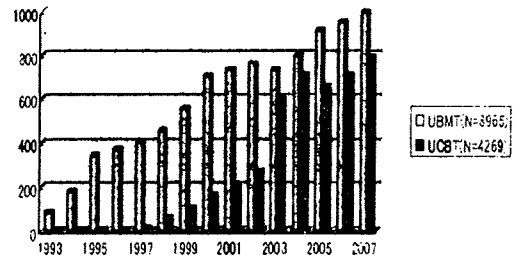


平成20年度  
厚生労働科学研究費補助金  
免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業

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

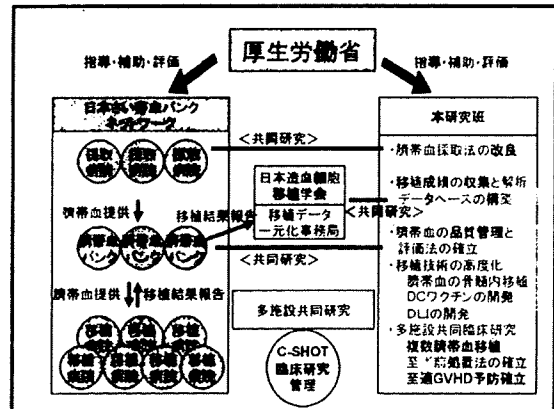
研究代表者 加藤俊一  
東海大学医学部基盤診療学系  
再生医療科学

### わが国における非血縁者間 骨髄移植と臍帯血移植の推移



### 研究班の目的と目標: 1期目

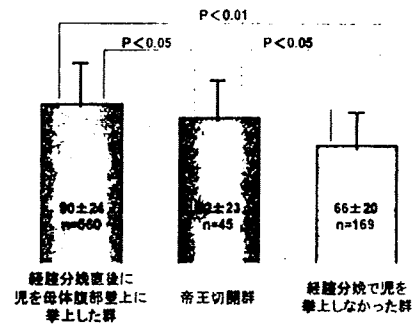
- ・ 臍帯血移植を量の拡大から質の向上へ
- ・ 臍帯血採取量増加のための手技改善
- ・ 分離保存技術の向上による安全性確保
- ・ 移植データ一元化による移植情報の共有
- ・ 過去の移植データの解析と論文化
- ・ 臨床研究支援組織による臨床研究管理
- ・ 多施設共同研究による移植方法の標準化
- ・ 単一施設内での新規技術の開発



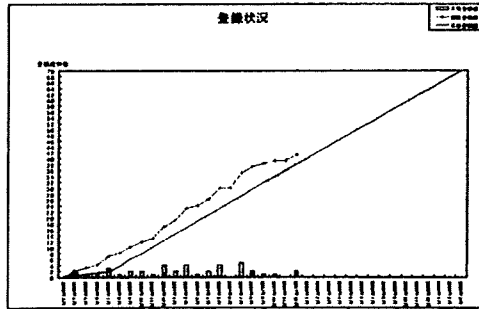
### 1期目のまとめ

- 目標どおりに達成できたこと
- ・ 臍帯血採取 カンガルーケアの採用と普及
  - ・ 移植データの一元化
  - ・ 移植データの解析と学会発表・論文化
  - ・ 臨床研究推進のための基盤整備
  - ・ 複数臍帯血移植の臨床研究
- 達成の途上で、継続研究が必要なこと
- ・ 臍帯血移植の標準的治療方法の確立
  - ・ 臨床研究の継続(成人、小児、第一相臨床試験)
  - ・ 臍帯血の医薬品化の可否

### 採取方法別の採取血液量検討



## 複数臍帯血移植の進捗状況



## 2期目の大目標

- 採取から移植までの網羅的研究
- 量から質へ
- retrospective解析からprospective研究へ

## 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

1. 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)
2. 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

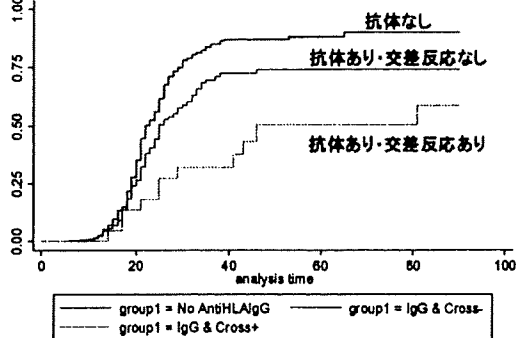
基礎的検討から臨床応用へ

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

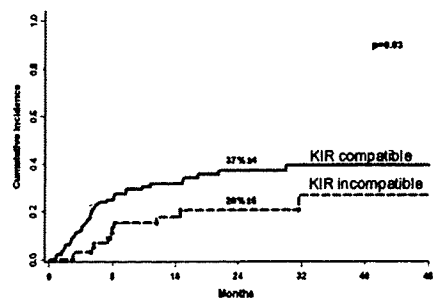
## 新しい採取バッグの開発



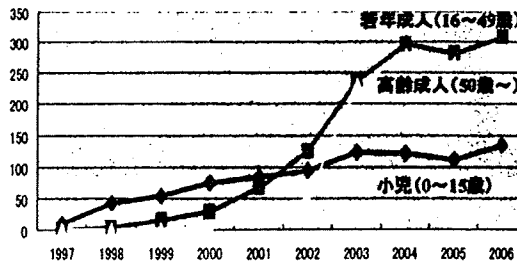
## HLA抗体の有無と好中球生着



## KIR適合と白血病再発



### 小児・成人別移植数の推移



### 研究班2期目の目標と計画(2)

#### 臨床研究

5. 小児における前処置の至適化 (磯山恵一)
6. 小児におけるGVHD予防法の至適化 (足立壮一)
7. 成人におけるCSTの前方視研究 (田野崎隆二)
8. 高齢者におけるRISTの前方視研究 (谷口修一)
9. 複数臓器移植 (甲斐俊朗)
10. 精緻なキメリズム評価法の開発 (高橋 聡)
11. 臓器移植におけるDLIの開発 (森尾友宏)
12. 真菌、ウイルス感染症の予防の検討 (加藤剛二)
13. 臨床研究サポートシステムの整備 (熱田由子)
14. 臓器移植データベースの確立 (長村登紀子)

### 研究班2期目の目標と計画(3)

#### 特別研究: 臓器移植の医薬品化に関する研究

目的: 臓器移植を医薬品とすることができるかを調査研究

15. 法律、指針との整合性 (山口一成、小澤敬也)
16. GMP基準、GTP基準適用の妥当性 (山口照美)
17. 臓器移植バンク技術水準 (高梨美乃子、甲斐俊朗)
18. GMP基準細胞処理経費 (伊藤仁也、前川 平)
19. GMP基準での細胞処理の経費試算 (河原和夫)
20. 国際的な動向の調査 (川上浩司)
21. ヒト幹細胞臨床応用基準との整合性 (中畑龍俊)
22. 総括 (加藤俊一)

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」班  
平成 20 年度 第 1 回班会議

平成 20 年 6 月 6 日

「骨髄内臍帯血移植の基礎的検討」

東海大学医学部 基盤診療学系 再生医療科学  
研究分担者：安藤 潔、○吉場史朗、佐藤敦子、加藤俊一

研究目的

造血幹細胞移植のソースの一つである臍帯血の移植数は増加しつつあるが、採取できる臍帯血の量には限りがあり、十分な量の臍帯血を得られないという問題点がある。

本検討ではこの問題点を解決するために、免疫不全マウス (NOD/SCID マウス) を用いて複数のヒト臍帯血由来造血細胞 (CD34 陽性細胞) を移植した場合の生着やキメリズムについて検討した。また、臍帯血移植の移植ルートとして現行の静脈内移植 (iV) の代わりに直接に骨髄内移植 (iBM) する方法を検討し、免疫不全マウスに対して臍帯血の骨髄内移植と静脈内投与とでの生着率の違いについて検討したので報告する。

材料および方法

1. ヒト臍帯血由来造血幹細胞 (CD34 陽性細胞) の調製

ヒト臍帯血から Ficoll 法により MNC を分離し、CD34 分離ビーズを用いて純化 CD34 陽性細胞を回収した。CD34 陽性細胞は FACS により CD34 および CD38 について解析してランク分けし、セルバンカーに浮遊させて使用時まで液体窒素中に保存する。使用時には CD34 および CD38 について FACS にて再解析し、colony についても確認した。

2. CD34 陽性細胞の免疫不全マウス (NOD/SCID) への投与および解析方法

免疫不全マウス (NOD/SCID マウス、7~9 週齢) を用い、静脈投与 (iV) および/または骨髄内投与 (iBM) により CD34 陽性細胞を移植する。移植後 8~12 週で Sacrifice し、血液 (Pb)、脾臓 (Sp)、左右大腿骨および頸骨内骨髄 (BM-R1、R2、L1、L2) を採取し、得られた細胞のヒト CD45 の発現を FACS により解析した。さらに、各細胞の DNA を抽出し、Ch17 PCR 解析によりヒト血液関連細胞の発現を確認した。また DNA の STR 解析を行うことにより、複数臍帯血移植後の生着細胞がどちらの由来なのか、生着細胞のキメリズムを確認した。

さらに、免疫不全マウス (NOD/SCID マウス、7~9 週齢) を用い、静脈投与 (iV) および/または骨髄内投与 (iBM) により CD34 陽性細胞と CD3 陽性細胞を移植した。移植後 12 週で Sacrifice し、上記と同様にヒト CD45 の発現ならびにを FACS により解析し、由来生着細胞のキメリズムを確認した。

結果と考察

(1) 移植ルートの違いによる Lineage の比較

NOD/SCID マウスを静脈投与群 (iV 群) と骨髄内投与群 (iBM 群) とに分けて CD34 陽性細胞を同数 ( $5 \times 10^4$ ) 移植し、10 週後の Lineage を比較した。各群の Pb, Sp, BM (R1, R2, L1, L2) か

ら採取したそれぞれの細胞を各種抗体で免疫染色し、FACS解析することにより Lineage を調べた。iV (a), iBM (b) いずれの群も同様の Lineage (陽性: B 細胞系 (CD19, 20, 38), 骨髄単球系 (CD14), 造血幹細胞/前駆細胞系 (CD34), TB 活性化マーカー (CD38), ホーミングマーカー (CXCR4)、陰性: T 細胞系 (CD3), NK 細胞 (CD56), 骨髄単球系 (CD33), 血小板 (CD41)) が示され、いずれの移植ルートを用いても同様の生着が期待されることが示された。

#### (2) 移植ルートによる生着率の比較

NOD/SCID マウスを静脈投与群 (iV 群) と骨髄内投与群 (iBM 群) とに分けて CD34 陽性細胞を移植し、8 週後にそれぞれの群で iBM 移植部位 (R2) における生着率を比較した。その結果、同じ細胞数 ( $5 \times 10^4$ ) を移植した場合の hu-CD45 キメリズムは iV 群 (7.87%, n=6) に対して iBM 群 (38.43%, n=11) と約 5 倍高く、iBM の方が iV よりも生着率が高いことが確認された。

#### (3) 複数の異なるヒト臍帯由来造血 CD34 陽性細胞を同時に iV または iBM 移植した場合の骨髄内における DNA キメリズム

2 種類のヒト臍帯由来造血 CD34 陽性細胞を同数混合し、iV または iBM 移植した。8 週後の骨髄移植部位における細胞の DNA キメリズムを STR 解析した。その結果、iV, iBM とともに両方由来の DNA が検出され、両者ともに生着したことが確認されたがその比率は一定ではなかった。また、移植した CD34 陽性細胞に含まれる CD34+38-細胞の割合に注目してみると、CD34+38-の割合が多い細胞を移植した方の DNA キメリズムが高い傾向があった。このように、移植細胞の生着率の向上を図るには、より質の高い細胞を移植することも重要性であることが示唆された。

#### (4) 複数の異なるヒト臍帯由来造血 CD34 陽性細胞を、一方は iV、他方は iBM で移植した場合の骨髄内における DNA キメリズム

2 種類のヒト臍帯由来造血 CD34 陽性細胞の同数を、一方は iV、他方は iBM にて同時に移植した。さらに、移植ルートを交換して、それぞれの細胞を移植し、8 週後の骨髄移植部位における生着細胞の DNA キメリズムを STR 解析した。その結果、いずれの細胞を用いても iBM した細胞の方の DNA キメリズムが約 2 倍高かった。このことから、複数臍帯血 CD34 陽性細胞を同時に異なるルート (iV または iBM) で移植した場合は、iBM した方が有利に生着することが示された。

#### (5) 複数の異なるヒト臍帯由来造血 CD34 陽性細胞と CD3 陽性細胞を iV と iBM 同時に移植した場合の骨髄内における DNA キメリズム

iBM した部位は iBM した細胞が優位に生着するが、他の部位では CD34+38-の割合が多い細胞を移植した臍帯血の DNA キメリズムが高い傾向があった。

#### 結論

当初は細胞数が同等であれば、iBM した臍帯血が iV に優ると予想していたが、細胞の質の問題もあり、iBM した部位は iBM の細胞が優位になるが、全体としては iV が優るという結果となった。

平成20年6月6日

## 麻疹DCワクチンの臨床試験

分担研究「DCワクチンを用いた脾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

## 麻疹DCワクチンの臨床試験

- 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。
- プライマリーエンドポイントを、セカンダリーエンドポイントを麻疹抗体価の上昇、CTCAE v3.0でgrade3以上の有害事象の発生率とする。

## 実施計画

- 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2 1x10<sup>6</sup>
    - コホート3 5x10<sup>6</sup>/0.5mlの3群（各3名）
- 安全対策
  - 国内外の臨床試験で用いられているGMPグレード試薬、器具、設備を使用する
  - 調整したワクチンに微生物が含まれないことを、培養にて確認する
  - 以上は標準作業手順書SOPを遵守する

## 実施方法

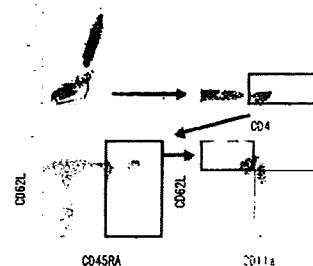
### 麻疹DCワクチンの作成方法

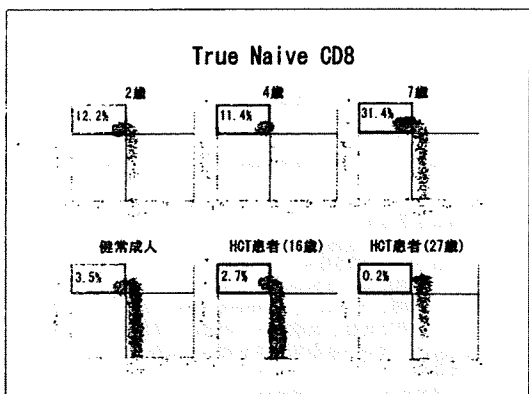
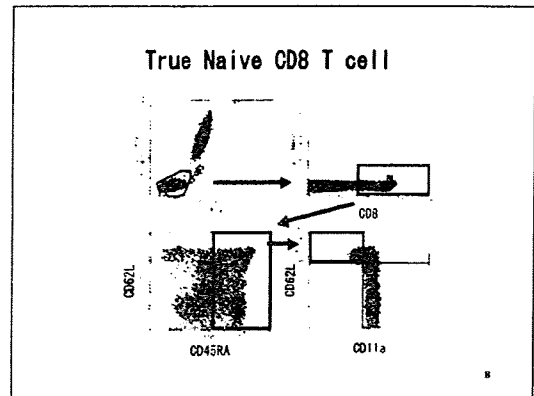
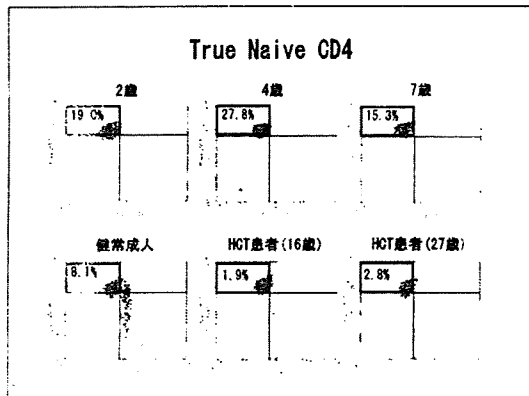
- 末梢血10-30mlから濃度勾配遠心法により単核球を分離する。
- 単核球を培養皿上で2時間、37°C、CO2培養器で培養し、浮遊細胞を除去する
- プラスチック附着細胞を無血清培地X-VIVOでIL-4とGM-CSFの存在下に5日間培養する
- 得られた樹状細胞の半分にワクチン株麻疹ウイルス（阪大ビケンGM株）を添加する（麻疹感染樹状細胞）
- 残りの半分は培養を継続する（非感染樹状細胞）
- 48時間後、麻疹感染樹状細胞を紫外線照射してウイルスを不活化する
- 麻疹感染樹状細胞と非感染樹状細胞を混合培養する
- 48時間後に得られる樹状細胞を麻疹DCワクチンとする。

## 実施方法

- 安全性の確認
  - CTCAE v3.0の有害事象表に基づいて、副反応を評価する
  - と免疫学的モニタリング
- 免疫学的モニタリング（細胞表面マーカー、TREC、TCR spectratyping）を行い接種の至適時期を設定する。接種前、接種後1ヶ月
- 12ヶ月の血清麻疹抗体価をEIA法にて測定する
- 麻疹特異的B細胞の測定

## True Naive CD4 T Cell





### 考案

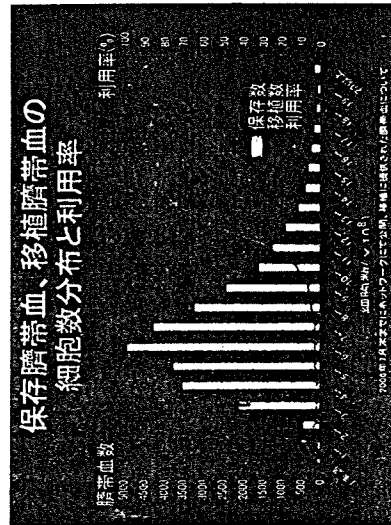
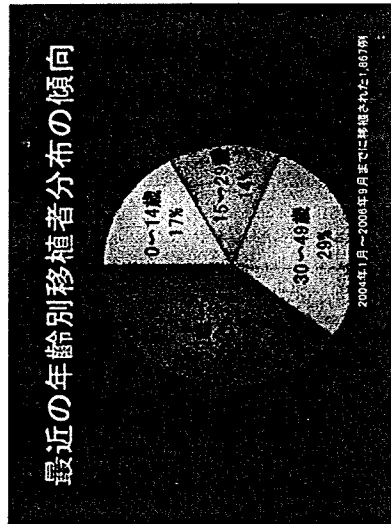
- Thymic outputは成人と比較して小児で高い傾向にあった。
- 造血細胞移植後の患者のThymic outputは低い傾向にあったが、このような患者におけるDCワクチン接種の有効性を検討する必要があると示唆された。

10

2012年産科エッセイコンテスト 栄誉アワード受賞 栄誉賞 特別賞 特別賞 特別賞  
 「脐帯血を用いる造血幹細胞移植技術の高度化と安全確保に関する研究」  
 研究代表者 加藤俊一(筑波大学教授)

## 脐帯血採取法の改良に関する研究

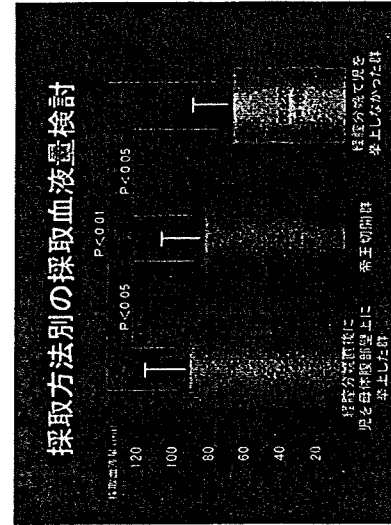
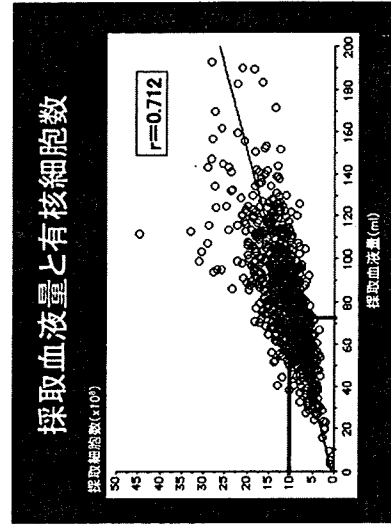
分担研究者  
 日本大学医学部産婦人科学系産婦人科分野  
 正岡直樹



### 保存さい帯血の有核細胞数

1 保存最低限の細胞数(2003年春変更後)  
 $3 \times 10^8$ 個以上  $\Rightarrow 6 \times 10^8$ (6億)個以上  
 \* 体重1.5kg  $\Rightarrow$  30kg以上の患者に移植できる

1 移植に必要な細胞数  
 $2 \times 10^7$ 個/kg以上(患者体重あたり)  
 \* 体重50kgの成人患者では $10 \times 10^8$ (10億)個以上が必要





### 採取方法別の細菌陽性率

細菌陽性率	
1回穿刺群 (n=450)	2.2%
複数回数穿刺群 (n=176)	11.0%

P<0.0001

### 臍帯血採取増加のための工夫

1. 分娩直後に新生児を母親の腹帯にのせる(カンガルーケア)
2. 新生児をおく分娩補助台の幅さは、できるだけ母親に近い高さとする。
3. 足端出血、できるだけ速やかに臍帯クランプを行う
4. 臍帯穿刺は可及的速やかに行う。そのとき空気の侵入を避ける。
5. 臍帯血管が膨脹しないよう連続的にゆるやかに加かしつつ採取する。
6. 穿刺は1回を原則とする。
7. 徐々に胎盤を娩出し、娩出した胎盤を手で軽く圧迫する。
8. 臍血バッグは床の高さにおき、臍血を防ぐため、ゆるやかに動かす。
9. 粘り強く数後の1滴まで採取する。
10. 採取になれた少人数の医師で行うと、採取量は増加する。

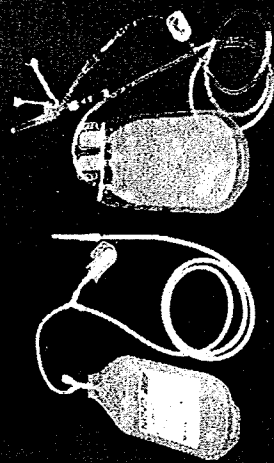
有核細胞数が多く、かつ無菌の臍帯血を得るためには、新生児を母体の腹部に挙上してから、複数回数穿刺を避けて採取すること、および採取に慣れた少人数の医師で、可及的速やかに行うことが良いと考えられた。



平成20年度からの新しい試み

### 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、向手が目田となり、臍帯を抜くことが容易となる。



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1回会議 2008年6月6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

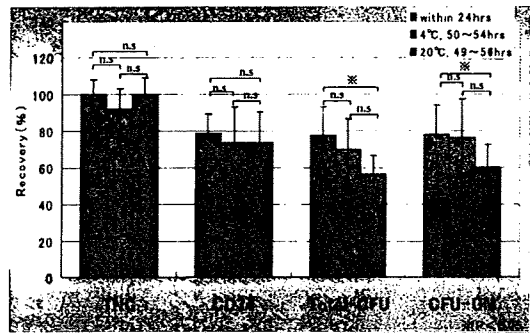
臍帯血バンク検査標準化

- (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
- (3) 無菌検査法の検討 検討中  
標準品配布による感度、検体の選択
- (4) 臍帯血の品質基準 ? Colony assayの考え方
- (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・・・妥協点？
- (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  
検査用検体、採取のタイミング  
凍結融解後の回収率のvalidation

凍結融解後の回収率  
現行24時間以内、4℃/20℃二日間保管の比較  
Tube



患者抗HLA抗体についての解析

- (1) 検査法: FlowPRA, class I and class II, IgG
- (2) 移植条件: 初回単一臍帯血移植、造血器腫瘍

CBB	検体数	解析症例数
北海道	27	17
東京	170	130
日赤東京	475	337
東海大学	131	83
兵庫	52	27
福岡	46	34
京阪	42	35
計	943	663

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、最終観票日不明、  
移植当日に死亡、は除外

or NWの症例データベースに登録されている-20080512  
移植後情報をお送り頂いた

抗HLA抗体の検討

	抗class I (-)	抗class I (+)	計
抗class II (-)	496	105 (15.8%)	601
抗class II (+)	20 (3.0%)	42 (6.3%)	62
計	516	147	663

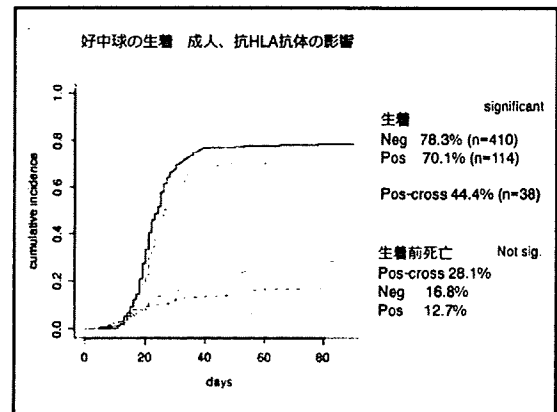
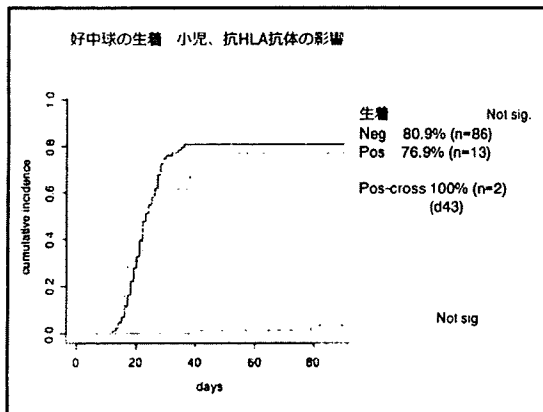
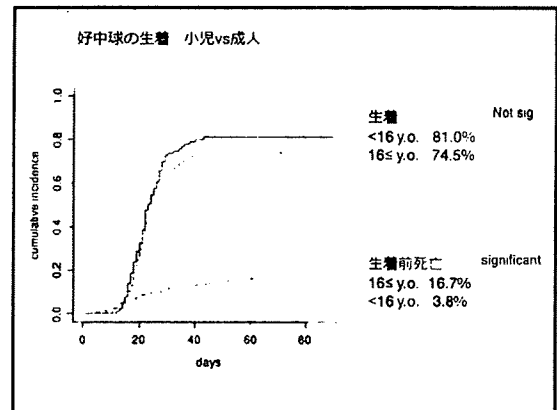
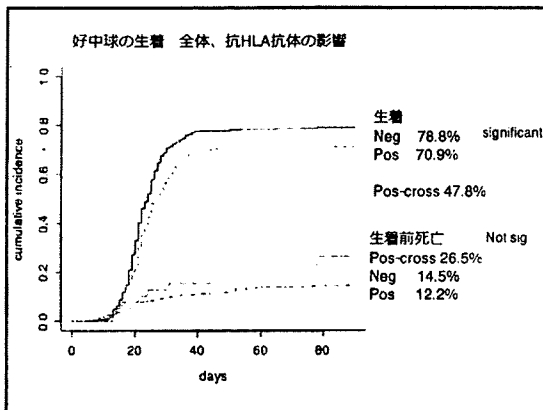
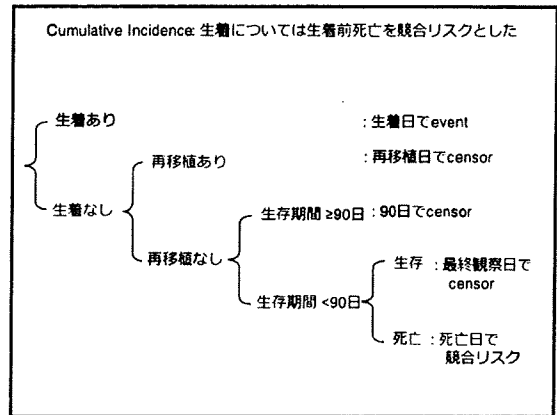
移植臍帯血との交差  
(抗体特異性)

なし	あり
82	23
18	2
27	15
127	40

	陰性	陽性	交差	計
小児	86	13	2	101
成人	410	114	38	562
計	496	127	40	663

うち1例は  
Class Iおよびclass IIに反応性

全体					HLA抗体陽性群						
疾患名	16歳未満	16歳以上	男性	女性	計	疾患名	児	成	M	F	計
ALL	48	112	83	77	160	ALL	4	27	5	26	31
AML	32	204	111	125	236	AML	6	58	15	49	64
ATL	0	33	19	14	33	ATL	0	8	2	6	8
MDS	11	116	75	52	127	MDS	4	43	18	29	47
CML	0	25	13	12	25	CML	0	11	3	8	11
CLL	0	1	0	1	1	CLL	0	0	0	0	0
NHL	10	60	43	27	70	NHL	1	3	1	3	4
HD	0	5	5	0	5	HD	0	0	0	0	0
MM	0	6	2	4	6	MM	0	2	0	2	2
計	101	562	351	312	663	計	15	152	44	123	167



# GMP を適用した場合の臍帯血の製剤化に要する費用の研究

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）

臍帯血を医薬品化するか否か、あるいは第三の類型を認めるかについては議論があるところである。将来、医薬品化される場合を想定して、GMP 基準に則って臍帯血を製造する場合のコストの算定は重要である。そこで、臍帯血施設に準じる施設として実際に血液製剤を製造している日本赤十字社や企業の協力を得て「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）」のデータをもとに、臍帯血の出庫に関する費用を計算した。

その結果、GMP 適用となった場合、採取 1 件あたりの費用は 492,106 円となり、出庫 1 件あたりの費用は、8,829,705 円となる。

採取 1 件あたりの費用でみると、GMP 適用となった場合にはコストが約 10 倍に跳ね上がる。これは、GMP を遵守することによる人員配置の強化や事務量の増大、今まで所属主体と共有空間や試料などを利用することによりコストが低減していたことが挙げられる。加えて人的配置は所属主体との兼務などの形態により曖昧になっている人件費などのコストが GMP の厳格な基準を適用すると明らかに増大することによる。加えて、設備投資についても共有形態を取る場合も見受けられることで、原価償却などの会計ルールを受け入れる意識が希薄であったことも関係すると思われる。

医薬品化を考えるに当たっては、経済的には現在よりコストが跳ね上がることから、バンクの統廃合も視野に入れたシステムの効率化を図らねばならない。具体的には、以下の事柄が必要となる。

## (1) 全国的な見地からの効率的・効果的な体制・支援形態の構築

業務プロセスおよび品質に関するベストプラクティスを他のバンクへ技術移転できるよう詳細に調査する。これら調査に基づき、地域のバンクおよびバンクネットワークにおける新たな機能（役割）を明確にし、「安全で細胞数の多い臍帯血を生細胞数が多い形で、早く多く保存し、速やかに公開できる」効率的・効果的な体制の構築を図らねばならない。

## (2) 造血幹細胞移植の体系化

「臍帯血移植」の医学的適応評価や「骨髄移植」や「造血幹細胞移植」との有効性、経済性比較を行い、造血幹細胞移植の体系化を図り、基盤整備に向けた方策をまとめる必要がある。

## (3) 人的負担の解消

前述の支援形態とも関連するが、臍帯血事業の全工程を精査して人件費等の問題がバンク事業の財政的負担とならないような配慮が必要がある。

## (4) 造血幹細胞移植における「臍帯血移植事業」の位置付け

近年の医学医療のめざましい発展は、幹細胞研究などに急激な進歩をもたらした。各国が生命科学を 21 世紀の国家戦略の主要な柱に位置づける中、造血幹細胞移植を構成している「臍帯血バンク」と「骨髄バンク」を二元的に捉える実益は急速に失われつつある。幹細胞を中心とした生命科学の進展を絶えず注視しながら、これらバンクの一体化も考えた組織・体制の柔軟な改廃が必要であろう。その際、21 世紀の先端医療・産業として期待される生命科学の一翼を担う造血幹細胞移植については、財政的な手立ても含めて政府が積極的・指導的役割を果たしていくべきである。

## 平成 20 年度 加藤班分担研究 (案)

研究課題：DEA を用いた臍帯血バンクの運営効率に関する研究

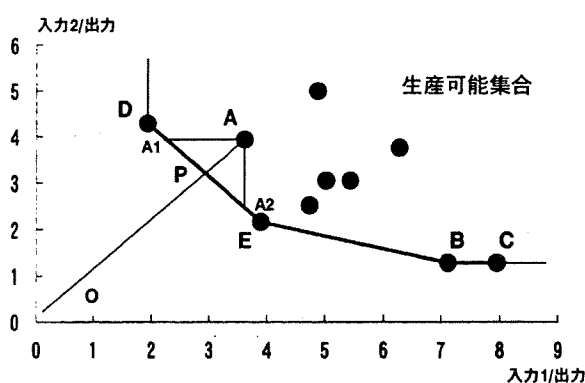
河原 和夫 (東京医科歯科大学大学院 医療政策学講座 政策科学分野)

Data Envelopment analysis (データ・エンベロップメント・アナリシス; 以下 DEA) により臍帯血バンクの効率性を測定する。

DEA は、ある組織体の入力と産出の比率 (複数の入力・産出がある場合には加重和) を測定することによって効率性を推計する (これを D 効率値と呼ぶ)。

DEA とは意思決定単位 (decision making unit : DMU) の集合において複数の資源の投入と成果の産出がある時の、線形計画法を用いた効率性の推計手法である。DEA には複数の投入項目、産出項目を同時に単位に関わりなく評価することができ、それぞれの DMU の効率が効率的と評価された対象を基準とした相対的な評価 (D 効率) として表現される。

下図の線上に位置する●がベストプラクティス・モデルである。



(図1) 2入力1出力のDEAの概念図。それぞれの●はDMUを示している。効率的と考えられるDMUを結んだ効率的フロンティア内に全てのDMUが存在している。例えばAの効率値は $OP/OA$ で現される。

下記の工程について、各バンクの効率性を算出して比較し、ベストプラクティス・モデルを同定する。

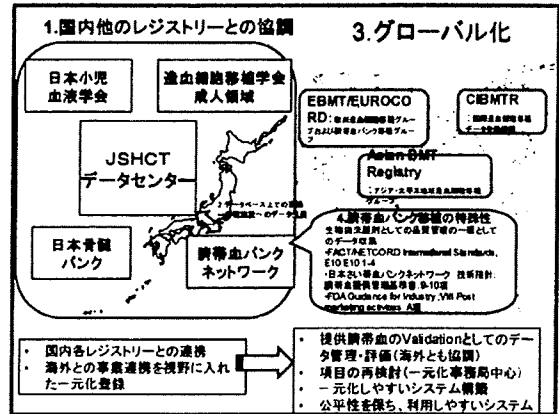
1. さい帯血の採取・分離
2. 分離・調整
3. 仮保存
4. 検査
5. 保存
6. 提供の決定
7. 搬送
8. 情報の提供・管理
9. 全体

そして、各バンクの効率性向上のための改善点を提示する。

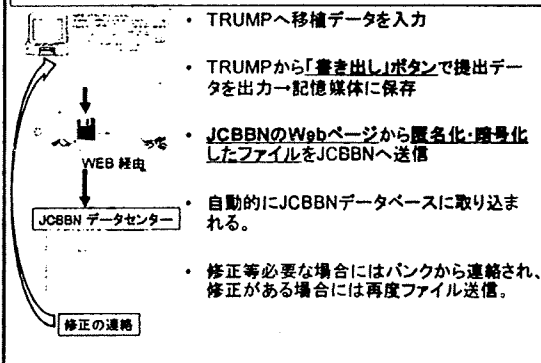
## TRUMPの導入と臍帯血移植 データベースの充実化

長村 登紀子<sup>1</sup>, 熱田由子<sup>2</sup>

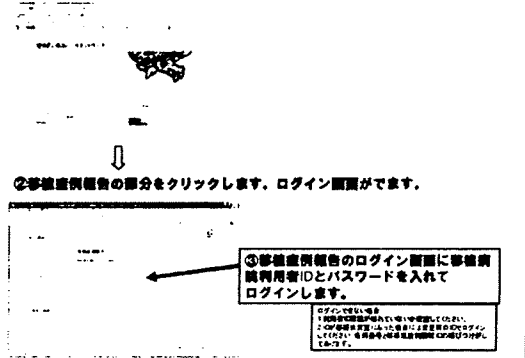
<sup>1</sup> 東大 医科研  
<sup>2</sup> 名古屋大学医学部 造血細胞移植情報管理学



### 今後のJCBBNへの100日登録の流れ



①日本さい帯血バンクネットワークのホームページを開きます。



### まとめと今後の方向性

1. 新規webを用いたTRUMPからJCBBN web経由のアップロードシステムの確立(今年度中)。
2. 臍帯血品質管理としてJCBBN移植データの充実化: Validationおよび解析
3. JCBBNの過去移植データのTRUMP形式への変換(データベースどうし)を行い、TRUMPを介して一旦移植施設へ返還
4. データ利用しやすいシステム構築(一元化)
5. 国際協調の必要性: 項目の再検討(一元化)

### 謝辞

- 日本さい帯血バンクネットワーク
  - 移植データ管理小委員会
  - 事務局
- 日本造血細胞移植学会
  - 造血細胞移植登録一元管理委員会
  - JSHCTデータセンター

「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

第一回班会議 平成 20 年 6 月 6 日

臍帯血移植時の早期細菌感染症のリスク因子の解析と対策

研究分担者 加藤剛二 名古屋第一小児科

研究協力者 矢崎 信 名古屋市立東部医療センター  
熱田由子 名古屋大学造血細胞移植情報管理学

研究要旨

1997年9月から2005年9月までの8年間に、日本さい帯血バンクネットワークを介して臍帯血移植を行った症例のうち移植後100日目の報告書のある1872例を対象にして解析した。

1872例のうち337例(18%)で早期細菌感染症が起きた。

移植後100日の細菌感染症の cumulative incidence は、小児で11%,成人で21%であった( $p<0.0001$ )。Bacteremia の74%で gram 陽性菌が検出された。抗生剤に自然耐性を有する *Stenotrophomonas maltophilia* が成人の肺炎の35%で検出された。

成人では早期細菌感染症に罹患すると生存率が有意に低下した( $P<0.0001$ )。

成人の早期細菌感染症の発病の中央値は移植後10日、小児では8日であった。これらの結果から前処置中および移植早期の細菌感染症の予防が非常に重要であることが示唆された。

A.研究目的

細菌感染症は非血縁者間臍帯血移植時の非再発死亡の原因の約30%を占め、支持療法の進歩にもかかわらず未だに臍帯血移植時の重大な合併症の一つである。

臍帯血移植の成績の向上をさせるため今回は臍帯血移植後の早期細菌感染症を解析した。

B.研究対象および方法

1997年9月から2005年9月までの8年間に、日本さい帯血バンクネットワークを介して臍帯血移植を行った症例のうち移植後100日目の報告書のある1872例の早期細菌感染症を解析した。

成人1208例と小児664例を別けて早期細菌感染症のリスク因子があるかを Cox 比例ハザードモデルを用いて解析した。単変量解析の結果が有意 ( $P<0.05$ ) もしくはマー ジナル ( $0.05\leq P<0.10$ )に有意なものをステップワイズ法を用いて多変量解析を行った。リスク因



子は少なくとも解析対象の 10 %を含む変数とした。早期細菌感染症の生存に与える影響は、細菌感染症を時間依存性因子として検討した。

#### C.結果

移植後 100 日の細菌感染症の cumulative incidence は、小児で 11%,成人で 21%であった ( $p<0.0001$ )。成人の早期細菌感染症の発病の中央値は移植後 10 日、小児では 8 日であった。

Bacteremia の 74%で gram 陽性菌が検出された。抗生剤に自然耐性を有する *Stenotrophomonas maltophilia* が成人の肺炎の 35%で検出された。

小児の多変量解析では 0 – 5 歳未満に比較して 5 – 10 未満、10 – 15 歳の例は有意に早期細菌感染症の頻度が増加した ( $P=0.02$ ,  $P=0.002$ )。成人では早期細菌感染症のリスク因子はなかった。

成人では早期細菌感染症に罹患すると生存率が有意に低下した ( $P<0.0001$ )。

#### D.考察

得られた結果から前処置中および移植早期の細菌感染症の予防が非常に重要であることが示唆された。

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」班  
平成20年度第1回班会議 2008.6.6.名古屋

分担研究

複数臍帯血移植の進捗状況

兵庫医科大学輸血部  
甲斐俊明

複数臍帯血移植臨床第2相試験の進捗状況

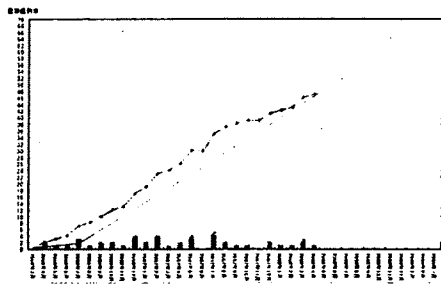
IRB承認施設数； 35施設  
 申込症例数； 52症例(507-001~052)  
 1； 9施設  
 2； 5施設  
 3； 2施設  
 4； 1施設  
 6； 1施設  
 7； 1施設  
 9； 1施設  
 登録症例数； 51例  
 登録不可； 1例  
 登録取消； 1例

移植実施（実施報告書受領）； 39症例  
 実施報告書未受領； 1症例  
 移植中止； 6症例

初回報告済； 31症例  
 初回報告未； 8症例  
 プロトコル中止； 15症例  
 （移植未実施のためプロトコル中止； 6例）

（2008.4.未現在、登録症例0507-1~47まで）

登録状況



移植中止／登録取消／登録不可

移植中止理由（6例）  
 再発、全身状態の悪化（4）  
 再発-血球移植（1）  
 JMDPドナー見つかり中止（1）

登録不可（1例）  
 登録基準を満たさず（臓器機能検査）

登録取消（1例）  
 登録後臓器機能基準不適合と判明-取消  
 時期をおき再登録で基準を満足したため登録、移植

データ収集（報告書）

1. 複数臍帯血実施報告書-移植後72時間以内
2. 症例報告書①；移植後100日から14日以内に  
臍帯血バンク初回報告書の写しとともに  
データセンターへ送付
3. 症例報告書②；移植後1年から1ヶ月以内に  
臍帯血バンク1年報告書の写しとともに  
データセンターへ送付

報告義務のある有害事象

急送報告義務のある有害事象

1. 移植前処置開始から移植後100日以内に発症した全ての死亡
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2次生育不全

通常報告義務のある有害事象

1. 移植後101日以降でプロトコル治療との因果関係が否定できない全ての死亡。明らかな原病死は除く。
2. 予期されないGrade 4 (life threatening)の非血液毒性
3. 予期されないGrade 3非血液毒性。
4. 永続的または顕著な障害。- 2次癌等
5. その他重大な医学的事象。

有害事象報告 0507-01~0507-014

0507-01~0507-008は既報告

0507-001~0507-014は新規有害事象報告

0507-01~0507-008の既報告

- 生育遅延 (2例)
- 拒絶
- 非血液毒性 grade 4  
(カリニ又は真菌性肺炎に対する人工呼吸管理-改善)
- 100日以内の死亡 (非血液毒性grade 5)  
- 移植前処置等の治療関連毒性の1つと考えられる
- 100日以内の非血液毒性 grade 4 (Capillary leak syndrome)  
- 100日以降の死亡 (播種性トリコスポロン症)
- 100日以降の死亡 (再発、原病による呼吸不全)

新規有害事象報告 (0507-001~0507-014)

(ADR-009, 登録番号0507-42) 非血液毒性 grade 5 (小脳出血)

34歳、女性、BW 68kg、MDS-RA 輸血依存性、2008.2.27 DCBT

day 4 意識レベル低下、day5 CTにて小脳出血と診断、  
脳室ドレナージ施行するも脳圧コントロールできず、day7死亡。  
前処置に伴う血小板減少に対し速日血小板輸血を施行するも  
不応性 (抗血小板抗体、抗HLA抗体陰性) であった。

血小板輸血不応性による出血が原因と考えられるので  
プロトコルの修正はせず試験は継続。

(ADR-010, 登録番号0507-33)

非血液毒性 grade 4 (エンドキサン心筋症)

54歳、男性、BW 60kg、AML-M6 (MDS-overt)、2007.11.1 DCBT

day20前後より重症の心不全出現、心エコー上EF 15%。  
左室、右室とも著しく壁運動低下。経過よりエンドキサン心筋症  
によると考えられた。人工呼吸器管理、循環管理により徐々に  
心機能回復 (2008.1.11, EF 40%)、ADLの改善もみられたが  
経過中の全身消耗著しく、肺炎、帯状疱疹、CMV感染を合併。  
心不全の再燃を繰り返しMOFにてday132死亡。

- 造血細胞移植後に起こりうる合併症であり、本試験において  
その頻度が高くなっているとは思えないので試験は継続。

(ADR-011, 登録番号0507-43) 不生育  
45歳、男性、BW68kg, CML-BC, 移植II?

プロトコルに従いday28まで経過観察。一時WBC 190まで上昇するも徐々に低下しWBC 10となったため生着不全と診断。4/22よりFLU/MELの前処置にて臍帯血再移植を施行。

- 本試験における2例目の生着不全(1例目は2次生着不全)1次生着不全であるが、全体(30例以上)の中での頻度は高くなく試験の継続は可。

(ADR-012, 登録番号0507-34)  
100日以降の死亡、grade4 肺炎炎/ARDS  
53歳、男性、RAEB-2, 2007.8.1 DCBT

移植後順調に経過し、day73に退院。その後外来でフォロー。軽度皮膚GVHDが存在するものの、PS 0で仕事もしていた。Day252(2008.4.9)より40℃台の発熱あり、day257緊急入院。Day258の骨髄穿刺で再発(AMLの形でMDSの再発)、汎血球減少も存在。同日よりCsAを180mgから100mg/日に減量。4.21から再寛解導入療法予定であったが、4.18より急激な低酸素血症、咳、胸痛が出現。CTにおいても左下肺野中心の気管支肺炎像を認めため化学療法は一旦見送った。各種抗生剤、抗真菌剤等で治療を行なうも低酸素血症は進行し4.20から人工呼吸管理開始。その後もARDS、循環不全が進行し

- 4.23(day266)死亡。
- 現病再発後の死亡であり、本プロトコルとの直接的な因果関係の可能性は低く試験継続可。

(ADR-013, 登録番号0507-44) 緊急報告- 1次生着不全  
37歳、男性、CML-AP, BW 80kg, 2008.4.10 CBT

day12頃から38℃を超える発熱再出現。  
Day14 WBC 100, donor (1) 36.6%, donor (2) 46.5%  
Day15 CRE 1.73と上昇、day18 CRE 3.09, WBC 200 (gra 77%),  
Day20, CRE 3.07 T-Bil 8.8, LDH 250, AST 25, フェリチン8044,  
HPSを疑いソルメド 500mg/day x3days開始。  
Day22 WBC 400 (lym 96%) BN NCC 0.06万、HPS認めず。  
Day27 WBC 300 (lym 100)  
Day28 (5/8) BMA NCC 0.07万、HPS認めず、造血細胞無し。  
生着不全と診断。

- 1次生着不全としては2例目。プロトコルの定めでは研究中止とはならずこのまま継続。

(ADR-014, 登録番号0507-45) 緊急報告- 1次生着不全  
24歳、男性、AML-M2, CR2, BW 129.8kg

プロトコルに従いday28まで経過観察するもWBCは50までしか上昇なく、day28のキメラリズムにて95%レシビエントタイプあったため生着不全と判断。

- 本試験における3例目の1次生着不全。