

第1/前期第II相試験

- 3) 説明日、試験責任/分担医師の記名捺印もしくは署名欄
- 4) 同意日、被験者の記名捺印もしくは署名欄
- 5) 説明の内容を理解し、試験に参加することに同意する旨の記述
- 6) 実施医療機関名

同意撤回文書には、以下の事項を含まなければならない。

- 1) 臨床試験名
- 2) 試験責任医師または試験分担医師の記名捺印もしくは署名欄
- 3) 同意撤回日、被験者の記名捺印もしくは署名欄
- 4) 試験参加への同意を撤回する旨の記述
- 5) 実施医療機関名

試験開始後に試験責任医師が被験者の同意に関連する新たな知見を得、説明・同意文書の改訂が必要と判断した場合には、それを改訂する。被験者の同意に関連する新たな知見とは、例えば当該治療法等に関連する新たな有害事象の情報、あるいは当該疾患に関わる新治療法等の開発に関する情報などを指す。なお、改訂の内容を重大と判断する場合は所属する医療機関の倫理審査委員会に提出し、その承認を得る。

15.3. 説明と同意(インフォームド・コンセント)

試験責任医師または試験分担医師は、被験者が試験に参加する前に、説明文書を用いて十分説明し、試験への参加について自由意思による同意を本人から文書として得る。

文書による同意を得る際には、説明を行った試験責任医師または試験分担医師、ならびに被験者が説明文書の内容を十分理解した上で、同意文書に各自日付を記入し、記名捺印または署名する。

試験責任医師または試験分担医師は、記名捺印または署名した同意文書の写しを説明文書と共に被験者に交付し、同意文書原本は説明文書と共にカルテに添付して当該医療機関で保管する。

説明文書に重大な改訂があった場合、試験責任医師または試験分担医師は試験参加中の被験者に対して改訂後の説明文書を用いて再度説明し、試験参加の継続について自由意思による同意を本人から文書として得る。

試験参加中の被験者が同意の撤回を申し出た場合、試験責任医師または試験分担医師、ならびに被験者はその旨を記載した文書(同意撤回文書)に各自日付を記入し、記名捺印または署名する。その同意撤回文書の写しを被験者に交付し、原本はカルテに添付して当該医療機関で保管する。

15.4. 個人情報の保護

試験に携わる関係者は被験者の個人情報保護に最大限の努力を払う。
試験責任医師または試験分担医師は、症例登録票および症例報告書等を当該医療機関外に

第Ⅰ/前期第Ⅱ相試験

提供する際には、連結可能匿名化を行うために新たに被験者識別コードを付し、それを用いる。医療機関外の者が被験者を特定できる情報(氏名・住所・電話番号など)は記載しない。データセンターが医療機関へ照会する際の被験者の特定は、試験責任医師または試験分担医師が管理する被験者識別コードまたはデータセンターが発行した登録番号およびイニシャルを用いて行う。

原資料の直接閲覧を行った監査担当者、規制当局の担当者などは、そこで得られた情報を外部へ漏洩しない。

主任研究者等が試験で得られた情報を公表する際には、被験者が特定できないよう十分に配慮する。

16. 試験の費用負担

本試験中に実施される保険診療に関しては、通常どおり被験者の3割負担とする。ただし増幅臍帯血移植日から3日間は自費診療とし、施設研究費より賄われる。その他の治療行為に関しては以下のとおりとする。

16.1. 試験治療に関する費用

本試験中に生じる下記の費用は施設研究費により支払われる。

- ・投与される増幅臍帯血の培養および品質管理に関わる費用
- ・健康保険適応外の試験の評価にかかわる骨髄のキメリズム、免疫学的検査、ウイルス学的検査

16.2. 健康被害に対する補償

本臨床試験の実施に起因して有害事象が発生し被験者に健康被害が生じた時は、適切な治療その他必要な措置を受けることができるように主任研究者、試験責任医師、試験分担医師、実施医療機関が対応する。ただし、提供される治療等には健康保険を適用し、その他金銭での補償は行わない。

17. プロトコルの改訂

試験開始後にプロトコルの改訂が必要になった場合、主任研究者はプロトコル作成委員の承認を得て改訂を行い、所属する研究機関の倫理審査委員会に改訂内容およびその理由を報告する。改訂の内容が重大と判断される場合は、加えて、主任研究者の所属する研究機関の倫理審査委員会で再度審査を受け、承認を得なければならない。各実施医療機関での再審査の必要性については、試験責任医師の判断に委ねる。

改訂中に症例登録を中断する必要がある場合には、主任研究者は試験責任医師および試験分担医師、独立データモニタリング委員、データセンター、統計解析責任者にその旨を連絡する。

改訂後、主任研究者は改訂後のプロトコルまたは改訂内容を試験責任医師および試験分担医師、独立データモニタリング委員、データセンター、統計解析責任者に送付する。試験責任医師はプロトコルの改訂内容に応じて被験者への説明文書を改訂する。改訂手順については、「15.2. 説明・同意文書の作成と改訂」参照。

18. 試験の終了と早期中止

18.1. 試験の終了

追跡期間(「10.2. 試験期間」参照)の終了及びデータベースの固定をもって試験の終了とする。データセンターからデータベース固定の連絡を受けた主任研究者は、試験が終了したことを試験責任医師、統計解析責任者及び独立データモニタリング委員に報告する。報告を受けた試験責任医師は、医療機関の長および医療機関内の関連部門にその旨を報告する。

18.2. 試験の早期中止

18.2.1. 試験の早期中止

以下の場合に試験を早期中止する。

- 1) 主任研究者からの試験進捗報告及び試験モニタリング報告を評価した結果、症例登録の遅れ、プロトコル逸脱の頻発などの理由により、試験の完遂が困難と判断された場合
- 2) 以下の有害事象が観察され、プロトコル治療の安全性に問題があると判定された場合
 - ・生着不全
 - ・プロトコル治療との因果関係が否定できない死亡
 - ・プロトコル治療との因果関係が否定できない、死亡を含む重篤な有害事象
 - ・プロトコル治療との因果関係が否定できないグレード4以上の移植関連合併症
- 3) 論文や学会発表など、当該試験以外から得られた関連情報を評価した結果、プロトコル治療の安全性に問題があると判断された場合、または試験継続の意義がなくなると判断された場合

18.2.2. 試験の早期中止決定の手順

主任研究者は、「14.3. 独立データモニタリング委員会」の記載に従い、独立データモニタリング委員会の開催を依頼し、提言を受けなければならない。主任研究者はその提言を踏まえ、前節の規則に従い早期中止の決定を行った場合は、その理由及び以後の対応を直ちに試験責任医師、統計解析責任者、データセンター及び独立データモニタリング委員に連絡する。連絡を受けた試験責任医師は、被験者に早期中止及びその理由を伝え、直ちに然るべき対応を行う。加えて、医療機関の長及び医療機関内の関連部門にその旨を報告する。

19. 研究成果の帰属と結果の公表

本研究の成果は、先端医療センターに帰属するものとする。結果の公表にあたっては、主任研究者、Medical adviser、統計解析責任者、試験責任医師が協議して筆頭著者を決定し、英語論文として発表する。ただし、主任研究者、副主任研究者、統計解析責任者、Medical adviser、試験責任医師の連盟による共同発表とし、コレスポンデンスは主任研究者とする。

20. 研究組織

本研究は、平成20年度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「新たな移植細胞療法に向けた造血幹細胞の ex vivo 増幅技術の開発と応用」班によっ

第 I / 前期第 II 相試験

て助成され、次のメンバーからなる実施体制により計画、実施する。

20.1. 主任・副主任研究者

主任研究者

- ・先端医療振興財団 再生医療診療科
細胞管理室長兼任 伊藤 仁也
〒650-0047 神戸市中央区港島南町 2-2
TEL : 078-304-5773 FAX : 078-304-5774 E-mail : kimito@fbri.org

副主任研究者

- ・先端医療振興財団 客員研究員 田中 宏和
〒650-0047 神戸市中央区港島南町 2-2
TEL : 078-304-5773 FAX : 078-304-5774 E-mail : htanaka@bldon.med.osaka-u.ac.jp

20.2. Medical adviser 「新たな移植細胞療法に向けた造血幹細胞の ex vivo 増幅技術の開発と応用」班

- ・京都大学大学院医学研究科 発達小児科学 教授 中畑 龍俊(班長)
〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町 54
TEL : 075-751-3290 FAX : 075-752-2361
- ・大阪大学大学院医学系研究科 血液・腫瘍内科学 教授 金倉 謙
〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 2-15
TEL : 06-6879-3870 FAX : 06-6879-3879
- ・京都大学大学院附属病院 輸血部 教授 前川 平
〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町 54
TEL : 075-751-3628 FAX : 075-751-3631

20.3. 研究実施施設

- 先端医療振興財団 先端医療センター
〒650-0047 神戸市中央区港島南町 2-2
TEL : 078-306-1700(代表) FAX : 078-306-1708

20.4. 研究担当医師

20.4.1. 試験診療責任医師

- 先端医療センター診療開発部長
先端医療センター診療開発部再生医療診療科部長兼務 永井 謙一
TEL : 078-306-1700(代表) FAX : 078-306-1708

20.4.2. 試験分担医師

- ・先端医療センター診療開発部再生医療診療科医師 伊藤 仁也
- ・先端医療センター診療開発部再生医療診療科医長
先端医療センター診療開発部総合腫瘍科医長兼務 橋本 尚子
- ・神戸市立中央市民病院
〒650-0047 神戸市中央区港島中町 4-6
TEL : 078-302-4321 FAX : 078-302-7537

第 I / 前期第 II 相試験

免疫血液内科 高橋 隆幸
 松下 章子
 倉田 雅之
 田端 淑恵
 戸上 勝仁

20.5. 研究協力者

- ・先端医療振興財団 先端医療センター 治験推進部
 臨床研究コーディネーター
 吉川 紀巳子、黒田 明子
- ・先端医療振興財団 先端医療センター 看護科
 看護師
 高橋 千香、永石 かずみ、田中 美和

20.6. 研究事務局

先端医療振興財団
 担当：客員研究員 田中 宏和
 〒650-0047 神戸市中央区港島南町 2-2
 TEL：078-304-5773 FAX：078-304-5774 E-mail：htanaka@bldon.med.osaka-u.ac.jp

20.7. 症例検討委員会

- ・先端医療センター診療開発部長
 先端医療センター診療開発部再生医療診療科部長兼務 永井 謙一
- ・先端医療センター診療開発部再生医療診療科医長
 先端医療センター診療開発部総合腫瘍科医長兼務 橋本 尚子
- ・神戸市立中央市民病院
 免疫血液内科 高橋 隆幸
 免疫血液内科 松下 章子
 免疫血液内科 倉田 雅之
 免疫血液内科 田端 淑恵
 免疫血液内科 戸上 勝仁

20.8. 独立データモニタリング委員

- ・東海大学総合医学研究所 細胞移植再生医療科 教授 加藤 俊一
 〒259-1193 神奈川県伊勢原市望星台
- ・愛知医科大学 造血幹細胞移植振興寄附講座 小寺 良尚
 〒480-1195 愛知県愛知郡長久手町大字岩作字雁又 21
- ・医療法人財団 樹徳会 上ヶ原病院 名誉院長 原 宏
 〒6632-0884 兵庫県西宮市上ヶ原十番町 1-85

20.9. 統計解析責任者

静岡県立大学薬学部医薬品情報解析学研究室 大門 貴志

第 I / 前期第 II 相試験

〒422-8526 静岡県静岡市駿河区谷田 52-1

20.10. 登録センター/データセンター

先端医療振興財団 臨床研究情報センター内

〒650-0047 神戸市中央区港島南町 1-5-4

TEL : 078-303-9116 FAX : 078-303-9094

e-mail : BRI-ML0401@tri-kobe.org

プロトコル担当 : 黒中 香織

データマネジメント担当 : 柏木 直子

20.11. 研究協力施設(症例リクルート機関)及び研究協力医師 (中核施設)

- ・ 京都大学医学部附属病院

〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町 54

TEL : 075-751-3290 FAX : 075-752-2361

小児科 平家 俊男

血液・腫瘍内科 一戸 辰夫

- ・ 神戸市立中央市民病院

〒650-0047 神戸市中央区港島中町 4-6

TEL : 078-302-4321 FAX : 078-302-7537

免疫血液内科 高橋 隆幸

- ・ 大阪大学医学部附属病院

〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 2-15

TEL : 06-6879-5111

血液・腫瘍内科 教授 金倉 譲

血液・腫瘍内科 准教授 松村 到

20.12. プロトコル作成委員

- ・ 先端医療振興財団 再生医療診療科

細胞管理室長兼任 伊藤 仁也

〒650-0047 神戸市中央区港島南町 2-2

- ・ 京都大学大学院医学研究科 発達小児科学 足立 壮一

〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町 54

- ・ 京都大学大学院医学研究科 血液・腫瘍内科学 一戸 辰夫

〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町 54

20.13. 細胞増幅施設

先端医療振興財団 先端医療センター セルプロセッシングセンター

培養細胞製造責任者

先端医療振興財団 再生医療診療科

細胞管理室長兼任 伊藤 仁也

TEL : 078-304-5773 FAX : 078-304-5774

第 I / 前期第 II 相試験

20.14. 緊急時搬送病院

神戸市中央市民病院

〒650-0047 神戸市中央区港島中町 4-6

TEL : 078-302-4321 FAX : 078-302-7537

20.15. 外部臨床検査委託機関

三菱化学メディエンス株式会社

TEL : 078-304-5955 FAX : 078-304-5955

21. 記録等の保存

被験者の同意に関する記録、症例報告書作成のための基礎データ(検査データ等)、試験審査委員会の記録等、医療機関において作成された記録文書については、当該医療機関の長が定めた保管責任者が適切に保管する。また、増幅臍帯血の製造及び出荷可否判定等に関するデータは、CPC の保管責任者が適切に保管する。

臨床研究実施計画書、総括報告書等については主任研究者が適切に保存する。症例報告書の原本は研究実施期間中を通じ、データセンターで保管する。保管期間は、研究の中止もしくは終了後3年を経過した日まで適切に保存しなければならない。

記録の種類	主任研究者	試験責任 / 分担医師	CPC	データ センター
試験実施計画書	○	○ (写)		○ (写)
同意書様式及び説明文書				
増幅臍帯血の製造に関する手順書			○	
倫理審査委員会承認書	○	○		
施設登録関連記録 倫理審査委員会承認連絡書 試験分担医師一覧 臨床検査値施設規準域表		○ (写)		○
施設登録完了連絡書		○		○ (写)
記名捺印又は署名済み同意書		○		
症例登録票		○ (写)		○
症例登録確認書		○		○ (写)
臍帯血情報提供書			○	
原資料		○		
増幅臍帯血の製造に関する文書			○	
増幅臍帯血の品質に関する文書			○	
症例報告書		○ (写)		○
データ照会票		○ (写)		○
重篤な有害事象に関する報告書	○	○ (写)		○ (写)
独立データモニタリング委員会に 関する記録	○			
データベース固定の連絡書	○			○ (写)
試験終了/中止連絡書	○ (写)	○		
最終報告書 (論文)	○	○ (写)		○ (写)

22. 参考文献

- 1) Zittoun R, Mandelli F, Willemze R et al: Autologous or allogeneic bone marrow transplantation compared with intensive chemotherapy in acute myelogenous leukemia. *N Engl J Med*. 332:217-223, 1995
- 2) Oh H, Gale RP, Zhang MJ, et al: Chemotherapy vs HLA-identical sibling bone marrow transplants for adults with acute lymphoblastic leukemia in first remission. *Bone Marrow Transplant* 22:253-257, 1998
- 3) Stock W: Treatment of adult acute lymphoblastic leukemia: risk-adapted strategies. In *Hematology 1999 The American Society of Hematology Education Program Book*, Washington, 87-96, 1999
- 4) Goldman JM and Druker BJ. Chronic myeloid leukemia: current treatment options. *Blood* 98:2039-2042, 2001
- 5) Gluckman E, Broxmeyer HA, Auerbach AD, et al: Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi anemia by means of umbilical cord blood from an HLA identical sibling. *N Engl J Med* 321: 1174, 1989
- 6) Hattori K, Yabe H, Yabe M, et al: Cord blood stem cell transplantation for a patient with acute myelogenous leukemia (M1). *臨床血液* 37(12):1371, 1996
- 7) 日本さい帯血バンクネットワークホームページ
- 8) 日本造血細胞移植学会 平成 15 年度全国調査報告書
- 9) Barker JN, Weisdorf DJ, DeFor TE, et al: Rapid and complete donor chimerism in adult recipients of unrelated donor umbilical cord blood transplantation after reduced-intensity conditioning. *Blood* 102: 1915, 2003
- 10) Barker JN, Wagner JE: Umbilical-cord blood transplantation for the treatment of cancer. *Nature Reviews* 3: 1038, 2003
- 11) Cairo MS, Law P, van de Ven C, et al: The in vitro effects of stem cell factor and PIXY321 on myeloid progenitor formation (CFU-GM) from immunomagnetic separated CD34⁺ cord blood. *Pediatr Research* 32: 277, 1992
- 12) Kasahara Y, Miyawaki T, Kato K, et al: Role of interleukin 6 for differential responsiveness of naïve and memory CD4⁺ T cells in CD2⁻ mediated activation. *J Exp Med* 172: 1419, 1990
- 13) Dimitriou H, Matsouka C, Perdikoyanni C, et al: Phenotypic Characteristics of cord blood hemopoietic cells. *Leukemia Res* 22: 755, 1998
- 14) 齋藤 滋: 臍帯血細胞の分子生物学. *血液・免疫・腫瘍* 5(3): 257, 2000
- 15) Knutsen AP, Wall DA: Kinetics of T-cell development of umbilical cord blood transplantation in severe T-cell immunodeficiency disorders. *J Allergy Clin Immunol* 103: 823, 1999
- 16) Wagner JE, Kernan NA, Steinbuch M, et al: Allogeneic sibling umbilical-cord-blood transplantation in children with malignant and non-malignant disease. *Lancet* 346: 215, 1995
- 17) Gluckman E, Rocha V, Boyer-Chammard A, et al: Outcome of cord-blood transplantation from related and unrelated donors. *N Engl J Med* 337: 373, 1997
- 18) Kato S, Nishihira H, Sako M, et al: Cord blood transplantation from sibling donors in Japan. Report of national survey. *Int J Hematology* 67: 389, 1998
- 19) 日本さい帯血バンクネットワーク 臍帯血採取規準書(第三版)
- 20) 大沼 圭: 胎盤娩出後の臍帯血採取法. *臨床病理* 110 Supl: 21, 1999

第 I /前期第 II 相試験

- 21) 日本さい帯血バンクネットワーク 臍帯血移植の実施のための技術指針(改訂第一版)
- 22) 西平 浩一 : 日本国内の臍帯血バンクの現状. 日常診療と血液 7(4): 493, 1997
- 23) Ooi J, Iseki T, Takahashi S, *et al* : A clinical comparison of unrelated cord blood transplantation and unrelated bone marrow transplantation for adult patients with acute leukemia in complete remission. *Br J Haematol* 118:140, 2002
- 24) Rubinstein P, Carrier C, Scaradavou A, *et al* : Outcomes among 562 recipients of placental-blood transplants from unrelated donors. *N Engl J Med* 339 : 1565, 1998
- 25) Gluckman E, Rocha V, Chastang C : European results of unrelated cord blood transplants. *Bone Marrow Transplantation* 21(Suppl.3) : 87, 1998
- 26) 中畑 龍俊 : 造血幹細胞の *ex vivo* 増幅の現状と将来. 臨床血液 42(6): 441, 2001
- 27) Ueda T, Tsuji K, Yoshino H, *et al* : Expansion of human NOD/SCID-repopulating cells by stem cell factor, Flk2/Flt3 ligand, thrombopoietin, IL-6 and soluble IL-6 receptor. *J Clin Invest* 105 : 204, 2000
- 28) Nakahata T : *Ex vivo* expansion of human hematopoietic stem cells. *Int J Hematol* 73 : 6, 2001
- 29) Migliaccio AR, Adamson JW, Stevens CE, *et al* : Cell dose and speed of engraftment in placental/umbilical cord blood transplantation: graft progenitor cell content is a better predictor than nucleated cell quantity. *Blood* 96(8) : 2717, 2000
- 30) Wagner JE, Barker JN, DeFor TE *et al* : Transplantation of unrelated donor umbilical cord blood in 102 patients with malignant and nonmalignant diseases : influence of CD34 cell dose and HLA disparity on treatment-related mortality and survival. *Blood* 100(5) : 1611, 2002
- 31) Laughlin MJ, Barker J, Bambach B, *et al* : Hematopoietic engraftment and survival in adult recipients of umbilical-cord blood from unrelated donors. *N Engl J Med* 344 : 1815, 2004
- 32) Shpall EJ, Quinones R, Giller R, *et al* : Transplantation of Ex Vivo Expanded Cord. *Biology of Blood and Marrow Transplantation* 8 : 1, 2002
- 33) Larosca J, *et al* : Augmentation of umbilical cord blood (UCB) transplantation with ex vivo-expanded UCB cells: results of a phase I trial using the AastromReplicell System. *Blood* 101(12) : 5061, 2003
- 34) Rubinstein P, Dobrila L, Rosenfield RE, Adamson JW, Migliaccio G, Migliaccio AR, Taylor PE, and Stevens CE. Processing and cryopreservation of placental/umbilical cord blood for unrelated bone marrow reconstitution. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1995 92(22):10119.
- 35) Ridell S *et al*: High dose cytarabine and total body irradiation with or without cyclophosphamide as a preparative regimen for marrow transplantation for acute leukemia. *J. Clin. Oncol.*6:576-582,1998
- 36) Ooi J *et al*: Unrelated cord blood transplantation for adult patients with de novo acute myeloid leukemia. *Blood* 15: 489-491,2004
- 37) Wheatley K, Burnett AK, Goldstone AH, *et al*: A simple, robust, validated and highly predictive index for the determination of risk-oriented therapy in acute myeloid leukemia derived from the MRC AML 10 trial. *Br J Haematol.* 107: 69-79, 1999.
- 38) Chessells JM, Hall E, Prentice HG, *et al.*: The impact of age on outcome in lymphoblastic leukaemia;MRC UKALL X and XA compared: a report from the MRC Pediatric and Adult Working Parties.*Leukemia* 12: 463-473, 1998.
- 39) Stock W: Treatment of adult acute lymphoblastic leukemia:risk-adapted strategies. In

第 I /前期第 II 相試験

Hematology 1999 The American Society of Hematology Education Program Book, *Washington*,
p.87-96, 1999

- 40) 特発性間質性肺炎の第 4 次診断規準, 2003
- 41) 慢性閉塞性肺疾患診断と治療のためのガイドライン第 2 版, 2004 4 月

有害事象報告書

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

先端医療センター細胞治療科

【患者】 36歳 女性 急性前骨髄性白血病 移植時 3rd CR

身長 156.0 cm 体重 45.0kg

【現病歴】 2003年10月(31歳時)感冒様症状と全身倦怠感のため、近医受診し、白血球増多と出血傾向あり、急性前骨髄性白血病と診断された。ATRAを含む化学療法にて寛解が得られた後、JALSG-AML97protocolにて強化維持療法を6コース行ったが、2005年3月に再発したため、2005年8月3日(33歳時)にHLA一座不一致の同胞(妹)より2nd CRで同種骨髄移植を行った。移植後aGVHDの出現もなく、day79で退院し、その後無治療で経過していたが、2007年5月(35歳時)から右股関節痛が出現し、生検の結果APLの再発が確認された。その後骨髄においても細胞学的再発が確認されたため、同年8月1日よりATO 0.15mg/kg(5mg/body) 60回投与、その後Am80 6mg/m2(8mg/day)内服治療後、細胞遺伝学的寛解が確認されたため、維持療法としてATO 6.5mg/bodyの投与を25回行った。移植後再発例であるため、2007年10月にJMDP登録するもドナー選定が進まないため、2007年11月21日に兵庫脐帯血バンクに移植申し込みを行った。

【既往歴】 特記事項なし

【症例登録】

適格基準

項目	はい	いいえ	被験者
1) FAB分類(付録11. 参照)で診断された急性骨髄性白血病及び急性リンパ性白血病である	■	□	AML M3
2) 以下の病期および危険度分類に該当する患者 (4.2. 病期・リスク分類における移植適応規準参照) a)急性骨髄性白血病 ・ Standard risk 群 ・ High risk 群の第1寛解期 ・ 全ての群における第2寛解期以降、非寛解期 b)急性リンパ性白血病 ・ High risk 群の第1寛解期 ・ Standard risk 群及び High risk 群における第2寛解期以降、非寛解期 c)骨髄異形成症候群(付録14 参照) ・ IPSS risk intermediate-2~high risk 群	■	□	AML M3 Good risk 第2寛解期以降 (同胞移植後再発 3 rd CR)

<ul style="list-style-type: none"> proliferative CMML, therapy related MDS, AML transformed from primary MDS d)リンパ芽球性リンパ腫 <ul style="list-style-type: none"> 第2寛解期以降、非寛解期 					
3) 同意取得時の年齢が 12 歳以上 55 歳以下である	■	□	35 歳		
4) Performance Status (P.S.)(ECOG : 付表 1) が 0 または 1 である	■	□	PS 0		
5) 造血幹細胞が提供可能な HLA 一致、あるいは HLA 1 抗原不一致(血清レベル)の血縁者がいない*	□	■	HLA 一座不一致同胞より 1st BMT を行い再発したため、donor を換えた移植を計画		
6) 骨髄バンクにおいて造血幹細胞が提供可能な HLA 一致、あるいは HLA 1 抗原不一致(血清レベル)の非血縁ドナーがいない、または、迅速なコーディネートの成立が困難であると判断されている*	■	□	骨髄バンクにてドナーコーディネイト開始するも同意が進まず迅速性を重視した。		
7) さい帯血バンクネットワークにおいて、HLA 一致、あるいは HLA 1、2 抗原不一致(血清レベル)で、総細胞数として $2.7 \times 10^7/\text{kg}$ (患者体重)以上の臍帯血が見出される患者*	■	□		患者	臍帯血
			A	1101,2402	1101,2402
			B	5101,5401	4002,5401
			DR	0802,1501	0405,1501
			2 抗原不一致		
総細胞数		5.1x107/kg			
8) 本試験への参加について本人または代諾者の同意が文書で得られている	■	□	同意取得日 2008 年 1 月 7 日		

除外規準

項目	はい	いいえ	被験者
1) 重篤な心疾患(コントロール不良の高血圧、不安定狭心症、うっ血性心不全、過去 1 年以内の心筋梗塞、治療を要する心室性不整脈)を有する	□	■	
2) 画像所見上間質性肺炎あるいは肺線維症を合併する(特発性 ⁴⁰⁾ および二次性含む)、あるいは既往がある	□	■	

3) 慢性閉塞性肺疾患(慢性閉塞性肺疾患診断と治療のためのガイドライン第 2 版 ⁴⁾ にて GradeII 以上)を有する	<input type="checkbox"/>	■	
4) 処置を要する大量の胸水や心嚢液の貯留がみとめられる	<input type="checkbox"/>	■	
5) 登録前 1 週以内に以下の臨床検査値異常を示す			
① 血清クレアチニンが施設規準値上限の 1.5 倍以上である	<input type="checkbox"/>	■	Cre 0.5mg/dl
② 血清総ビリルビンが 2.0mg/dL 以上である	<input type="checkbox"/>	■	T-Bil 0.3mg/dl
③ 血清 GOT、GPT が施設規準値上限の 2.5 倍以上である	<input type="checkbox"/>	■	GOT 15 I.U GPT 13 I.U
④ 心臓超音波検査にて心駆出率(EF)が 50%未満である	<input type="checkbox"/>	■	EF 57%
⑤ 動脈血酸素飽和度(SaO ₂)が 95%未満である	<input type="checkbox"/>	■	SaO ₂ 99.2%
⑥ スパイロメトリーで一秒率 FEV _{1.0} 予測値が 50%未満である	<input type="checkbox"/>	■	FEV _{1.0} 83.2%
6) 治療を要する薬剤アレルギーを有する	<input type="checkbox"/>	■	
7) 本試験で使用する薬剤及びその類似化合物に対する薬剤アレルギーを有する	<input type="checkbox"/>	■	
8) コントロール不良の中樞神経系病変を有する	<input type="checkbox"/>	■	
9) 活動性の急性感染症(菌血症、38 度以上の発熱などの感染兆候)を有する	<input type="checkbox"/>	■	
10) 活動性の重複癌を有する	<input type="checkbox"/>	■	FDG-PET CT,全身 CT 検査にて腫瘍を検出しない
11) インスリンの継続使用によってもコントロール不良の糖尿病を有する	<input type="checkbox"/>	■	
12) 妊婦あるいは妊娠の可能性がある、もしくは授乳中である	<input type="checkbox"/>	■	
13) HBs 抗原、HCV 抗体、HIV 抗体及び HTLV-1 抗体のいずれかが陽性である	<input type="checkbox"/>	■	HBs 抗原 (-)、HCV 抗体 (-) HTLV-1 抗体 (-) HIV 抗体 (-) * HBs 抗体(+), HBc 抗体(+)

14) コントロール不良の気管支喘息を有する	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	
15) その他、試験責任医師または試験分担医師が被験者として不適当と判断している	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	

【移植臍帯血】

臍帯血：兵庫臍帯血バンクより提供

HLA：2座不一致

患者 A 1101, 2402 B 5101, 5401, Cw 0102, 1502, DR 0802, 1501

臍帯血 A 1101, 2402 B 4002, 5401, Cw 0102, 0304, DR 0405, 1501

移植臍帯血細胞数 : $3.73 \times 10^7 / \text{kg}$ (16.8×10^8 cell)

移植 CD34 陽性細胞数 : $1.89 \times 10^5 / \text{kg}$

細胞解凍時細胞生存率 : 87.75%

Ex vivo 増幅用臍帯血細胞数 : $1.3 \times 10^7 / \text{kg}$ (5.8×10^8 cell)

移植日 : 2008年1月24日

増幅臍帯血移植日 : 2008年2月5日

増幅臍帯血移植細胞数 : $4.97 \times 10^7 / \text{kg}$

移植増幅 CD34 陽性細胞数 : $9.75 \times 10^5 / \text{kg}$

培養 CD34 増幅率 : 100.4 倍

【Ex vivo 増幅培養臍帯血】

臍帯血移植 day0 に臍帯血を 37℃ で急速解凍し、解凍時総細胞数 $4.53 \times 10^7 / \text{kg}$ のうち $3.75 \times 10^7 / \text{kg}$ をそのまま day0 に移植し、 $0.78 \times 10^7 / \text{kg}$ 分を増幅培養に用いた。

培養 12 日目の各パラメータは下表の通りであり、最終製品の %CD34 は 15.9% であった。

	総細胞数	CD34 細胞数	CFU-GM	BFU-E	CFU-Mix
総数	3.84×10^8	6.76×10^7	3.21×10^7	2.69×10^7	3.16×10^6
/kg	8.5×10^6	1.5×10^6	7.18×10^5	6.61×10^5	6.93×10^4
増幅率	630.7 倍	100.4 倍	319.6 倍	422.9 倍	598.0 倍

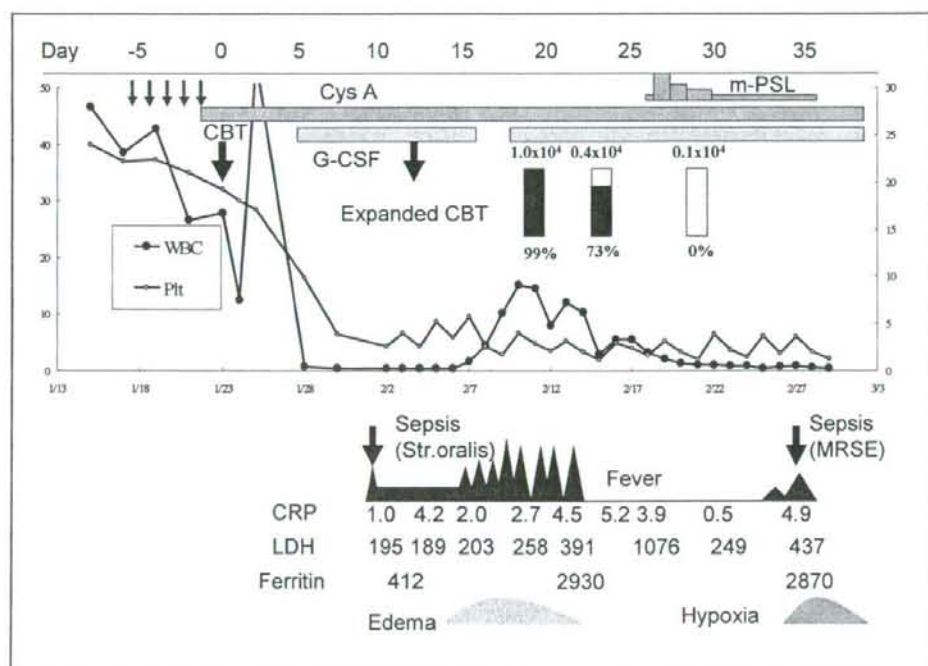
	規格値	結果判定
生存率	>70% (総細胞あたり)	91.06%
無菌試験	菌の発育を認めない (培養 24 時間後、7 日目、14 日目に判定)	菌の発育を認めない
エンドトキシン試験	0.12 EU/mL 未満	検出限界未満
β -D-グルカン試験	10 pg/mL 以下	2 pg/mL

ウイルス試験	HBV,HCV,HIV,HTLV,ParvoB19,CNV を認めない	検出せず
マイコプラズマ試験	マイコプラズマを認めない	検出せず

最終製品は無菌試験、マイコプラズマ試験、ウイルス試験、βD グルカン試験ともに陰性であり、培養に伴う微生物の混入はないものと考えられた。

最終製品の表面抗原解析においては、CD3(T cell) <0.1%,CD19(B cell)<0.1%, CD14(単球) 3.34%, CD56(NK cell) 0.18%, CD33(未熟顆粒球他)40.5%, CD41(巨核球)3.0%, Glycophorin A (赤芽球)45.8%であり、赤血球前駆細胞の割合が多い特徴が認められたが、サイトカイン産生能が高いと考えられる単球の割合はそれほど高くなかった。

【経過 1 : 臍帯血移植から拒絶まで】



移植前処置はプロトコル B に則り、2008.1.16(day-8)から Flu 25mg/m² 5 日間、1/20(day-4)から L-PAM 70mg/m² 2 日間投与し、1/22(day-2)に全身放射線照射(2Gy)を施行した。前処置に伴う非血液毒性は嘔気、嘔吐で CTCAE Grade 3 であった。2008.1.24(day0)に有核細胞数 3.73x10⁷/kg,CD34 陽性細胞として 1.89x10⁵/kg の臍帯血を移植した。移植に伴う合併症は前処置による regimen related toxicity である嘔気が持続した他は、特

に認めなかったが、2/3(Day10)から 38.1 度の発熱を認め、TAZ/PIPC を開始した。翌日には血液培養でグラム陽性球菌が検出されたことが判明したため、VCM を投与した。

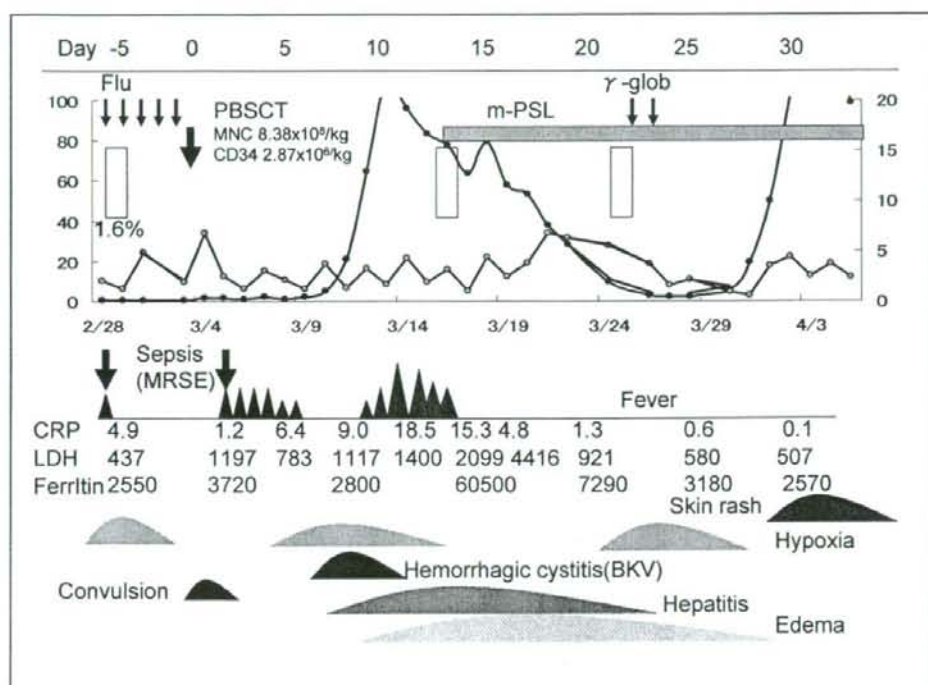
2/4(day11)には 37 度代まで解熱していたが、day12 からは浮腫、体重増加が出現した。(前日比+1.2kg (2.6%)) その後菌が *Streptococcus mitis /oralis* と同定されたため、VCM から ABPC に抗生剤を変更した。敗血症当日(day10)の CRP は 4.2mg/ml, LDH は 195IU/l であった。投与基準を満たしていたため、2/5(day12)に増幅臍帯血を輸注した。(有核細胞数 $0.85 \times 10^7/\text{kg}$, CD34 $15.0 \times 10^5/\text{kg}$) 輸注に伴う有害事象は特に認めなかった。2/7(day14, ex vivo CBT 後 day2)には、WBC $170/\mu\text{l}$ に上昇し、2/8(day15, ex vivo CBT 後 day3)には $450/\mu\text{l}$ となったが、再び 38.2 度の発熱が出現した。2/9(day16, ex vivo CBT 後 day4)には WBC $1020/\mu\text{l}$ に上昇したが、38.6 度の発熱、呼吸数の増加と SpO₂ が若干低下(96~97%)を来したため、生着症候群と考え、利尿剤の投与および G-CSF を中止した。しかしその後も 38 度から 39.8 度の spike fever が 2/15 (day22, ex vivo CBT 後 day10)まで持続した。(m-PSL 投与にて速やかに解熱)

2/12(day19, ex vivo CBT 後 day7)の骨髓検査では有核細胞数 $1 \text{ 万}/\mu\text{l}$ で、下図のような幼弱な顆粒球系細胞や赤芽球の集簇像、巨核球まで出現していた。

骨髓キメリズム検査では 99%以上の細胞がドナータイプであった。しかし、同日より血球減少が生じたため、G-CSF を再開した。2/15 (day22, ex vivo CBT 後 day10)には WBC $300/\mu\text{l}$ となり再び骨髓検査を行ったところ有核細胞数は $4000/\mu\text{l}$ に減少し、Fig2 のように赤芽球は著明に減少し、単球、マクロファージの増生が目立った。明らかな血球貪食像の増

加は認めなかった。骨髓キメリズム検査では 27%のレシピエント細胞が出現してきた。また LDH の上昇(2/15; 704 IU/l, 2/16 ;1076 IU/l)に加え、発熱の持続 (7日間)があったため、移植後血球貪食症候群も鑑別にあげ、mPSL 1mg/kg, 2/16 からは 500mg 2日間、2/18 からは 250mg 2日間、以後漸減した。投与後速やかに解熱したが、血球減少は進行して 2/21(day28, ex vivo CBT 後 day16)の骨髓検査で骨髓キメリズムは 100%レシピエントタイプとなり拒絶を確認した。この時点で study off として直ちに 1st donor からの末梢血幹細胞による再移植の準備を開始した。

【経過 2 ; 血縁ドナーからの再移植から血球減少まで】



Day 28 の骨髓検査で拒絶を確認してから 1st donor である HLA 一座不一致血縁ドナーより末梢血幹細胞を採取した後、2/26 より Flu 40mg/kg 5 日間の前処置を開始し、3/3 に末梢血幹細胞 (有核細胞数 8.38x10⁸/kg, CD34 陽性細胞数 2.87x10⁶/kg) を輸注した。Conditioning 前に *Staphyrococcus epiderumidis* の敗血症を発症し、呼吸苦と低酸素血症を合併したため、予定していた CY50mg/kg は中止した。輸注後 day1 に痙攣重積があり、MRI で白質-灰白質境界領域の限局性浮腫性病変が中心だったため、Cycrosporin 脳症と診断し、アレビアチンを投与し、CyA を中止した。また Day1 の血液培養から再び *Staphyrococcus*

epidermidis が検出され、38～39度の発熱が持続した。その後、day9より血尿が認められ、BKVによる出血性膀胱炎と診断し、Cidfovirの投与を行った。Day10には好中球>500となった。しかし、全身の浮腫、CRPの上昇(18.9mg/dl) SpO₂の低下が認められ、Engraftment syndromeと診断し、mPSLの投与を行った。またこの頃より、GOT,GPTの上昇が認められ、3月17日(day14)には GOT 1302IU/ml,GPT 2200IU/ml,LDH 4416IU/mlまで上昇し、hydrocortisonの持続投与を行い、軽快した。しかし一度生着した血球が再び汎血球減少を生じ、day21には再び白血球は減少し、<1000となり、骨髄所見も低形成となっていたが、血球貪食像は認めなかったが、Ferritinは60500 ng/mlと異常高値を示し、血球減少にはアポトーシスを誘導するTNF- α などの炎症性サイトカインの関与が示唆された。

1回目の臍帯血移植において拒絶に至った経過と2回目のAllo-PBSCT(患者にとってはこの時点ではAuto-PBSCTとも解釈されるが)の経過、CRPなどの動態は極めて類似しており、また血流感染症に続発した点においても類似している。

本症例における生着不全に関する考察

同種造血幹細胞移植における生着不全の頻度は報告により様々で、およそ2-10%程度とされているが、臍帯血移植に限った場合その頻度は5-20%に上昇する。

これまで生着不全の危険因子とされているのは、

ドナー(グラフト)側の要因として

1. 移植細胞数
2. HLA不適合(とくにクラスI抗原不一致)
3. T細胞除去

レシピエント側の要因として

1. 移植前後における免疫状態(前処置、免疫抑制剤の種類、抗HLA抗体など)
2. 原疾患の種類、状態
3. 骨髄ストローマの状態

等が考えられている。

今回の症例ではこれら種々の問題を克服すべく、増幅したCD34陽性細胞を移植したが、移植後day19に一旦はレシピエント由来の細胞による造血が確認されたにもかかわらず、その後維持されずに急速に拒絶され、最終的には生着不全をきたした。

上記のように臍帯血移植における生着不全の原因は多岐に渡り、本症例のような多くの危険因子を有する場合、生着不全におけるある特定の原因を立証することは不可能である。またday19において確認された造血がday0に移植した臍帯血、day12に移植した増幅臍帯血いずれに起因するのかを解明することは現行の臨床プロトコル上不可能である。しかしながら少なくとも増幅臍帯血がレシピエントに及ぼしたと推測される影響を、可能な限り

明らかにすることは、今後の本臨床研究の方向性を決める上で極めて重要なことと考えられる。

そこで今回、レシピエント側の移植前後における免疫状態に着目し、移植前後におけるサイトカイン、ケモカインの動態についての検討を行った。

1. 移植前後におけるサイトカイン、ケモカインの動態

骨髄非破壊的前処置による臍帯血移植後の生着不全例の特徴について虎ノ門病院の高木らは、生着不全の一要因である hemophagocytic syndrome(HPS)発症と移植後 day10 以降の IL-8, MCP-1 高値との相関、pre-engraftment immune reaction(PIR)発症と移植後 day10 以降の IL-5, IL-8 高値との相関、さらには血流感染症と移植後 day10 以降の IL-6, IL-8 高値との相関を報告している。PIR は生着日 6 日以前に起こる allo-immunization に起因する一連の症候群であり、非感染性の発熱、皮疹、下痢、黄疸、体重増加等を呈する。PIR は生着不全例においても認められることから、残存するレシピエント細胞による移植臍帯血に対する直接的な免疫反応がその機序として推測されている。また IFN- γ , TNF- α 等種々のサイトカインが造血幹細胞の自己複製を抑制し、骨髄再構築を阻害することが実験的に示されているが、その臨床的意義については明らかにされていない。

1) 解析方法

後方視的に移植前後の患者血清における IL-5, IL-8, MCP-1 及び IL-6 について Biosource 社 Immunoassay ELISA Kit により定量を、また種々サイトカイン、ケモカイン濃度について RayBio 社 Human Cytokine Antibody Array により網羅的にその発現を解析した。

2) 解析結果

Fig. 1 に本症例における骨髄非破壊的前処置による臍帯血移植、及びその後の末梢血幹細胞移植における IL-5, IL-8, MCP-1 及び IL-6 の濃度変化を示す。

Fig.1 臨床経過と各サイトカイン濃度の推移

A. IL-5

