

201023015A

---

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

平成 22 年度 総括・分担研究報告書

---

研究代表者 加藤 俊一

平成 23 年 (2011 年) 3 月

## はじめに

本報告書は、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」班における平成 22 年度（2010 年度）の研究成果をまとめたものである。

本研究班は平成 17～19 年度の 1 期 3 年の研究成果を踏まえて、2 期目においても臍帯血移植に関する基礎的研究、臍帯血の採取と分離・調整・保存などの臍帯血バンク事業に関する研究、臍帯血移植に関する臨床的研究を系統的かつ網羅的に組織した。

本年度は 2 期目の最終年度にあたり、1 期目の研究を含めて本研究班として研究の区切りとなるものである。

今年度の研究成果として特筆されることの第 1 は、臍帯血採取方法の改良として新たな採取バッグの開発が進み、習熟すれば従来よりも 10～15ml 多い臍帯血を採取できることが明らかにされ、質的な評価においても優れていることが確認されたことである。

第 2 の成果は、移植前に患者が保有する抗 HLA 抗体が移植する臍帯血中の不適合 HLA 抗原と反応するような場合には生着不全の頻度が高くなることについての論文が国際的な医学雑誌 BLOOD に掲載されたことで、臍帯血移植においては移植前に HLA 抗体を測定し、交叉反応性のある臍帯血を回避することが国際的にも定着しつつある。

第 3 の成果として、複数臍帯血移植の臨床研究が目標の 70 例登録を達成して、移植後 1 年の観察期間を終了して移植成績の解析が開始されたことがあげられる。昨今多施設共同研究の実施には様々な困難がある中で研究を完了できたことは、研究分担者の甲斐俊朗先生ならびに参加施設の諸先生の協力の賜と感謝申しあげたい。

本報告書は 2 期目 3 年度の研究業績の全体をとりまとめたもので、研究分担者ならびに研究協力者の方々に厚く御礼を申しあげる次第である。

2011 年 3 月

研究代表者 加藤 俊一

## 研究班の構成

	氏 名	所 属 ・ 役 職 ・ 専 門	役 割 分 担
研究代表者	加藤 俊一	東海大学医学部基盤診療学系・教授 造血幹細胞移植、再生医療科学	研究計画立案・総括
研究分担者 (五十音順)	東 英一	三重大学医学部附属病院・准教授 細胞移植	麻疹ウイルスに対する DC ワクチンの開発
	足立 壮一	京都大学大学院医学研究科・教授 小児腫瘍血液学	小児臍帯血移植の GVHD 予防法の確立
	熱田 由子	名古屋大学大学院・講師 生物統計学、臨床試験方法論	臍帯血移植臨床研究の管理と統計学的解析
	安藤 潔	東海大学医学部内科学系・教授 血液内科学	臍帯血の骨髄内移植法の基礎的検討
	磯山 恵一	昭和大学藤が丘病院・教授 小児血液学	小児臍帯血移植至適前処置法の確立
	小川 啓恭	兵庫医科大学・教授 造血幹細胞移植	臍帯血の骨髄内移植に関する研究
	甲斐 俊朗	兵庫医科大学・教授 輸血学	複数臍帯血の同時移植法の確立
	加藤 剛二	名古屋第一赤十字病院・部長 小児血液学	臍帯血移植の感染症要因の解析と対策の検討
	河原 和夫	東京医科歯科大学大学院・教授 医療政策学・政策科学	臍帯血の医薬品化に関する調査研究
	高橋 聡	東京大学医科学研究所・准教授 造血幹細胞移植	臍帯血移植後の精緻なキメリズム解析法の開発
	谷口 修一	虎の門病院血液内科・部長 造血幹細胞移植	高齢者臍帯血移植における GVHD 予防法の確立
	田野崎 隆二	国立がん研究センター中央病院 臨床検査部・医長 造血幹細胞移植	成人における臍帯血移植（骨髄破壊的前処置の標準化）
	長村 登紀子	東京大学医科学研究所・講師 輸血部	臍帯血移植データベースの確立
	正岡 直樹	東京女子医科大学・准教授 産婦人科学	臍帯血採取法の改良に関する研究
森尾 友宏	東京医科歯科大学医学部・准教授 小児免疫学	臍帯血移植における DLI の開発	
研究班事務局	吉場 史朗	東海大学医学部基盤診療学系・講師 造血幹細胞移植、再生医療科学	臨床研究管理
	町田 友香	東海大学医学部基盤診療学系	研究班事務

## 目 次

I. 総括研究報告書	1
加藤 俊一	
II. 分担研究報告書	
1. 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	9
東 英一	
2. 小児臍帯血移植におけるシクロスポリン至適使用法の検討	15
足立 壮一	
3. 臍帯血移植臨床研究の管理と統計学的解析	17
熱田 由子	
4. 臍帯血幹細胞骨髄内移植に関する研究	21
安藤 潔	
5. 小児急性骨髄性白血病へ初回移植として行った非血縁臍帯血移植の長期予後の検討	23
磯山 恵一	
6. 臍帯血の骨髄内移植に関する研究	27
小川 啓恭	
7. 複数臍帯血移植臨床第Ⅱ相試験	33
甲斐 俊朗	
8. 臍帯血移植データ一元化事業	37
加藤 剛二	
9. 臍帯血バンクの効率性とより適正なコスト計算をするために解決すべき課題について	41
河原 和夫	
10. キメリズム解析/HLA-Flow 法で使用するアリル特異的抗 HLA 抗体の特異性	59
高橋 聡	
11. 高齢者臍帯血移植における GVHD 予防法の確立に関する研究	61
谷口 修一	
12. 成人における臍帯血移植（骨髄破壊的前処置法の標準化）	65
田野崎 隆二	
13. 臍帯血バンクにおける移植データ管理	69
長村 登紀子	
14. 臍帯血採取法の改良に関する研究	71
正岡 直樹	
15. ex vivo 増殖臍帯血 T 細胞 輸注療法の臨床研究	75
森尾 友宏	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	81
IV. 参考資料	95

# I. 総括研究報告

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  
総括研究報告書

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）

研究要旨：わが国の臍帯血バンク事業における臍帯血の品質の向上と、臍帯血移植における成績の向上を目指して、臍帯血の採取から臍帯血幹細胞の分離・保存、臍帯血提供体制、臍帯血の移植と長期経過調査にいたるまでの一連のプロセスのすべてについて検証するために、研究班2期目の研究計画に則り基礎的あるいは臨床的な研究を実施した。

(1) 開発的基礎研究

- ・長期造血再構築維持過程で生じる酸化ストレスが移植後の造血再生能低下の原因となる可能性があることを見いだした。(安藤 潔、八幡 崇)
- ・「DC ワクチンを用いたウイルス感染予防法の開発」は造血細胞移植後の症例を対象とした第一相試験が完了され、安全性と有効性を示唆する結果が得られた。(東 英一)
- ・「ハイリスク臍帯血移植患者に対する臍帯血活性化 T-DLI に関する臨床第1相試験」のプロトコールが完成し、臨床試験が開始された。(森尾友宏)

(2) 臍帯血提供体制の基盤整備

- ・安定した臍帯血を採取する方法を開発するため採取バッグの改良が進み、採取量の増加が得られるとともに質的な評価も良好であることが明らかになった。(正岡直樹)
- ・HLA 抗体測定法の標準化を目的として、4つの検査機関において同一検体による比較試験を実施した。(加藤俊一、甲斐俊朗、佐治博夫、松本加代子)
- ・臍帯血中の未熟な造血幹細胞に対する凍結方法の影響を検討した。(磯山恵一)

(3) 非血縁者間臍帯血移植の成績解析（後方視的研究）

- ・わが国において実施された臍帯血移植調査票の報告システムの整備を進めるとともに、疾患別の移植成績を解析し、国内外の学会に報告と論文化を進めた。(加藤剛二、長村登紀子、熱田由子、森尾友宏、加藤俊一)

(4) 臨床研究（前方視的研究）

- ・「複数臍帯血移植」順調に進行し、目標症例登録と経過観察を完了した。(甲斐俊朗)
- ・「成人臍帯血移植多施設共同臨床研究」、「高齢者における臍帯血移植に関する研究」、「小児臍帯血移植におけるシクロスポリン至適使用法の検討」については症例の登録と移植の実施が進行した。(田野崎隆二、高橋 聡、谷口修一、足立壮一)
- ・「骨髄内臍帯血ミニ移植」の第Ⅰ／Ⅱ相試験が完了し、安全性が確認された。(小川啓恭)

(5) 臍帯血の医薬品化に関する研究

臍帯血の医薬品化に関して費用試算を中心とした検討を基に、わが国における臍帯血バンクのあり方についての提言をまとめた。(河原和夫、加藤俊一)

## A. 研究の目的と目標

わが国の臍帯血バンク事業における臍帯血の品質の向上と、臍帯血移植における成績の向上を目指して、臍帯血の採取から臍帯血幹細胞の分離・保存、臍帯血提供体制、臍帯血の移植と長期経過調査にいたるまでの一連のプロセスのすべてについて検証するために、研究班2期目の研究計画に則り基礎的あるいは臨床的な研究を実施することを目的とした。

## B. 研究計画

研究内容は臍帯血移植に関する基礎的研究、臍帯血の提供体制に関する基盤整備、臍帯血の移植方法の改良と確立に関する臨床的研究の3つに大別して、それぞれの研究分担者を中心として立案された研究計画に基づいて実施された。

(倫理面への配慮)

これらの基礎的あるいは臨床的研究の実施にあつては、国の諸指針に基づいて被験者となる患者の人権に十分配慮するとともに、個人情報の厳格な管理を行った。

また、動物を用いた基礎実験の実施にあつては動物愛護の精神に基づいて適切な配慮と処置を行った。

## C. 研究結果

本年度は研究班として2期目の最終年度にあたり、1期目から継続された研究のまとめを目標として、ほぼ当初の計画どおりに実施することができた。

研究分担者の研究結果はそれぞれの分担研究報告書に詳細に記述されておりであるが、主な研究結果を以下に記述する。

(1) 基礎的研究

- ・ 安藤潔研究分担者は八幡崇研究協力者らとともに、免疫不全マウスを用いた研究により、長期造血再構築の維持過程で生じる酸化ストレスがヒトの加齢や移植において造血幹細胞の酸化的DNA損傷の蓄積を誘導し、ヒト造血幹細胞の造血再生能低下の原因となる可能性を示した。
- ・ 東英一研究分担者は熊本忠史研究協力者らとともに、麻疹ウイルスに対する臨床応用可能なDCワクチンを作成し、施設内の倫理委員会の承認をえて第一相試験を実施した。本年度までに移植後の10症例にワクチンを接種し、その安全性が確認されるとともに、麻疹抗体と麻疹特異的B細胞の増加を認めた。
- ・ 森尾友宏研究分担者らは、「ハイリスク臍帯血移植患者に対する臍帯血活性化T-DLIに関する臨床第1相試験」のプロトコールを作成し、第I相臨床研究試験を開始した。

(2) 臍帯血提供体制の基盤整備

- ・ 正岡直樹研究分担者らは、臍帯血採取方法の安定化を目的として採取バッグの改良を進め、採取量の増加を確認するとともに、臍帯血幹細胞の質的評価を行い、従来法との差異を認めないことを明らかにした。
- ・ 加藤俊一研究代表者と甲斐俊朗研究分担者は、佐治博夫研究協力者、松本加代子研究協力者らとともに、HLA抗体測定法の標準化を目的として、4つの検査機関において同一検体による比較試験を実施した。
- ・ 磯山恵一研究分担者と池田裕一研究

協力者らは、胎盤還流下で選択的 CXCR-4 阻害剤を用いて、CD34 陽性細胞を従来の 4~5 倍多く採取することに成功した。

(3) 非血縁者間臍帯血移植の成績解析 (後方視的研究)

- ・ 加藤剛二・長村登紀子・熱田由子研究分担者らを中心として、日本造血細胞移植学会・日本小児血液学会・骨髄バンク・日本さい帯血バンクネットワークの 4 レジストリーによる移植報告一元管理システム (TRUMP) のデータベースの基盤整備が完成し、日本臍帯血バンクネットワーク独自のデータベースの整備が進められた。
- ・ 移植時の患者血清中の HLA 抗体の生着と生存に対する影響に関する論文が BLOOD 誌に掲載された。
- ・ 森尾友宏研究分担者らを中心として原発性免疫不全症に対する臍帯血移植の成績が論文化され、BJH 誌に掲載受理された。

(4) 臨床研究 (前方視的研究)

- ・ 甲斐俊朗研究分担者を中心として、複数臍帯血移植の臨床研究が順調に進捗した。昨年度に目標の 70 例の登録が達成され、主要評価項目の移植後 1 年無病生存の観察期間が終了した。
- ・ 田野崎隆二研究分担者を中心として、成人における至適治療法確立のための前向き臨床研究が進められ、13 例の症例登録があり、移植が実施された。
- ・ 足立壮一研究分担者を中心として、小児臍帯血移植におけるシクロスポリン至適使用法の検討のための臨床研究が進められ、6 例が登録された。

- ・ 谷口修一研究分担者は内田直之研究協力者らとともに、高齢造血器疾患患者に対する臍帯血移植の後方視的検討を踏まえて、MMF を用いた GVHD 予防臨床研究により移植後の非再発死亡が減少することを示した。

- ・ 高橋聡研究分担者は渡辺信和研究協力者らとともに、HLA ミスマッチ造血幹細胞移植後の新規キメリズム解析法を開発し、精緻なキメリズム解析が可能であることを示すとともに、アリル特異的抗 HLA 抗体の反応性に関する問題点があることを報告した。

- ・ 小川啓恭研究分担者は岡田昌也研究協力者らとともに、「骨髄内臍帯血ミニ移植」の第 I / II 相試験を完了し、骨髄内臍帯血移植の安全性を確認した。

- ・ 熱田由子研究分担者を中心として、特定非営利活動法人「血液疾患臨床研究サポートセンター (C-SHOT)」による質の高い臨床研究の進捗管理体制が確立され、複数臍帯血移植と成人臍帯血移植の臨床研究の進捗管理が行われた。

(5) 臍帯血の医薬品化に関する研究

- ・ 河原和夫研究分担者は井出健二郎研究協力者、菅河真紀子研究協力者らとともに、DEA(Data Envelope Analysis ; 包絡分析法)を用い各バンクの業務効率性を測定した結果、バンク間に効率性の差が認められた。

## D. 結論

2 期 3 年目の最終年度の本研究班のまとめを行った。



1. 移植される臍帯血の品質と安全性向上、臍帯血移植の成績向上を目的として、後方視的ならびに前方視的研究を実施した。
2. 臍帯血採取法の改良、品質評価法の標準化、移植方法の改良などについての提案を行った。
3. これらの研究成果を学会や論文として報告して医療現場と社会に還元することができたと考えている。

#### E. 健康危険情報

前向き臨床研究において、通常の造血幹細胞移植でみられる有害事象が発生したが、本研究固有の健康危険情報はなかった。

#### F. 研究発表（研究代表者分のみ）

##### 1.論文発表

- 1) Yabe H, Yabe M, Koike T, Shimizu T, Morimoto T, **Kato S**. Rapid improvement of life-threatening capillary leak syndrome after stem cell transplantation by bevacizumab. **Blood**. 2010 Apr 1;115(13):2723-4.
- 2) Hishizawa M, Kanda J, Utsunomiya A, Taniguchi S, Eto T, Moriuchi Y, Tanosaki R, Kawano F, Miyazaki Y, Masuda M, Nagafuji K, Hara M, Takanashi M, Kai S, Atsuta Y, Suzuki R, Kawase T, Matsuo K, Nagamura-Inoue T, **Kato S**, Sakamaki H, Morishima Y, Ichinohe T, Uchiyama T. Transplantation of allogeneic hematopoietic stem cells for adult T-cell leukemia: a nationwide retrospective study. **Blood**. 2010 Aug 26, 116(8);1369-76. May 17. [Epub ahead of print]
- 3) Tomita Y, Yasuda Y, Hyodo H, Koike T, Shimizu T, Morimoto T, Hattori K, Matsumoto M, Inoue H, Yabe H, Yabe M, Shinohara O, Kojima S, Minemura T, **Kato S**. High incidence of fatty liver and insulin resistance in long-term adult survivors of childhood stem cell transplant. **Bone Marrow Transplant**. 2010 Jun 21 [Epub ahead of print]
- 4) Takanashi M, Atsuta Y, Fujiwara K, Kodo H, Kai S, Sato H, Kohsaki M, Azuma H, Tanaka H, Ogawa A, Nakajima K, **Kato S**. The impact of anti-HLA antibodies on unrelated cord blood transplantations. **Blood**. 2010 Oct 14;116(15): 2839-46. Jul 13. [Epub ahead of print]
- 5) Yabe M, Morimoto T, Shimizu T, Koike T, Takakura H, Arakawa S, **Kato S**, Yabe H. Therapy-related myelodysplastic syndrome of recipient origin in a juvenile myelomonocytic leukemia patient 17 years after allogeneic BMT. **Bone Marrow Transplant**. 2010 Sep 27. [Epub ahead of print]
- 6) Yabe M, Shimizu T, Morimoto T, Koike T, Takakura H, Sugauma E, Sugiyama N, **Kato S**, Yabe H. Alternative donor marrow transplantation in children with aplastic anemia using low-dose irradiation and fludarabine-based conditioning. **Bone Marrow Transplant**. 2010 Oct 18. [Epub ahead of print]
- 7) Morio T, Atsuta Y, Tomizawa D, Nagamura-Inoue T, Kato K, Ariga T, Kawa K, Koike K, Tauchi H, Kajiwara M, Hara T, Kato S. Outcome of unrelated umbilical cord blood transplantation in 88 patients

- with primary immunodeficiency in Japan.  
Brit J Haematol, 2011 (in press).
- 8) 渡辺修大、足立壮一、堀部敬三、永利義久、加藤剛二、田渕 健、吉見礼美、**加藤俊一**、矢部普正. 日本小児白血病リンパ腫研究グループ(JPLSG)SCT 委員会小児急性骨髄性白血病第一寛解期でのHLA一致同胞間骨髄移植におけるGVHD予防 (MTX 単独 vs. CyA 群) の比較 日本小児血液学会雑誌 2010;24(1) : 32-36.
  - 9) 加藤俊一. ライソゾーム病の治療. 1) 造血細胞移植. 血液フロンティア 2010;20(4) :565-573.
  - 10) **加藤俊一**. ライソゾーム病の治療. 造血細胞移植. 小児科診療 2011 (印刷中).
- ## 2. 著書
- 1) **加藤俊一**. よくわかる造血細胞移植コーディネート. 医薬ジャーナル社 2010 pp1-2 (編集)
  - 2) **加藤俊一**. よくわかる小児の造血細胞移植 医薬ジャーナル社 2010 (監修および共著)
  - 3) **加藤俊一**. ムコ多糖症に対する造血幹細胞移植の現状と課題 (骨髄、臍帯血、末梢血). 「ムコ多糖症 UPDATE」. イーエヌメディックス社 2011 (印刷中).
- ## 3. 学会発表
- 1) Kamiya S, Yonezawa H, Woo T, Kurata S, Zaman C, Hanawa T, **Kato S**, Osaki T. Biofilm formation by *Helicobacter pylori* and its pathogenesis. 33<sup>rd</sup> International Congress on Microbial Ecology and Disease. Sep. 6-10, 2010, Athen, Greece.
  - 2) **Kato S**. Cord blood banking and cord blood transplantation in children in Japan. 22<sup>nd</sup> International Congress of Pediatrics. Oct.14-18, 2010, Tehran, Iran.
  - 3) Koike T, Yanagimachi N, Yabe H, Yabe M, Morimoto T, Shimizu T, Ishiguro H, Takakura H, **Kato S**. High incidence of radiation induced cavernous hemangioma in long term survivors who underwent BMT with radiation therapy during childhood or adolescence. 2011 BMT Tandem Meeting. Feb. 17-21, 2011, Honolulu, USA.
  - 4) Koike T, Yabe H, Morimoto T, Shimizu T, Koike T, Takakura H, **Kato S** and Yabe M. Recovery of gonadal function after allogeneic stem cell transplantation for Fanconi anemia. 22<sup>nd</sup> Annual Fanconi Anemia Research Fund Scientific Symposium. Oct. 2010, USA.
  - 5) Yabe H, Morimoto T, Shimizu T, Koike T, Takakura H, **Kato S** and Yabe M. Long-term follow-up after unrelated bone marrow transplantation in a patient with dyskeratosis congenita. 22<sup>nd</sup> Annual Fanconi Anemia Research Fund Scientific Symposium. Oct. 2010,USA.
  - 6) Yabe H, Yabe M, **Kato S**, Koike T, Takakura H, Hyodo H, Tomita Y, Ishiguro H, Shimizu T, Morimoto T and Akiba T. Recovery of gonadal function after allogeneic stem cell transplantation for aplastic anemia. 第 72 回日本血液学会総会 2010 年 9 月、横浜.
- ## H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得 なし
  2. 実用新案登録 なし
  3. その他 なし

## II. 分担研究報告

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 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

研究分担者 東 英一 三重大学医学部附属病院細胞移植療法部 准教授

研究要旨

臍帯血移植 (CBT) を含む造血細胞移植 (HCT) 後の免疫抑制期において、サイトメガロウイルス (CMV)、Epstein-Barr ウイルス (EBV)、アデノウイルス (ADV) などのウイルス感染症は時に重症化し、致命的となる。また、本邦など、時に麻疹の流行を認める地域においては、HCT 後の麻疹ウイルス (MV) 感染症の致命率が高いことも報告されている。今回、我々は、樹状細胞 (DC) ワクチンの手法を用いた MV に対するワクチンの第 I 相臨床試験を実施し、終了した。現在論文投稿中である。

共同研究者

熊本忠史・三重大学大学院医学系研究科・病態解明医学講座・小児発達医学・助教

平山雅浩・三重大学医学部附属病院・小児科・准教授

A. 研究目的

HCT 後の免疫抑制状態のため既存のワクチン接種が困難な患者に対する、抗麻疹樹状細胞ワクチン (MV-DC ワクチン) の第 I 相臨床試験を実施し、安全性と有効性をみる。プライマリーエンドポイントを安全性の確認とし、セカンダリーエンドポイントを 1) 血清 MV 抗体価の上昇、2) MV 特異的 B 細胞の増加、3) ワクチン接種至適時期の設定とする。

B. 対象と方法

対象：自家あるいは同種 HCT 後 2 年未満の患者、あるいは、移植後 2 年以上であっても免疫抑制剤を投与中であるなど通常の麻疹生ワクチンの接種が困難である患者を対象とする。なお、本臨床試験はヘルシンキ宣言に基づいて計画されており、また、三重大学医学部附属病院倫理委員会の承認を得ている。対象となる患者には文書を用いて説明し、同意を得た。

MV-DC ワクチンの作成：MV 感染 DC を自己 DC に貪食させることにより、抗 MV-DC ワクチンを作成する。UV 照射によりアポトーシスに陥った被感染細胞からウイルス抗原を認識した DC は、自己 T 細胞にウイルス抗原を提示する能力を獲得し、抗ウイルス免疫を惹起する。

MV-DC ワクチンの接種方法：上腕あるいは

は大腿皮下に1回接種する。第I相臨床試験は3+3デザインにより実施する。1回あたりの接種細胞数は、 $2 \times 10^5$  (コホート1)より開始し、安全性の確認とともに、 $1 \times 10^6$  (コホート2)、 $5 \times 10^6$  (コホート3)にdose upする。

安全対策：1) GMPグレードの試薬、器具、設備を使用する。2) 調整したワクチンに微生物が含まれないことを細菌・真菌PCRで確認するとともに、エンドトキシンを測定する。3) 標準作業手順書SOPを作成し、これを遵守する。

安全性の確認：1) CTCAE ver3.0に基づいて副反応を評価する。2) 特に、発熱、発疹、リンパ節腫脹などの全身症状、接種部位の発赤、腫脹、熱感の発生に留意する。

有効性の評価：1) ワクチン接種前と接種後6週の血清MV抗体価をEIA法とHI法にて評価する。これらの検査はSRLに依頼

する。2) MV特異的B細胞の測定：接種前後の末梢血から分離したB細胞をCD40、SAC lysate、PWM、LPS、CpG、IL-2、IL-6、IL10の存在下で培養する。これらの刺激により、抗MV抗体をはじめ、ムンプスウイルス、風疹ウイルスなど、種々のウイルスに対する抗体産生が誘導される。培養上清中に含まれる抗MV抗体価をELISA法で測定する。

ワクチン接種至適時期の設定：胸腺機能回復の指標として1) flow cytometry法にて末梢血 true naive T cell (CD4+CD45RA+CD62L+CD11a-) 数を、2) 定量的PCR法にて末梢血 T-cell receptor excision circle (TREC)コピー数を、また、3) T-cell receptor  $\beta$  (TCR $\beta$ ) complementarity-determining regions 3 (CDR3)の spectratypingを検討する。

### C. 研究結果

表 1. Characteristics of HCT patients

Pt	Age at		Diagnosis	LAMV	Duration	HC	Chronic	Immuno-
	cohort	DCV / Sex		before HCT*	from HCT	source	GVHD	suppressant
1	1	18 yr / M	Infant ALL	+	15 mo	uBM	-	-
2	1	2 yr / M	T-ALL	+	27 mo	dCB	-	-
3	1	4 yr / M	NB	-	24 mo	aBM	-	-
4	2	8 yr / M	AA	+	12 mo	uBM	-	Tacrolimus
5	2	7 yr / M	Ph+ ALL	+	14 mo	uBM	-	-
6	2	2 yr / M	AML	+	15 mo	uCB	-	Tacrolimus
7	3	25 yr / F	AML	+	10 yr	rBM	+	Tacrolimus
8	3	2 yr / F	Infant ALL	-	6 mo	uBM	-	-
9	3	13 yr / M	AA	+	10 mo	rBM	-	-
10	3	13 yr / F	APL	+	6 mo	uBM	-	-

コホート1：3例、コホート2：3例、コホート3：4例のHCT患者にMV-DCワクチンを接種した(表1)。10例すべてにおいてDCワクチン接種後有害事象を認めなかった。なお、作製したDCワクチンすべてにおいて、細菌・真菌はPCR法で検出されず、また、エンドトキシンも陰性であった。

血清MV抗体価はELISA法で8/10例に、HI法にて2/10例に抗体価の陽転を認めた(表2)。また、9/10例で麻疹特異的B細胞の増加を認めた(図1)。

我々が検討したHCT後2年以上経過した症例の末梢血 true naive CD4+ T cell 数の中央値は250/mm<sup>3</sup>であった。一方本臨床試験の患者においては6/10例において true naive CD4+ T cell 数が250/mm<sup>3</sup>未満であった(表3、図2)。TRECのコピー数は年齢とともに減少していくことが報告されているが、正常値の設定については今後の検討

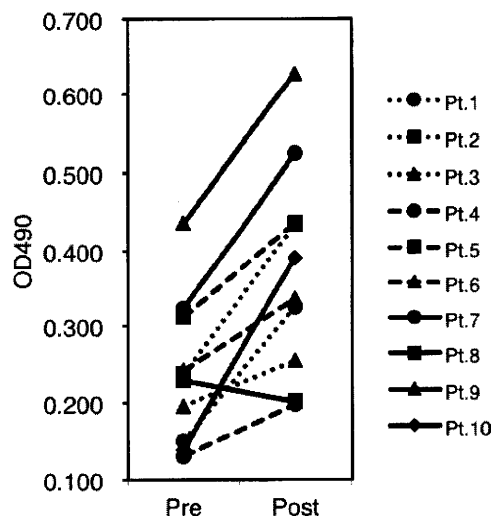


図1 MV-specific memory B cell

が必要である。しかし、本臨床試験では、症例8のように末梢血中にTRECが検出されない症例も含まれていた(表3)。TCR-Vβのspectratypingにおいては、ピーク数が8未満のsubfamilyが未回復であるとの報告が多い。症例1、2、4、8のように多数のsubfamilyにおいてピーク数が少ない症例があった(表3、図2)。

表2 Serum anti-Measles antibody titer

Pt	Cohort	HI		ELISA		
		Pre	6 wk	Pre	6 wk	4-12 mo
1	1	<8	<8	<2.0	3.2	3.9
2	1	<8	<8	<2.0	2	<2.0
3	1	<8	<8	<2.0	<2.0	<2.0
4	2	<8	<8	<2.0	3.1	3.0
5	2	<8	<8	<2.0	2.4	ND
6	2	<8	<8	<2.0	5.7	0.4
7	3	<8	<8	<2.0	5.1	ND
8	3	<8	<8	<2.0	<2.0	ND
9	3	<8	8	3.8	7.5	ND
10	3	<8	8	3.3	8.3	ND

#### D. 考察

接種する DC ワクチン量が多いほど麻疹抗体価の上昇が大きい傾向にあった。特にコホート 3 の 2/4 例では麻疹自然感染を予防しようとされている HI 抗体価 8 倍まで上昇した。一方で少量 (コホート 1) でも 2/3 例に抗体価の上昇を認めており、1 回接種量が少なくても頻回接種によるブースト効果により麻疹免疫を獲得しうることを示唆された。

胸腺機能と DC ワクチンの有効性については、症例 8 のように今回検討した 3 種類の免疫学的マーカーすべてにおいて胸腺機能が未回復であると判断される症例は、ワクチン接種量が多くても、効果が得られないことが示唆された。またコホート 3 の症

例 7、9、10 については、胸腺機能が回復していると判断されるが、症例 7 のみ血清麻疹 HI 抗体価の陽転を認めなかった。症例 9、10 はワクチン接種前の ELISA 価が陽性であり、原疾患罹患以前に接種した通常の麻疹生ワクチンの効果が残存しており、麻疹 DC ワクチンによりブースト効果が得られた可能性がある。また、症例 7 は DC ワクチン接種時に慢性 GVHD に対してタクロリムスを服用していた。免疫抑制剤が本ワクチンの効果に影響を及ぼした可能性は否定できないが、ELISA 価の上昇は認めており、このような患者に対しても頻回接種により麻疹免疫を獲得可能であることが示唆された。

表 3 Thymic recovery

Pt	Cohort	TCR-V $\beta$ subfamilies	TREC	TNCD4
		with <8 peaks (/ 35 subfamilies)	(copies / $\mu$ g DNA)	(cells /mm <sup>3</sup> )
1	1	18	811	1106
2	1	6	1515	139
3	1	0	7181	328
4	2	9	19420	190
5	2	1	9445	31
6	2	1	14404	69
7	3	1	7239	340
8	3	9	0	7
9	3	1	9523	369
10	3	2	1342	43

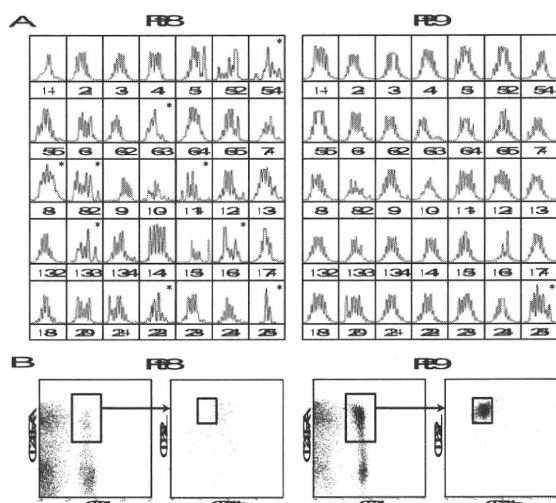


図 2 Thymic recovery A: TCR-Vβ spectratyping, B: True naive CD4+ T cell

3) Hirayama M, Azuma E Major and minor histocompatibility antigens to NIMA  
 Prediction of a tolerogenic NIMA effect.  
*Chimerism* 2011 (in press)

H. 知的財産権の出願・登録状況  
 特になし

E. 結論

MV-DC ワクチンが安全かつ有効であることが示唆された。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1) Kumamoto T, Azuma E, Hirayama M et al.  
 A Phase I Clinical Study of Dendritic Cell Vaccine against Measles for Patients Following Hematopoietic Cell Transplantation (submitted, 2011)

2) Araki M, Hirayama M, Azuma E,  
Kumamoto T, et al. Prediction of reactivity to noninherited maternal antigen in MHC-mismatched, minor histocompatibility antigen-matched stem cell transplantation in a mouse model. *J Immunol* 2010;185:7739-45.



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 小児臍帯血移植におけるシクロスポリン至適使用法の検討（3時間点滴の TDM）

研究分担者 足立 壮一 京都大学大学院医学研究科人間健康科学 教授

研究要旨

造血細胞移植において免疫抑制剤のシクロスポリンの標準的投与方法は未だ確立していない。しかし、ネオーラル®（シクロスポリン内服薬）が導入されてからは、ネオーラル®の薬物動態と効果およびシクロスポリンの薬理作用が検討され AUC<sub>0-4</sub>、C<sub>2</sub> 値（内服 2 時間後の血中濃度）および C<sub>max</sub> が効果に相関することが明らかになった。そこで、小児臍帯血移植でのシクロスポリン 3 時間点滴における C<sub>3</sub> 値を設定してシクロスポリンの体内薬物動態を検討する治療研究を開始した。

A. 研究目的

造血幹細胞移植においてシクロスポリン（CyA）の目標血中濃度、至適使用量および点滴方法等 CyA の使用法は各施設の経験に基づき行なわれている。小児の移植においては、京都大学小児科からパイロット試験で、3 時間点滴法の有用性と点滴時の C<sub>3</sub> 値（CyA 投与後 3 時間の血中濃度）や内服時の C<sub>2</sub> 値の検討について報告がある。そこで、これまでの報告やパイロット試験などを参考にして、3 時間点滴における目標 C<sub>3</sub> 値を設定して CyA の体内薬物動態を多施設にて検討する。

B. 研究方法

小児臍帯血移植において GVHD 予防として、CyA 注射液（CyA-IV; サンディミュン®注射液）を 1.5mg/kg の 3 時間点滴で 1 日 2 回行ない、投与後 3 時間値（C<sub>3</sub> 値）を目標値として投与量を調節する。CyA の体内薬物動態を検討し、CyA の標準的投与方法を確立する。Day29以降に、1日点滴量の 2 倍の経口剤ネオーラル®（CyA-MEPC）1日2回内服に切り替えて、同様の検討をする。また、同時に急性 GVHD 発症の有無について検討する。

用量調節

Day3 に血中濃度を測定し、用量調節を行う。血中濃度の目標値は、C<sub>3</sub> 値が、800ng/ml を下回らず、1500ng/ml を超えないようにする。トラフ値（C<sub>0</sub> 値）が、300ng/ml を上回った場合は、副作用が発現しない限り継続する。経口摂取が可能になった場合は、注射投与量の倍量の CyA-MEPC に変更し、血中濃度を測定する。

用量調節方法

C<sub>3</sub> 値を A ng/ml として、以下の計算式に基づいて調節する。

800ng/ml を下回った場合

$$(900/A) \times (\text{現在の使用量}) = (\text{新たな使用量})$$

1,500ng/ml を上回った場合

$$(1,400/A) \times (\text{現在の使用量}) = (\text{新たな使用量})$$

（評価項目）

以下の項目について検討する

主要評価項目: CyA の体内薬物動態の検討

副次的評価項目: 移植後 50 日間の急性 GVHD の発生率、急性 GVHD および腎障害と CyA 血中濃度（C<sub>3</sub> 値、C<sub>2</sub> 値、C<sub>0</sub> 値）の関係、安全性（副作用）

(予定登録数と登録期間)

登録期間：2年

追跡期間：1年

研究期間：3年

(研究組織、参加施設と登録)

総括責任医師：

京都大学大学院医学研究科人間健康科学  
足立壮一

研究事務局：

同上

研究参加施設

当該研究に対する参加募集を行っており、小児造血細胞移植を行なっている施設から以下の7施設の参加表明があった。

- 京都大学医学部附属病院
- 福井大学医学部附属病院
- 東海大学医学部附属病院
- 神戸中央市民病院
- 京都桂病院
- 松下記念病院
- 京都市立病院

倫理面への配慮

本試験を施行するにあたり、京都大学の倫理委員会の承認を得た。また各参加施設にも施設内の倫理委員会の承認を得て実施している。対象患者の個人情報とは特定されないように厳格な配慮をし、その情報管理は厳密に取り扱うものとした。

### C. 研究結果

登録予定数は10例。研究開始2年6ヶ月が経過し、2011年1月末時点で6例の登録があった。現在も登録受付を継続中である。

### D. 考察

本研究を開始する以前に当科で検討した臍帯血移植10例に対するCsAの3時間点滴静

注法では、以下の結果が得られている。

①C3値がAUC<sub>0-12</sub>, AUC<sub>0-6</sub>に強い相関を示した。□移植後早期は、用量を調節した後も目標C3値である800ng/ml以上に達しない例が多かった。②急性GVHD(Grade II)の発症を3例に認めたが、いずれも皮膚のみであった。③内服変更後も3時間点滴法と同様の動態を示した。④CsAによる重篤な腎障害、脳症などは認めなかった。

これらの結果を基に、多施設での安全かつ有効な結果が得られるかの検討が必要である。

### E. 結論

少数例の検討だが、シクロスポリン3時間点滴静注法にて目標血中濃度に到達させることで、重篤なGVHD、腎毒性、神経毒性はおこさず有効な結果が得られると考えられた。

### F. 健康危険情報

なし

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

予定あり

#### 2. 学会発表

納富誠司郎、平松英文、河田沙耶架、田中篤志、才田聡、森嶋達也、藤野寿典、松原央、渡邊健一郎、平家俊男、足立壮一

当科におけるシクロスポリン持続投与法と3時間静注1日2回法の比較検討 第33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

#### 1. 特許取得

なし

#### 2. 実用新案登録

なし

#### 3. その他

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 臍帯血移植臨床研究の管理と統計学的解析

研究分担者 熱田 由子 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 講師

研究要旨

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、骨髓移植推進財団、日本さい帯血バンクネットワーク）が協力して2006年から造血細胞移植登録の一元化・電子化がなされたが、このシステムの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。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・患者臨床情報データ管理の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。試験参加医師を主な対象として、臨床試験におけるデータ品質管理・品質保証の意義およびその方法を解説するという教育を実施した。

A. 研究目的

臍帯血移植臨床研究（前向き臨床試験を含む）の質の向上を目的とし、以下の4点に重点をおいた活動をおこなった。

A-1. 造血細胞移植登録プログラム（TRUMP）を用いた一元化登録の推進と TRUMP の臨床試験への応用。

2006年から開始した本邦における造血細胞移植登録の電子化・一元化登録の推進は、本邦における造血幹細胞移植実施状態の把握における貢献のみならず、その成績を明らかとする登録研究(registry study)において、その質の向上に多大な貢献が期待される。一方、2007年1月に行われた施設アンケートから、登録や臨床試験の症例報告書の記入において医師のみが担当している施設が回答した136施設中109施設(80%)、医師+事務担当者の施設が11施設(8%)と、約9割の施設において医師が登録や症例報告書記入の担当の中心となっており、専属CRCやデータマネージャーなど専門のスタッフがいる施設は9施設(7%)にとどまっていることが判明しており、登録施設の負担を最大限に考慮する必要がある。臍帯血移植を含む造血幹細胞移植臨床試験においては、大抵の場合、

TRUMP 調査項目は基本項目として調査対象となる。そのため、同じ移植症例において、同じ項目を重複して入力・記載する必要のない体制を整えることは重要であり、TRUMP の臨床試験への応用は一つの解決策となる。

A-2. 臍帯血移植臨床試験におけるデータ管理の質の向上。

2009年度は本研究班において計画された以下の2つの臨床試験におけるデータ管理を担当し、管理データの質の向上に努めた。臨床試験より導き出される結論は、実地臨床をささえるエビデンスとなるため、収集・解析される臨床情報が正確に処理されることが倫理的・科学的見地より重要である。

- 複数臍帯血同時移植の臨床第II相試験
- 成人における骨髓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)

A-3. 試験参加医師を対象とした教育

A-2で記載したデータ管理の質の向上は、臨床試験

登録患者の臨床情報管理におけるエラーを最小限にし、臨床試験から導き出される結論の正しさをできる限り保証しようという目的のためである。しかしながら、臨床現場の医師は臨床試験参加患者管理だけではなく、膨大な量の日常臨床業務を担っており、データセンターからの督促や未記入データなどの問い合わせの意義が十分に理解されていないことが多い。試験参加医師を主な対象として、臨床試験におけるデータ品質管理・品質保証の意義およびその方法を教育し、同時に臨床医からの意見をもとにデータの提出方法の再検討も実施する。

#### A-4. 海外の移植登録組織の情報収集

欧（the European Group of Blood and Marrow Transplantation, EBMT）、米（Center for International Blood & Marrow Transplant Research, CIBMTR）、そして亜（Asia-Pacific Blood and Marrow Transplantation Group, APBMT）らが参加する Worldwide Network of Blood and Marrow Transplantation (WBMT) では、全世界での造血幹細胞移植の実施状況や組織間の共同研究実施のインフラを整えていくための活動を開始している。その会議に参加し、より共同研究が実施しやすい状況に我が国の移植データベースも構築していく。

### B. 研究方法

#### B-1. TRUMP による一元化・電子化登録の推進

##### 1. TRUMP 項目の調整

TRUMP は 2004 年から 2 年間をかけて開発され、当時独立して移植データを収集していた 4 組織（日本小児血液学会、骨髄移植推進財団、日本さい帯血バンクネットワーク、および日本造血細胞移植学会）の調査項目を融合させ、TRUMP 調査項目が作成された。2008 年度の TRUMP version up では、欧米の造血幹細胞移植基本調査項目を網羅するような調査項目の変更を行った。

##### 2. TRUMP の臨床試験への応用

TRUMP は施設内のインターネットに接続していないコンピューターで管理されるコンピューターベースのプログラム（ソフトウェア）である。施設内では、患者氏名や患者生年月日などの個人識別情報を用いて管理し、学会あるいはバンクへの提出データファイルはワンクリックでコンピューター上に登録用の匿名化・暗号化ファイルが保存される。この書き出し機能

には、学会登録用のすべての症例を対象とした書き出し機能と、個々の症例を対象とした書き出し機能が存在する。後者の書き出し機能を用いて、臨床試験における患者基本・臨床情報の収集の効率化および質の向上を図った。具体的には、患者情報の収集を TRUMP データ（電子データ）および TRUMP 調査項目以外の臨床試験収集データに分け、後者に限り紙調査票で患者情報収集を行う方法とした。

#### B-2. 臍帯血移植臨床試験におけるデータ管理

##### 1. プロトコールレビュー

研究者が執筆したプロトコールをレビューし、データ管理観点、統計学的観点、臨床試験方法論観点から試験計画案の改善に寄与した。

##### 2. 調査票の作成

TRUMP 調査項目以外の収集項目を対象とした紙調査票を設計した。記入ミスが少ないようにチェック形式の項目をベースとし、自由記載欄はできる限り縮小した。

##### 3. 患者登録・進捗管理

登録患者の試験遂行が滞りなく行われ、必要な患者情報が滞りなく収集される体制を構築するために、患者登録・進捗管理においては別途手順書を作成し、情報収集の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該当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確認項目とした。