

ただし、HLA2-3 抗原不適合ドナーから移植を行う場合は、日本骨髄バンク (JMDP) において HLA-A,B,DR 血清型一致かつ遺伝子型で HLA-A,B,DRB1 の不一致が 1 座以内の非血縁ドナーを有さないか、病勢が強く早期の移植が必要であると考えられる症例。

- ③ Performance status が ECOG の基準で 0~1 の症例
- ④ 十分な肝、腎、心、肺機能を有する症例。
 - GOT, GPT が施設正常値上限の 5.0 倍以下
 - 総血清ビリルビン値 2.0mg/dl 以下
 - 血清クレアチニン値 2.0mg/dl 以下
 - PaO₂ 60mmHg 以上または SaO₂ もしくは SpO₂90%以上 (酸素吸入なし)
 - 重篤な心電図異常がなく、心エコーで EF が 50%以上

3) 除外条件の主なもの

- ① コントロール不良な活動性の感染症を有する症例
- ② 骨髄生検にて、骨髄の線維化を認める症例

0-1-5. 移植前処置

移植前処置については特に規定せず、骨髄破壊的レジメン、および強度減量レジメンのいずれも可とする。HLA2-3 抗原不適合移植の場合は、原則として 45 歳以下には骨髄破壊的レジメン、46 歳以上には強度減量レジメンを用いる。

0-1-6. 骨髄投与法 (骨髄内骨髄移植法)

- ① ドナーから灌流法で採取された骨髄細胞は、バッグ遠心法により無菌的に血漿除去を行った後、約 20ml の生理食塩水に再浮遊させる。
- ② 骨髄細胞を脛骨または腸骨の骨髄内に投与する。
- ③ 可能であれば、投与前にレシピエントの骨髄から約 10ml の骨髄液を採取する (骨髄内への注入時の圧を減じるため)。
- ④ 骨髄細胞浮遊液 (約 20ml) を半分ずつ 2 本のシリンジに分け、それぞれを左右の骨髄内に注入する。注入前には、ミダゾラム等による鎮静を行う。穿刺部に対しては、圧迫止血 (およそ 5 分程度) を行い注入した骨髄液が出血と共に漏れないように注意する。

0-1-7. GVHD 予防

GVHD 予防法については、特に定めないが、HLA 適合ドナーからの移植では、サイクロスポリン+短期 MTX を基本とし、HLA 不適合ドナーからの移植ではタクロリムス+ステロイドを基本とした方法を推奨する。

6. 骨髄内骨髄移植に胸腺移植併用の利点

— ヒトへの応用を目指して —

関西医科大学病理学第一講座

池原 進

高齢者に対する骨髄移植の成績は、若年者に比較して思わしくないが、その原因として移植後にドナー造血幹細胞由来のT細胞の機能回復が悪いことが上げられている。これは、高齢者では胸腺の上皮細胞の分化誘導能が低下しているため、十分なT細胞の機能回復が望めないことによる。

われわれは、生後1年近くになると自己免疫性膵炎(AIP)を発症するマウス(MRL/+)に従来の骨髄移植(静脈内骨髄移植)に胎児胸腺(ドナーと同じMHC)移植を併用することによって、AIPを治療し、延命効果が得られることを見出した(Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93: 8558-8562, 1996)。そこで、胸腺移植の臨床応用を視野に入れて、トリプルキメラマウスを作製し、toleranceの状態を解析した。

まず、先天性に胸腺の欠如したBALB/c(H-2^d)ヌードマウスの腎被膜下にB6(H-2^b)のマウスの胎児胸腺を移植し、7Gy放射線照射後、C3H/He(H-2^k)マウスの骨髄細胞を移植し、3か月後に、3者の皮膚を移植した所、いずれの皮膚も拒絶されないことが判明した。但し、3者とは、無関係なDBA/1(H-2^q)の皮膚は拒絶されることから、免疫学的寛容状態が誘導されていることが明らかになった。

以上の結果に基づいて、担癌マウスや、種々の難病のモデルマウス(アルツハイマー病のSAMP8やII型糖尿病のdb/db)を用いて、骨髄内骨髄移植(IBM-BMT)と胸腺移植実験を行い、胸腺移植の併用がいかに重要であるかを紹介する。

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

平成 21 年度第 2 回班会議プログラム

日時：平成 22 年 1 月 30 日（土）13 時 00 分～16 時 00 分

場所：東京医科歯科大学 5 号館 4 階講堂

13:00 厚生労働省ご挨拶 (健康局疾病対策課臓器移植室)

13:10 研究代表者挨拶 加藤 俊一 (東海大学医学部基盤診療学系)

<セッション 1：基礎的研究>

座長 安藤 潔

13:20 造血細胞移植後患者に対する抗麻疹 DC ワクチン—第 1 相臨床試験—

○熊本 忠史、東 英一 (三重大学医学部・細胞移植療法部)

13:30 さい帯血造血幹細胞の老化解析

○八幡 崇 (東海大学医学部・基盤診療学系)、安藤 潔 (同・内科学系)

<セッション 2：臍帯血採取、品質管理、解析法開発>

座長 高橋 聡

13:40 臍帯血採取法の改良に関する研究

○正岡 直樹 (東京女子医科大学八千代医療センター・産婦人科)

13:50 臍帯血の品質管理

○高梨 美乃子 (東京都赤十字血液センター)

14:00 フローサイトメーターを使用したキメリズム解析法と STR-PCR 法の比較検討

○渡辺 信和、大井 淳、塚田 信弘、加藤 せい子、佐藤 亜紀、河北 敏郎、
柳生 友浩、高橋 聡 (東京大学医科学研究所幹細胞治療研究センター)

<セッション 3：基盤整備と臨床研究 (1)>

座長 加藤 剛二

14:10 臍帯血移植データ登録の一元化に向けて

○長村 登紀子、加藤 剛二

(東京大学医科学研究所セルプロセッシング・輸血部、名古屋第一赤十字病院)

14:20 一元化登録の報告

○熱田 由子、鈴木 律朗 (名古屋大学造血細胞移植情報管理・生物統計学)

14:30 HLA-C と臍帯血移植の成績

○甲斐 俊朗、荒木 延夫、原 宏 (兵庫医科大学・輸血部、兵庫さい帯血バンク)

<セッション 4：臨床研究 (2)>

座長 磯山 恵一

14:40 東大医科研の方法による成人臍帯血移植の多施設第 II 相臨床試験—進捗状況—

○高橋 聡、田野崎 隆二 (東大医科研、国立がんセンター中央病院・幹細胞移植科)

14:50 小児臍帯血移植におけるシクロスポリン 3 時間点滴による GVHD 予防法の検討

○松原 央、足立 壮一 (京都大学医学研究科人間健康科学、附属病院・小児科)

15:00 臍帯血 CD4-DLI 臨床試験

○梶原 道子、森尾 友宏 (東京医科歯科大学医学部発生発達病態学分野、輸血部)

<セッション 5：臨床研究 (3)>

座長 谷口 修一

15:10 高齢者造血器疾患に対する臍帯血移植の現状と前方視的試験

○内田 直之、谷口 修一 (虎の門病院血液内科)

15:20 骨髄内臍帯血ミニ移植

○岡田 昌也、吉原 哲、池亀 和博、甲斐 俊朗、小川 啓恭
(兵庫医科大学・血液内科、輸血部)

15:30 臍帯血移植後に発症する臍帯血由来白血病の遺伝子解析

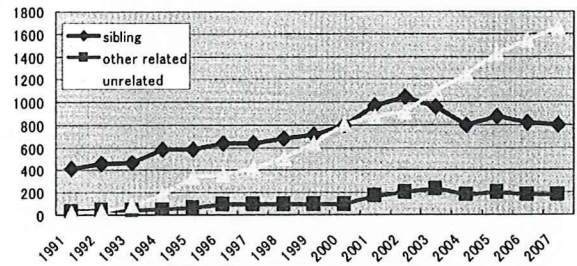
○坂下 一夫、松田 和之、小池 健一 (信州大学医学部小児科、臨床検査部)

平成21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

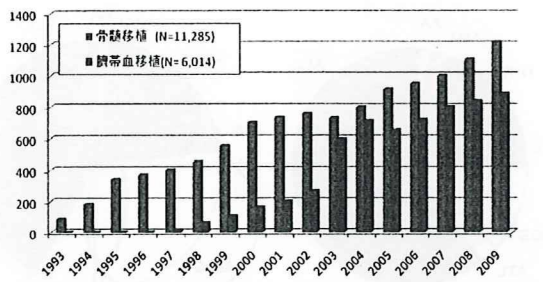
臍帯血を用いる造血幹細胞移植技術
の高度化と安全性確保に関する研究

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)

わが国における同種造血細胞移植
ドナー別推移(JSHCT 1991-2007)

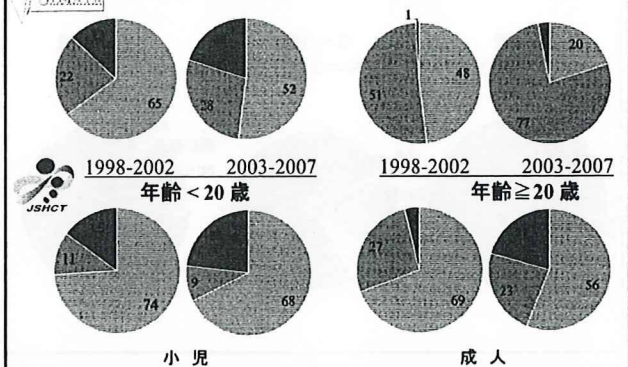


わが国における非血縁者間
骨髄移植と臍帯血移植の推移

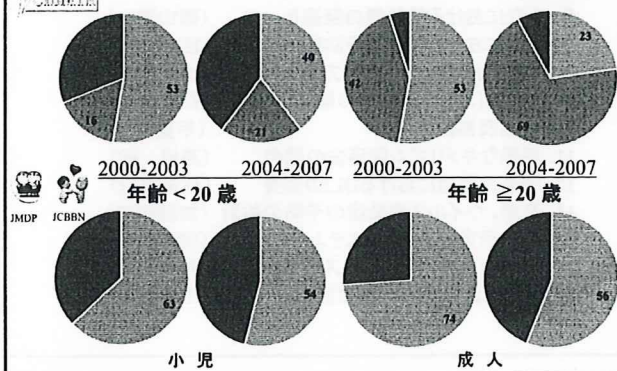


2009年12月31日現在

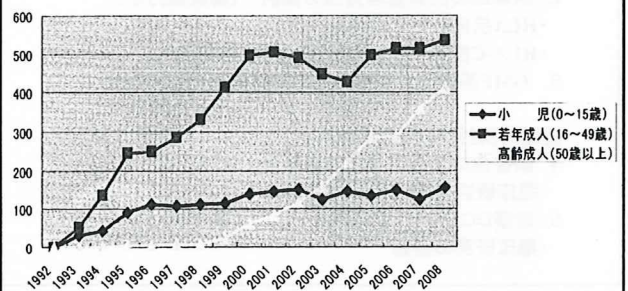
同種造血細胞移植の国際比較
CIBMTRと日本(1998-2007)



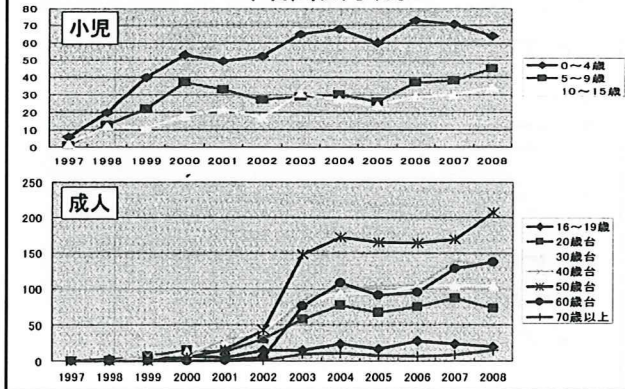
非血縁者間造血細胞移植の国際比較
CIBMTRと日本(2000-2007)



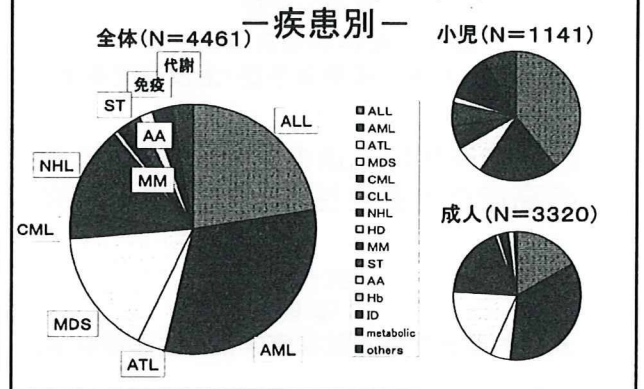
非血縁者間骨髄移植
—小児、若年成人、高齢成人別—



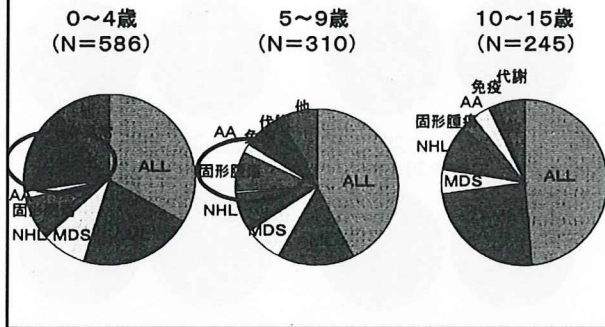
非血縁者間臍帯血移植 — 年齢細分別 —



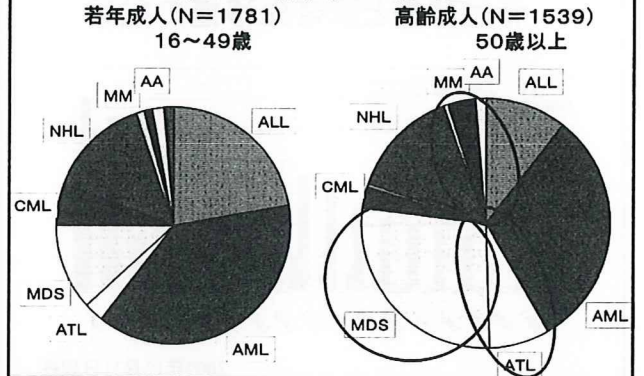
非血縁者間臍帯血移植 — 疾患別 —



小児 臍帯血移植



成人 臍帯血移植



研究班2期目の目標と計画(1)

臍帯血バンクに関する検討

- 臍帯血の採取方法の検討 (正岡直樹)
 - ・臍帯血採取バッグの改良(ニプロと共同開発)
- 臍帯血の品質管理方法の検討 (高梨美乃子)
 - ・HLA抗体と生着の関係
 - ・HLA-C抗原と白血病再発・生存との関係
- GMP基準での細胞処理の経費試算 (河原和夫)

基礎的検討から臨床応用へ

- 臍帯血の骨髄内移植法の開発 (安藤 潔)
 - ・臨床研究の開始 (小川啓恭)
- 麻疹DCワクチンの開発 (東 英一)
 - ・臨床研究の開始

研究班2期目の目標と計画(2)

臨床研究

- 小児における前処置の至適化 (磯山恵一)
- 小児におけるGVHD予防法の至適化 (足立壮一)
- 成人におけるCSTの前方視研究 (田野崎隆二)
- 高齢者におけるRISTの前方視研究 (谷口修一)
- 複数臍帯血移植 (甲斐俊朗)
- 精緻なキメラリズム評価法の開発 (高橋 聡)
- 臍帯血移植におけるDLIの開発 (森尾友宏)
- 真菌、ウイルス感染症の予防の検討 (加藤剛二)
- 臨床研究サポートシステムの整備 (熱田由子)
- 臍帯血移植データベースの確立 (長村登紀子)
- 臍帯血由来細胞の白血病化 (小池健一)

加藤班班会議 平成22年1月30日

造血細胞移植患者に対する 抗麻疹DCワクチンの第I相臨床試験

分担研究 「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」

三重大学小児科・細胞移植療法部
熊本忠史、伊藤美津江、岩本彰太郎、
平山雅浩、東 英一

目的とエンドポイント

- 目的：造血細胞移植後で既存のワクチン接種が困難な時期に、免疫抑制を惹起しない安全な麻疹DCワクチンを接種することにより、移植後に罹患すると致死率が高い麻疹の感染予防を行う。
- エンドポイント：
 - プライマリーエンドポイント：
 - ・安全性の確認
 - セカンダリーエンドポイント：
 - ・麻疹抗体価の上昇
 - ・麻疹特異的B細胞の増加
 - ・ワクチン接種至適時期の設定

対象と投与方法

- ・ 自家あるいは同種造血細胞移植後2年未満の患者。
- ・ 移植後2年以上であっても免疫抑制剤を投与中、など通常の麻疹生ワクチン接種が困難と考えられる患者。
- ・ 投与方法
 - 接種部位と回数：上腕あるいは大腿の皮下に1回接種
 - 1回当たりの接種細胞数：
 - ・ コホート1 2x10⁵ 3例
 - ・ コホート2 1x10⁶ 3例
 - ・ コホート3 5x10⁶ 3例

対象症例とDCワクチン投与細胞数

症例	診断	移植後	ドナー	慢性GVHD	免疫抑制剤	DCワクチン投与細胞数
1	infant-ALL	15M	Unrelated BM	-	-	2 x 10 ⁵
2	T-ALL	27M	Double CB	-	-	2 x 10 ⁵
3	NB	29M	Auto BM	-	-	2 x 10 ⁵
4	AA	12M	Unrelated BM	-	FK506	10 x 10 ⁵
5	Ph1-ALL	14M	Unrelated BM	-	-	10 x 10 ⁵
6	AML	10Y	Related BM	+	FK506	2月18日

安全性

- ・ 5例すべてにおいて接種後24時間以内の有害事象の発生なし。

症例 1

症例 2

症例 3

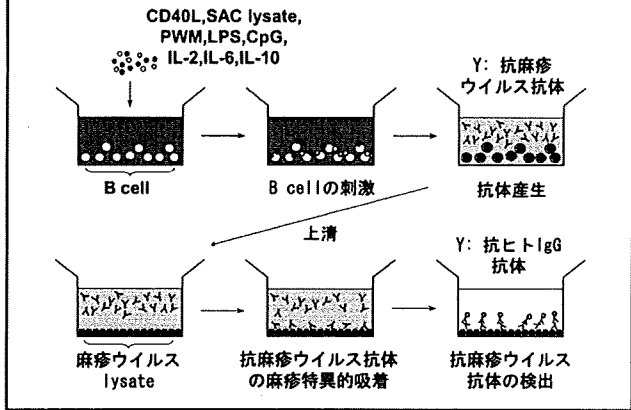


- ・ 4例において接種後6週以内の有害事象の発生なし（1例は接種後5週）。
- ・ 5例すべてのDCワクチンの細菌・真菌PCR陰性、エンドトキシン陰性

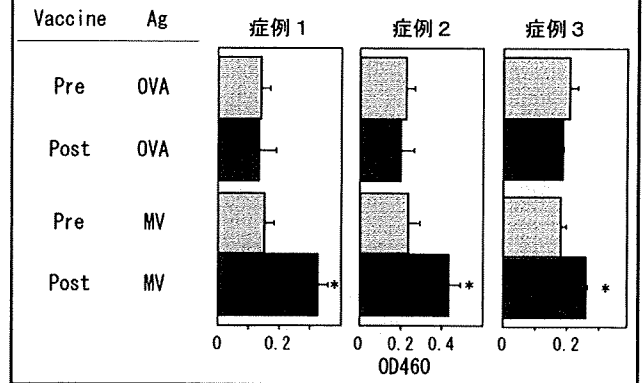
血清麻疹抗体価

症例	コホート	HI		ELISA	
		Pre	Post	Pre	Post
1	1	<8	<8	<2.0	3.2
2	1	<8	<8	<2.0	2
3	1	<8	<8	<2.0	<2.0
4	2				
5	2				
6	2				
健康成人	1	8	8	30.7	33.8

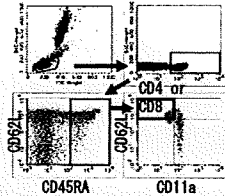
麻疹特異的メモリーB細胞の測定



麻疹特異的B細胞

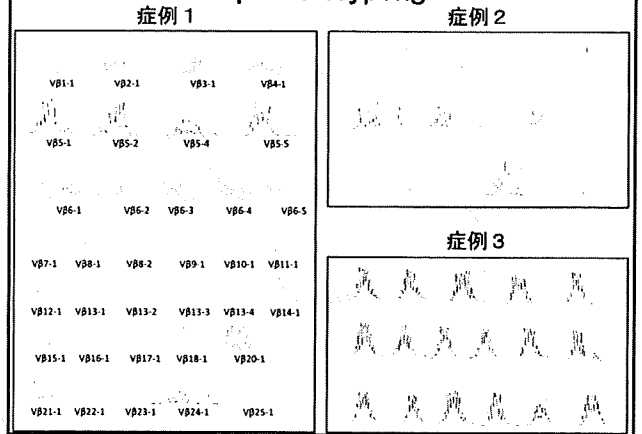


True naive T cell



症例	コホート	WBC	TN-CD4	TN-CD8
1	1	17450	1106	624
2	1	7240	139	130
3	1	7600	328	362
4	2	5990	190	138
5	2			
6	2			

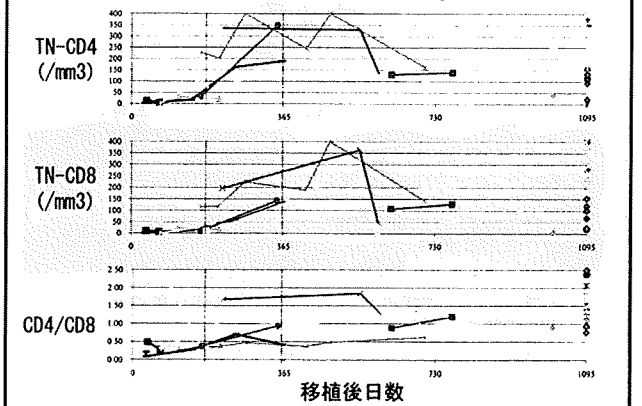
Spectratyping



Spectratyping

症例	コホート	ピーク数
1	1	9.4
2	1	7.0
3	1	11.5
4	2	
5	2	
6	2	

True naive T cell in HST pts (n=34)



まとめ

- ・造血細胞移植後の患者3例に 2×10^5 、2例に 10×10^5 の抗麻疹DCワクチンを接種した。
- ・副反応は認めず、安全性が確認された。
- ・3例中2例に血清麻疹抗体価の陽転をEIA法で認めた。
- ・3例中2例に麻疹特異的B細胞の増加を認めた。
- ・ワクチン接種時期の設定法として、現在末梢血true naive T cellとT cell repertoireを検討中である。
- ・TN-CD4 T cell数は、CD4/8比と比較して、HCT後早期に回復する傾向にあった。

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
会議

平成 22 年 1 月 30 日

於 東京医科歯科大学湯島キャンパス 5 号棟 4 階講堂

臍帯血造血幹細胞の老化解析

東海大学医学部 ○八幡 崇、安藤 潔

臍帯血造血幹細胞 (HSC) を免疫不全マウスに移植すると、マウス骨髄内にヒトの造血系が再構築する。移植された HSC は盛んな増殖反応を伴う造血再生を行わなければならない。この HSC の過度の細胞分裂は酸化ストレスの蓄積などを誘導する。その結果、自己複製能の低下、すなわち、幹細胞の早期老化を誘導し、組織再生機構の破綻に至る危険性が増大する。このことは、移植した幹細胞の生着不全や白血病の再発などといった深刻な問題の大きな要因となる。したがって、より安全で有効な再生医療法の確立のためには、幹細胞の組織再生能力を最大限に引き出すことと同時に、幹細胞の老化機構の理解に基づいた幹細胞機能を長期的に維持する戦略の確立が重要である。

我々はヒト HSC を免疫不全マウスに移植し、ヒト造血系を再構築させた後、再度別個体に移植を繰り返すことにより、ヒト HSC の幹細胞活性が著しく低下し、多くの HSC が幹細胞プールから枯渇してしまういわゆる早期老化状態に陥ることを明らかにした。そこで、移植前、1 次移植、2 次移植の各段階における CD34+CD38-細胞の性状解析を行なった。その結果、移植の進行にともなって CD34+CD38-細胞の活性酸素種 (ROS) レベルが上昇するとともに、 γ H2AX を指標とした DNA 損傷が、特に 2 次移植骨髄に生着している CD34+CD38-細胞において顕著に蓄積していることを見いだした。この DNA 損傷の蓄積は CD34+CD38+の前駆細胞集団には認められなかった。DNA 損傷は、不可逆的な細胞周期の停止状態、いわゆるセネッセンスを誘導することから、細胞老化の主因として注目されている。ROS の増加と DNA 損傷の関係を明確にするために、試験管内において CD34+CD38-細胞に L-Buthionine-sulfoximine (BSO) を添加して培養することにより細胞内 ROS の蓄積を誘導したところ、BSO の濃度依存的に DNA 損傷が引き起こされた。DNA 損傷によってヒト HSC における ink4a などの CDKI の発現が亢進し、細胞増殖停止状態に陥っていた。さらに、ROS による DNA 損傷を受けたヒト HSC の骨髄再建能が低下していた。ROS による DNA 損傷は抗酸化剤である N-Acetyl-L-Cysteine (NAC) の添加によって抑制された。重要なことに、複数

回移植実験系において NAC をマウスに投与することにより、ヒト HSC における DNA 損傷の蓄積が回避され、非常に高い自己複製能を維持するということを明らかにした。以上の結果から、長期造血再生反応を繰り返すと、ヒト HSC 内の ROS レベルの上昇し、DNA 損傷の蓄積によって誘導される senescence に至るために、ヒト HSC が造血再生能を失うということを見だし、抗酸化剤の投与によって改善可能であることを明らかにした。

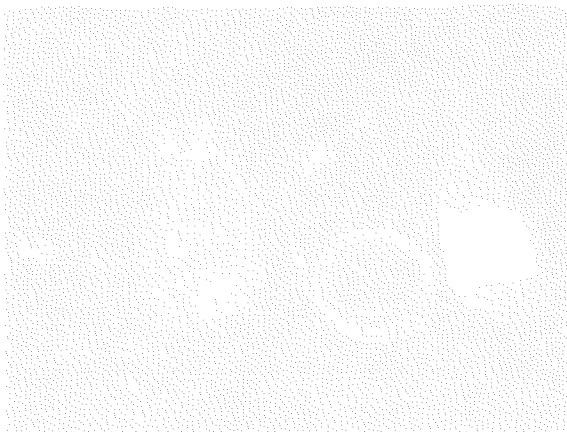
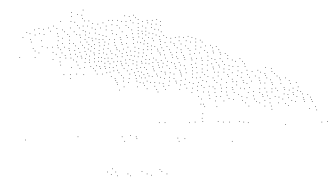
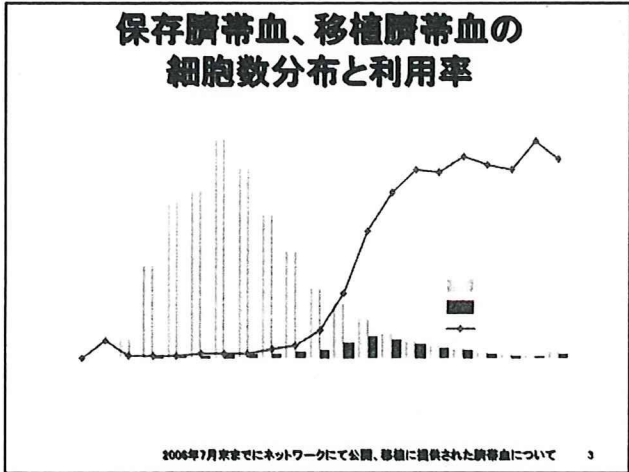
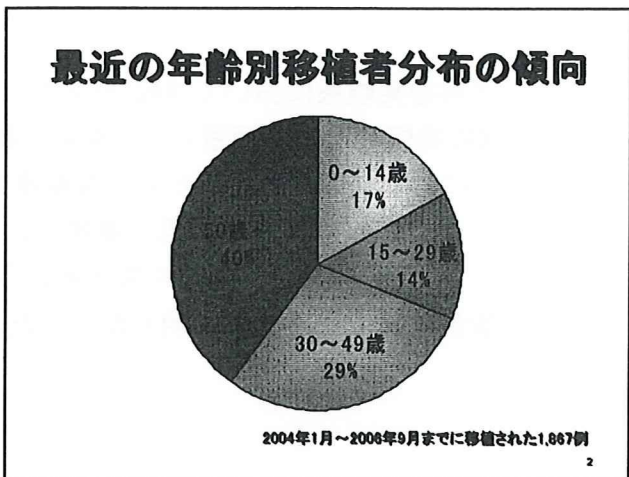
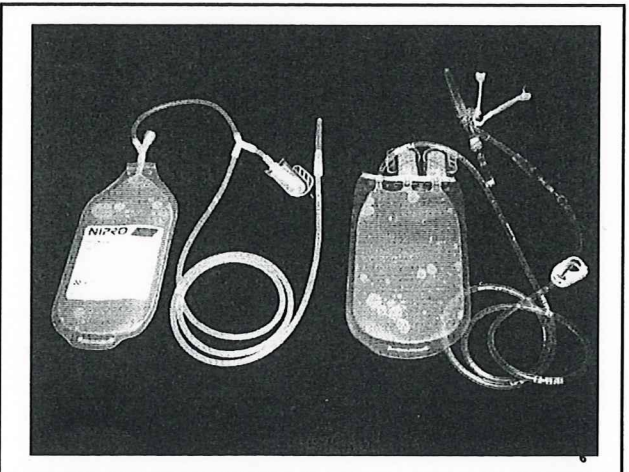
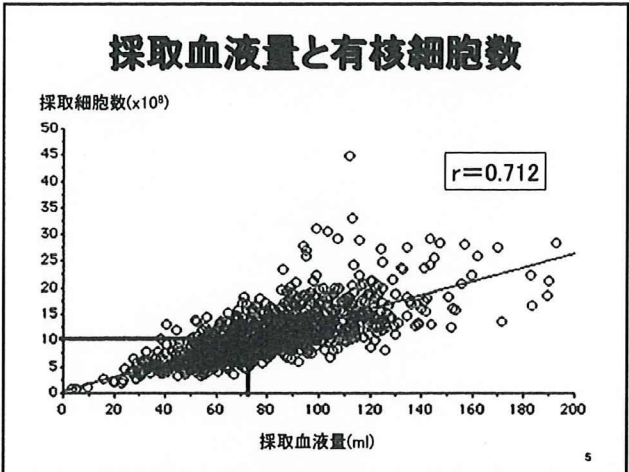


Figure 1. Effect of NAC on HSC self-renewal and senescence.





- ### 保存さい帯血の有核細胞数
- 保存最低限の細胞数(2003年春変更後)
 3×10^8 個以上 \Rightarrow 6×10^8 (6億)個以上
 * 体重15kg \Rightarrow 30kg以上の患者に移植できる
 - 移植に必要な細胞数
 2×10^7 個/kg以上(患者体重あたり)
 * 体重50kgの成人患者では 10×10^8 (10億)個以上が必要



新型臍帯血採取バックの特徴

- 1、留置針がソフトなものとなり、採取中に臍帯を穿通したり、針刺し事故を防止できる。
- 2、針先が多孔性になっており、血液採取の効率化が期待できる。
- 3、付属の留置針を固定する器具を使用することによって、両手が自由となり、臍帯を抜くことが容易となる。

7

目的

- 我が国において臍帯血幹細胞移植は成人領域でも増加し、骨髄バンクの移植数に匹敵するものとなってきている。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。
- 今回、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し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。

8

対象と方法

- 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陰分娩100症例を対象とした。
- 従来型の川澄バックでの採取が50例、ニプロ社の考案による新採取バック50例。
- すべての妊婦からは文書によって臍帯血採取の同意を得た。また新採取バックでの採取の際は、これが十分な量であっても保存されず、実地臨床の場へ供されることもなく、採取方法改良の検討のために使用されることを説明した。
- 採取には3人の医師があたった。
- 両群を無作為化するため、奇数日の分娩は従来型バックで、偶数日の分娩は新バックでの採取とした。

9

対象と方法

- 採取血液量、有核細胞数、CD34陽性細胞数の測定は、第3者である東京臍帯血バンクに依頼した。

10

結果(1)

	川澄現行バック n=50	新ニプロバック n=50
臍帯血採取週数	39.17±1.31	39.10±1.16
初産/経産	28/22	31/19
母体年齢	31.69±4.12	30.30±5.16
新生児体重(g)	3028.1±310.2	2994.6±283.6
臍帯血採取量(g)	80.2±26.9	96.8±28.2* (p<0.05)

11

結果(2)

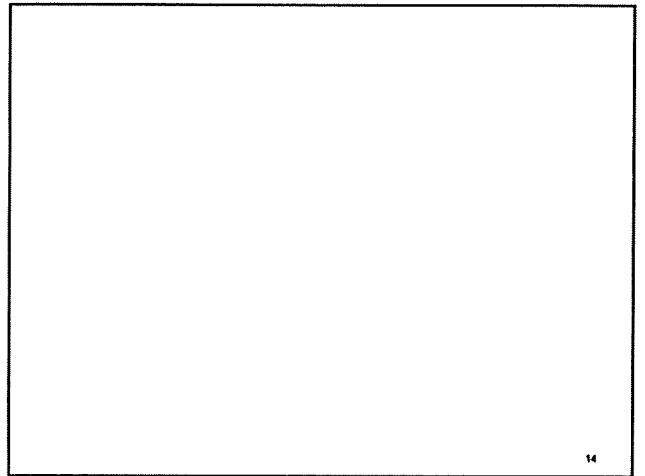
臍帯血採取量の期間別検討

	川澄現行バック	新ニプロバック
初期(No1~25)	82.6±27.0	88.8±28.7
後期(No26~50)	79.5±27.2	98.4±27.4* P<0.05

12

■ 今回、ほぼ同等の条件下で検討し、新臍帯血採取バッグで多くの臍帯血を採取できる可能性が示唆された。実際、現行の臍帯血採取バッグには採取医師が慣れている一方、新バッグの取り扱いには開始当初は不慣れな点があったことも事実であり、実際、使用経験が増すにつれ採取量も増加したことも証明された。

13



14

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

第2回会議 2010年1月30日

臍帯血の品質管理と評価

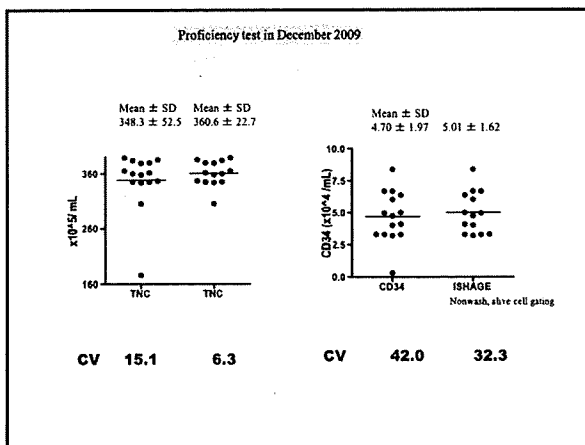
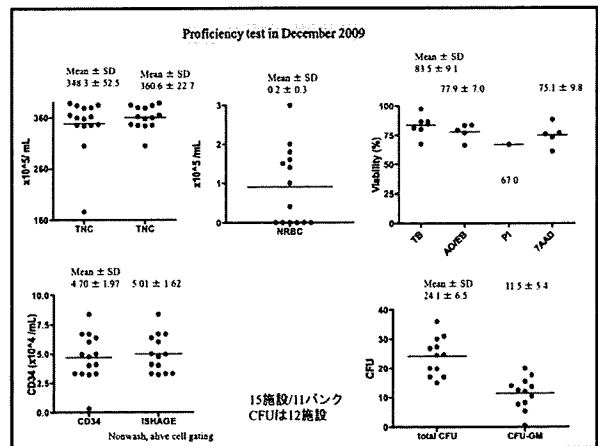
東京都赤十字血液センター 高梨 美乃子
東北大学 峯岸 正好
名古屋大学 熱田 由子

臍帯血バンク検査標準化

- (1) 再現性検討 NWとしては終了、
各バンクでの教育訓練の一環
- (2) 凍結検体配布による多施設比較試験
継続、第4回目を施行
- (3) 無菌検査法
最終産物を補完する為に新基準を提案
- (4) 臍帯血の品質基準
CD34, CFU最低基準を提案
- (5) recipient抗HLA抗体

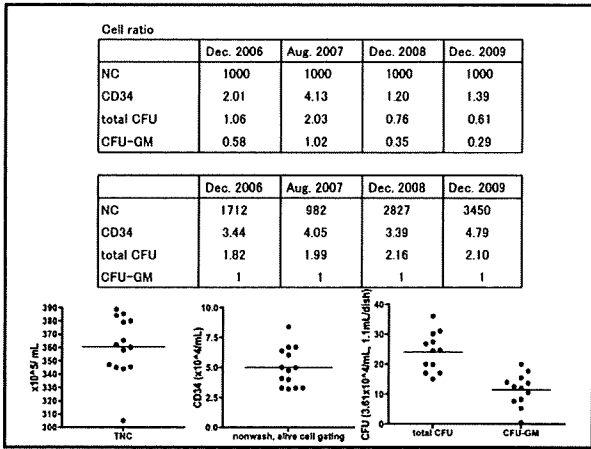
臍帯血バンク 調製保存 標準化

- (1) 採取後保管時間と温度 継続
原材料の条件
時間が経てば品質は劣化する
- (2) 調製保存手技の統一
赤血球除去、buffy coat層濃縮の手技
効率のvalidation
凍結融解後の回収率のvalidation
細胞数計算方法の統一



CV値

細胞数	Fresh			Frozen			
	Feb.2009	Oct.2009	Nov.2009	Dec.2006	Aug.2007	Dec.2008	Dec.2009
総有核細胞数	7.0	5.8	4.7	6.6	5.6	4.1	6.3
うちnRBC				79.2	46.3	53.9	108.7
nRBC%				79.3	45.7	52.2	107.1
生細胞数	9.6	5.0	2.1	10.4	10.8	13.5	11.9
トリインフルー				7.5	11.0	15.8	10.9
AO/EB				8.2	2.1	8.8	9
7AAD				12.8	12.3	18.7	13.1
CD34陽性細胞数							
全施設	45.6	35.0	14.1	54.7	30.6	39.8	42
生細胞、ピース		8.9		14.8	15.1	15.8	32.3
コロニーアッセイ							
BFU-E	24.3	33.3	21.3	34.1	38.4	48.4	25.5
CFU-GM	39.7	26.1	20.4	42.4	49.2	44.5	47.3
CFU-mix	91.7	100.0	51.6	82.2	107.2	80.2	85.6
total CFU	30.6	25.0	14.7	31.9	34.0	40.7	26.9

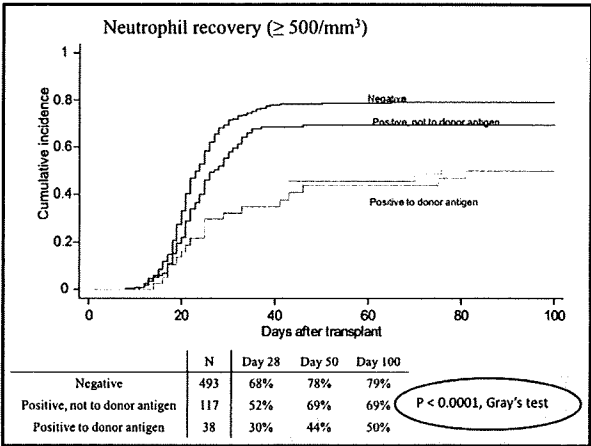


患者移植前抗HLA抗体についての解析

(1) 検査法: FlowPRA, LabScreen; class I and class II, IgG
 (2) 移植条件: 初回単一臍帯血移植、造血管腫瘍

CBB	検体数	解析症例数
北海道	27	16
東京	170	126
日赤東京	475	331
東海大学	131	82
兵庫	52	26
福岡	46	32
京阪	42	35
計	943	648

移植歴: なし
 疾患名: 固形癌、非腫瘍性疾患は除外
 生着日不明、最終観察日不明、移植当日に死亡、は除外
 前処置 なし/免疫抑制剤のみ、GVHD予防 なし、は除外



Multivariate analysis

		Hazard Ratio	95%CI	P value
Neutrophil recovery	Negative anti-HLA IgG	1.00		
	Positive, not to donor antigen	0.75	(0.58 - 0.98)	0.034
	Positive to donor antigen	0.42	(0.25 - 0.70)	0.00081
Platelet recovery	Negative anti-HLA IgG	1.00		
	Positive, not to donor antigen	0.83	(0.61 - 1.13)	0.23
	Positive to donor antigen	0.52	(0.30 - 0.91)	0.022
Grade 2 to 4 acute GVHD	Negative anti-HLA IgG	1.00		
	Positive, not to donor antigen	0.82	(0.55 - 1.22)	0.32
	Positive to donor antigen	0.58	(0.25 - 1.38)	0.21
Relapse	Negative anti-HLA IgG	1.00		
	Positive, not to donor antigen	1.52	(0.98 - 2.37)	0.063
	Positive to donor antigen	1.28	(0.67 - 2.46)	0.45
Transplant-related mortality	Negative anti-HLA IgG	1.00		
	Positive, not to donor antigen	0.85	(0.57 - 1.28)	0.44
	Positive to donor antigen	1.23	(0.69 - 2.20)	0.48
Overall mortality (OS)	Negative anti-HLA IgG	1.00		
	Positive, not to donor antigen	0.99	(0.73 - 1.38)	0.973
	Positive to donor antigen	1.18	(0.74 - 1.87)	0.487
Treatment failure (EFS)	Negative anti-HLA IgG	1.00		
	Positive, not to donor antigen	1.12	(0.85 - 1.47)	0.421
	Positive to donor antigen	1.74	(1.19 - 2.55)	0.005

Other significant variables

	Relative risk	P value
Neutrophil recovery		
Diagnosis: MDS or AML with multilineage dysplasia	0.84	0.0035
Disease status: advanced risk	0.78	0.014
CD34+ cell dose $\leq 0.83 \times 10^5/\text{kg}$	0.56	<0.0001
G-CSF	1.91	0.0013
Platelet recovery		
Disease status: advanced risk	0.85	0.0001
CD34+ cell dose $\leq 0.83 \times 10^5/\text{kg}$	0.66	<0.0001
GVHD prophylaxis: with MTX	1.39	0.013
Grade II to IV acute GVHD		
CD34+ cell dose $\leq 0.83 \times 10^5/\text{kg}$	0.65	0.0025
Preparative regimen: RIST	0.66	0.016
Relapse		
Disease status: advanced risk	3.48	<0.0001
GVHD prophylaxis: Tac vs CyA	1.44	0.038
TRM		
patient age >45 years old	1.95	0.00026
Disease status: advanced risk	1.54	0.011
CD34+ cell dose $\leq 0.83 \times 10^5/\text{kg}$	1.38	0.031
GVHD prophylaxis: Tac vs CyA	0.81	0.0014
GVHD prophylaxis: with MTX	0.60	0.0099

Other significant variables on survival

	HR	95%CI	P value
EFS			
patient age >45 years old	1.59	(1.26 - 2.02)	<0.0001
disease status: advanced risk	1.99	(1.56 - 2.54)	<0.0001
DFS			
patient age >45 years old	1.83	(1.43 - 2.36)	<0.0001
disease status: advanced risk	2.56	(1.96 - 3.35)	<0.0001
OS			
patient age >45 years old	1.89	(1.44 - 2.49)	<0.0001
CD34+ cell dose $\leq 0.83 \times 10^5/\text{kg}$	1.29	(1.03 - 1.63)	0.028
disease status: advanced risk	2.24	(1.68 - 3.00)	<0.0001
GVHD prophylaxis: with MTX	0.72	(0.54 - 0.96)	0.025

混合キメリズム解析は、造血細胞移植後の生着不全や再発の診断に有用である。STR-PCR 法と XY-FISH 法が普及しているが、手技が複雑で時間を要し、レシピエント由来細胞が検出されても、直接その種類を同定することができない。我々は、抗 HLA 抗体とフローサイトメーターを使用した HLA ミスマッチ移植後のキメリズム解析法（HLA-Flow 法）を考案し、病態解析におけるその有用性を報告してきた。今回、本法を STR-PCR 法と比較検討したので報告する。

対象は、東大医科研および関東造血幹細胞移植共同研究グループ（KSGCT）の各病院で2005年5月から2009年9月までの間に移植を受けた13名の造血器悪性腫瘍の患者である。研究は倫理審査委員会で承認されたプロトコールに従い、患者に趣旨を説明して同意を受けてから検体を採取した。検体の採取は、移植後1、2、3、4週目、2、3、4、6ヶ月目、および1、1.5、2年目の計11回を予定した。全時点で末梢血の解析を行い、移植後4週目と6ヶ月目以降の計5回は骨髄細胞の解析も行った。STR-PCR法はエス・アール・エル社に依頼し、全血あるいは骨髄液から抽出したDNAを使用した。HLA-Flow法は、全血あるいは骨髄液からFicollで分離した単核細胞を使用し、臨床で汎用されることを念頭にドナーとレシピエントを判別する2カラー解析を行った。

移植後 1、2 週目の生着のモニタリングでは、13 例中 9 例で STR-PCR 法がより高いレシピエント由来細胞の頻度を示した。その理由として、STR-PCR 法では単核細胞に加え、レシピエント由来の顆粒球系細胞を含めて解析しているためと考えられた。3 週目はドナー由来細胞がほとんど消失するため、生着が確認された 10 例では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。残りの 3 例中 1 例は、3 週目で死亡した。1 例の患者では、移植後 3 週目以降キメリズムが遷延したが、両解析法によるモニタリングの結果は良い相関を示した。4 週目に再発した 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。

移植後 4 週目以降に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。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。分化傾向を示す白血病では顆粒を持った比重の高い白血病細胞が出現し、これらが Ficoll 法における単核細胞分画に残らなかったためと思われる。

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。しかしながら、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。

厚生労働省科学研究費補助金（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

課題名：「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

分担課題名：「臍帯血バンクにおける移植データ管理」

分担研究者：長村登紀子（東京大学 医科学研究所 附属病院）、
加藤剛二（名古屋第一赤十字病院）

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。今年度は TRUMP に入力した移植成績データを 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。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 事務局を経由して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：

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年末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形式に変換一元化の予定である。

図1.

臍帯血移植データ100日報告収集方法手順概略

(前回との変更点 赤字)

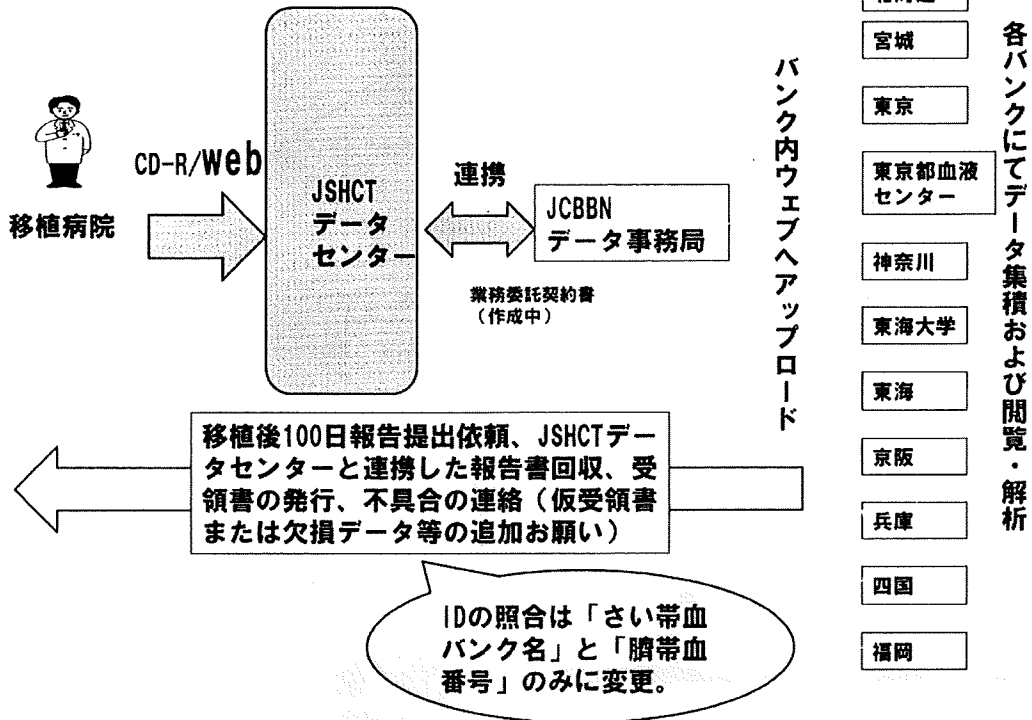
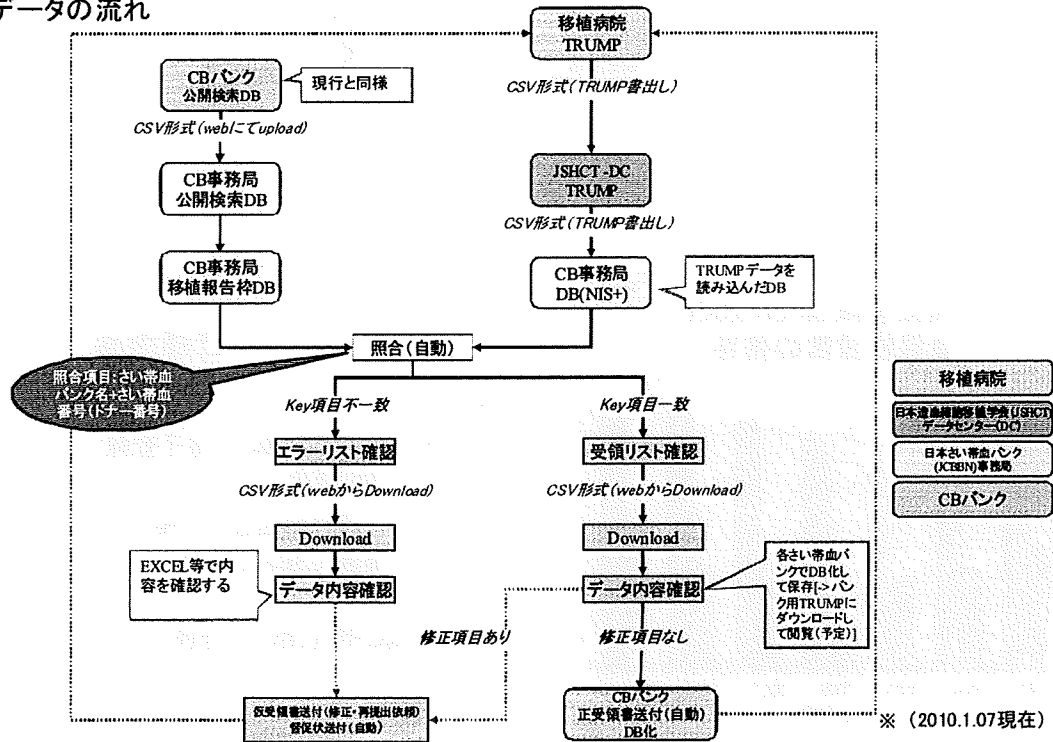


図2. JCBBN 内での TRUMP 入力データの流れ

データの流れ

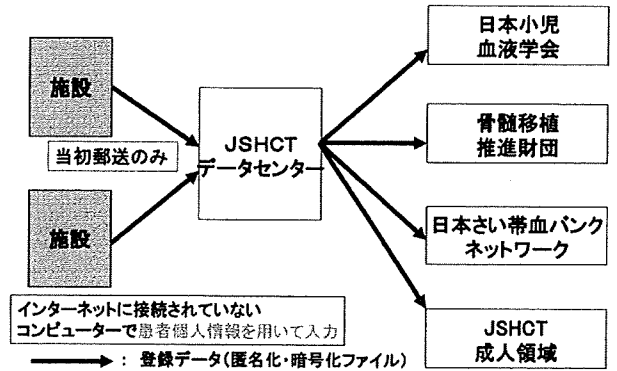


一元化登録の報告

熱田由子、鈴木律朗

名古屋大学大学院医学系研究科
 造血細胞移植情報管理・生物統計学

一元化・電子化登録 Since 2006



提出データのWeb送信

移植登録一元管理プログラム TRUMP

お申し込み | ダウンロード | セットアップ手順 | 更新履歴 | WEBデータ受付 | Q&A | ご意見

JSHCT WEB データ受付

JSHCT 台帳登録 本登録
 (印刷必須項目)
 登録施設名

送信者氏名

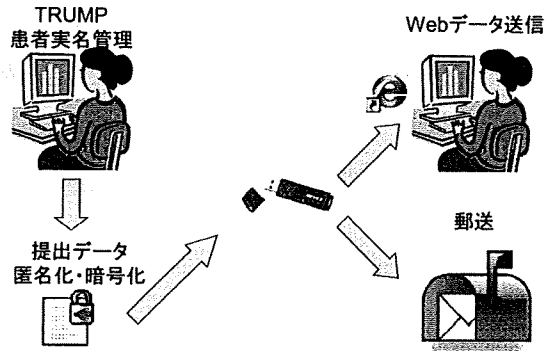
送信者メールアドレス(受領メールが届きます)

送信者メールアドレス確認(上と同じアドレスを再度ご入力下さい。)

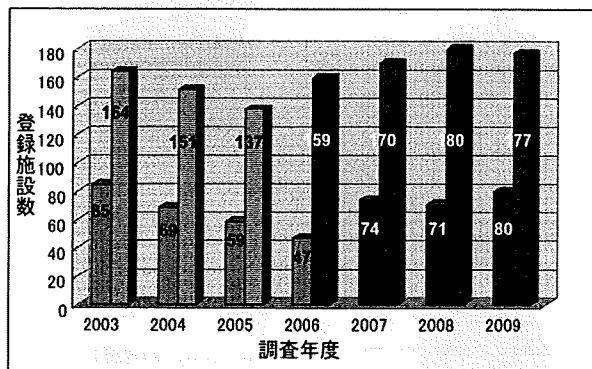
提出ファイル(例 C:\Users\example\Desktop\提出データXXXXXX.jstf)

登録 同意の上、送信

Webデータ送信の運用



一元化登録 since 2006 登録施設数の推移



登録形態

- TRUMPを用いた電子登録
 - Web送信
 - 96 / 256施設、37%
 - 郵送 (USBメモリースティック・CD-Rなど)
- 紙CRFを用いた登録 1/257

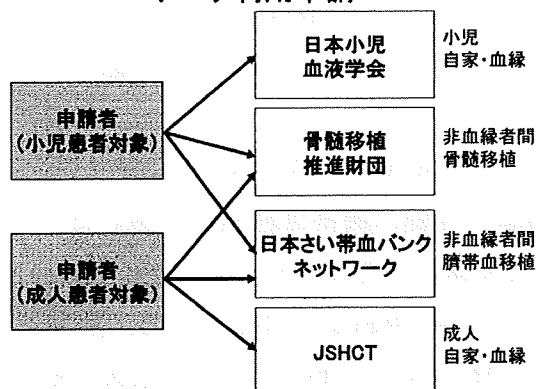
登録情報の安全性

- 郵送・送信トラブル
- なし
- 郵送時の媒体(メモリースティック)のウイルス感染
- なし

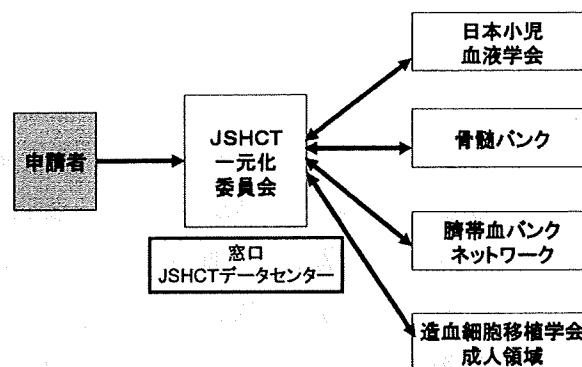
データ返還

- 2005年度までに紙調査票で登録されたデータをTRUMP形式に変換し、施設へ返還
- スケジュール
 - **JSHCT** 成人自家・血縁(2008年1月)
 - **JSPH** 小児自家・血縁(2008年12月)
 - **JMDP** 非血縁骨髓(2008年12月)
 - **JCBBN** 非血縁臍帯血(2010年度予定)

2008年度までの データ利用申請



データ利用の一元化 2009年4月から



データ利用の一元化により

- Registryをまたがるデータ利用が効率的に
- 二次(追加)調査が可能に
 - TRUMPにない調査項目
 - 別途JSHCT倫理審査委員会での承認が必要
- 同一施設内で投稿が終わっていない場合でも別の申請者からの申請が可能

データ利用申請実績 (2009.4-2009.12)

- 2009年申請件数
- 13件
- 複数registry対象
- 9件
- 論文作成目的
- 9件
- 二次(追加)調査
- 3件