

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障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。

### B-3. 試験参加医師を対象とした教育

B-2 で示したような手間のかかるデータ管理を実施する目的は、データのプロセスにおけるエラーを最小限にし、データの品質管理、および品質保証を実施するためである。データセンターが担当するデータ管理の内容を分か

りやすく解説する。同時に、試験参加医師の意見も収集し、データ管理の実際に反映する。

## C. 研究結果

### C-1. TRUMP を用いた一元化・電子化登録の推進と TRUMP の臨床試験への応用

#### 1. 登録施設数

成人領域施設の登録施設数の推移は下図のとおりであり、成人施設（2006年度より開始）、小児施設（2007年度より開始）いずれにおいても一元化・電子化登録開始後に登録施設数の増加が認められた。登録移植件数も特に自家移植において、一元化・電子化登録開始後に大幅な登録移植件数の増加が認められた。

#### 2. TRUMP の臨床試験への応用

TRUMP への入力/紙調査票への記入を担当する医師の負担軽減のために臨床試験での患者情報収集は、TRUMP 電子データおよび紙調査票データの二本立て形式をとった。複数臍帯血試験では、2008年度までは12/36例で、提出の際にTRUMP電子データ（CD-R）の同封がなされてなく、再度提出の督促をおこなっている。2形式に提出データがわかれているため、一方、特に電子データが忘れられやすい傾向があったため、提出案内の文書および督促文書の改善をおこなったところ、2009年度は同様の問題が見られたのは2例のみであった。

### C-2. 臍帯血移植臨床試験におけるデータ管理

#### 1. 登録・進捗管理

登録・進捗管理手順書および手順書に従ったプログラム作成により、登録患者の進捗管理は滞りなく行われた。患者情報の提出は、提出期限より遅れることが多く、調査票提出の督促の必要のない症例はまれであった。

#### 2. モニタリング

複数臍帯血同時移植の臨床第 II 相試験においては、2008年6月にモニタリング検討会を実施し、試験進捗状況、患者情報収集状況、安全性情報、逸脱患者情報の確認を中心とした会議を行った。結果はモニタリングレポートとしてまとめられ、参加各施設に配布された。患者情報収集におけるいくつかの問題点が明らかとなった。収集項目となっているもののうち、検査が実際に実施されなかったために情報収集が不可能であったものが20%程度であった項目が指摘され、参加施設にアナウンスされた。2011年2月下旬以降に、全登録患者の最終生存・疾患状況の追跡調査を実施し、問い合わせ票の収集後データレビューを予定する。

### C-3. 試験参加医師を対象とした教育

試験参加医師がデータ管理の意義を理解することにより、データの質の向上が期待できる。試験参加医師からの意見は、報告書の設計方法などに役立てられる。本研究班の in-person meeting として年2回の班会議が実施されてきたが、この折に参加医師を対象とし実施した。

### C-4. 海外の移植登録組織の情報収集

EBMT2009（フィレンツェ）、EBMT2010（ウイーン）BMT Tandem meetings 2011（ハワイ）期間中に開催された WBMT 会議に参加した。WBMT に設置された5つの Standing Committee の一つである Transplant Center / Recipient Standing Committee に APBMT 代表のメンバーとして参加した（BMT Tandem Meetings 2011 期間中）。我が国での移植活動状況、あるいは移植成績を国際的視点で検討することは、今後より重要性を増すと考えられるが、その場合には、国際間で同じ基準で定義された同じ項目で情報が収集されていることが極めて重要である。今回の Transplant Center / Recipient Standing Committee 会議では、基本調査項目の決定方法に関する一つのモデルを提案した。

## D. 考察

臍帯血移植を含む造血幹細胞移植において、registry study を生み出す良質な移植データベースは重要であり、registry study が生み出す知見の重要性は欧（the European Group of Blood and Marrow Transplantation）米（Center for International Blood & Marrow Transplant Research）からの報告からも明らかである。

登録を推進すると同時に、臨床試験の推進につなげられることを目的とし、TRUMP の臨床試験への応用を試みた。同じ調査項目を2度入力/記入する手間が減少するというメリットがあるが、一方、臨床試験において提出するデータが2種類になるというデメリットがあり、一方のみの提出がなされることが多いという問題も明らかとなった。参加施設において経験を積み重ねていくことにより、またデータセンターからの案内・督促の方法の改良によりこういった問題は改善することを示すことが出来た。

造血幹細胞移植を対象とした臨床試験は、収集が必要な調査項目が多いが、これらの項目に関しても経験を重ね、収集項目を最小限にする努力、収集方法の改善を検討し続ける必要がある。

## E. 結論

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、日本骨髄バンク、臍帯血バンク)が協力して造血細胞移植登録の一元化・電子化が2006年よりなされたが、このシステムを用いた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。造血細胞移植登録一元管理プログラム(TRUMP)を用いた一元化登録においては登録施設・登録症例数の増加を認めている。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・患者情報データ管理において、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。また、海外の移植登録組織の情報収集、あるいは連携をおこなっていくことにより、データベースの構造を含め共同研究を行えるような体制の構築を目指していく。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. 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;116:2839-46.
2. Yoshimi A, Suzuki R, Atsuta Y, Iida M, Lu DP, Tong W, Ghavamzadeh A, Alimoghaddam K, Lie AK, Liang R, Chan LL, Haipeng L, Tan PL, Hwang WY, Chiou TJ, Chen PM, Van Binh T, Minh NN, Min CK, Hwang TJ, Kodera Y. Hematopoietic SCT activity in Asia: a report from the Asia-Pacific Blood and Marrow Transplantation Group. *Bone Marrow Transplant.* 2010;45:1682-91.
3. Yazaki M, Atsuta Y, Kato K, Kato S, Taniguchi S, Takahashi S, Ogawa H, Kouzai Y, Lobayashi T, Inoue M, Kobayashi R, Nagamura-Inoue T, Azuma H, Takanashi M, Kai S, Nakabayashi M, and Saito H. Incidence and Risk Factor of Early Bacterial Infections after Unrelated Cord Blood Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.*

2009;15:439-46.

4. 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, Kodera 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.* 2009;113:1631-8.

### 2. 学会発表

Comparison of unrelated cord blood transplantation and human leucocyte antigen mismatched unrelated bone marrow transplantation for adult patients with hematological malignancy.

Yoshiko Atsuta, Ritsuro Suzuki, Tokiko Nagamura-Inoue, Shuichi Taniguchi, Satoshi Takahashi, Shunro Kai, Hisashi Sakamaki, Yasushi Kouzai, Masaharu Kasai, Takahiro Fukuda, Hiroshi Azuma, Minoko Takanashi, Shinichiro Okamoto, Masahiro Tsuchida, Keisei Kawa, Yoshihisa Kodera, Yasuo Morishima, and Shunichi Kato, for the Japan Marrow Donor Program and the Japan Cord Blood Bank Network.

2010 BMT Tandem Meetings

Best Abstracts Plenary Session

February 26, 2010 (口演)

熱田由子、鈴木律朗、長村登紀子、谷口修一、高橋聡、甲斐俊朗、坂巻壽、香西康司、笠井正晴、福田隆浩、東寛、高梨美乃子、岡本真一郎、土田昌宏、河敬成、森島泰雄、小寺良尚、加藤俊一、骨髄移植推進財団、日本さい帯血バンクネットワーク共同研究  
成人急性白血病における非血縁者間骨髄移植と非血縁者間臍帯血移植成績の白血病型別の比較  
第70回日本血液学会総会2008年10月12日 京都 プレナリーセッション (口演)

### H. 知的財産権の出願・登録状況

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 臍帯血幹細胞骨髄内移植に関する研究

研究分担者 安藤 潔 東海大学医学部・教授

研究要旨：ヒト造血幹細胞のクローンレベルでの動態を解析するアッセイ系を用いて、臍帯血移植後の造血動態を解析した。移植された幹細胞は宿主骨髄ニッチに静止期で存在し、移植直後には急激にクローンサイズを増大させ造血再構築を行う。移植を繰り返すと幹細胞にDNA傷害が蓄積し再構築能が低下した。この知見は高齢者、移植後患者の造血幹細胞にも当てはまることを初めて明らかにした。

A. 研究目的

臍帯血移植や成人に対する複数臍帯血移植を安全に効率よく行っていくためには移植された臍帯血の動態を解析することが重要である。

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。レトロウイルスによる遺伝子マーキングを併用して、ヒト造血幹細胞の移植後動態をクローンレベルで解析し、本研究課題では造血幹細胞移植臨床で問題となる疑問に答えることを目的とした。

B. 研究方法

臍帯血造血幹細胞を免疫不全マウス(NOG)に移植する。成人健常者(44 to 56 y/o; median: 50 y/o,  $n = 6$ )、高齢健常者(72 to 84 y/o; median: 79 y/o,  $n = 10$ )、移植後患者(34 to 56 y/o; median: 48 y/o,  $n = 8$ )よりCD34陽性細胞を採取し、細胞の表現型、DNA傷害、活性酸素蓄積、テロメア長、SRC活性を比較した。

C. 研究結果と考察

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、 $\gamma$ 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。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。

上記で得られた知見を臨床検体を用いて確認した。臍帯血、高齢健常者、移植後患者のCD34+CD38-細胞比率はそれぞれCD34+細胞中の16.8、6.51、0.49%であり、それぞれ臍帯血に比較して優位に低下していた。 $\gamma$ H2AXフォーカスを指標としたDNA損傷は臍帯血、成人健常者、高齢健常者、移植後患者のCD34+CD38-細胞当たりそれぞれ、2.1、3.3、5.1、7.3であり、臍帯血に比較して優位に増加していた。CD34+CD38-細胞の活性酸素種(ROS)レベルは臍帯血を1とすると、高齢健常者、移植後患者はそれぞれ、1.8、2.3と有意に上昇していた。SRC活性は同数

の CD34+細胞を移植して、臍帯血、成人健常者、高齢健常者、移植後患者それぞれで、65, 18, 8, 1%であり、いずれも臍帯血に比較して有意に低下していた。最後にこれらの変化がテロメアの短縮に由来するものであるのか否かを Flow FISH により比較した。臍帯血を 1 とすると、高齢健常者のみ 0.5 と低下していた。以上より、50 才と 79 才の健常者で有意に DNA 損傷、ROS レベルは増加し、造血幹細胞活性が低下することが示された。また、移植後には顕著に高齢者と同様のパターンをとることが明らかにされた。

#### E. 結論

以上の結果から、移植後の造血幹細胞は造血再構築能が低下していることが示され、この知見は移植後患者を再発などの際に抗癌剤治療を行うと造血回復が遅延すること、50 才以上のドナーの幹細胞では造血能が低下している、などの臨床経験を裏付ける研究成果である。また、移植後の造血再生を促進するために NAC などの薬剤が有用であることが示唆された。

F. 健康危害情報  
なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Matsushita H, Ando K, et al. A novel aberrant form of e13a2 BCR-ABL1 transcript in chronic myelogenous leukemia undetectable with the standardized real-time quantitative polymerase chain reaction from the Europe Against Cancer Program. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 47, 885-887, 2009

2) Hatanaka K, Ando K, et al. Methotrexate-associated lymphoproliferative disorders mimicking angioimmunoblastic T-cell lymphoma. *Pathology Research and Practice*. 2010 in press

3)

H. 知的財産権の出願・登録状況  
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 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  
臍帯血造血細胞の採取法および長期保存に関する検討

研究分担者 磯山 恵一 昭和大学藤が丘病院小児科 教授

研究協力者 池田 裕一 昭和大学藤が丘病院小児科 講師

研究要旨：①小児急性骨髄性白血病に対し初回移植として非血縁臍帯血移植を行った 141 例の長期予後について解析し成績と問題点を明らかにした。その結果予後不良因子である染色体異常を有する症例や、早期再発例の寛解期症例に対しては有用な治療選択肢であることが明らかになった。また、臍帯血採取法および凍結細胞の品質を改善する目的で研究を行った。②胎盤還流下で選択的 CXCR-4 阻害剤を用いて、CD34 陽性細胞を採取することに成功した。これにより採取できる胎盤血由来の CD34 陽性細胞数は、臍帯血の約 4-5 倍であり、胎盤由来造血幹細胞は今後造血幹細胞供給源のひとつとして期待される。③臍帯血の凍結ならびに凍結期間における未熟造血幹細胞の影響を検討し、臍帯血中の未熟な造血幹細胞ほど凍結により影響を受けやすいことが示された。

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について

A. 研究目的

目的：小児の急性骨髄性白血病に対し行われた非血縁臍帯血移植の長期予後についての報告はない。今回、小児 AML に対する非血縁臍帯血移植の成績を解析し問題点を明らかにすることを目的とした。

背景：臍帯血移植は、1988 年 Gluckman らにより世界で初めて行われた。2008 年末までに 6,000 例を越す臍帯血移植が行われている。臍帯血移植は、ドナーに負担がなく患者の状態に応じて移植時期を設定できる利点がある。また、成人ドナーに比較し感染症リスク低いことや、GVHD の発症率が低く HLA 不適合の移植が可能であるという利点を有している。今回、小児急性骨髄性白血病 (AML) に関する解析を、初回移植例<sup>1)</sup> で行い問題点を明らかにした。

B. 研究方法

対象および評価項目：1999 年 8 月から 2005 年 12 月までに日本さい帯血バンクネットワークの各さい帯血バンクを介して移植を行った年齢 16 歳未満の小児 AML を対象とする後方視的研究である。141 例のうち 39 例は初回寛解例 (CR1、14 例は予後不良核型、21 例は初期治療反応不良例を含む)、第二寛解例 (CR2) は 32 例、第三寛解例 (CR3) は 4 例、非寛解例 (noCR) 65 例である。評価項目は、移植後の好中球生着、血小板生着、無イベント生存率、全生存率、再発率、急性 GVHD 発生率、非再発移植関連死亡率である。各評価項目と患者および臍帯血の特性との関係について単変量解析を行った。

C. 結果

1. 初回移植例について

1) 患者の特徴：症例数は 141 例であった。患者および臍帯血の特徴は移植時患者年齢中央値 4.0y (0-15) 歳、患者体重中央値 14.9kg

(5-65kg)であった。移植細胞数(臍帯血凍結時)中央値は5.03(1.85-15.1)、移植CD34陽性細胞数中央値は $1.43 \times 10^5/\text{kg}$ (0.06- $38.3 \times 10^5/\text{kg}$ )、移植時の患者の状態と症例数は、第1寛解(CR1)39例、第2寛解(CR2)33例、第3寛解(CR3)4例、非寛解(non-CR)65例であった。診断時のリスク分類では、予後良好核型39例、中間群45例、予後不良核型群33例で、24例は染色体結果が得られなかった。GVH方向HLA適合度は、完全一致32例、1不一致91例、2不一致17例であった。GVHD予防として短期MTX使用群は80例、非使用群は61例であった。

## 2) 成績

好中球生着率(移植90日):82.4%、中央値28日であった(28日以内の死亡例を除く)。多変量解析では、CD34陽性細胞数が生着に影響を与える因子となった(CD34陽性細胞数 $<1.35 \times 10^5/\text{kg}$ :HR=0.46, 95%CI 0.31-0.76, P=0.0016)。血小板生着(移植180日)は62.5%で中央値は78日である。多変量解析では、移植時の患者状態(CR1-3群:HR 2.24 (95%CI: 1.32-3.81, P=0.0028)とCD34陽性細胞数( $<1.35 \times 10^5/\text{kg}$ : HR3.55 (95%CI:2.02-6.25, P<0.0001)が独立した予後因子となった。

再発:6年再発率は41.3%であった。多変量解析では、移植時non-CR群、4歳未満例が独立した予後不良因子であった(HR=0.25, 95%CI 0.14-0.49, P<<0.0001、HR=0.46, 95%CI 0.23-0.91, P=0.028)。GVH方向HLA不一致度は再発率に影響を与えなかった。

急性GVHD:grade 2-4の急性GVHD発生率は、40.1%であった。GVH方向HLA適合度、TBIの有無、GVH予防法による発生率に差は認められなかった。多変量解析でも独立した発生因子は認められなかった。

慢性GVHD:2年発生率は13.1%(limited type 10例、extensive type 5例)、判定困難例が24例認められた。

早期移植関連死亡:早期(100日以内)移植関連死亡(TRM)は10.8%であった。死因は、感染

症11件、出血が6件、その他が13件(いずれも重複例あり)であった。最も多かったものは間質性肺炎であった。単変量解析では、短期MTXの使用3.8%(非使用19.9%, p=0.0026)、2000年1月以降の移植7.0%(1999年12月以前の移植26.9%, p=0.003)で有意に100日TRMが低かった。多変量解析では、短期MTXの使用がTRMの発生を低下させる因子となっていた。

生存率:6年全生存率(OS)および無病生存率(DFS)は、46.1%、39.3%であった。DSFでは、寛解期の移植は非寛解期移植に比較し有意に予後良好であった(53.8% vs 0%, p<0.0001)。DFS詳細はCR1は67.6%、CR2は49.6%、CR3は75.0%、non-CRは0%である。他にDFSに影響を与える因子は見いだせなかった。特に、予後因子である核型異常によるDFSの差は認められなかった。OSでもDFS同様に寛解期の移植例では、非寛解期の移植に比較し有意に予後が良かった。また、有意差は認められなかったものの短期MTX使用群は非使用群に比較し、生存率が高い傾向が示された。

## D. 考察

本邦における小児急性骨髄性白血病に対する臍帯血移植の長期成績の報告は本校が最初のものである。生着率はこれまでの報告と同様骨髄移植に比較し低いことが示されたが、CD34陽性細胞数が影響を及ぼすことが明らかにされた。造血細胞を示す細胞数と生着との関係が明らかにされたことは、今後小児AMLの臍帯血移植のドナー選択に際し考慮すべき重要な因子となると考えられる。初回移植の場合には、生存率では骨髄移植などの従来の移植成績にほぼ匹敵するものであった。生存率に影響する因子では、染色体核型の種類など他の危険因子の有無に関わらず、移植時寛解状態にあることが生存率を向上させることが示された。早期移植関連死亡では、非血縁臍帯血移植に関する他の過去の報告と同様、感染症が問題であった。この要因として、非

血縁臍帯血移植における好中球回復の遅延が一因と考えられてきた。今後、CD34 陽性細胞数を考慮したドナーを選択することによって感染症の発症を防ぐことが可能になるかもしれない。また、短期 MTX の使用が早期 TRM の発症を減少させていることも明らかにされた。非血縁臍帯血移植が開始された初期の時期は、MTX 不用例が多かったことが一因であり、他の細胞源と同様に初期免疫反応の予防が必要であったことが改めて示された結果であると考えられた。

#### 胎盤還流による胎盤由来造血幹細胞採取の検討

##### A. 研究目的

臍帯血移植は移植時期を患者の状態に合わせて設定することができること、CMV、EBV 感染の頻度が少ないこと、HLA 不一致に許容範囲が広く GVHD が少ないことが利点である。しかし、一つの臍帯と胎盤から採取できる細胞数に上限があり、体重が大きい患者など全ての移植対象者が利用できない欠点がある。今回、臍帯血採取時に充分回収されていなかった胎盤血中の造血幹細胞を効率良く採取し、採取された胎盤由来造血幹細胞の特性を検討する。

##### B. 研究方法

インフォームドコンセントを取得後、健康な妊婦から帝王切開で娩出された臍帯を含む胎盤を利用した。胎盤娩出後、ニューヨーク血液センター (NYC) の方法に準じて臍帯血を採取した。臍帯血採取後、室温下にて臍帯静脈から抗凝固・血管拡張剤を投与し、臍帯動静脈にカニューレーションを行い、ヒートエクスチェンジャーとローラーポンプ、リザーバーを含むサーキットに接続した。リザーバーには 500mL の  $\alpha$ -MEM、5%アルブミン、10U/ml のヘパリンを注入した。還流開始後すぐにサンプルを回収し、その後選択的 CXCR-4 阻害剤を投与し、5 から 6 時間ほど還流を行った。Procount 法にて臍帯血と還流直後 (CXCR-4 阻害剤注入前)、還流 6 時間後の胎盤還流血中の

CD34 陽性細胞数を測定した。その後、臍帯血ならびに胎盤還流血を磁気ソーティングにて CD34 陽性細胞に単離した後に MethoCult 培地で 14 日間培養を行った。培養後コロニー数をカウントし、さらに各種細胞表面マーカー (CD25, CD45, CD51/61, CD235a) を用いて培養された細胞の性質を評価した。

##### (倫理面への配慮)

胎盤採取ならびに本研究に対して、Alta Beta Hospital ならびに Children's Hospital Oakland Research Institute の倫理委員会で承認を受けた。本来破棄される胎盤を用いての検討であり、倫理面での問題はない。

##### C. 研究結果

Procount 法による CD34<sup>+</sup>CD45<sup>dim</sup> 細胞数は、臍帯血  $7.3 \pm 6.1$ 、胎盤還流血 (直後)  $1.6 \pm 1.8$ 、還流 6 時間後は  $5.2 \pm 2.0$  であった。CFU, CFU-E, BFU-E, CFU-GM のいずれも臍帯血と胎盤還流血の間に有意な差は認められなかった。培養後の表面マーカーの解析では、CD24, CD45, CD51/61, CD235 陽性領域が認められ、各系統への分化が確認された。

##### D. 考察

今回、我々は選択的 CXCR-4 阻害剤を用いて、胎盤還流血から CD34 陽性細胞を採取することに成功した。胎盤から造血幹細胞を採取する試みは以前から行われてきたが、今回の実験では臍帯血とほぼ同等の分量 ( $1 \mu\text{l}$  あたり) の造血幹細胞が採取できた。今回採取可能であった臍帯血は平均 70ml であり、胎盤還流血が 500ml であることを考慮すると、ひとつの臍帯と胎盤から採取できる胎盤血由来の CD34 陽性細胞数は、臍帯血の約 4-5 倍であることが確認された。

##### E. 結論

胎盤由来造血幹細胞は本検討で用いた胎盤還流法により効率よく採取できることが確認された。今後造血幹細胞供給源のひとつとして期待される。

臍帯血の凍結における未熟造血幹細胞の影響



についての検討

#### A. 研究目的

基本的に全ての非血縁臍帯血移植は凍結細胞を用いるため、凍結臍帯血の造血機能評価は重要である。私たちは10年間凍結保存された移植用臍帯血を用いて、凍結前後での有核細胞数、CD34陽性細胞数、CFU-GM数の検討を行い、いずれの項目も有意な低下が認められないことを報告した。一方で、凍結による未熟な幹細胞、特 Lineage<sup>-</sup>CD34<sup>+</sup>に代表される造血幹細胞の評価は十分に行われていない。今回、臍帯血の凍結ならびに凍結期間における未熟造血幹細胞の影響を検討する。

B. 研究方法 神奈川臍帯血バンクで採取された計11検体の臍帯血を凍結前、凍結2週間後、6ヶ月後の各時点で評価した。各時点の臍帯血を磁気分離法により Lineage 陰性 (Lin<sup>-</sup>) 細胞集団に単離後、aldehyde dehydrogenase (ALDH)、CD34、CD38の各マーカーを用いてフローサイトメトリーにより解析した。また Lin<sup>-</sup>細胞ならびに Lin<sup>-</sup>CD34<sup>+</sup>細胞数を ISHAGE 法 (一部変更) により解析した。さらに Lin<sup>-</sup>細胞を CD34 マイクロビーズで再分離し、Line<sup>-</sup>CD34<sup>+</sup>細胞のコロニー形成能ならびにアポトーシス解析を行った。

(倫理面への配慮)

臍帯血採取ならびに本研究に対して、神奈川さい帯血バンクならびに昭和大学藤が丘病院の倫理委員会で承認を受けた。本来破棄される臍帯血を用いての検討であり、倫理面での問題はない。

#### C. 研究結果

Lin<sup>-</sup>生細胞数は凍結前、2週間後、6ヶ月後で  $4.31 \pm 3.12$  から  $2.11 \pm 4.55$ ,  $2.4 \pm 1.7$  ( $\times 10^8$ ) と有意な減少は無かったが、Lin<sup>-</sup>CD34<sup>+</sup>生細胞数は、凍結前、2週間後、6ヶ月後では  $3.65 \pm 0.37$  から  $0.94 \pm 0.14$ ,  $1.13 \pm 0.15$  ( $\times 10^6$ ) と有意に減少していた。CD34陽性細胞のうち ALDH が陽性 (Line<sup>-</sup>CD34<sup>+</sup>ALDH<sup>+</sup>) の割合は  $78.91 \pm 9.94$  から  $24.4 \pm 10.12$ ,  $11.45 \pm 10.3$  (%) と低下した。総 CFU 数は凍結前、2週

間後、6ヶ月後で  $170 \pm 56$  から  $62 \pm 26$ ,  $26 \pm 32$  と著明に減少し、アポトーシス細胞の割合は凍結期間に比例して増加していた。

#### D. 考察

造血幹細胞は液体窒素中で半永久的に保存が可能であると考えられてきたが、未熟な造血幹細胞の凍結による影響は十分に検討されていない。今回の検討では、臍帯血の凍結により、Lin<sup>-</sup>CD34<sup>+</sup>を代表とする未熟な造血幹細胞数は著明に減少したが、凍結期間による影響は観察されなかった。一方で、ALDH陽性分画ならびに Lin<sup>-</sup>CD34<sup>+</sup>のコロニー形成能は凍結と凍結期間の両者の影響を受けた。以上より、凍結期間による Lin<sup>-</sup>CD34<sup>+</sup>のコロニー形成能の低下は臍帯血中の未熟な幹細胞分画の減少が影響を与えたと考えた。

#### E. 結論

今回の検討から、臍帯血中の未熟な造血幹細胞ほど凍結により影響を受けやすいことが示された。

#### G. 研究発表

なし。

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

該当しない。

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  
総合研究報告書

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 臍帯血の骨髄内移植に関する研究

研究分担者 小川 啓恭 兵庫医科大学 教授

研究要旨

関西医科大学の池原らによって考案された「灌流法による骨髄細胞の採取とそれを骨髄内に移植するという新しい骨髄移植法」は、膨大な量の動物実験より、その安全性と有効性が示されている。この新規移植法を臨床に応用し、安全性と有効性を検討することを目的としている。

A. 研究目的

臍帯血移植の最大の問題点は、生着不全と移植後の造血回復の遅延である。その原因の1つとして、臍帯血に含まれる造血幹細胞数の不足が挙げられており、*in vitro*での造血幹細胞の増幅や複数臍帯血移植などの方法が検討されている。一方、マウスの移植実験において、静脈内に移植された造血幹細胞の多くは、肺などの組織にトラップされ、10%程度のみが、骨髄に到達すると報告されている。したがって、骨髄に到達する幹細胞を増やすことができれば、臍帯血移植における生着不全や造血回復遅延の問題を解決できる可能性があり、イタリアの Frassoni らや米国の Brunstein らは、直接、骨髄内へ臍帯血を移植する試みを行っている。Frassoni らは、骨髄内へ移植することで、生着不全や GVHD に関して、*positive* な効果が得られたと報告

したのに対して、Brunstein らの結果は、*negative* なものであった。彼らは、DMSO を除くため、臍帯血を洗浄した後、移植を行っている。洗浄することによって、貴重な臍帯血の一部を失われてしまう。そこで、我々は、臍帯血を洗浄することなく、骨髄内へ移植することを考えた。本研究の目的は、洗浄することなく臍帯血を直接骨髄内へ移植することの安全性の検討、さらには、臍帯血を骨髄内へ移植することの有用性の検討である。

B. 研究方法

ミニ移植の形で、骨髄内臍帯血移植の安全性を検討する第1相試験(10例)を前方向で実施した。対象は、同種造血幹細胞移植を必要とする55歳から70歳の患者であるが、それより若年者でも、臓器障害などのより、骨髄破壊の前処置をかけられない患者も可

能とした。HLA1 抗原不適合までの血縁ドナーが存在しないこと、HLA-A、HLA-B のアレルタイプマッチで HLA-DRB1 1 ミスマッチまでの非血縁骨髄ドナーが存在しないか、病勢が速く待てないことを条件とした。移植前処置は、Fludarabine 40 mg/m<sup>2</sup>/day x 5 (day -6 to -2)、Cyclophosphamide 50 mg/kg x 1 (day -6)、全身放射線照射 3 Gy(day -1)とした。GVH 予防は、cyclosporine とミコフェノール酸モフェチル (MMF: 15 mg/kg)とした。MMF 量は、4 例目より、30 mg/kg に増量した。骨髄内への移植は、臍帯血はベッドサイドで溶かされ、両側の腸骨の 2 カ所ずつに輸注された。1 か所当りの臍帯血の volume は 6 ml であった。移植前投薬として、ヒドロコルチゾン 100mg、塩酸ヒドロキシジン (アタラックス-P®) 25mg 等の投与を行った。

(倫理面への配慮)

本試験は、ヘルシンキ宣言の理念に従うものであり、患者の自由意思による同意に基づいて行われた。試験の実施に先立ち、患者本人に下記の項目に関する説明を行い、文書による承諾を得た。プロトコールは、兵庫医科大学の倫理委員会のみならず、日本臍帯血移植ネットワークの倫理委員会の承認を得た後、施行された。

#### C. 研究結果

MDA 1 名、MDS からの overt leukemia 3 名、AML 2 名、ALL 2 名、NHL 2 名の計 10 名が登録された。移植前病期は、非寛解症例 5

名、寛解症例 5 名であった。寛解症例 5 名中 4 名は、MRD 陽性であった。10 名全員で、骨髄内への臍帯血の移植時、脂肪塞栓などの問題となる副作用が認められなかった。移植時の骨髄痛も許容範囲内であった。10 人中 9 人で、ドナー由来の生着が得られた。生着した 9 人の解析では、好中球の回復 (>500/ $\mu$ l) の中央値は day 17 であった。血小板は 8 人で回復したが、2 万/ $\mu$ l への回復は、day 41 であった。急性 GVHD は、生着した全員で認められ、grade I 5 名、grade II 3 名、grade III 1 名であった。重症 GVHD の 4 名は、ステロイド剤に対する反応は良好であった。5 名が移植関連毒性のため、死亡した。死因は、アスペルギルス肺炎、サイトメガロウイルス肺炎、TMA、MRSA 敗血症と拒絶し再移植後の GVHD であった。再発は、1 名にみであったが、salvage chemotherapy により、完全寛解を得た。2010 年 12 月 31 日現在、観察期間の中央値 392 日で、5 名が、生存している。1 年生存率は、46.7%である。現在のところ、Extensive 慢性 GVHD は 1 名のみであった。

#### D. 考察

洗浄することなく、直接、骨髄内へ臍帯血を移植することの安全性が示されたと考える。また、10 例中 9 例で、ドナー由来の生着を認め、さらに、好中球回復 17 日、血小板回復 41 日と良好な成績が得られたことから、臍帯血を骨髄内へ移植することによって、生着率や移植後の血球回復が、改善する可能性が示唆された。急性 GVHD

に関しては、II 度以上の GVHD が評価可能な 9 名中 4 名で認められたが、cyclosporine+MMF 30 mg/kg で GVHD 予防が行われた症例においては、少量のステロイド剤の投与により、容易にコントロールされた。今後は、第 II 相試験において、骨髄内臍帯血移植の有効性について、検討を進めたい。

#### E. 結論

洗浄することなく、臍帯血を直接骨髄内へ移植する「臍帯血ミニ移植療法」の安全性が示された。今後、本移植法の有効性につき、これから行う第 II 相試験において、明らかにしていきたい。

#### F. 健康危険情報

本研究において認められた移植関連毒性は、通常と同種造血幹細胞移植で認められる範囲内のものであった。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Satake A, Inoue T, Kubo S, Taniguchi Y, Imado T, Fujioka T, Horiuchi M, Xu Y, Ikegame K, Yoshihara S, Kaida K, Tamaki H, Okada M, Okamura H, Ogawa H. Separation of antileukemic effects from graft-versus-host disease in MHC-haploidentical murine bone marrow transplantation: participation of host immune cells. *International Journal of Hematology*, 91: 485-497, 2010.
- 2) Kako S, Morita S, Sakamaki H, Ogawa H, Fukuda T, Takahashi S, Kanamori H, Onizuka M, Iwato K, Suzuki R, Atsuta Y, Kyo T, Sakura T, Jinnai I, Takeuchi J, Miyazaki Y, Miyawaki S, Ohnishi K, Naoe T, Kanda Y. A decision analysis of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for adult patients with Philadelphia chromosome-negative acute lymphoblastic leukemia in first remission who have an HLA-matched sibling donor. *Leukemia*, in press.
- 3) Tamaki H, Yoshihara S, Fujioka T, Kawakami M, Oka Y, Ogawa H. Molecular detection of AML1-MTG8-positive cells in peripheral blood from a patient with isolated extramedullary relapse of t(8;21) acute myeloid leukemia. *Leukemia*, 23: 424-426, 2009.
- 4) Kuwatsuka Y, Miyamura K, Suzuki R, Kasai M, Maruta A, Ogawa H, Tanosaki R, Takahashi S, Koda, K, Yago K, Atsuta Y, Yoshida T, Sakamaki H, Kodera Y. Hematopoietic stem cell transplantation for core binding factor acute myeloid leukemia:

- t(8:21) and inv(16) represent different clinical outcomes, *Blood*, 113: 2096-2103, 2009.
- 5) 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. Incidence and Risk factor of Early Bacterial Infections after Unrelated Cord Blood Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*, 15: 439-446, 2009.
- 6) Taniguchi Y, Yoshihara S, Hoshida Y, Inoue T, Fujioka T, Ikegame K, Kawakami M, Masuda T, Aozasa K, Kawase I, Ogawa H. Recovery from established graft-versus-host disease achieved by bone marrow transplantation from a third-party allogeneic donor. *Experimental Hematology*, 36:1216-1225, 2008.
- 7) Okada M, Fujimori Y, Misawa M, Kai S, Nakajima T, Okikawa Y, Satake A, Itoi H, Takastuka H, Itsukuma T, Nishioka K, Tamaki H, Ikegame K, Hara H, Ogawa H. Unrelated umbilical cord blood transplantation using a TBI/FLAG conditioning regimen for adults with hematologic malignancies. *Biol Blood Marrow Transplant*, 14: 896-903, 2008.
- 8) Ogawa H, Ikegame K, Kaida K, Yoshihara S, Fujioka T, Taniguchi Y, Tamaki H, Inoue T, Hasei H, Iiboshi Y, Tazuke Y, Kawakami M, Kim EH, Soma T, Inoue T and Kawase I. Unmanipulated HLA 2-3 antigen-mismatched (haploidentical) bone marrow transplantation using only pharmacological GVHD prophylaxis. *Experimental Hematology*, 36: 1-8, 2008.
2. 学会発表
- 1) 岡田昌也、中田 潤、谷口享子、海田勝仁、吉原 哲、藤岡龍哉、池亀和博、玉置広哉、藤盛好啓、甲斐俊朗、小川啓恭：当科における成人骨髄内臍帯血ミニ移植(静脈内輸注法との比較)、第32回日本造血細胞移植学会総会、浜松、2010年2月20日
- 2) 吉原 哲、丸谷悦子、海田勝仁、谷口享子、加藤るり、井上貴之、藤岡龍哉、池亀和博、玉置広哉、岡田昌也、相馬俊裕、楠 Yasushi、林 koji、佐治博夫、小川啓恭：High risk of graft rejection in cases with HLA antibodies undergoing haploidentical SCT without TCD、第72回日本血液学会学術集会、横浜、2010年9月25日
- 3) 池亀和博、吉原 哲、海田勝仁、加藤るり、井上貴之、中田 潤、藤岡龍哉、谷口裕紀、沖川佳子、中島利幸、高塚

広行、川上 学、佐竹敦志、藤盛好啓、岡田昌也、玉置広哉、小川啓恭：当科における HLA 半合致移植の治療成績 (update)、第 31 回日本造血細胞移植学会総会、札幌、2009 年 2 月 5 日

4) 岡田昌也、中田 潤、加藤るり、海田勝仁、井上貴之、佐竹敦志、吉原 哲、谷口裕紀、藤岡龍哉、玉置広哉、池亀和博、藤盛好啓、甲斐俊朗、小川啓恭：成人骨髄内臍帯血ミニ移植を施行した 3 例の検討、第 31 回日本造血細胞移植学会総会、札幌、2009 年 2 月 5 日

5) 池亀和博、海田勝仁、吉原 哲、加藤るり、中田 潤、谷口享子、井上貴之、佐竹敦志、藤岡龍哉、谷口裕紀、岡田昌也、玉置広哉、高塚広行、沖川佳子、

中島利幸、小川啓恭、Our experience of multiple (three times and more) allogeneic stem cell transplantation、第 71 回日本血液学会学術集会、京都、2009 年 10 月 25 日

6) 玉置広哉、中田 潤、吉原 哲、海田勝仁、加藤るり、谷口裕紀、藤岡龍哉、井上貴之、佐竹敦志、藤盛好啓、甲斐俊朗、岡田昌也、池亀和博、小川啓恭、HLA 不適合血縁移植、臍帯血移植 54 例における HHV-6 血症の解析、第 71 回日本血液学会学術集会、京都、2009 年 10 月 23 日

H. 知的所有権の出願・登録状況 (予定を含む)  
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 複数臍帯血移植臨床第 II 相試験

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  
研究分担者 甲斐 俊朗 兵庫医科大学輸血学 教授  
研究協力者 熱田 由子 名古屋大学医学部造血細胞移植情報管理・生物統計学 講師

(研究要旨) 複数臍帯血移植の安全性、有用性・有効性を検討する臨床第 II 相試験を実施した。2006 年 4 月から 2010 年 1 月にかけて症例 70 例の登録があり 61 例に移植が実施された。2011 年 3 月現在、32 例が生存、生存例の観察期間中央値 1226.5 日(365 - 1721 日)、1 年無イベント生存率、無病生存率、全生存率は 48% (90% CI: 37-58%) 49%(95% CI;36%-61%)、57%(95% CI;44-69%)、移植病期別にみると standard 及び advanced risk 群の 1 年無イベント生存率はそれぞれ 67%(95%CI; 46-81%)、32%(95%CI; 18-48%)であった。また、好中球生着率は 84%、2 度以上 AGVHD は 27%、慢性 GVHD は 30%(全身型 18%)に認めた。

#### A. 研究目的

造血幹細胞移植が適応であるが、単一では十分な細胞数を含む臍帯血が見つからない造血器悪性腫瘍患者を対象として、2つの臍帯血を同時移植する複数臍帯血移植療法の安全性、有用性、有効性を検討する。

#### B. 研究方法

対象は予後不良の造血器悪性疾患で HLA 一致血縁ドナー、HLA 適合非血縁骨髄ドナー、HLA 4/6 以上適合かつ  $2.5 \times 10^7/\text{kg}$  の細胞数を含む単一臍帯血のみでない症例である。臍帯血の選択は患者との HLA 適合度 4/6 以上、臍帯血間はできるだけ近いもの、但し、同一の HLA を有する臍帯血、 $2 \times 10^7/\text{kg}$  以上の細胞数を含む臍帯血を 2 つ選択しないこととした。施設の倫理委員会の承認を得、単一で臍帯血移植が可能な unit ( $2.0 \times 10^7$  以上で  $2.5 \times 10^7/\text{kg}$  未満) を含む場合には単一で実施するか複数で実施するか十分に説明し同意を得て行う。移植前処置は、骨髄系造血器悪性腫瘍に対しては、12Gy の全身放射線照射 (TBI) + cyclophosphamide (CY) 120mg/kg + G-CSF 併用 cytosine arabinoside (ara-C) 12000mg/m<sup>2</sup> を、リンパ系造血器悪性腫瘍に対しては、12Gy TBI+CY を

用い、GVHD 予防は Cyclosporine A + methotrexate (MTX)で行った。基準を満たすように選択した 2 つの臍帯血を day0(移植日)に 37°C の恒温槽で解凍後、順次輸注した。

移植後 1 年の無イベント生存率を主たる評価項目とし、生着率・生着速度、急性 GVHD および慢性 GVHD の発症頻度・重症度、無病生存率、全生存率等を副次的評価項目として成績を解析した。

#### C. 研究結果

表 1 に示した 25 移植医療機関 26 診療科から 70 例が登録、24 診療科で 61 例の移植が実施された。患者背景を表 2 に示した。

##### 1) 臍帯血輸注時副作用

輸注時の副作用として嘔吐、腹痛、血圧上昇/SP02 低下、徐脈/肉眼的血尿が各 1 例 (計 4 例) に認められたがいずれも軽度であった。

##### 2) 生着

移植後 28 日未満の生着評価不能早期死亡例が 3 例、不生着、2 次不生着が 7 例および 1 例で、移植後 60 日の好中球累積生着率は 85%であった (図 1)。2 次不生着例はその後臍帯血の回復をみた。

### 3) 急性および慢性移植片対宿主病

急性 GVHD は 33 例 (I 度 18 例、II 度 11 例、III 度 3 例、IV 度 1 例) に発症し、慢性 GVHD は 18 例 (限局型 9 例、全身型 9 例) に認められた。

### 4) 再発

移植後の再発は 10 例に見られた (ALL 5 例、AML 3 例、MDS, CML 各 1 例)。

### 5) 生存

2011 年 3 月現在、生存例は 32 例であり生存例の観察期間は中央値 1226.5 日 (365 - 1721 日)、移植後 1 年および 3 年無イベント生存率は 48% (90% CI; 37-58%)、46% (90% CI; 35-56%)、無病生存率は 49% (95% CI; 36-61%)、47% (95% CI; 34-59%)、全生存率は 57% (95% CI; 44-69%)、54% (95% CI; 40-65%) であった (図 2)。

移植病期別 (AML 初回寛解期、第 2 寛解期移植、ALL 初回寛解期移植、MDS-RA 移植を standard risk 群、その他の病期移植例を advanced risk 群とした) に見た移植後 1 年無イベント生存率は standard risk 群が 67% (95% CI; 46-81%)、advanced risk 群で 32% (95% CI; 18-48%) であった (図 3)。

### 6) 死亡

移植後 28 日未満の生着評価不能早期死亡 3 例 (小脳出血 1 例; day 7、前処置関連 2 例; day 7, 12) を含め移植後 100 日以内の死亡が 9 例あった。不生着に伴う死亡がその内 5 例 (臍帯血再移植後感染症死 2 例 (day 53, 90)、VOD 死亡 (day 74)、再移植未実施で感染症、VOD による死亡 (day 32, 28) が各 1 例)、生着後の間質性肺炎による死亡 (day 82) が 1 例あった。なお、不生着後 HLA 半合致移植を実施された 1 例は無病生存している。

100 日以降 1 年までの死亡は 17 例であった。死因は、再発に伴う原病死が 6 例 (day 134, 151, 197, 197, 225, 296)、再発再移植後の TMA による死亡 (day 211)、再発後加療中の自殺死 (day 207)、再発を伴う肺炎/ARDS 各 1 例、生着不全に対する自家末梢血幹細胞移植後の感染症を含む感染症死 3 例 (day 132, 183, 250)、非感染性肺障害 (day 188)、慢性 GVHD に伴う肺障害 (day

239)、間質性肺炎 (day 118)、ARDS/MOF (day 289) 各 1 例であった。

## D. 考察

移植後 1 年の無イベント生存率を主たる評価項目とした造血器悪性疾患に対する骨髄破壊の前処置による複数臍帯血移植の臨床第 2 相試験を終了した。HLA 4/6 一致以上かつ保存時細胞数  $2.5 \times 10^7/\text{kg}$  以上の臍帯血がない症例を対象としたが、この臨床試験に登録され移植を受けた症例 61 例の体重は登録時のデータによると 50.1 - 129.8 kg (中央値; 70.5 kg) であり、 $2.36 - 4.43 \times 10^7/\text{kg}$  (中央値;  $3.58 \times 10^7/\text{kg}$ ) の細胞が輸注された。38 例 (62%) が現在の JCBBN の移植細胞数基準である単一で  $2 \times 10^7/\text{kg}$  以上の細胞を含む臍帯血がなかった症例であった。2 ユニットの選択で細胞数を増やすことにより、従来では移植細胞数が低く生着遅延や生着不全のリスクが高いため臍帯血移植が実施されなかった高体重小児や成人においても殆どすべての患者で移植が可能になる。本臨床試験の好中球生着率は 84% であり海外の複数臍帯血の報告 80-90% とほぼ同等であった。II 度以上の急性 GVHD の発症頻度は 27% で、ミネソタグループからの報告とは異なり JCBBN からの報告における成人単一臍帯血移植における発症頻度と比較しても高くなかった。慢性 GVHD も 30% と単一臍帯血移植と同じような頻度であるが、全身型は 18% と高いようである。1 年 EFS、DFS は 48% および 49% であり、JCBBN からの成人急性白血病に対する単一臍帯血移植成績に比べ生存率の向上は認められていないが、従来の単一 unit では生着不全や生着遅延による重症感染症合併等のリスクが高くなる  $2 \times 10^7/\text{kg}$  未満の臍帯血しか見いだせない患者を 62% (38 例) 含む臨床試験であり、今後とも症例の蓄積を進めて検討していく必要がある。

## E. 結論

複数臍帯血移植は安全に実施された。1 年無イベント生存率 48% (90% CI; 37-58%) であり、プロトコールに定める「域値奏功割合 (90% CI 下限)



が 40%以上」を満たすことはできなかったが、  
2x10<sup>7</sup>/kg 以上の単一臍帯血がない患者に対しても幹細胞移植が可能となり従来と同等の移植成績が得られることが明らかになった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Ioyama K, Oda M, Kato K, Nagamura-Inoue T, Kai S, Kigasawa H, Kobayashi R, Mimaya J, Inoue M, Kikuchi A, Kato S; 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. 2010, 45:69-77.

3) 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 2010,116: 2839-46.

2. 学会発表

1) Kai S, Araki N, Kawagishi M, Murata R, Tanihara C, Itoh S, Kobayashi T, Kokubunzi A, Hara H. Effect of KIR-ligand incompatibility in the graft-versus-host (GVH) direction on cord blood transplant (CBT) outcomes ; a report from Hyogo Cord Blood Bank in Japan. 31<sup>st</sup> International Congress of the International Society of Blood Transfusion. 2010.6-7. Berlin.

2) 岡田昌也、中田潤、谷口享子、海田勝仁、吉原哲、藤岡龍哉、池亀和博、玉置広哉、藤盛好啓、甲斐俊朗、小川啓恭. 当科における骨髄内臍帯血ミニ移植（静脈内輸注法との比較）。第32回日本造血細胞移植学会総会,2.19-20, 浜松.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表 1. 複数臍帯血移植登録症例および移植数

兵庫医科大学血液内科	14例 (13)	長岡赤十字病院輸血部	1例
虎の門病院血液科	9例	神奈川県立がんセンター血液科	1例 (0)
札幌北極病院	6例 (4)	三重大学小児科	1例
大阪府立成人病センター	5例	大阪府立母子保健総合医療センター	1例 (0)
成田赤十字病院血液腫瘍科	5例 (4)	兵庫県立がんセンター血液内科	1例
大阪市立大学病院血液科	4例 (3)	浜の町病院内科	1例
東北大学血液免疫科	2例	新潟大学高密度無菌治療部	1例
北海道大学 血液内科学分野	2例	九州がんセンター小児科	1例
日本医科大学血液内科	2例	金沢大学血液内科	1例
東海大学血液内科	2例	国立病院機構熊本医療センター	1例
大阪赤十字病院血液内科	2例	岡山大学血液・腫瘍科	1例
名古屋第一赤十字病院小児科	2例 (1)	先端医療センター診療開発部	1例
倉敷中央病院血液内科	2例 (1)	名古屋第一赤十字病院血液内科	1例

( ) 内 ; 移植件数

表 2. 患者背景

症例数	61					
疾患	AML	29	(M0; 2, M1; 6, M2; 13, M3;1, M4; 5, M5;1, M6;1)			
	ALL	17				
	CML	6	MDS	6	lymphoma	3
移植病期						
acute leukemia	CR1	13	CR2	18	CR3=<	2
	REL	9	PIF	3	no therapy	1
CML	BC	5	AP	1		
MDS	RA	2	RAEB	4		
lymphoma	refractory	3				
性(男/女)	53 / 8					
年齢	37歳 (10~54歳)					
体重	70.5kg (50.1~129.8kg)					
有核細胞数(x10 <sup>7</sup> /kg)						
大ユニット	1.51~2.48 (中央値; 1.92)					
小ユニット	0.78 ~ 1.98 (1.58)					
計	2.36 ~ 4.43 (3.58)					
CD34陽性細胞数(x10 <sup>5</sup> /kg)						
大ユニット	0.18 ~ 4.62 (中央値; 0.50)					
小ユニット	0.04 ~ 3.02 (0.50)					
計	0.43 ~ 7.32 (1.1)					

体重、有核細胞数、CD34陽性細胞数は登録時のデータで示した。

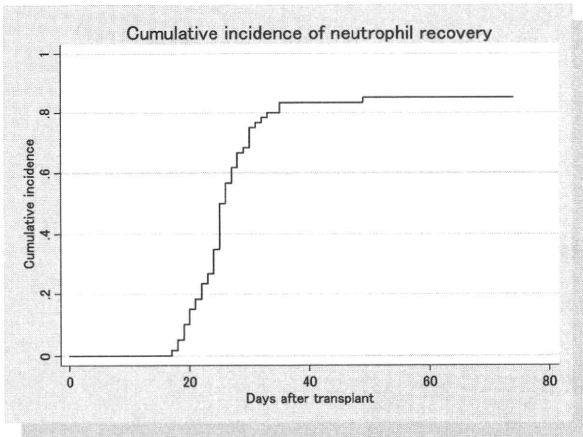


図 1. 好中球生着率

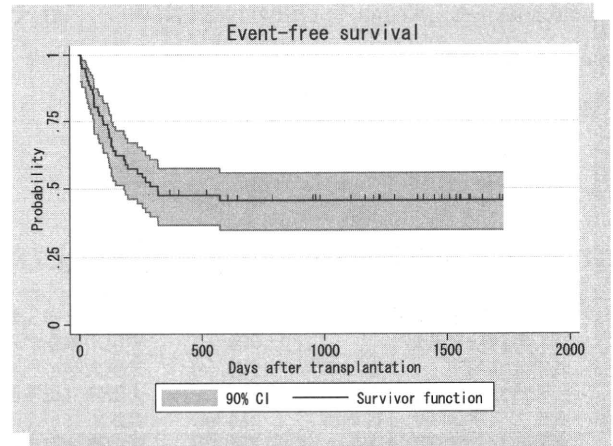


図 2. 無イベント生存率

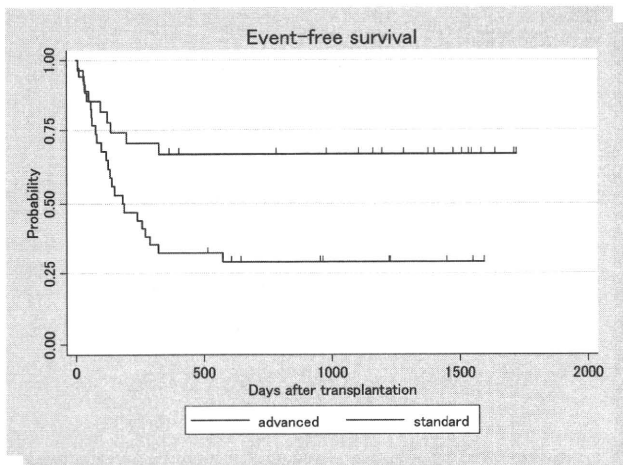


図 3. リスク別無イベント生存率.

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  
総合研究報告書

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 非血縁者間臍帯血移植における真菌感染症および移植データ一元化事業

研究分担者 加藤 剛二 名古屋第一赤十字病院小児医療センター血液腫瘍科 部長  
研究分担者 長村 登紀子 東京大学医科学研究所輸血部 講師

研究要旨

1. 臍帯血移植における真菌感染症: 非血縁者間臍帯血移植においては非再発死亡の死因に占める感染症の頻度が高い。臍帯血移植における真菌による感染症の頻度、原因を検討した結果、カンジダ血症およびアスペルギルス感染症はそれぞれ 1.8%、6.6%で発症しており、共に非発症例と比較して生存率の有意な低下が認められた。臍帯血移植の成績向上のためには今後真菌感染症に対する対策が必須と考えられる。

2. 臍帯血移植データの一元化: 国内で施行された非血縁者間臍帯血移植データは日本さい帯血バンクネットワーク内での検討を経て、2010年度に一元化が開始された。非血縁者間臍帯血移植データを含むすべての造血幹細胞移植データが一元化されることによって国内の造血細胞移植成績が向上することが期待される。

1. 臍帯血移植における真菌感染症

A. 研究目的

非血縁者間臍帯血移植においては骨髄移植と比較して移植後生着まで期間が有意に長く、また臍帯血細胞の特性から感染症に対して脆弱な状況にある。なかでも真菌感染症は薬剤抵抗性である場合が多く、その対応は急務である。今回、非血縁者間臍帯血移植後の真菌感染症の臨床的病態につき検討した。

B. 研究方法（倫理面の配慮）

日本さい帯血バンクネットワークを通じて1997年から2006年までに移植された2713例を対象とし、真菌感染の発症率および発症症例の生存率の解析を行い、急性白血病においては各真菌症発症にか

かわる有意な危険因子を抽出した。臍帯血移植後の移植成績報告に際しては個人情報情報は匿名化され、倫理面での配慮はなされていると考えられる。

C. 研究結果

1. 対象症例: 1997年から2006年までに臍帯血移植が実施された2713例を対象とした。症例内訳はALL660例、AML754例、MDS433例、悪性リンパ腫337例、その他529例。移植前の保存時末梢血細胞数中央値は $2.75 \times 10^7/\text{kg}$ 、同CD34陽性細胞数の中央値は $0.87 \times 10^5/\text{kg}$ 。患者とドナーの血清学的HLA適合度は6/6 398例、5/6 1170例、4/6 1116例、3/6 13例、不明16例で

- あった。
- 1) カンジダ血症:本症の発症例数は48例であり(移植前6例、移植後42例)、day100における累積発症率(1-KMで計算)は1.8%であり、検出菌種はC.albicans15例、C.krusei 11例、C.glabrata 4例、C.parapsilosis3例、その他6例。カンジダ血症発症例の生存率は26.4%、非発症例では35.6%と前者で有意に低かった( $p<0.01$ )。
  - 2) アスペルギールス症:臍帯血移植の100日報告では192例あり、「確実例」42例、「疑い例」150例(移植前34例、移植後158例)。day100における累積発症率(1-KM)は「確実例」1.3%、「確実例+疑い例」6.6%。アスペルギールス発症例の生存率は20.3%で、非発症例の36.6%と比較して有意に低かった( $p<0.01$ )。
  - 3) 急性白血病におけるアスペルギールス発症の危険因子の検討:急性白血病1414例においてアスペルギールス発症にかかわる移植前の予後不良因子につき検討した結果、多変量解析では成人( $p=0.028$ )とハイリスク( $p=0.012$ )が危険因子となった。
  - 4) 急性白血病における真菌症発症にかかわる危険因子の検討:急性白血病1414例において真菌症発症にかかわる移植前の予後不良因子につき検討した結果、多変量解析ではハイリスク( $p=0.005$ )のみが危険因子となった。
  - 5) 真菌症における死因分析:各真菌症発症例において死因(複数回答)はカンジダ血症48例中18例、アスペルギールス症192例中61例、すべての真菌症332例中99例であり、約3分の1の症例で真菌症が死因と関係していた。
- D. 考察:非血縁者間臍帯血移植における真菌感染症の発症頻度は7.4%から22.0%であり、侵襲性アスペルギールス症は4.2%から23%である。またその危険因子はIII度以上の急性GVHD、day30における好中球減少、プレドニゾロンの投与等であった。
- E. 結論:国内の非血縁者間臍帯血移植における真菌感染症につき解析を行った。その発症率(day 100)はカンジダ血症1.8%、アスペルギールス症で確実例1.3%、確実+疑い例6.6%であった。急性白血病における危険因子はアスペルギールス症で成人およびハイリスク、であった。今後真菌症に対するより強力な予防ないし治療が必要である。
- ## 2. 臍帯血移植データ一元化事業
- ### A. 研究目的
- 国内における非血縁者間臍帯血移植は1997年に実施されて以来、毎年増加傾向にあり、2011年1月には累積7000例に到達した。また年間の移植件数は2010年には1020件となり、同年の非血縁者間骨髄移植1213件の84.0%に相当する。造血幹細胞移植の移植データの集積はその解析に必須であり、現在日本造血細胞移植学会データセンター内にそのデータベースが構築されている。移植データはこれまで日本造血細胞移植学会、骨髄移植推進財団、日本小児血