

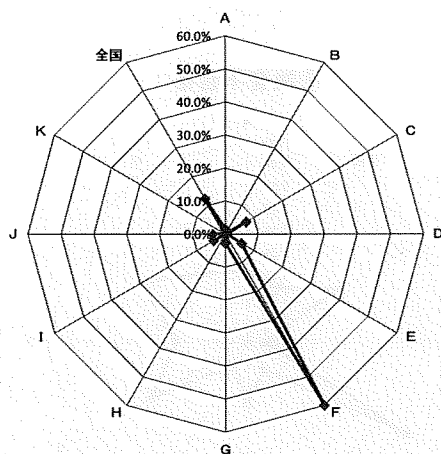
表7 到着から保存に至るプロセスにおける不採用の発生率

バンク名	①時間超過(採取後24時間以)	②液量不足	③書類の不備・不適合	④外観異常	⑤調製不良	⑥検査不合格	⑦健康調査	⑧その他
A	1.5%	29.6%	2.6%	0.0%	2.6%	1.6%	0.2%	0.0%
B	0.0%	27.1%	8.6%	0.0%	1.5%	1.8%	1.2%	6.2%
C	7.3%	26.8%	7.8%	0.1%	0.1%	2.7%	0.1%	1.2%
D	0.7%	16.8%	3.1%	7.8%	0.0%	1.6%	0.1%	0.0%
E	5.7%	4.5%	0.4%	0.0%	8.2%	2.5%	1.3%	0.0%
F	60.0%	11.3%	0.7%	0.1%	0.1%	0.6%	0.1%	0.3%
G	2.8%	47.4%	5.8%	0.4%	1.1%	1.4%	0.1%	0.8%
H	0.1%	6.8%	3.0%	8.1%	0.1%	0.7%	0.1%	0.8%
I	4.1%	11.4%	6.5%	4.5%	4.2%	4.1%	1.0%	1.3%
J	3.7%	14.9%	2.0%	5.1%	1.1%	0.4%	0.1%	0.0%
K	0.2%	0.0%	4.3%	0.0%	2.4%	2.4%	0.0%	0.0%
全国	12.3%	13.8%	3.4%	4.0%	1.0%	1.4%	0.2%	0.7%

図3-1

図3-2

①時間超過(採取後24時間以上)



液量不足

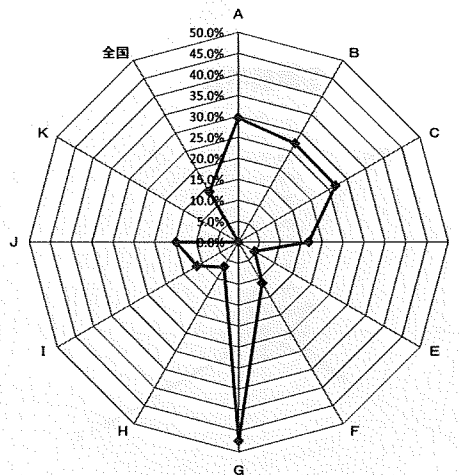


図 3-3

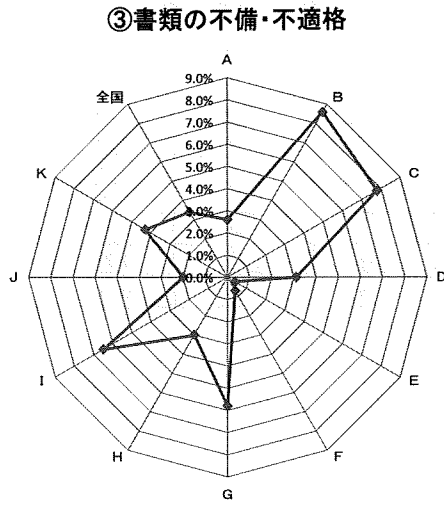


図 3-4

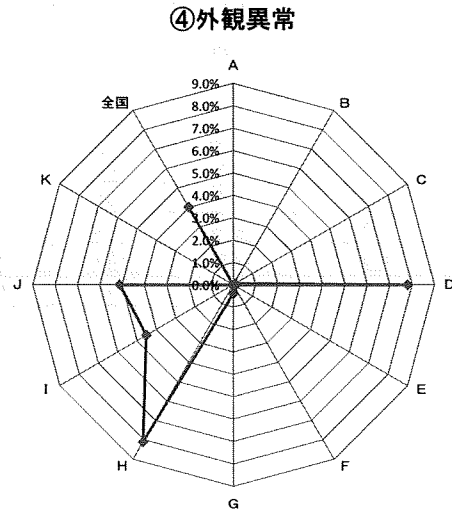


図 3-5

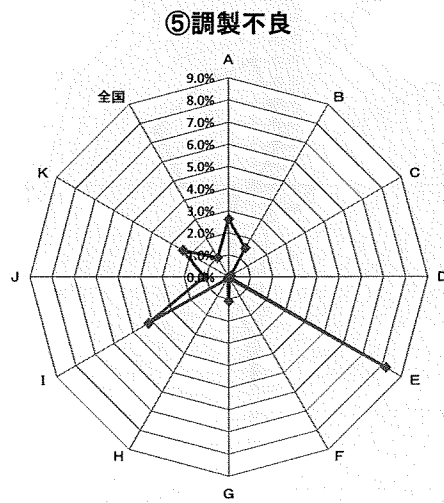


図 3-6

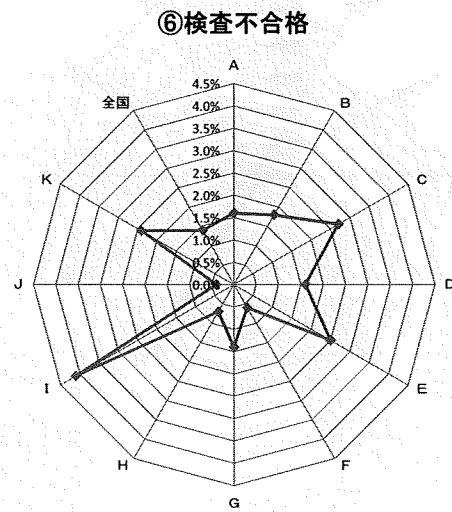


図 3 - 7

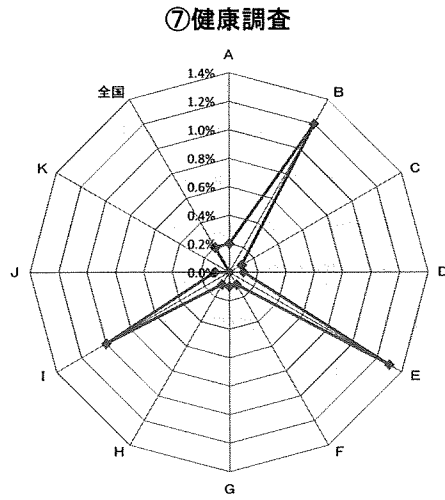


図 3 - 8

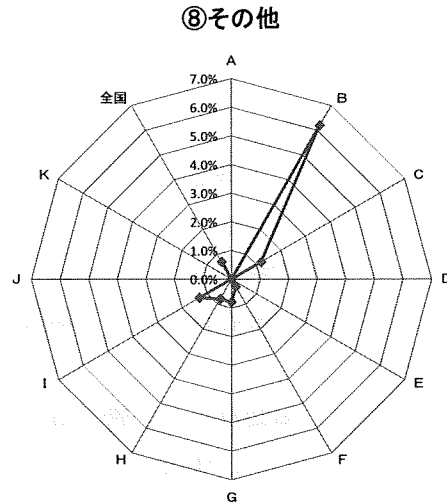
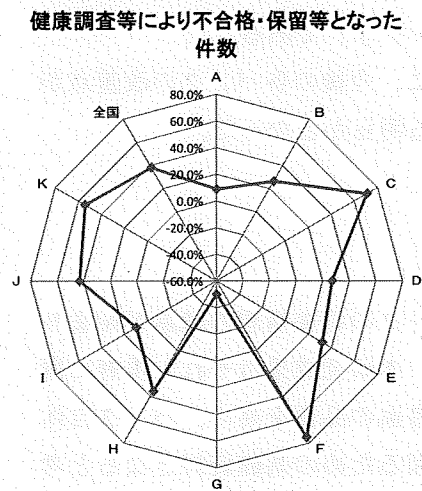


表 8 保存から公開に至るプロセス  
における不採用の発生率

保存から公開に至る不採用数と要因			
バンク名	現時点での保存数	健康調査等により不合格となった件数	データ公開数
A	160	8.7%	91.3%
B	99	26.3%	73.7%
C	241	71.0%	29.0%
D	412	27.2%	72.8%
E	138	31.9%	68.1%
F	613	75.2%	24.8%
G	122	-50.0%	150.0%
H	598	35.5%	64.5%
I	362	9.7%	90.3%
J	125	43.2%	56.8%
K	223	54.3%	45.7%
全国	3691	38.0%	62.0%
全国(Gを除外)	3,569	41.0%	59.0%
ベスト		8.7%	91.3%

図 4 健康調査等による不合格等の件数



#### D. 考察

臍帯血の到着から保存までのプロセスにおいては、未だ各バンクに不採用となる工程に差があることが判明した。品質を表す細胞数については、保存している臍帯血の細胞数自体はここ数年、急速に増加してきている。現に今回の調査でも  $8 \times 10^8$  個以上の細胞数を有している臍帯血を保存しているところがほとんどであった。

プロセスと品質面で到達率（効率性値）を求めてバンク間の比較を行い、その結果は先にも述べた。

「バンク F」は、細胞数が多い臍帯血を多く採取しているものの、作業プロセスの効率性が悪い結果となった。「バンク C」についても同様である。「バンク G」「バンク E」「バンク H」はその対極にあり、作業プロセスの効率性は良いものの細胞数が多い臍帯血を確保する必要があるなど品質面の改善が必要である。両者のバランスが取れているところは、「バンク D」である。次いで「バンク A」「バンク I」「バンク B」が位置している。逆に両者の改善が必要なところは「バンク J」である。

このように、今後の各バンクの改善点が本研究による明らかとなった。

#### E. まとめ

臍帯血バンクの将来構想の議論が始まりつつあるが、本研究成果はそれも視野に置きながら臍帯血の品質を高め、バンク自体の活性化を図るための基礎資料となると考えられる。

#### 謝辞

本研究を進めるに当たって、日本臍帯血バンクネットワークの中林正雄会長（社会福祉法人恩賜財団母子愛育会附属愛育病院院長）、そして事務局の渡邊貴彦氏、神前昌敏氏（大阪府北大阪赤十字血液センター所長）、池淵研二氏（埼玉医科大学医学部教授）、その他の関係者の皆様には多大なるご協力を賜りました。紙面を借りまして一言お礼申し上げます。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

1. 論文発表  
予定あり
2. 学会発表  
予定あり

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

（予定を含む）

1. 特許取得  
特になし
2. 実用新案登録  
特になし
3. その他  
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：臍帯血の品質管理と評価

研究分担者 高梨 美乃子（東京都赤十字血液センター製剤部・部長）

研究要旨：

本邦には 11 の臍帯血バンクがあり、14 カ所の調製保存施設にて活動している。臍帯血の品質標準化を目指し、検査手技の標準化を目指して調整している。同一の凍結検体を配布して多施設比較試験を行った。同一機種による白血球数、数種類の手技による生細胞率について施設間差は期待される範囲内であった。死細胞除去 gating を入れた標準法による CD34+細胞数とコロニー形成数は施設間差が大きかった。昨年度の無菌検査の評価に基づき、新基準を策定した。抗 HLA 抗体の移植結果に及ぼす意義について継続して解析した。

A. 研究目的

臍帯血の調製保存手技や検査について、基礎データを示しつつ、11 バンクの合意を得て手順を統一し、臍帯血の品質標準化を目指す。造血細胞関連検査については多施設比較試験を行い、臍帯血バンクのデータに対する信頼を得る。また臍帯血移植の安全性向上の為にレシピエント抗 HLA 抗体と移植結果について後方視的検討を行い、その意義を明らかにする。

B. 研究方法

(1) 凍結検体による多施設比較試験：同一凍結臍帯血検体を各調製保存施設へ送付し、白血球数、有核赤血球率、生細胞率、CD34+細胞数、およびコロニー形成細胞数 (CFU 数) を算定した。(2) 臍帯血バンク技術者によるコ

ロニーアッセイについての研修を行った。(3) 昨年度の無菌検査法の検討をもとに、日本さい帯血バンクネットワークの基準書の改訂案を作成した。(4) レシピエント抗 HLA 抗体が移植結果に及ぼす影響について、後方視的検討を継続した。骨髄破壊的前処置をうけた例を選択して移植結果を解析した。

C. 研究結果

(1) 凍結検体による多施設比較試験：12 月に凍結検体を配布した。CV 値は白血球数 6.3%、生細胞率の TB 法 10.9%、AO/EB 法 9.0%、7AAD 法 13.1%、CD34+細胞数は通常の CD34+/45+分画に加え標準ビーズから測定容量を算出し、かつ死細胞除去 gating をかける方法であれば CV 値が 29.9%であった。総コロニー形成細胞は 26.9%、CFU-GM は 47.3%

であった。

(2) コロニーアッセイ研修会：11 施設の検査担当者 18 名が参加し、画像による座学研修の後、同じ検体のコロニー算定を行った。Dish 1 と 2 の算定値の CV 値はそれぞれ、総コロニー形成細胞は 21.9%、19.0%、CFU-GM は 26.2%、22.8%であった。

(3) 「さい帯血バンクネットワーク」の基準書改訂：最終産物である凍結前臍帯血による無菌検査は最低接種量 0.5mL、更に調製過程で除去される赤血球層 5-10mL を用いて無菌検査を行うことで感度を補完することとした。また保存される臍帯血の CD34 数、コロニー数の最低値を明記した。

(4) 抗 HLA 抗体の生着に及ぼす影響：北海道、東京、東海大学、兵庫、京阪、福岡県および東京都赤十字血液センター臍帯血バンクにて保管した移植患者血清を用いてレシピエント抗 HLA 抗体の有無とその特異性を調べた。前年度に引き続き、抗体特異性と臍帯血 HLA 抗原との組合せと移植後経過を後方視的に解析した。血液腫瘍性疾患の初回単一臍帯血移植、骨髄破壊的前処置の 386 例について生着を含む予後を解析した。抗 HLA 抗体（抗 class I and/or 抗 class II）陰性(ab-negative)297 例、陽性だが抗体特異性が移植臍帯血 HLA 抗原に対応しない(ab-positive)69 例、陽性かつ抗体特異性が移植臍帯血 HLA 抗原に対応する(positive-vs-CB)20 例であった。抗体陽性群は女性、疾患では MDS が多かった。単変量解析にて抗 HLA 抗体は好中球回復、血小板回復、無イベント生存率および粗生存率に有意に影響した。多変量解析にて好中球回復では

ab-positive 群と positive-vs-CB 群、血小板回復では positive-vs-CB 群、再発では ab-positive 群、無イベント生存率では ab-positive 群と positive-vs-CB 群、粗生存率では positive-vs-CB 群にて有意であった。患者血清中 HLA 抗体の生着にあたる影響は、移植造血細胞数、即ち CD34 数が少ない場合により顕著であった。

#### D. 考察

臍帯血バンクの検査手技は施設によって異なる場合がある。同一検体を配布する多施設比較試験は昨年度に引き続き凍結検体を配布した。有核細胞数算定は機器管理用の標準血球測定と同様の精度で安定していると考えられる。CD34+数測定は CD34, CD45 に死細胞除去を加えても 3 割ほどの変動が認められた。コロニー形成細胞数のうち CFU-GM 測定は施設間では 5 割ほども変動する。担当者の計数の指標を統一すべく開催した研修会では CFU-GM の CV 値が 2-3 割となった。生細胞率については数種類の方法が使われている。

無菌検査には日本薬局方収載のものから多数検体自動判定システムまで多くの方法があり、各バンクによって異なる。検出感度をあげる為に臍帯血の最終産物以外に赤血球層 5mL 以上を用いて無菌検査を行うことが望ましいと結論し「日本さい帯血バンクネットワーク」の基準書を改訂した。

レシピエント抗 HLA 抗体については、他バンクの協力を得て症例数を集積し、多変量解析にて生着への影響を評価した。抗体が陽性であれば有意に生着に不利であることが示さ

れ、患者 HLA 抗体が陽性である場合には、臍帯血との HLA 不適合抗原がその抗体と反応しないように臍帯血を選択して移植を施行することにより、生着不全の危険性を回避することが期待できると考えられた。同時に輸注 CD34+数の重要性も示された。HLA 抗体の検出率は検査室間差が大きいため、検査推進は慎重に行うべきである。

#### E. 結論

白血球数測定の方法は統一され、精度は許容範囲と考えられる。CD34+数、CFU 数の精度はやや低い。無菌検査の基準を改定した。今後は検査法のみならず調製保存手技についても統一を進めるべきである。移植成績に及ぼすレシピエント抗 HLA 抗体の意義については、今年度は骨髄破壊的前処置を受けた移植例に限定して改めて解析した。抗体、特にその特異性が臍帯血抗原と一致する場合には更に、生着に不利であった。抗 HLA 抗体が陽性の場合には抗体特異性によって、同時に細胞数 (CD34+細胞数) を重視して臍帯血を選択することが重要である。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

論文発表

・ The impact of anti-HLA antibodies on unrelated cord blood transplantations.

投稿中

・ Red blood cell depletion of cord blood using an automated system - Evaluation of the AXP system.

日本輸血細胞治療学会誌2010 Feb予定

学会発表

・ 自動細胞分離装置 SEPAX による臍帯血調製の検討。第 57 回日本輸血・細胞治療学会総会、口演 0-080 (2009 年 5 月 28-30 日、大宮)

日本輸血細胞治療学会誌 55(2):258, 2009

・ “製品” としての血液の品質確保。第 8 回日本組織移植学会総会学術集会 S-4 (2009 年 8 月 29 日、東京) 日本組織移植学会雑誌 8(1):32, 2009

・ 臍帯血移植における抗 HLA 抗体の影響。第 18 回日本組織適合性学会大会、S3-2 (2009 年 9 月 25-27 日、名古屋) 日本組織適合性学会誌 16(2):58-59, 2009

・ 東京都赤十字血液センター臍帯血バンクにおける提供前検査について。PS-1-245 (2009 年 10 月 23-25 日、第 71 回日本血液学会学術集会、京都) 臨床血液 50(9):418(1110), 2009

・ 臍帯血バンクにおける品質向上への取り組み。第 16 回日本輸血・細胞治療学会秋季シンポジウム、第 33 回日本血液事業学会総会、第 20 回国際輸血学会アジア部会 (2009 年 11 月 14-18 日、名古屋) 血液事業 32(2):232, 2009

#### H. 知的所有権の出願・取得情報

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：臍帯血移植後のキメリズム解析における現状とその問題点

研究分担者 高橋 聡(東京大学医科学研究所・先端医療研究センター・准教授)

研究要旨：我々は、HLA 血清学タイピング用に作製されたアリル特異的抗 HLA モノクローナル抗体 (ASHmAb) がフローサイトメトリーで利用できることに注目し、HLA ミスマッチ造血細胞移植後の新規キメリズム解析法 (HLA-Flow 法) を開発した。本法は、生着不全や再発の早期診断に極めて有用である一方、HLA-Flow 法の適応は HLA 血清型ミスマッチ移植に限られており、本法の適応率は移植における HLA の一致度に依存している。また、実際にキメリズムを判定する際の精度や感度は、細胞表面の HLA 分子の抗原密度や、抗 HLA 抗体と蛍光色素の性状、すなわちフローサイトメトリー解析の“難易度”に左右される。これらの問題の克服法、および本法を STR-PCR 法と比較検討したので報告する。

#### A. 研究目的

我々は、HLA-Flow 法の問題点を検討し、さらに従来からの STR-PCR 法と比較し、本法の改善を目指した。

#### B. 研究方法

臍帯血移植における HLA の一致度と本解析法の適応率との関係、さらに解析をしばしば困難にする染色上の問題点について整理した。さらに本法と STR-PCR 法との比較検討を行った。

#### C. 研究結果

HLA-Flow 法によるキメリズム解析をしばしば困難にする染色性の原因としては、白血球のサブポピュレーションごとに HLA の発現レベルが異なることや自家蛍光や抗体の非特異的結合により”Double positive”にみえる、などの要因が関与していた。STR-PCR 法との比較検討した結果、14 例中 9 例では、移植後 1、2 週目に HLA-Flow 法は STR-PCR 法の 50%以下のレシピエント由来細胞の頻度を示した。また、生着が確認された 11 例では、3 週目にレシピエント由来細胞の頻度は両解析法ともほぼ 0%になった。一方、残りの 3 例中、1 例は 3 週目に死亡し、1 例では 3 週目以降キメリズムが遷延したが、両解析法の結果は良い相関を示した。さらに、再発した 1 例の患者では、移植後 2 週目と 3 週目に HLA-Flow 法でレシピエント由来細胞を検出したが（それぞれ

23.2%と 13.0%）、STR-PCR 法ではレシピエント由来細胞は検出されなかった。白血病細胞の監視を目的に行った骨髄細胞のキメリズム解析では、経時的に解析することで両解析法とも再発の診断が可能であったが、再発した 4 例中 1 例で、STR-PCR 法と比べて HLA-Flow 法でのレシピエント由来細胞の頻度が有意に低かった。

#### D. 考察および結論

染色性の問題に対する解決法として、特徴的な染色パターンに慣れる、抗体の非特異的結合を防ぐ、ドナーとレシピエントの単独細胞を、それぞれ別個に染色する、染色性の良好な IgG 型の抗体に替える、などの方法を考えている。単核細胞分画を用いた 2 カラーの HLA-Flow 法は、STR-PCR 法と同様に生着不全や再発の診断に利用できるが、短時間 (1.5 時間以内) に結果を得られるため、より有用な方法といえる。

#### E. 結論：

今後、より定量的な解析を行なうためには、全血をそのまま染色して顆粒球系の細胞も同時に解析することが必要である。これらの問題が解決されれば、我が国における HLA-Flow 法の適応率および解析能が大幅に向上することが期待される。

#### F. 研究危険情報

特になし

G. 発表

1. **Takahashi S**, N Watanabe, Ishige M, Ishi Y, Ooi J, Tomonari A, Tsukada N, Konuma T, Kato S, Sato A, Tojo A, Nakauchi H. Dynamic analysis of chimerism after HLA-mismatched cord blood transplantation elucidated by 9-color FACS: implications for early detection of engraftment failure and relapse. Biol Blood Marrow Transplant, 14(6):693-701, 2008.

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

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：高齢者における臍帯血移植（骨髄非破壊的前処置法の標準化）に関する研究

研究分担者 谷口 修一（国家公務員共済組合連合会 虎の門病院 血液内科・部長）

**研究要旨** これまで我々は、高齢者造血器疾患患者に対する臍帯血ミニ移植は、MMF 併用で免疫抑制治療を強化し、臍帯血移植後特有の生着前免疫反応を制御することで、安全性が向上することを示してきた。そこで、55 歳以上の患者さんで虎の門病院で臍帯血ミニ移植を実施した 61 名（CB 群、MMF 使用 24 名を含む）と血縁末梢血幹細胞・骨髄を用いたミニ移植例 21 名（血縁群）を後方視的に検討し、臍帯血移植の現状での位置づけを試みた。生着率は血縁群 100%に対して CB 群 75%と有意に血縁が良好であったが、3 年全生存率は血縁群 37%、CB 群 26%、3 年非増悪生存率は血縁群 23%、CB 群 10%と、両群間に有意差を認めなかった。累積再発率・非再発死亡率も両群間で有意差を認めなかった。以上より、臍帯血ミニ移植は、高齢者において血縁ドナーからの移植と同等の成績が期待できる可能性が示唆された。高齢者ドナーのコーディネートは、併存疾患やドナー家族の干渉など若年ドナーよりも困難である場合があり、今後は本結果をドナー候補者の権利尊重の観点から活用する必要がある。

A. 研究目的

移植前治療を軽減した同種造血幹細胞移植は、骨髄破壊的な前治療が行えない患者群に対して広く適応されてきている。移植幹細胞源には、血縁ドナー、非血縁ドナー、臍帯血の 3 種に大きく分けられる。これまで血縁ドナーが他の幹細胞源よりも移植成績が優位であるとされ、成人においては依然第一選択となっている。成人の臍帯血移植は 2000 年以降、急速に広まっており、日本では高齢者で多いという特徴がある。移植数の増加とともに、その安全性も急速に向上しており、現時点での血縁ドナーと臍帯血との優位性は controversial である。一方、高齢者において、血縁ドナー候補者も高齢であり、併存疾患の存在や、提供の意思決定に対する家族の干渉が高いなどの他の年齢層と異なる特殊な状況があり、慎重なコーディネートを行う必要がある。これまで臍帯血を含む幹細胞源間において前向きに比較が検討されたことはなく、ほとんどが後方視的検討の結果であり、幹細胞源決定に対する患者背景の違いの影響から逃れられない。例えば非血縁骨髄ドナーでは、3 ヶ月以上のコーディネート期間が許容できる患

者さんに限られた適応である。高齢者では、若年者よりも幹細胞源に関わらず移植後治療関連死亡が高率であり、血縁ドナーが存在しても移植の適応に慎重になる場合が多く、臍帯血移植との移植実施タイミングが近く、後方視的研究での比較可能性がある程度担保されている可能性がある。そこで今回我々は、血縁骨髄・末梢血幹細胞移植と臍帯血移植の成績を高齢者で実施し、臍帯血の他幹細胞源に対する位置づけを試みることにした。

B. 研究方法

2004 年 1 月から 2008 年 12 月の間に当院で臍帯血、もしくは血縁骨髄・末梢血幹細胞を用いたミニ移植を行った連続する 55 歳以上の造血器疾患患者 132 名（臍帯血 171 名、血縁 61 名）について、後方視的に解析した。HLA で 5-6/6 が一致する血縁ドナーが得られる場合は血縁骨髄・末梢血幹細胞移植を行い、得られなかった場合は臍帯血移植を行った。移植歴を有する、移植時の ECOG PS が 3 以上、移植時活動性の細菌・真菌感染を有する、診断名が多発性骨髄腫・成人 T 細胞性白血病・非悪性疾患の患者さんは解析から除外した。

## <倫理面への配慮>

本研究は、虎の門病院の院内倫理審査委員会の審査・承認を得て行われた。対象患者の個人情報データ取得後直ちに連結不能な暗号化がなされ、当該分担研究者によって厳格に管理された。

## C. 研究結果

臍帯血ミニ移植実施群 (CB 群) が 61 名、血縁骨髄・末梢血幹細胞ミニ移植群 (血縁群) が 21 名であった。年齢 (中央値が CB 群 62 歳、血縁群 60 歳、 $P=0.03$ )、HLA 一致度 (完全一致率が CB 群 3%、血縁群 86%、 $P<0.0001$ )、ドナー検索期間 (中央値が CB 群 43 日、血縁群 148 日、 $P<0.0001$ )、移植前治療 (CB 群の 70% が Flu/Me1/TBI、血縁群の 48% が Flu/Bu、 $P<0.0001$ )、GVHD 予防法 (CB 群の 59% が FK 単独、39% が FK+MMF、血縁群の 71% が CsA+MTX、 $P<0.0001$ ) と、両群間で異なっていたが、診断名・疾患リスク・ECOG PS・移植年・診断から移植までの期間は同等であった。血縁群は全例好中球生着 ( $\geq 500/u1$ ) を達成したが、CB 群は 75% ( $P<0.01$ ) で、血小板生着も血縁群 100% に対して CB 群 55% であった ( $P<0.01$ )。3 年全生存率は血縁群 37%、CB 群 26%、3 年非増悪生存率は血縁群 23%、CB 群 10% で、両群間に有意差を認めなかった。累積再発率・非再発死亡率も両群間に有意差を認めなかった。血縁群の死亡 12 名中 9 名は再発である一方、CB 群は死亡 43 名中 23 名で、死因不明の 1 名を除き 19 名は非再発死亡であった。

## D. 考察

高齢造血器疾患患者さんにおいて、臍帯血移植の成績は血縁骨髄・末梢血幹細胞移植のそれと同等であることが示唆された。高齢者における血縁ドナーコーディネータは、ドナー候補者の併存疾患を有する危険性が高いこと、骨髄・末梢血幹細胞提供の決断へのご家族の干渉率が高いなど、若年者ドナー候補者と異なった状況がある。ドナー候補者の権利は最大限に尊重されるべきであるが、これまで多くの場合血縁ドナーからの移植成績の、代替幹細胞源に対する優位性が報告されており、血縁ドナー候補者は常に提供することへの一定のプレッシャーから免れない状況にある。本研究は後方視的検討であり、潜在する選択バイアスから当然免れないものの、本

研究結果は、高齢ドナー候補者の権利を尊重する為に活用できると考えられる。

また、CB と血縁ドナーとの対等比較には前向き無作為割付による比較研究が本来必要であるが、実臨床での実施は困難である。そこで現時点では best available donor としての CB 移植における早期の非再発死亡の克服の試みを続けて、将来再度の後方視的検討で CB 群の成績向上と血縁群に対する非劣勢が示されてはじめて CB が優先されるべき幹細胞源として認容されるものと考えられる。

## E. 結論

55 歳以上の高齢造血器疾患患者に対する臍帯血移植は、血縁ドナーからの移植と同等の成績が期待できる可能性がある。血縁ドナー検索をするに当たって、ドナーの権利尊重の観点から重要な知見である。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Yamamoto H, Uchida N, Ishiwata K, Araoka H, Takagi S, Tsuji M, Kato D, Matsushashi Y, Seo S, Matsuno N, Masuoka K, Wake A, Yoneyama A, Makino S, Taniguchi S. “Possible graft-versus-host disease involving the central nervous system soon after cord blood transplantation” *Am J Hematol.* 84:764-766, 2009.
- 2) Takagi S, Masuoka K, Uchida N, Ishiwata K, Araoka H, Tsuji M, Yamamoto H, Kato D, Matsushashi Y, Kusumi E, Ota Y, Seo S, Matsumura T, Matsuno N, Wake A, Miyakoshi S, Makino S, Ohashi K, Yoneyama A, Taniguchi S. “High incidence of haemophagocytic syndrome following umbilical cord blood transplantation for adults” *Br J Haematol.* 147:543-553, 2009.
- 3) Matsuno N, Wake A, Uchida N, Ishiwata K, Araoka H, Takagi S, Tsuji M, Yamamoto H, Kato D, Matsushashi Y, Seo S, Masuoka K, Miyakoshi S, Matsuno S, Yoneyama A, Kanda Y, Taniguchi S. “Impact of HLA disparity in the graft-versus-host direction on engraftment in

adult patients receiving reduced-intensity cord blood transplantation” Blood. 114:1689-1695, 2009.

- 4) Yazaki M, Atsuta Y, Kato K, Kato S, Taniguchi S, Takahashi S, Ogawa H, Kouzai Y, Kobayashi T, Inoue M, Kobayashi R, Nagamura-Inoue T, Azuma H, Takanashi M, Kai S, Nakabayashi M, Saito H; Japan Cord Blood Bank Network. “Incidence and risk factors of early bacterial infections after unrelated cord blood transplantation” Biol Blood Marrow Transplant. 15:439-446, 2009.
- 5) 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, Koderu Y, Kato S; Japan Cord Blood Bank Network. “Disease-specific analyses of unrelated cord blood transplantation compared with unrelated bone marrow transplantation in adult patients with acute leukemia” Blood 113:1631-1638, 2009.
- 6) Kim SW, Mori SI, Tanosaki R, Fukuda T, Kami M, Sakamaki H, Yamashita T, Koderu Y, Terakura S, Taniguchi S, Miyakoshi S, Usui N, Yano S, Kawano Y, Nagatoshi Y, Harada M, Morishima Y, Okamoto S, Saito AM, Ohashi Y, Ueda R, Takaue Y. “Busulfex (i.v. BU) and CY regimen before SCT: Japanese-targeted phase II pharmacokinetics combined study” Bone Marrow Transplant. 43:611-617, 2009.

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

該当なし

##### 2. 実用新案登録

該当なし

##### 3. その他

該当なし

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：成人における臍帯血移植（骨髄破壊的前処置法の標準化）

研究分担者 田野崎 隆二（国立がんセンター中央病院・医長 厚生労働技官）

研究要旨

成人における骨髄破壊的前処置を用いた臍帯血移植技術の標準化を目的に「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）」を進行中である。17施設が各施設倫理委員会の承認を得て、平成20年8月から本登録6例（他に仮登録2例）で移植が進行中である。進捗状況が遅かったことから本臨床試験の意義およびプロトコールの問題点などについて再検討したが、本臨床試験は重要であるものの適応となる症例が予想以上に少ないことが明らかになった。臍帯血移植技術の向上と均てん化を図ることは極めて重要な課題であり、治療計画に適宜改訂を加えて継続中である。

A. 研究目的

成人の造血器腫瘍に対する臍帯血移植の成績はこれまでの他の移植法に比べて劣ることが報告されているが、まとまった成績としては唯一東京大学医科学研究所（以下、東大医科研）の報告が突出して優れている。本試験の目的は、同施設の移植法を多施設で追試・検証することにより、移植技術の向上と均てん化を図ることである。

B. 研究方法

対象は同種造血幹細胞移植の適応となる成人造血器悪性腫瘍で、東大医科研と同様の患者選択基準とした。ただし、急性白血病予後不良群の定義があいまいであったので、米国 SWOG/ECOG の基準を参考に「del(5q)/5, 7/del(7q), abn 3q, 9q, 11q, 20q, 21q, 17p, t(6;9), t(9;22) および複雑核型」の染色体異常を有する急性白血病も適応に加える改訂を行った。移植前処置は全身放射線照射とシクロホスファミド大量および顆粒球コロニー刺激因子（G-CSF）併用キロサイド大量療法で、GVHD 予防や支持療法は可能な限り東大医科研と同様の方法とし、症例ごとに同施設の医師が相談にのり、その方法を研究計画書などに反映させることとした。主要評価項目は移植後1年における無イベント生存割合とし、予定症例数28例、登録期間3年間の多施設

第Ⅱ相試験とした。

登録状況が予定よりもかなり遅れているために、

- ① 最近2年間の貴院における臍帯血フル移植の状況について
  - ② 本登録ができなかった症例があった場合にはその理由
  - ③ 今後本試験をどのようにすればよいか
- の3点についてアンケート調査を行った。

また、さらに登録しやすくするために、プロトコールの検討を行い、

- ① 総ビリルビンが肝臓由来でないことが臨床的にほぼ確実である場合には登録可とする
- ② 患者が抗 HLA 抗体陽性の場合、これと反応しない種類の HLA 抗原の臍帯血ユニットであれば登録可とする
- ③ 抗 HLA 抗体検査に関しては仮登録後に研究班で施行することにより施設差をなくす

の主に3点を改訂した。

C. 研究結果

(1) 進捗状況（図1）

17施設が各施設倫理委員会（IRB）の承認を得て、平成20年8月から1年5カ月経過した平成21年12月31日の時点で本登録6例（他に仮登録2例）である。登録期間は平成23年7月までであり、登録

状況は遅いころからアンケート調査やプロトコル改訂を行ったが、最近になり登録症例が少し増えた。これまでに重篤な有害事象の報告はない。

#### (2) アンケート調査 (表1)

アンケートに回答のあった9施設の結果からは、すでに造血幹細胞移植は確立した治療法となり、骨髄バンクのドナー登録者数も30万人を超えた状況では、まだその安全性や有効性が十分に明らかになっていない臍帯血移植の適応となる症例が少ないことが明らかになった。けれども、回答のあった全施設から、本臨床試験が重要であり今後とも継続すべきであるとの意見があった。

#### D. 考察

進捗状況が遅かったことから本臨床試験の意義およびプロトコルの問題点などについて再検討したが、本臨床試験は重要であるものの適応となる症例が予想以上に少ないことが明らかになった。十分検討した上で、本来の趣旨を損ねない範囲でプロトコル改訂を行った。今後とも進捗状況に十分留意して、試験が完結できるように必要に応じてプロトコル改訂を検討する必要がある。

なお、現時点では重篤な合併症の報告はなく、また試験中止基準に抵触していない。また、主要評価項目である「移植後1年における無イベント生存割合」を評価する段階にはない。

#### E. 結論

成人の造血器腫瘍患者を対象に、東大医科研の臍帯血移植法の追試・検証のための臨床試験が進行中であり、進捗状況は遅いもののその重要性から治療計画を見直しつつ継続中である。

#### F. 健康危険情報

これまでのところ重篤な有害事象の報告はない。

#### G. 研究発表

これまでに当該研究に関連した発表はない。

#### H. 知的財産権の出願・登録状況 なし

表 1 アンケート調査回答

回答9施設分のまとめ

質問1. 最近2年間の貴院における臍帯血フル移植の状況について伺えますか。

⇒ 8、4、4、3、2、2、2、1、0例

非登録理由

1. IRB承認前 (2)
2. 適応外 (抗HLA抗体陽性、非寛解など) (20)
3. 合併症を有した (3)
4. 赤芽球由来の総ビリルビン高値 (3mg/dl) (1)

質問2. 今後、本試験をどのようにすればよいかご意見を頂けますか。

1. 今後とも継続 9
2. 中止すべき 0

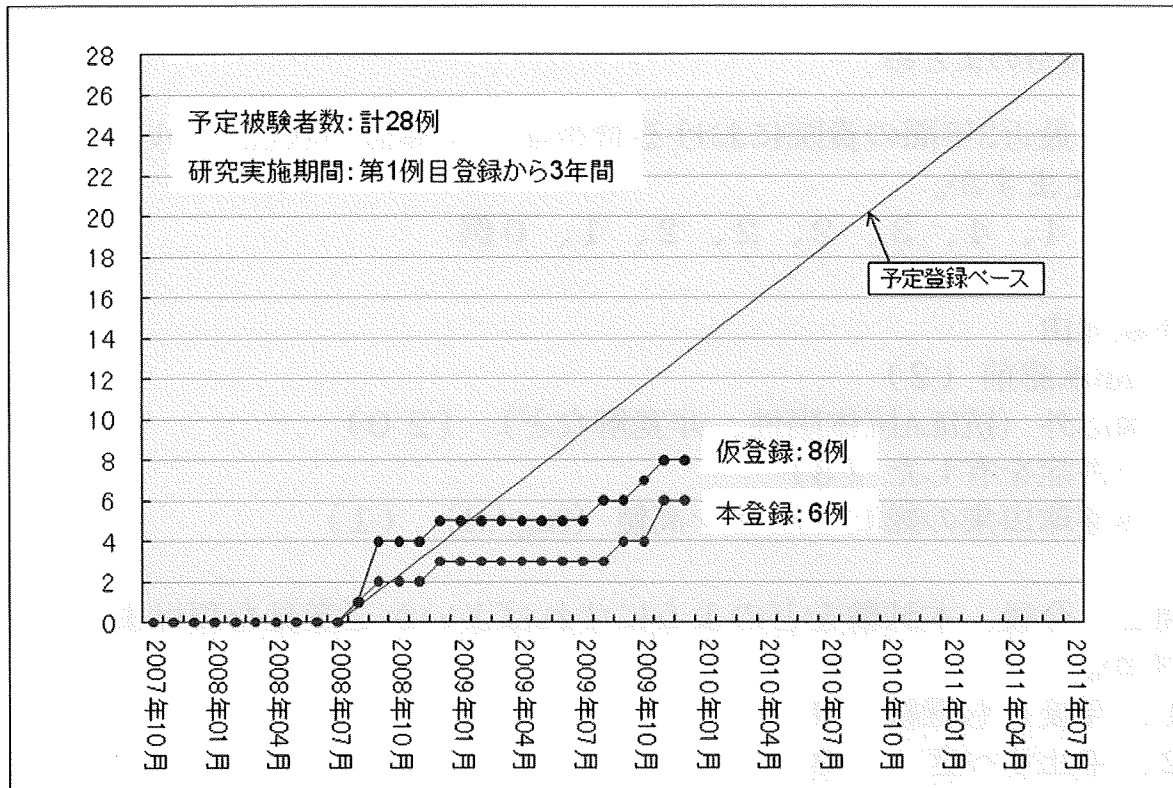
質問3. 登録を増やすにはどのような工夫が必要と考えますか。

⇒

1. 高齢者や非寛解期のRIC-CBTが多い状況ですが、関連病院へのアナウンスを更に徹底し、寛解期full-CBTの症例エントリーを促進します。
2. CBT選択について患者・家族と相談する時、rejectionの危険性を説明すると、URBMTを優先してほしいとおっしゃる患者さんが多く、最近CBTを積極的に選択することが減っています。この傾向は一施設だけの傾向ではないのでしょうか？したがって本研究については登録期間を延長して研究継続することでの対応が一案ではないでしょうか。
3. 臍帯血移植の成績において、生着不全が多いことは周知の事実であり、この点を含めて、先行する医科学研究所の成績や新しい知見をプロトコルに反映することをお勧めします。
4. 許容範囲で適格基準を上げ、また登録しやすいように検査項目等を工夫してほしい。
5. 可能ならMTX時のロイコボリンも研究班で負担していただけないでしょうか。

図1 進捗状況

2009年12月31日現在



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：臍帯血バンクにおける移植データ管理

研究分担者：長村 登紀子（東京大学医科学研究所附属病院・講師）

加藤 剛二（名古屋第一赤十字病院 小児科・部長）

研究要旨：臍帯血バンクにおける品質管理と安全性確保の一環として、移植後の情報の把握と解析は重要である。これまで収集された移植データを用いて後方視的解析が行われている。日本造血細胞移植学会が中心となり移植報告一元管理システム(TRUMP)を用いた移植データ収集システムが導入された。これに伴い、これまで各組織（小児血液学会、JSHCT 成人部門、JMDP、日本さい帯血バンクネットワーク(JCBBN)）において個別にかつ重複して回収していた移植報告書を TRUMP を用いた回収方法への一元化し、移植施設への負担軽減ならびに、移植報告内容を共有化することによってより高いデータ品質を維持し、バンクにおいては品質管理と安全性確保に資すること、移植成績の更なる向上を目指すことで合意された。今年度、TRUMP に入力した移植成績データは JSHCT データセンターを介し JCBBN の各バンクへ円滑に収集する web システムの構築と JCBBN 各バンクの様式、手順の統一化を図った。

**A. 研究目的：**日本造血細胞移植学会が中心となって遂行している移植報告一元管理システム(TRUMP)を用いた移植病院からの臍帯血バンクへの情報収集システムを構築し、同時に日本さい帯血バンクネットワーク(JCBBN)の移植データ管理システムを充実させ品質管理や安全性確保に役立て、データ解析により移植成績の更なる向上を目指すことを目的とする。造血細胞移植データの一元化とは 造血細胞移植学会、小児血液学会、日本骨髄バンク、JCBBN からなる各組織の移植データの一元化を図ることを目的としている。

**B. 方法：**収集された臍帯血移植データの確認および修正作業を行いデータベースの質の向上を図った。今年度、TRUMP に入力した移植成績データを JSHCT データセンター経由で JCBBN の各バンクへ円滑に収集する web システムの構築と JCBBN 各バンクの様式、手順の統一化を図った。特に今年度はデータセンターから転送された移植データを JCBBN 事務局経由で各バンクへ配布するシステムの構築を行った。各バンク、JCBBN 移植データ管理小委員会、IT 担当会社、バンク連絡調整委員会を中心として手順、システムを提案し、運営委員会、学会一元管理委

員会等で承認を得ながら進めた。

**C. 移植報告データ収集システム構築に関する進捗状況：**

**JCBBN データベース状況：**2009年12月現在の JCBBN から提供した臍帯血ユニットは 6,014 ユニット、JCBBN 移植データベースには初回登録完了数：5,024units、1年目：2,072units、2年目：1,128 units 分が収集された。2008年未までの移植データに関して解析希望者に対して 学会一元管理委員会、移植データ管理委員会の承認を得ながら JSHCT データセンターと連携して解析用データを提供した。なお現在の JCBBN のデータに関しては TRUMP へのデータ変換を経て移植病院へのデータ返還を予定している。  
**移植データ収集方法：**臍帯血移植データ 100 日報告収集方法手順概略を図1に示す。JCBBN 内でのデータのアップロードをするための照合項目は TRUMP に入力されたさい帯血バンク名と臍帯血番号(=ドナー番号)の2項目とする。TRUMP に入力されたデータは JSHCT データセンターを介して図2に示すように JCBBN 事務局からデータを一括アップロードし、上記項目を照合後に各バンクに配布できるシステムを構築し、年度内にシミュレーションを実施し、本格運用の

予定である。なおこれまでの収集データはできる限り TRUMP 形式に変換し一元化形式に統一する予定である。

今後の課題：臍帯血データおよび移植後の患者データのバンク外への提供に関して「個人情報保護法」「医療・介護関係事業者における個人情報の適切な取り扱いのためのガイドライン」「疫学指針」や医学研究分野における関連指針に準じて臍帯血バンクネットワーク全体の合意が得られた後に web 上で臍帯血や移植データの流れや医学研究内容についての情報を公開するシステム作りが課題である。

#### D. 研究発表:

##### 論文発表:

1. Ishige I, Nagamura-Inoue T., Honda J.M, Harnprasopwat R., Kido M., Sugimoto M., Nakauchi H, Tojo A. Comparison of mesenchymal stem cells derived from arterial, venous, and Wharton's jelly explants of human umbilical cord, *Int. J of Hematology*, 90,261-9, Epub 2009.
2. Isoyama K, Oda M, Kato K., Nagamura-Inoue T., Kai S, Kigasawa H, Kobayashi R, Mimaya J, Inoue M, Kikuchi A and Kato S for the Japan Cord Blood Bank Network, Long-term outcome of cord blood transplantation from unrelated donors as an initial transplantation procedure for children with AML in Japan. *Bone Marrow Transplant*, 10,1038,2009
3. Usuki K, Yokoyama K, Nagamura-Inoue T., Ito A, Kida M, Izutsu K, Urabe A, Tojo A. CD8+ memory T cells predominate over naïve T cells in therapy-free CML patients with sustained major molecular response. *Leuk Res.* 33,164-5. 2009
4. Yazaki M, Atsuta Y, Kato K., Kato S, Taniguchi S, Takahashi S, Ogawa H, Kouzai Y, Kobayashi T, Inoue M, Kobayashi R, Nagamura-Inoue T., Azuma H, Takanashi M, Kai S, Nakabayashi M, Saito H; Japan Cord Blood Bank Network. Incidence and risk factors of early bacterial infections after unrelated cord blood transplantation. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 15:439-46. 2009
5. Ikeda K., Nagamura-Inoue T., Kai S., Fujii Y., Ozaki S., Sagawa K., Takamatsu J., Takahashi K., Ohto H.. Questionnaire surveys on cell processing in Japan by the Japanese Society of Transfusion Medicine and Cell Therapy/Japanese Association of Medical Technologists(2007) and by Working Group for Adverse Events of the Transfusion Conference of the University Hospitals(2006)., *Japan J. Transfusion and cell Therapy*, 55,397-404,2009  
  
池田和真 1) 長村(井上) 登紀子 2) 甲斐俊朗 3) 藤井康彦 4) 田中朝志 5) 小崎繁昭 6) 佐川公矯 7) 高松純樹 8) 高橋孝喜 9) 大戸斉 10) 細胞治療に用いる細胞の採取, 処理, 保管に関する調査—2007 年度日本輸血・細胞治療学会と日本臨床衛生検査技師会による「輸血業務に関する総合的アンケート調査」および全国大学病院輸血部会議輸血副作用ワーキンググループによるアンケート調査—日本輸血・細胞治療学会誌55,397-404,2009
6. 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., Koderia 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*, 113,1631-8, 2009
7. Oda M, Isoyama K, Ito E, Inoue M, Tsuchida M, Kigasawa H, Kato K., Kato S. Survival after cord blood transplantation from unrelated donor as a second hematopoietic stem cell transplantation for recurrent pediatric acute myeloid leukemia. *Int J Hematol.* 89,374-82, 2009
8. Muramatsu H, Watanabe N, Matsumoto K, Ito M, Yoshikawa T, Kato K., Kojima S. Primary infection of human herpesvirus-6 in an infant who received cord blood SCT. *Bone Marrow Transplant.* 43,83-4, 2008

図 1.

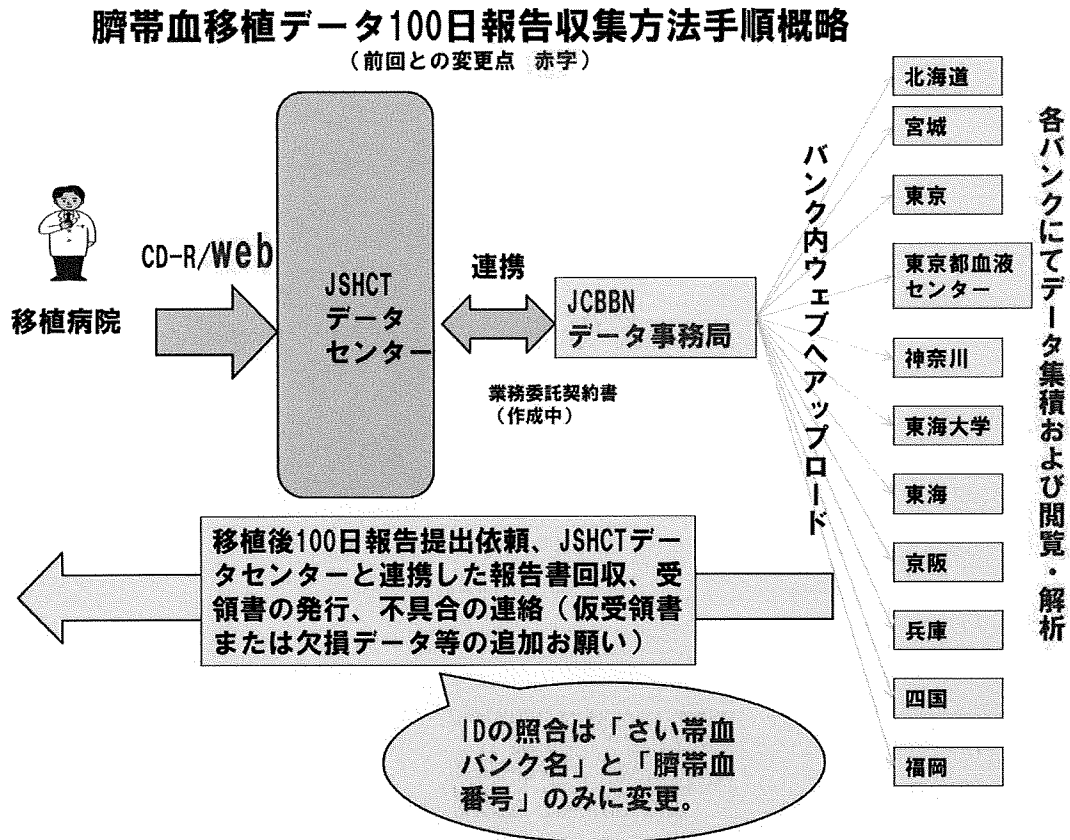
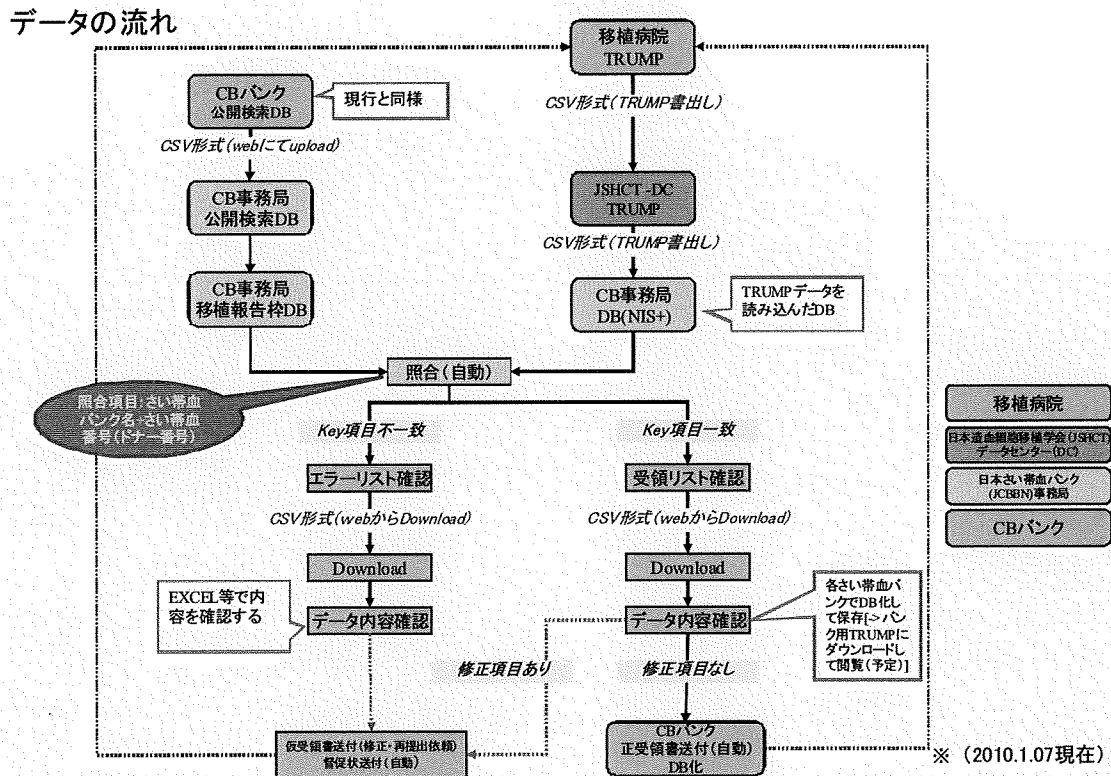


図 2. JCBBN 内での TRUMP 入力データの流れ



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：臍帯血採取法の改良に関する研究

研究分担者 正岡 直樹（東京女子医科大学八千代医療センター・准教授）

研究要旨

臍帯血移植においては移植細胞数の多寡が生着や生存に影響することが知られており、臍帯血の採取量を増加させることによって採取細胞数と移植細胞数を増やすことが期待される。

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、従来法よりも5～20ml程度の採取量を増加させることができることが明らかとなり、その差は統計学的に有意であった。

以上の結果は今後の臍帯血採取病院における採取方法の改良に活かすことができ、臍帯血バンクの効率を向上させることに貢献できるものと考えられる。

A. 研究目的

我が国において臍帯血幹細胞移植は成人領域においても増加し、骨髄バンクの移植数に匹敵するものとなってきており、最近6,000例を突破した。しかし成人の移植にあたっては十分な臍帯血の有核細胞数が必要であり、そのためにはより多量の臍帯血採取が必須となる。すなわち移植に必要な細胞数は $2 \times 10^7$ 個/kg以上で、体重50kgの成人患者では $10 \times 10^8$ 個以上となり、この細胞数を得るためには最低70ml以上の採血量が要求される。従来の研究によって娩出直後に児を母体の腹部に挙上（カンガル

ケア）したうえでの採血の有効性が報告された。

今回、さらに効果的かつ安全に臍帯血採取量を増加させるために考案された新臍帯血採取バックの有効性について検討することを目的とした。

B. 研究方法

平成21年2月1日から平成21年12月31日までの間に東京女子医科大学八千代医療センターにて分娩した、各種産科合併症を有しない経膈分娩100症例を対象とした。内訳は従来型の川澄バックでの採取が50