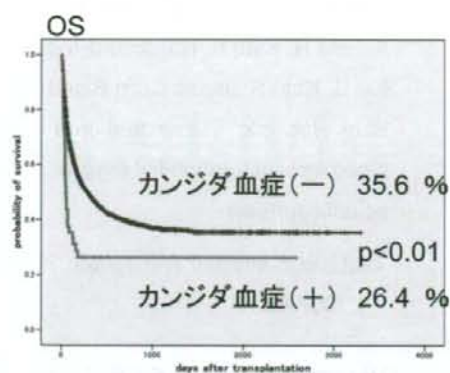


図2. アスペルギールス症の発症と生存率

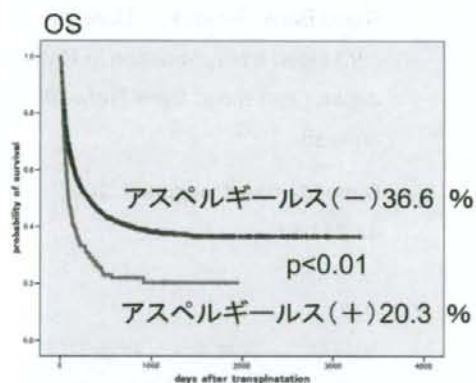


表1. 真菌症における死因の内訳

	症例数	死亡例数	非再発死亡例数	真菌感染症が死因
カンジダ血症	48	35	27	18
アスペルギールス症	192	141	111	61
すべての真菌症	332	243	181	99

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：GMP を適用した場合の各臍帯バンクの費用格差に関する研究

研究分担者 河原 和夫 東京医科歯科大学大学院 医療政策学講座 政策科学分野・教授

研究要旨

臍帯血の医薬品化のためには、品質管理面から GMP（医薬品及び医薬部外品の製造管理及び品質管理の基準に関する厚生労働省令、以下 GMP とする）の遵守が求められるが、各バンクは地域性や組織の特性から採取数や出庫数に開きがある。昨年度の研究においては、臍帯血が医薬品化され GMP が適用された場合のバンク全体のコスト計算を行い全体の傾向を把握した。しかし、現在の 11 バンクで臍帯血事業を実施した場合、施設規模や採取および出庫件数の違いから事業に要するコストが、施設によってかなり変わってくることが予想される。

そこで本年度は、昨年度の手法を用いてバンクごとに医薬品化した場合のコストを算定した。

その結果、1 採取あたりの費用は、平成 17 年度の実績からして最も少ないと考えられるところで 152,314 円、最も多くの費用がかかるバンクで 695,548 円であった。また、出庫 1 件あたりのコストは、最も少ないところで 2,740,396 円、最も多く要するところで 12,389,446 円であった。

“採取件数と採取 1 件当たりの費用”ならびに“出庫件数と出庫 1 件当たりの費用”については、“累乗近似曲線”を呈していた。つまり、採取件数および出庫件数を増大させれば、それぞれの費用の逓減が認められるものの、次第に Plateau となり、費用の逓減効果が減弱することが明らかとなった。

臍帯血事業を効率的に運営していくためには、ある程度の事業規模が必要であるものの、費用の逓減には限界があることも視野に入れながら、今後の事業運営を考えていかなければならない。

A. 目的

造血幹細胞移植の一つの手法である「臍帯血移植」はその医学的な有効性についての特徴が徐々に解明されつつある。今日では小児のみならず成人に対しても適応されているが、医薬品としての扱いを受けていない。

医薬品化のためには、医療現場に供給される臍帯血の品質について一定の水準が保たれ安全性が確保されていなければならない。これらを担保しているのが厚生労働省令の GMP である。

臍帯血及び臍帯血バンクについては、医薬品でないことから医薬品製造所に対する GMP 査察や GMP に基づく医薬品の製造工程が担保されていない。しかし、一方で医薬品に準じた安全性の確保や品質が求められている。昨年度研究では、医薬品化が図られ GMP が適用された

場合の費用を算出したが、本年度は各臍帯血バンクが GMP 適用施設になった場合の、費用を算出し、施設間の格差を検証し、臍帯血事業の規模と費用との最適解を求めるとともに、将来の臍帯血バンクの在り方や事業の方向性を提言することを目的としている。

B. 方法

本分担研究では、「臍帯血バンク及び日本臍帯血バンクネットワークの事業・運営評価に関する分析調査（東京医科歯科大学大学院：河原和夫）平成 14、15 年実施」と「臍帯血の医薬品化に関する調査研究報告書（株式会社 野村総合研究所 平成 18 年）」のデータ、平成 17 年度の各臍帯血バンクの実績値、日本赤十字社や血漿分画製剤メーカーの協力のもと、臍帯血製造から出庫に至るプロセスごとの費用を

バンクごとに算定した。

なお、算定は昨年度の報告書に記載している方法を用いて行っているので割愛する。詳しくは昨年度の報告書を参照されたい。

臍帯血の医薬品化を考えるに当たっては、200mLの赤血球製剤を1製剤製造する際の諸経費を参考にGMP化した場合のコストを算定した。また、臍帯血の医薬品化を考えるに当たっては諸条件が存する。

GMPに基づき、①製造部門及び品質部門、②製造管理者、③職員、④製品標準書、⑤手順書等、⑥構造設備、⑦製造管理、⑧品質管理、⑨製造所からの出荷の管理、⑩バリデーション、⑪変更の管理、⑫逸脱の管理、⑬品質等に関する情報及び品質不良等の処理、⑭回収処理、⑮自己点検、⑯教育訓練、⑰文書及び記録の管理、そして⑱品質管理など各項目で満たすべき人員、設備、工程などの因子を抽出し経済計算を行った。なお、これらの部門や工程に関する説明や資料については昨年度の研究報告書に記載しているので割愛する。

C. 結果

各臍帯血バンク（ここではA, B, C, D, E, F, G, H, I, J, Kと匿名化している）およびバンク全体について臍帯血にGMPを適用した場合の製造プロセスごとのコストを表2～表13に示している。各表で用いている減価償却費は設備投資の初年度の推計額である。また、表14には現在の臍帯血バンクの標準的な製造コスト（減価償却費は設備投資から4年経過した時点の額を推計）を示しているが、GMP適用となった場合の1採取あたりの費用は、最も少ないと考えられるところで152,314円、最も多くの費

用がかかるバンクで695,548円であった。また、出庫1件あたりの費用は、最も少ないところで2,740,396円、最も多く要するところで12,389,446円であった。（表1および表2～表13、図1、2）。

GMP化した場合の各センターの採取および出庫1件あたりの費用は、最大と最小でそれぞれ採取に関する費用が約4.6倍、出庫に関する費用が約4.5倍の開きが認められた。

なお、GMP化した場合のバンク全体の1件あたりの出庫費用は4,981,061円であり、現在のGMP非適用の場合が851,540円であった。出庫1件あたりの費用はGMP化した場合、現在より約5.8倍に跳ね上がることになる。昨年度研究では、GMP化により現在より約10倍に跳ね上がると算定したが、計算間違いがあったのでここで訂正しておきたい。

“採取件数と採取1件あたりの費用”ならびに“出庫件数と出庫1件あたりの費用”との関係については、いずれも図3、4に示すように R^2 が非常に1に近く相関が強い“累乗近似曲線”を呈していた。

“採取件数と採取1件あたりの費用”については、 $y = 4E + 0.7x^{-0.742}$ ($R^2 = 0.9905$) の関係が、“出庫件数と出庫1件あたりの費用”については、 $y = 9E + 0.7x^{-0.741}$ ($R^2 = 0.9907$) の近似式で示すような関係が認められた。

このように、採取件数および出庫件数を増大させれば、それぞれの費用の通減が認められるものの、次第にPlateauとなり、費用の通減効果が減弱することが明らかとなった。

表1 各バンクが要する費用

バンク	採取件数	出庫件数	採取1件当たりの費用	出庫1件当たりの費用
A	778	43	299,779	5,423,917
B	285	16	695,548	12,389,446
C	2,177	121	152,314	2,740,396
D	1,050	58	240,364	4,351,416
E	972	54	253,727	4,567,093
F	2,002	111	159,475	2,876,305
G	1,034	57	242,695	4,402,580
H	1,111	62	230,804	4,135,853
I	1,328	74	204,895	3,677,031
J	745	41	309,535	5,624,480
K	891	50	270,392	4,818,379
全国	9,720	540	276,726	4,981,061

図1 採取1件当たりの費用

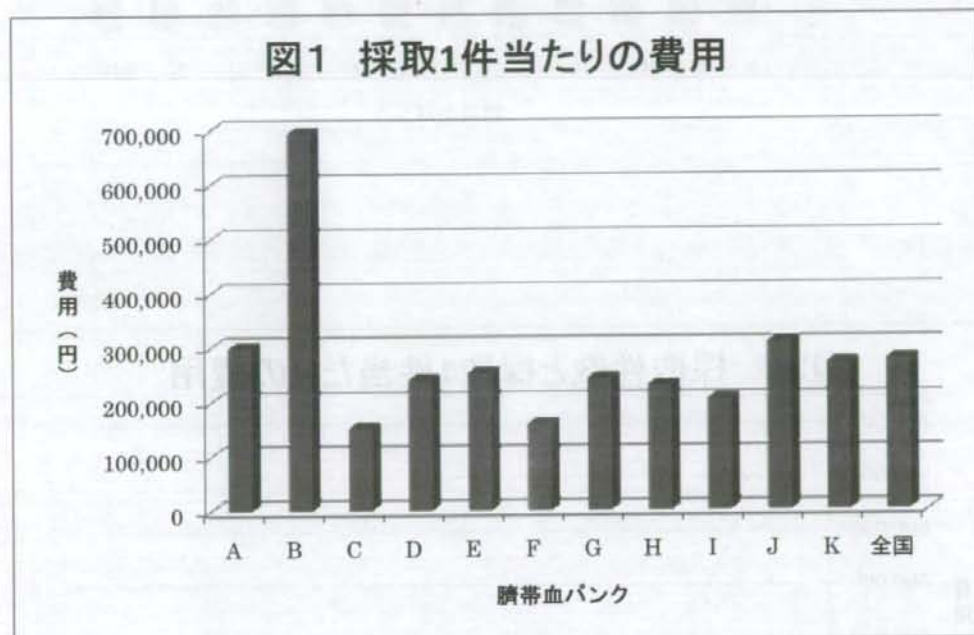


図2 出庫1件当たりの費用

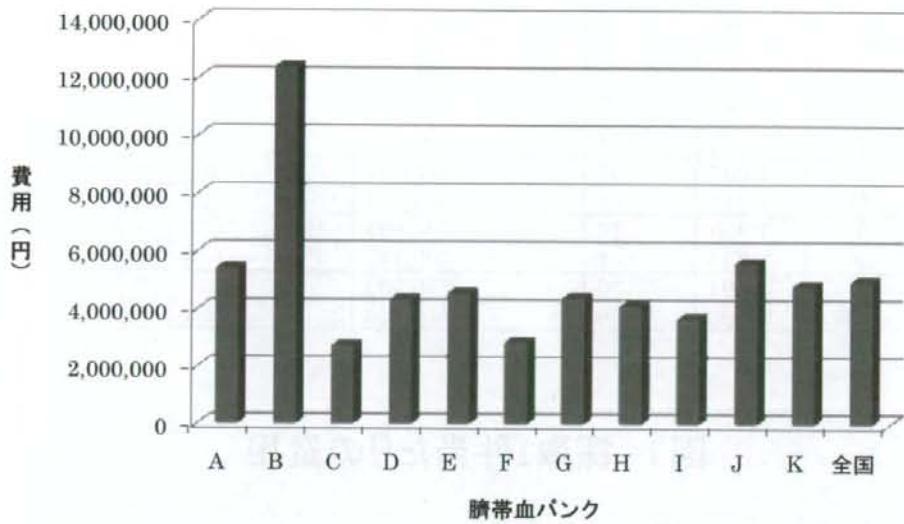


図3 採取件数と採取1件当たりの費用

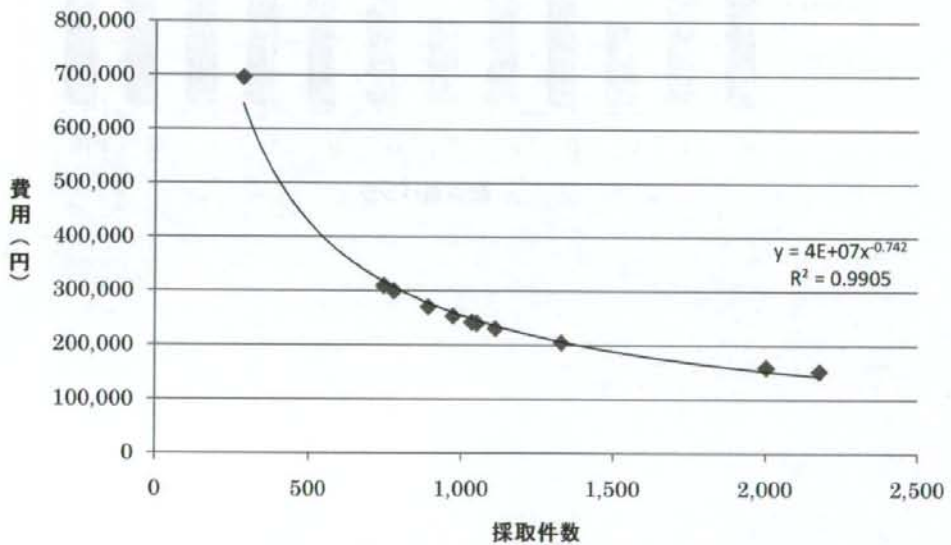
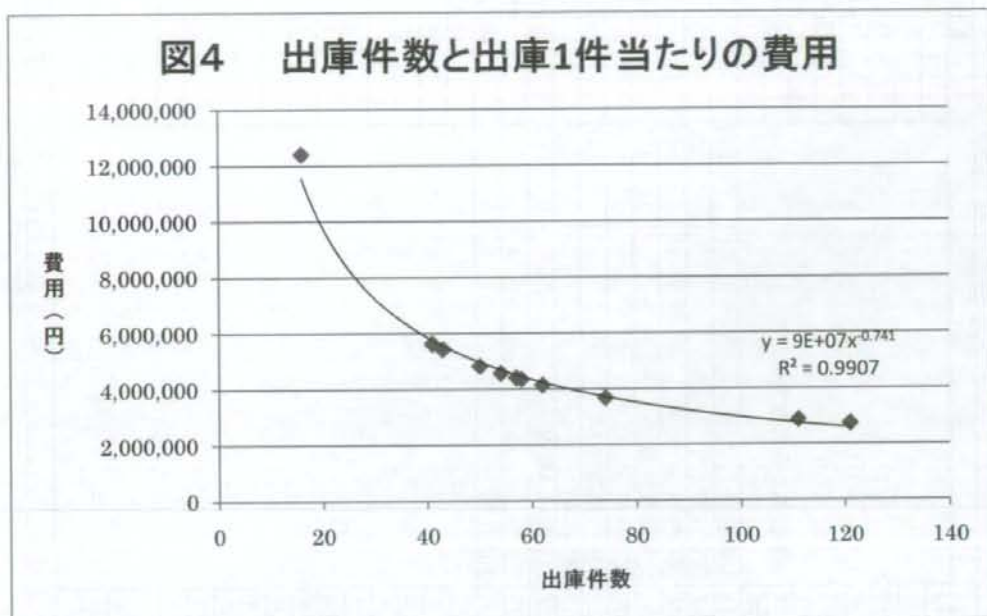


図4 出庫件数と出庫1件当たりの費用



D. 考察

各バンク間の採取1件当たりの費用と出庫1件当たりの費用については、格差が存在することが明らかとなった。また、バンク全体を見てもGMP化した場合は、出庫1件当たりの費用が現在の、約5.8倍に跳ね上がることから、効率的なバンクの運営体制の確立が必要となる。

とりわけ、採取および出庫件数が多い施設では、これらに要する単位当たりの経費が低く抑えられていることが明らかになった。理由としては、規模の拡大(スケールメリット)により各プロセスの費用が低くなったことが考えられる。しかし、この規模の拡大による経済効果は次第にPlateauとなり、費用の逓減効果が減弱していく。しかも計算項目の採取、運搬、分離・調整・保存費、設備・機器に関するものは、採取および出庫数に直接影響を受ける因子である。一方、人件費、事務局運営費・役務費については各バンクで必要数などを固定しており採取および出庫数の影響は受けていない。したがって実際は、採取や出庫数がある一定基準を超えて多くなれば、必要人員や事務費などの

見直しは不可避であり、これらの数値も変化させる必要がある。前述の近似式では、人件費、事務局運営費・役務費は固定した数値であり、採取数や出庫数の影響を受けていない。よって、これらの点も考慮すれば、スケールメリットを生かしてもGMP化した場合の採取1件当たりの費用は、約10万円程度で固定してしまうものと考えられる。出庫1件当たりの費用についても、200万円当たりで落ち着くものと考えられる。

E. まとめ

医薬品化を考えるに当たっての経済的な目安を提示できた。経済的には現在よりコストが跳ね上がる。バンクの統廃合も視野に入れたシステムの効率化が必要であるが、コストの逓減には限界がある。また、GMPを適用することによる医薬品化を考えるに当たっては、事業効率や経済的要因も視野に入れながら、臍帯血バンク事業の最適解を求めなければならない。

表2 臍帯血バンクA

	項目	単価(円)	数量	金額
採取	納金	5,400	778	4,201,200
	採取バッグ	1,000	778	778,000
運搬	採取時消耗品	2,543	778	1,978,454
	さい帯血運搬費(医療施設→バンク)	1,352	778	1,051,856
分離・調整・保存費	調整保存関連材料費	12,333	307	3,786,231
	調整保存関連薬品費	1,949	307	598,343
	液体窒素費	54,282	307	16,664,574
	母体血検査	2,430	778	1,890,540
	さい帯血検査	3,190	307	979,330
	HLA検査	17,500	307	5,372,500
検査関連費	臍帯血(HBV、HCV)NAT	6,000	302	1,812,000
	臍帯血(HIV)NAT	3,000	60	180,000
	臍帯血HLA検査	17,500	302	5,285,000
	移植前検査	32,000	125	4,000,000
	検査関連材料費	1,593	307	489,051
	検査関連薬品費	9,449	307	2,900,843
	血球計算機関連薬品費	1,337	307	410,459
	医師	15,046,432	3	45,139,296
	薬剤師	5,587,497	3	16,762,491
	臨床検査技師	6,020,773	9	54,186,957
事務局運営費・役務費	事務員	5,170,789	3	15,512,367
	印刷製本費	381,500	1	381,500
	通信運搬費	113,425	18	2,041,650
	旅費・交通費	107,515	18	1,935,270
	消耗品費(事務関連)	68,227	18	1,228,086
	会議費	11,382	18	204,876
	修繕費	1,759,485	1	1,759,485
	賃貸料	1,818	1,386	2,519,748
	水道光熱費	3,650	1,386	5,058,900
	臍帯血バンク事業賠償責任保険	12,483	1	12,483
GMP施設維持費	ネットワーキング会費	100,000	1	100,000
	経費(定期点検、バリデーション費等)	1,424	778	1,107,872
	調査研究費	2,139	778	1,664,142
	その他	9,934,614	1	9,934,614
小計(1)				211,928,118