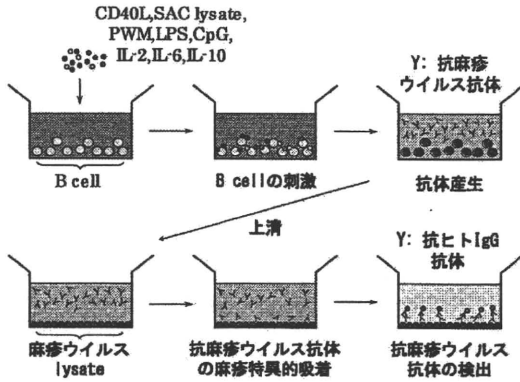
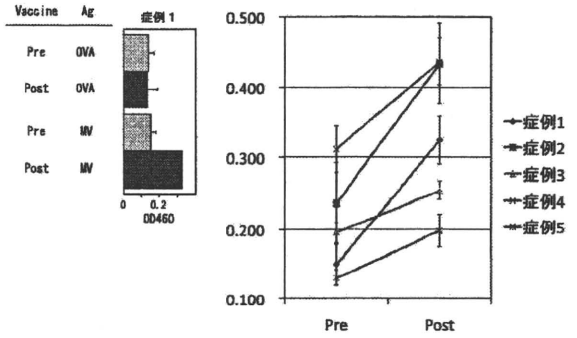


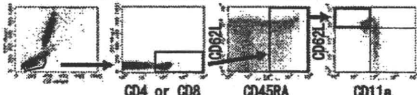
麻疹特異的メモリーB細胞の測定



麻疹特異的B細胞

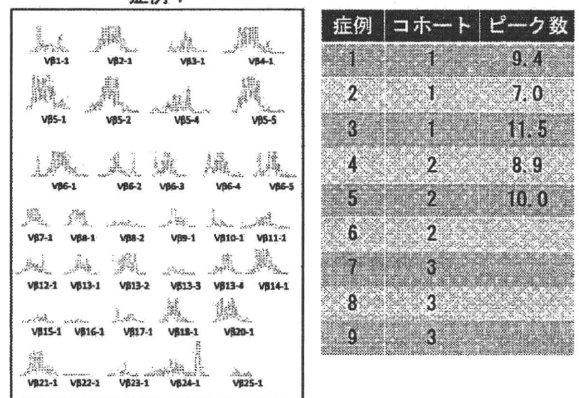


True naive T cell



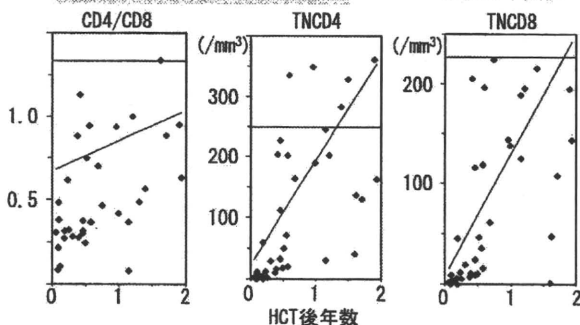
症例	コホート	WBC	TN-CD4	TN-CD8
1	1	17450	1106	624
2	1	7240	139	130
3	1	7600	328	362
4	2	5990	190	138
5	2	3400	31	125
6	2			
7	3			
8	3			
9				
HCT後2年以上の症例の中央値 (症例数19、のべ43検体)			250	228

Spectratyping



True naive T cell in HST pts

HCT後	症例数	総測定数
2年未満	8	39
2年以上	19	43



まとめと考案

- ・ 抗麻疹DCワクチンを5例に接種した。
- ・ 副反応はなく、安全性が示唆された。
- ・ 5例中4例に血清麻疹抗体価の陽転をEIA法で認め、有効性が示唆された。
- ・ 5例中5例に麻疹特異的B細胞の増加を認めた。
- ・ TN-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。

症例	移植後	コホート	抗体価の陽転	MBCの増加	TN-CD4数	TCRピーク数
3	29M	1	-	+/-	328	11.5
5	15M	2	+	+	31	10.0

平成22年度造血幹細胞移植合同班会議

「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7月4日 於 愛知県がんセンター 国際医学センター

ヒト造血幹細胞の多分化能と自己複製能のクローンレベルでの

班員：東海大学医学部 八幡 崇、安藤 潔

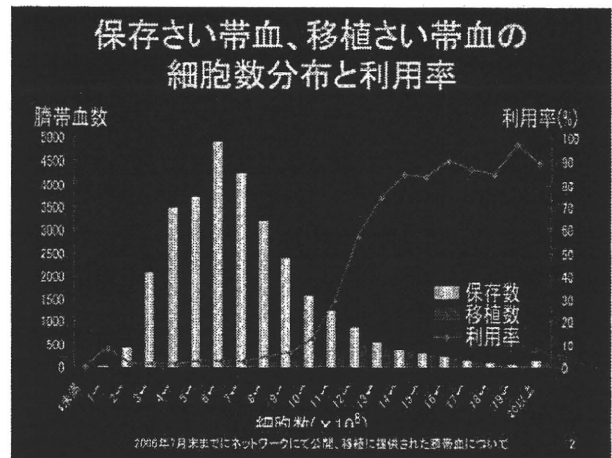
臍帯血造血幹細胞（HSC）の造血再生能は、複数回にわたって免疫不全マウスへの移植を繰り返すことによって低下する。移植毎にHSCを回収し遺伝子発現を網羅的に解析したところ、DNA損傷修復と染色体安定性に関連した遺伝子群の発現が亢進していた。そこで、ヒトHSCにおけるDNA損傷の程度について γ H2AXを指標として解析した結果、再生能が低下した状態のヒトHSCではDNA障害が顕著に蓄積していた。その原因を明らかにするため、試験管内でHSCの活性酸素種（ROS）の蓄積を誘導したところ、DNA損傷が引き起こされた。抗酸化剤の添加によってその損傷が回避されたことから、ROSがHSCにおけるDNA損傷の主たる要因の一つであることが示唆された。そこで、再生能の低下したHSCをROSのレベルに応じて分離したところ、ROSレベルの高いHSCにDNA損傷の蓄積が認められた。さらに、複数回移植実験系において抗酸化剤をマウスに投与すると、ヒトHSCにおけるDNA損傷の蓄積が回避され、造血再生能が維持された。臨床的意義を検討するため、同意を得て提供された臍帯血造血幹細胞移植後の患者あるいは高齢者の骨髄検体について同様の解析を行ったところ、異種移植実験系と同様にHSC分画にDNA障害の蓄積が認められた。以上より、ヒトHSCは移植後再生や長期造血により、ROSレベルが上昇し、DNA障害が蓄積することにより自己複製能が低下する可能性が示された。

平成22年度厚生労働省科学研究 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確保に関する研究」
 研究代表者 加藤俊一(東海大学教授)

地域社会に貢献される機関としての心を通ずる連携と
 高信頼・高信頼・先進医療との連携

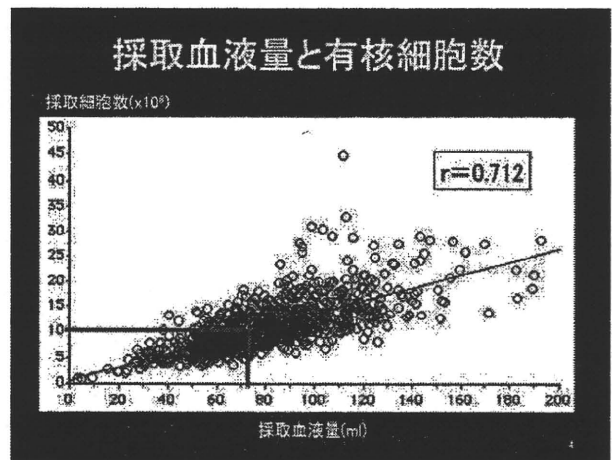
臍帯血採取法の改良に関する研究

東京女子医科大学 八千代医療センター
 総合母子・小児診療部 正岡直樹



保存さい帯血の有核細胞数

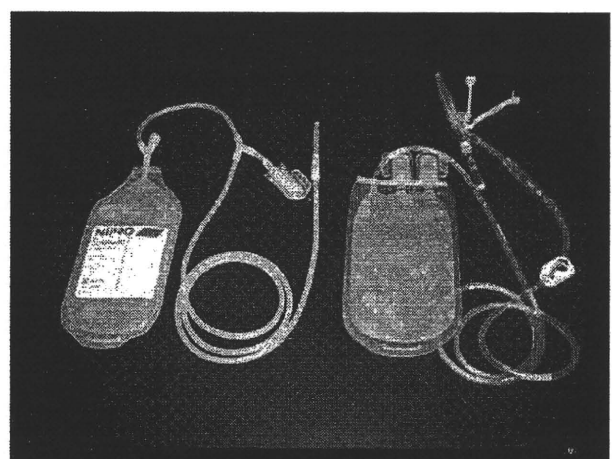
■ 移植に必要な細胞数
 2×10^7 個/kg以上(患者体重あたり)
 * 体重50kgの成人患者では 10×10^8 (10億)個以上が必要



目的

■ 我が国においてさい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さい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さい帯血採取が必須となる。

■ 今回、効果的かつ安全にさい帯血採取量を増加させるために考案した新しい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。



新型さい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。

対象と方法

- 1 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産分娩100症例を対象とした。
- 2 従来型の川澄バックでの採取が50例、ニプロ社の新採取バック50例。
- 3 すべての妊婦からは文書によってさい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、実地臨床の場に供されることもなく、採取方法改良の検討ために使用されることを説明した。
- 4 採取には採取技術が同等の3人の医師があたった。
- 5 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。

対象と方法

- 1 採取量、有核細胞濃度・数、単核球濃度・数、CD34陽性細胞濃度・数、CFU-GM濃度・数の測定、菌検査は、第三者である東京さい帯血バンクに依頼した。
- 2 採取量をマッチさせた10例において、上記項目により、品質の検討を実施した。

結果(1)

さい帯血採取量

	川澄現行バック n=50	新ニプロバック n=50
さい帯血採取適数	39/17±1.31	39/10±1.16
初産/経産	28/22	31/19
母体年齢	31.69±1.12	30.30±5.18
新生児体重(g)	3025.1±310.2	2994.6±283.6
さい帯血採取量(g)	80.2±26.9	98.8±26.2* (p<0.05)

結果(2)

さい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	83.8±26.7
後期(No26~50)	79.5±27.2	98.4±27.4* P<0.05

結果(3)

品質の検討

	川澄現行バック n=10	新ニプロバック n=10
採取量(g)	109.7±19.2	105.5±22.3
有核細胞濃度(10 ⁶ /μl)	112.2±35.2	113.1±27.9
採取有核細胞数(x10 ⁶)	15.3±5.2	15.2±4.6
単核球濃度(10 ⁶ /μl)	35.9±8.5	45.9±16.6
採取単核球数(x10 ⁶)	4.9±1.4	5.0±2.1
CD34陽性細胞濃度(μl)	11.6±4.3	11.6±4.3
CD34陽性細胞数(x10 ⁶)	2.6±1.6	3.6±2.1
CFU-GM濃度(μl)	5.9±3.3	6.7±3.1
CFU-GM数(x10 ⁶)	11.9±7.1	9.3±4.7
菌検査陽性	0	0

結論

- ③ ほぼ同等の条件下で検討し、新しい帯血採取バッグで多くのさい帯血を採取できる可能性が示唆された。
- ③ 使用経験が増すにつれ採取量も増加したことから取り扱いへの習熟が必要と考えられた。
- ③ 両者の有核細胞数濃度を含めた品質に差は認められなかった。

15

胎盤還流による造血幹細胞採取の検討

池田裕一^{1,2}, 磯山恵一¹, Vladimir Serikov², Frans Kuypers²

¹昭和大学藤が丘病院小児科、²オークランド小児病院研究所

緒言； 白血病などの難治性血液疾患に対する根治的治療法である造血幹細胞移植は、骨髄移植や末梢血幹細胞移植、臍帯血移植と多様化し、それぞれに適した移植実施例数が大幅に増加しつつある。このなかで、臍帯血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。この欠点を克服する試み（複数臍帯血移植や体外増幅細胞移植）は未だ実験段階研究段階であるため、細胞数の多い臍帯血を多数保存することが必要である。従来から行われている臍帯血採取法を改善し、採取細胞数を増やすことは、臍帯血移植をいっそうの普及と公平性のさせるために意義あることであると考える。

目的； 胎盤還流によって臍帯血採取時に充分回収されていなかった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評価すること。

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

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 6 時間ほど還流を行った。

評価; Procount 法にて臍帯血と還流直後(CXCR-4 阻害剤注入前)、還流 6 時間後の胎盤還流液中の 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液中の細胞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。

結果; Procount 法による $1\mu\text{l}$ 当たりの $\text{CD34}^+\text{CD45}^{\text{dim}}$ 細胞数は、臍帯血 7.3 ± 6.1 、胎盤還流液(直後) 1.6 ± 1.8 、還流 6 時間後は 5.2 ± 2.0 であった。コロニー形成は CFU, CFU-E, BFU-E, CFU-GM のいずれも臍帯血と胎盤還流液(6 時間)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。

考察; 今回、我々は選択的 CXCR-4 阻害剤を用いて、胎盤還流液から造血幹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 $1\mu\text{l}$ あたり臍帯血とほぼ同等量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 90ml であり、胎盤還流液が 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由来の CD34 陽性細胞数は、臍帯血の約 4 倍であることが確認された。今後、還流方法の改善や胎盤由来造血幹細胞の検討を続けて行く事により、胎盤由来造血幹細胞が造血幹細胞供給源の一つとなりうることが示唆された。

HLA-Flow法による造血細胞移植後早期の生着動態解析における骨髄系細胞解析の重要性

高橋 聡¹、渡辺 信和²

東京大学医科学研究所 ¹附属病院、²幹細胞治療研究センター・幹細胞治療分野・病態解析領域

我々は、アリル特異的抗HLA抗体とフローサイトメーターを使用したHLAミスマッチ造血細胞移植後のキメリズム解析/HLA-Flow法を開発した。本法は生着不全や再発の早期診断に極めて有用であるが、その解析法の難しさのため、未だ臨床検査法として定着していない。

今回、HLA-Flow法によるキメリズム解析を混乱させる原因の一つとして、移植後早期の骨髄系細胞の増加を報告する。生着のモニタリングでは、単核細胞分画をCD3、CD14、CD19、CD56などのlineageマーカーで染色して、T細胞、B細胞、NK細胞および単球におけるキメリズムを解析するが、ときにlineageマーカーがすべて陰性の細胞や、HLAの発現レベルが低下した細胞が増加して、キメリズム解析が極めて難しい症例が存在する。

このような場合、移植前の臨床経過から移植後早期に白血病細胞が増加する可能性を念頭に置くことや、蛍光標識抗体の組合せの中に顆粒球系（CD33、CD34など）や赤芽球系（CD235aなど）のマーカーを含めることが、問題を解決に導く手がかりとなる。

臍帯血バンクにおける移植データ管理と一元化

日本さい帯血バンクネットワーク
長村 登紀子・加藤剛二
移植データ管理小委員会

さい帯血バンクにおける移植関連作業の統一化

1. さい帯血申し込み時点で症例番号の自動付与→JCBBN統一
2. 日本さい帯血バンクネットワーク (JCBBN) と造血細胞移植学会 (JSHCT) での施設コードの統一、運用
3. 一元化移植データの報告システム
4. 移植データ利用状況

1. さい帯血申し込み時点で症例番号の自動付与→JCBBN統一化

新帯血移植時の症例番号 (単数移植)

CBT 04 2010 0002

Bank Code Year Serial No.

新帯血移植時の症例番号 (複数移植 未運用)

CBT 99 2010 0002

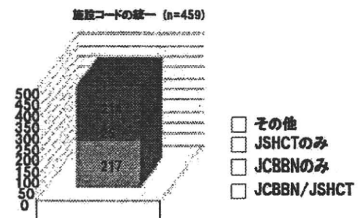
Bank common Year Serial No.

複数でも1症例=1症例番号

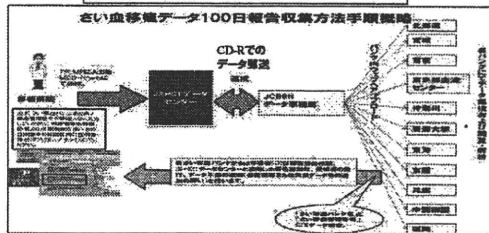
2. 施設コードの統一化

目的:共通のユニークな施設番号を付与

- ・ さい帯血バンクネットワーク (JCBBN) 登録診療科 Active 221施設診療科
- ・ 造血細胞移植学会 (JSHCT) 登録 (active/non-active含めて) 459施設診療
- ・ 申し込み時は統合診療科(内科/小児科)→TRUMPの登録報告は別々の施設もあり。



3. 一元化移植データの報告システム



②移植施設一元管理プログラム(TRUMPデータ)にてデータの入力を行って下さい。 種別ID番号/さい帯血バンク名も間違いないようご注意ください。

1.各新帯血バンク名

2.ドナー番号=さい帯血管理番号

*JCBBNはさい帯血ID (各新帯血バンクから提供されたさい帯血管理番号ドナー番号として入れてください)

登録日	さい帯血/バンク名	症例番号(さい帯血バンク)	患者氏名	新帯血管理番号	移植施設施設番号
2010/4/1	XXX	CBT0720100021	白鳥 太郎	H2009090112118	

Attention!

☆さい帯血管理番号ID(ドナー番号)
・各さい帯血バンクによって新帯血管理番号(ドナー番号)の記載方式が異なるのでご注意ください。
☆複数さい帯血の場合には細胞数が多いユニットをドナー1として下さい

3. 症例番号=さい帯血バンク贈與時の患者ID
+ JCBBN症例番号 (各臓器バンクから付与された患者のIDを血液病
等(臓器バンク)として入れてください)

★JCBBN症例番号 (各臓器バンクから付与された患者のIDを症例番号(臓器バンク)として入れてください)

移植日	さい帯血バンク名	臓器番号(臓器バンク)	患者氏名	臓器症例番号	移植施設名称
2010/4/1	XXX	CBT0720100021	白鳥 太郎	H200609011211B	

Attention!

★JCBBN症例番号
- 各さい帯血バンクによって症例番号の記述方式が異なるので注意
してください。2010年7月1日以降申込分からはCBTから始まる10桁数字
です。

③ 書き出した移植データを選よ。
「ファイル名」欄に「移植データ」フォルダに入れた移植データを選択してください。

④ ファイルの種類を選んでください。(「臓器バンク100日報告データ」)

⑤ 指定した場所に書き出したファイルが認識されます。
※指定場所ごとのような番号化されたファイルが格納されます。このファイルは従来上書き化されているため開け
ません。

① 100日報告の書き出したファイルデータを任意の場所から記憶媒体(USBメモリ等)に保存します。

② 移植責任医師

③ WEB登録用PCへ持ち帰る。
④ 臓器移植センターのホームページのTRUMP送付用画面を開く
⑤ 学会データセンターへWeb送信
<https://jshct.com/memdir/ichigenka/trav/>

⑥ 臓器移植センターより印刷データが戻ります。
※なるべくWEB経由での送付にご協力をお願いします。
※ただし、印刷の届定等によりWeb報告できない施設に関しては記憶媒体(CD-R等)にコピーして学会
データセンターに郵送して下さい。送付用CD-Rは必要に応じて郵付の「100日報告提出用CD-R依頼書」
にてバンク事務局宛てに依頼して下さい。

JCBBNへ提出された移植データの変換作業と一元化

JCBBN移植データベース → TRUMP形式

2006年までに移植した症例を対象とする。
それ以降は 基本的にTRUMP形式にて個別対応。

4. 移植データ利用状況

JCBBN-01G	別居/別居
(1) 造血系移植白血病(ALM)	新文化
(2) 造血系移植白血病(ALL)	新文化
(3) 造血系移植白血病(CML)	新文化
(4) 骨髄移植症候群(MDS)	新文化
(5) 造血系移植(MT)	新文化
(6) 再生不良性貧血	新文化
(7) 造血系移植	新文化
(8) HLと移植症候	新文化
(9) 移植前病態と移植症候	新文化
(10) XGVHD予知能EGVHD	新文化
(11) XGVHD以外の移植関連症候群	新文化
(12) 臓器移植後のGOL	新文化
(13) 臓器移植前後移植上の比較	新文化
(14) その他	新文化

一元化理由での申請開始

申請日	申請種別	A 臓器バンク	B 臓器バンク	C JCBNN	F JCBNN
2006-01	2006/4/22	O	O	O	X
2006-02	2006/4/24	X	X	O	X
2006-03	2006/5/8	X	X	O	X
2006-04	2006/5/11	O	O	O	O
2006-05	2006/5/18	O	O	O	X
2006-06	2006/5/28	O	O	O	O
2006-08	2006/5/8	X	X	O	O
2006-10	2006/5/23	X	O	O	O
2006-11	2006/6/7	O	O	O	O
2006-12	2006/10/12	O	O	O	O
2006-13	2006/11/12	O	O	O	X
2006-14	2006/11/18	O	O	O	O
2006-15	2006/11/18	O	O	O	O
2006-16	2006/11/18	O	O	O	X
2006-17	2006/11/21	O	O	O	X
2006-18	2006/12/12	O	O	O	X
2006-19	2006/2/28	O	O	O	X

2009年 11臓器
2010年 5臓器

- ### まとめ
1. 移植報告データ報告の一元管理システムが構築され、2010年7月1日より稼働開始。
 2. 2010年7月1日より臓器血の申し込み時にJCBNN全体で統一された形式の症例番号が自動付与。この番号をTRUMPにおける症例番号としても用いる。(全国的臓器血移植症例番号の統一化)
 3. JCBNNとJSHCTと施設コードを照合し、施設コードを共有運用することとした。
 4. JCBNN臓器血バンクの回収の手順、様式を統一した。
 5. JCBNN/JMDP/JSHCT/JSPHが連携して、移植データの収集、品質向上管理向上のための土台がようやく固まってきた。
 6. より直接的臓器血関連有害事象や有効性の収集、既存のJCBNN移植サーバーの活用が今後の課題である。

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

京都大学大学院医学研究科 人間健康科学科
足立 壮一
京都大学大学院医学研究科 発達小児科学
平松 英文

【目的】

造血幹細胞移植においてシクロスポリン (CsA) の目標血中濃度値, 至適使用量および点滴静注時間等 CsA の使い方は各施設の経験に基づき行なわれている。京都大学小児科では, パイロット試験として 3 時間点滴の有用性と点滴時の C3 値(CsA 投与後 3 時間の血中濃度)や内服時の C2 値の検討について報告した。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 時間点滴法における目標 C3 値を設定した CsA 体内薬物動態を多施設にて検討する。

【方法】

小児臍帯血移植において, CsA 注射液(CsA-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(C3 値)目標値として CsA 使用量を調節して, シクロスポリンの体内薬物動態を検討し, CsA の標準的な使い方を確立する。Day29 以降から, サンディミュン注射液の 2 倍量(CsA 量として)の経口剤ネオオーラルに切り替えて, 同様の検討をする。また, 合わせて, 急性 GVHD の抑制効果に適切な血中濃度を検討する。

【用量調節】

血中濃度の目標値は, 投与後 3 時間値(C3 値)が, 900ng/ml を下回らず, 1500ng/ml を超えないようにする。トラフ値(C0 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。

【評価項目】

主要評価項目:シクロスポリン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(C3 値, C2 値, C0 値)の関係, 安全性(副作用)

【進捗状況】

研究参加施設:小児造血幹細胞移植を行なっている施設から 6 施設の参加表明があった。

現在も, 当該研究に対する参加募集中である。

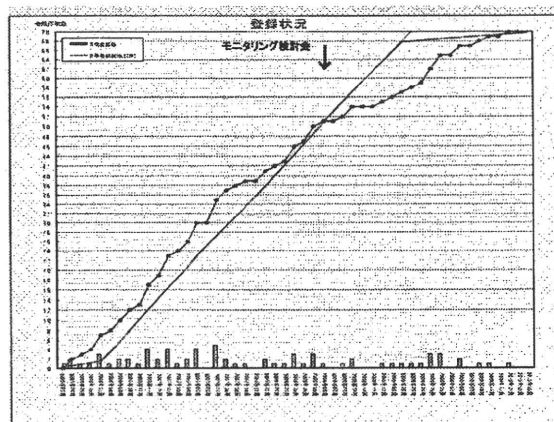
登録症例:平成 20 年 7 月に開始し, 平成 22 年 5 月末現在 CBT 5 例

なお, 同時進行の小児造血幹細胞移植例 11 例 (BMT 5 例, PBSCT 1 例, CBT 5 例)

複数臍帯血臨床試験 データ管理進捗状況の報告

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



データ管理 status

- 最終症例の移植後1年
- 2011年2月予定
- CSHOTデータ管理
 - 報告書回収
 - 入力作業
 - 問い合わせ
 - 追跡調査

すみやかな
データ固定と最終解析
すみやかな試験結果の公表

報告書提出状況_100日報告書

	報告書種類		
	移植実施報告書	100日報告書	
		複数臍帯血移植 症例報告書①	臍帯血/バンク 初回報告書 TRUMP
回収数 / 回収対象数	61 / 61症例	56 / 59症例	57 / 59症例
提出期限内に提出がな く督促を実施した症例	17症例 (10施設)	31症例 (18施設)	37症例 (19施設)
プロトコール中止等につ き提出不要の症例	9症例 (8施設)	9症例 (8施設)	9症例 (8施設)
提出期限に至っていない 症例		2症例	2症例

報告書提出状況_1年報告書

	1年報告書	
	複数臍帯血移植症 例報告書②	臍帯血/バンク
		1年報告書 TRUMP
回収数 / 回収対象数	40 / 45症例	41 / 45症例
提出期限内に提出がな く督促を実施した症例	25症例 (14施設)	26症例 (15施設)
プロトコール中止等につ き提出不要の症例	18症例 (12施設)	18症例 (12施設)
提出期限に至っていない 症例	7症例	7症例

追跡調査

- 1年報告書以降の報告書なし
- 最初の登録例から約5年経過
- 追跡調査
 - 生存状況の更新
 - 疾患状況の更新
 - cGM-D情報の更新
- TRUMPで提出

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、
班会議（2010年7月4日、名古屋）

複数臍帯血移植臨床第II相試験 — 有害事象報告
研究分担者 兵庫医科大学輸血部 甲斐 俊朗

骨髄破壊的前処置による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相試験は2006年3月から症例登録が開始され2010年2月に最終登録（目標症例数70例）が終了した。移植前処置は骨髄系白血病に対してはCY（120mg/kg）/TBI（12Gy）/ G-CSF 併用 ara-C（12000mg/sqm）、リンパ系腫瘍にはCY（120mg/kg）/TBI（12Gy）で、GVHD 予防はCSA + short term MTXで行った。最終登録例の移植後1年の追跡期間をおき2011年2月から1年無イベント生存率を主たる評価項目として解析が開始される予定である。

（施設及び症例登録）本臨床試験参加のIRB承認施設は39診療科であり、26診療科から70例が登録され、24診療科で61例の移植が実施された。移植は、13診療科で1例、5診療科で2例、1診療科で3例、2診療科で4例、1診療科で5、9および13例実施された。登録後再発や全身状態悪化等のため移植が施行できなかった症例が6例、非血縁骨髄ドナー、血縁HLA不一致ドナーからの移植への変更が各1例あり、前6例中再登録後移植を行った例は3例あった。また、一旦登録後適格性に問題があり登録取消となり時期をおき再登録し移植を実施した例が1例あった。

（有害事象報告）

本臨床試験では、1)前処置開始から移植後100日までに発生した全ての死亡、2) 予期されないGrade 4 (life threatening)の非血液毒性、3) 不生育あるいは二次性不生育のいずれかに該当する有害事象発症時には急送報告を、また、1) 移植後101日以降でプロトコール治療との因果関係が否定できないすべての死亡（明らかな原病死は該当せず）、2) 予期されるGrade 4の非血液毒性、3) 予期されないGrade3非血縁毒性、4) 永続的または顕著な障害（二次癌等）、5) その他重大な医学的事象の発症時には通常報告が行なわれる。2010年5月末現在、25例（34件）（1例は予期されるGrade3の有害事象で審議対象外）の有害事象報告がある。

不生育、二次不生育、生育遷延例がそれぞれ6例、1例、3例、不生育6例の内5例が100日以内に死亡した。また、生育前早期死亡が3例（小脳出血1例；day7、前処置関連2例；day 7, 22死亡）、生育後100日以内の死亡が1例（肺臓炎；day72）あった。100日以降の死亡は9例（再発・原病による呼吸不全；day151、

エンドキサン心筋症に続く多臓器不全に;day132、capillary leak 症候群・心不全とその後の頻発する感染症による多臓器不全に;day183、再発・肺臓炎/ARDS;day266、間質性肺炎疑い;day289、間質性肺炎;day115、急性肺障害;day188、再発;day197、薬剤性腎不全;day272 各1例) あった。

予期されない grade 4 の非血液毒性による急送報告は1件あり、通常報告対象の有害事象として、予期される grade 4 の非血液毒性が4件(肺炎に対する人工呼吸器管理; grade 3-4 の好中球減少を伴う陰茎、陰のう感染; 脳症; ARDS)、予期されない grade 3 の非血液毒性が2件(TTP/HUS; 低酸素血症) あった。いずれの症例も、効果安全性委員会で試験継続可能であるとの判断のもと試験を継続し予定70症例の登録を完了をした。最終登録症例の移植(2010年2月) 終了後、本臨床試験の解析が実施される。今回は、昨年8月報告以降の有害事象報告(7件、5例) については詳細を述べる予定である。

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
「脐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」(H20-免疫一般-015)
平成22年度第1回班会議
平成22年7月4日(日) 愛知県がんセンター国際医学交流センター

**成人における脐帯血移植(骨髓破壊的前処置の標準化)に関する研究
東大医科研の方法による成人脐帯血移植の
多施設第II相臨床試験
(C-SHOT 0603試験)
一 進捗状況 一**

<代表研究者および事務局>
東海大学医学部基礎診療学系再生医療科学 加藤 俊一

<分担研究者>
国立がんセンター中央病院 田野崎 隆二

<研究協力者>
東京大学医科学研究所 高橋 聡
千葉大学医学部 井関 徹
日本医科大学 田近 賢二

【目的】
東海大学医科学研究費補助金の方法を用いて、同種造血幹細胞移植の適応となる成人造血幹細胞移植患者に対する骨髓破壊的処置の有効性と安全性を評価する。

【対象】
同種造血幹細胞移植の適応があり、HLA適合または抗原不適合の血縁者ドナーが存在せず、本研究の適応基準を満たす以下の20~54歳の造血幹細胞移植患者

1. 初回寛解期でないde novo急性骨髄性白血病/リンパ性白血病;第2回目以降の寛解期予後不良な初回寛解期の急性白血病
2. 白血病
3. 慢性骨髄性白血病;第2回目以降の慢性期、および移行期
4. 骨髄異形成症候群(MDS)-1、MDS-2および輸血依存性が高いあるいは高リスク染色体異常を有する、RA)および骨髄異形成症候群から移行した急性骨髄性白血病

登録

※登録後は研究調整医師と連絡を取り、原則として医科研の方法を再現するように努めて移植を施行する。

【脐帯血移植】 移植至遅時期に遅延なく移植

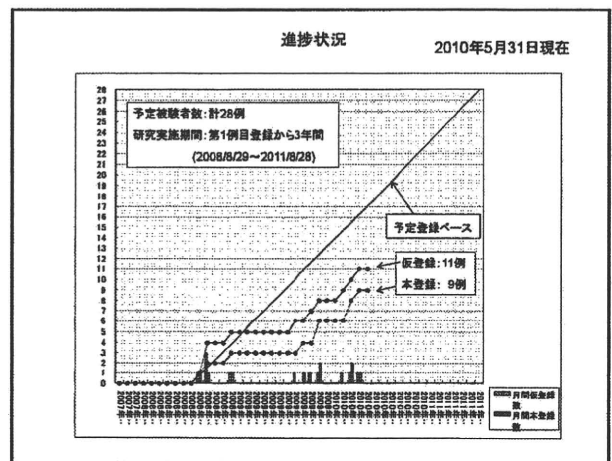
day	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
TBI										
G-CSF*	5 μg/kg									
AmC	3 g/m ²									
CPA	80 mg/m ²									
脐帯血移植										×
シタラビン	3 mg/kg 1回 隔日投与									
TACE										

*青髄系造血幹細胞に対しては、G-CSF 5 μg/kg/dayからシタラビン開始12時間前より持続投与。終了は2日目1回目のシタラビンの投与終了時とする。

移植後100日 プロトコル治療終了
移植後1年 観察終了

IRB申請状況 2010年5月31日現在

IRB承認施設(18施設)	承認日
札幌北産病院	2007/10/22
大阪市立大学医学部附属病院	2007/10/25
久留米大学医学部	2007/11/05
国立がんセンター中央病院	2007/12/19
九州大学医学部	2008/01/07
名古屋市立大学病院	2008/01/09
日本医科大学附属病院	2008/01/23
秋田大学医学部	2008/02/07
北海道大学	2008/02/08
虎の門病院	2008/03/31
新潟大学医学部	2008/04/23
岡山大学病院	2008/05/08
東京慈恵医科大学附属柏病院	2008/05/19
愛媛大学医学部附属病院	2008/06/23
京都大学医学部	2008/07/14
千葉大学医学部附属病院	2009/12/25
岩手医科大学附属病院	承認済
帝京大学医学部	承認済



施設別登録症例数 2010年5月31日現在

施設名	仮登録	本登録
大阪市立大学	4	4
京都大学	1	1
日本医科大学	1	1
東京慈恵医大柏	1	1
千葉大学	1	1
名古屋市立大学	1	1
久留米大学	1	0
秋田大学	1	0

CRF回収状況 2010年5月31日現在

	脐帯血移植 実施報告書	移植後100日 症例報告書	脐帯血/バンク 初回報告書	移植後1年 報告書	脐帯血/バンク 1年報告書
回収数/対象症例数	9/9	5/6	6/6	3/3	3/3
提出期限内に提出が なく督促した症例	2	3	3	1	1
督促後提出	2	3	3	1	1
督促後未提出		1			
提出期限に至ってい ない症例		3	3	6	6

プロトコル中止症例

2010年5月31日現在

症例番号	中止理由	中止日	担当医のコメント
0603-03	患者の死亡	2009年7月19日 (移植後day205)	再移植後の早期死亡のためこのプロトコルとの関連はないと考える

おねがい

1. 本試験の参加条件を満たす施設で、参加をご希望の場合は田野崎(rtanosak@ncc.go.jp)までご連絡ください。
2. 引き続き、各施設からのご登録をお待ちしています。
3. 血縁ドナーがいない適応疾患患者さんがいた場合には、早い段階で他施設から参加施設へのご紹介もよろしく願います。

臍帯血移植後の免疫能評価と、免疫学的再構築促進手段について

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・発生発達病態学分野 森尾友宏

臍帯血移植後の生着・混合キメラ、免疫学的再構築は予後に直接関連する因子であり、状態を適格に的確な評価することが必要である。前者に関しては東京大学医科学研究所が開発した HLA-Flow 法があり、後者については現在のところ白血球数・リンパ球数、免疫グロブリン値、リンパ球増殖能や表面抗原分析が汎用されている。

重症複合型免疫不全症 (Severe combined immunodeficiency: SCID) に対する臍帯血移植の成績は良好で、さい帯血バンクネットワークデータの解析では 5 年生存率は 71% であるが、移植後に様々な感染症に罹患する。最近の大規模研究では約 1/4 の患者において Papilloma virus 感染症が移植後 10 年以上にわたって問題になることが明らかになっている。

また当科での SCID14 症例に対する移植経験では 4 例で Mycobacterium 属感染症を経験しており、そのうち 2 例は BCG 感染症であった。患児では、CD20, CD4, CD8, CD16 陽性細胞の回復は早く、T 細胞新生能を示す T cell receptor excision circles (TRECs) も早期に基準値レベルに達した。B 細胞の回復も比較的早く、それは B 細胞新生能を示す Signal joint Kappa deleting recombination circles (sjKRECs)、B 細胞数を示す coding joint KRECs (cjKRECs) にも反映された。免疫グロブリンのクラススイッチも早期から正常化し、十分な CD40L 発現を示唆したが、播種性 BCG 感染症は持続し、移植後約 11 か月まで発熱を認めた。機能解析では IFN- γ 産生能が著しく低下しており、その回復と共に炎症反応の低下と解熱を観察するようになった。

微生物に対しては鍵となる免疫系が異なる場合があり、煩雑性やコストの問題が解決されれば、免疫担当細胞の量的評価に加えて、質的評価を実施することが有用と考えられる。少なくとも通常の表面抗原分析に加え、sjKRECs, cjKRECs, TRECs, TCRBV repertoire, Th1/2/17/Treg, pDC, mDC を測定し、EBV, CMV, ADV 感染にあたっては cytokine capture 法で特異的 T 細胞機能を検討することは現実的と思われる。

本研究班の課題である、臍帯血活性化 DLI の開発については、ハイリスク移植における臍帯血活性化 DLI のプロトコル案はまとまりつつあり、支援状況が固まれば臨床第 I 相試験を開始できる体制となった。副次項目として、生着・混合キメラの割合、免疫学的再構築の解析は重要であり、それらを組み込んだ形での臨床試験を実施したい。

当科における成人骨髄内臍帯血ミニ移植
(臨床I相試験)



兵庫医科大学 血液内科
岡田昌也、吉原哲、池亀和博、甲斐俊朗、小川啓恭

骨髄内臍帯血ミニ移植
臨床I/II相試験

主要評価項目
第I相試験では、骨髄内への臍帯血移植の安全性をprimary endpointとする。

第II相試験は、ドナー型生着率をprimary endpointとする。「ドナー型生着」は、好中球数が3ポイント以上の連続した検査日においてに回復し、かつキメリズム解析において移植後60日以内にドナー由来細胞が90%以上になることと定義する。

目標症例(第I相試験10例) 第II相試験40例
参加施設: 兵庫医科大学内科学 血液内科

患者選択基準 (抜粋)

- (1) 従来の治療では治療が望めない造血器悪性腫瘍患者
急性骨髄性白血病: 初回寛解期以外
急性リンパ性白血病: 初回寛解期以外
極めて予後不良の初回寛解期急性白血病(寛解導入に複数コースの化学療法を要した初回寛解急性白血病、Ph陽性急性白血病など)を含む
慢性骨髄性白血病: 第一性期以外
治療抵抗性慢性リンパ腫
骨髄異形成症候群: Int-2以降、寛解後再発
- (2) 初回造血幹細胞移植
- (3) 55歳以上、70歳未満の成人患者
55歳未満で臓器障害などにより骨髄破壊的前処置が適応と成らない患者
- (4) 非血縁者にHLA一致ドナーが得られない患者、あるいはHLA一致ドナーがいても、患者の病態から早急に移植を必要とする患者

前処置

	Day -6	-5	-4	-3	-2	-1	0
TBI (3Gy / day)							↓ CBT
Fludarabine (40 mg/m ² /day)		↓	↓	↓	↓	↓	★
CY (50 mg/kg/day)		↓					

GVHD予防

シクロスポリン
移植3日前(day -3)よりシクロスポリン3mg/kgを24時間持続点滴する。目標血中濃度は、250~450 μg/mlとする。生着後、内服が可能であれば経口投与に切り替え(持続投与時の2.5倍量を分割投与)、GVHDがなければ漸減する。

ミコフェノール酸モフェチル
移植前3日(day -3)より、移植後30日まで、15 mg/kg/day (分2ないし分3)で経口投与する。

支持療法

4例目より30mg/kg/day
に増量

G-CSF
移植後day 1ないしday5よりG-CSFを投与する。

骨髄内臍帯血移植法

移植前投薬
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(アタラククス-P[®])25mg等の投与を行う。移植時に必要に応じてミダゾラム(ドルミカム[®])等による鎮静を行う。

移植手技
臍帯血を37°Cの恒温槽で解凍後、通常の骨髄穿刺と同様の手技で腸骨の1-2ヶ所に穿刺を行い、臍帯血を注射する。臍帯血の洗浄は行わない。

予防的抗生剤投与
手技に伴う骨髄炎を予防するため、移植日には抗生剤を経静脈投与する。

症例背景

IBM-CBT				
No.	Diagnosis	Clinical stage	Sex	Age(Ys) BW(kg)
1	MDS overt	EP	M	64 48.4
2	MDS overt	CR5 MRD+	F	58 43.0
3	ALLPh+	CR1 MRD+	M	60 56.5
4	AML M4	RF	F	66 47.1
5	T-MDS	RF	M	51 62.4
6	ALL	CR1	M	62 66.0
7	NHL(FL)	RF	M	57 86.3
8	AML M4	CR2	M	63 70.0
9	MDS overt	EP	M	61 57.3
10	NHL(PTCL)	RF	M	57 56.8

臍帯血

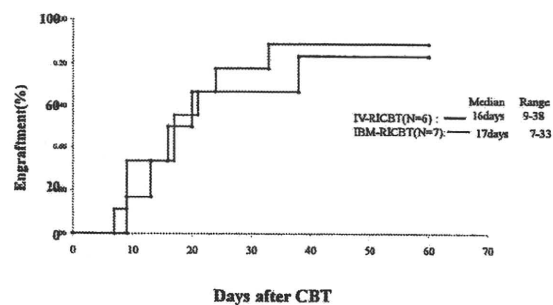
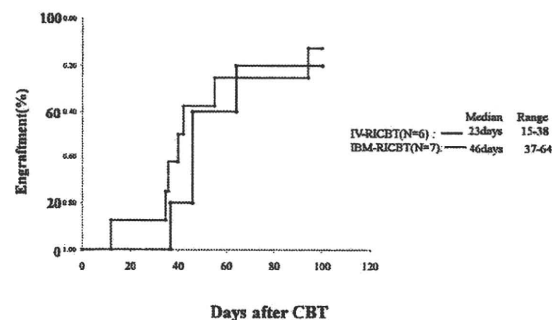
IBM-CBT No.	ABO Pt/CB	HLA compatibility		Cell dose	
		GVH	HVG	NCG($\times 10^7/kg$)	CD34+($\times 10^6/kg$)
1	A/A	4/4		3.05	0.88
2	AB/O	4/4		3.50	0.69
3	A/B	5/6		3.27	0.99
4	B/O	5/5		2.05	0.45
5	B/B	5/5		2.58	0.45
6	A/O	5/5		2.71	0.30
7	A/O	4/4		2.04	0.63
8	A/A	4/4		2.24	0.56
9	A/A	4/4		3.00	0.70
10	A/O	5/5		2.72	0.57

症例経過

IBM-CBT No.	Recovery PMN $\geq 0.5 \times 10^9/L$	PLT $\geq 20 \times 10^9/L$	aGvHD (grade)
1	7	12	II
2	9	-	III
3	9	42	I
4	24	94	I
5	17	35	II
6	33	55	I
7	17	40	I
8	21	36	I
9	生着不全		
17(7-33)		40(12-94)	

同時期の経静脈臍帯血ミニ移植症例経過

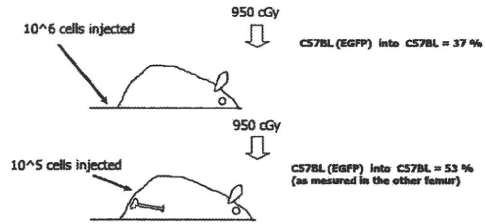
IV-CBT No.	Recovery PMN $\geq 0.5 \times 10^9/L$	PLT $\geq 20 \times 10^9/L$	aGvHD (grade)
1	38	64	I
2	20	-	I
3	16	46	I
4	13	37	I
5	9	46	I
6	NE	NE	NE
7	生着不全(MDS RA, NCC $2.3 \times 10^7/kg$, CD34 $0.91 \times 10^6/kg$)		
16(9-38)		46(37-64)	

Cumulative proportion with Neutrophil count $500/\mu l \leq$ Cumulative proportion with PLT count $2000/\mu l \leq$ 

骨髄内臍帯血ミニ移植

骨髄内に造血幹細胞を直接輸注する。
臍帯血を洗浄せずに輸注する。

骨髄内移植 versus 経静脈移植

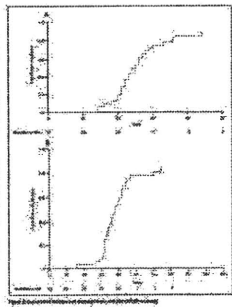


骨髄内移植が経静脈移植に比べ1/10量で生着する。

Francesco Frassoni
Exp Hematol. 2004 ;32:782-7.

Direct Intra-bone transplant of unrelated cord blood cells in acute leukemia: a phase I/II study

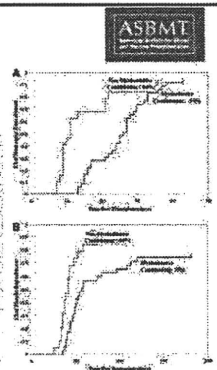
Acute leukemia relapse after autologous stem cell transplantation is a major cause of relapse. The aim of this phase I/II study was to evaluate the safety and efficacy of direct intra-bone transplantation of unrelated cord blood cells. The study was conducted in 10 patients with acute leukemia in first remission. The results showed that direct intra-bone transplantation of unrelated cord blood cells is a safe and effective procedure. The study is ongoing and will be completed in the near future.



Lancet Oncol 2008; 9: 831-39

A "No-wash" Albumin-Dextran Dilution Strategy for Cord Blood Unit Thaw: High Rate of Engraftment and a Low Incidence of Serious Infusion Reactions

Preparation of cord blood (CB) units for infusion requires a dilution strategy to reduce viscosity and prevent infusion-related reactions. This study evaluated a "no-wash" albumin-dextran dilution strategy. The results showed that this strategy is safe and effective, resulting in a high rate of engraftment and a low incidence of serious infusion reactions.



Biol Blood Marrow Transplant. 2009 Dec;15(12):1596-602

まとめ

1. 骨髄内臍帯血ミニ移植を10例に施行した。(1相試験終了)
2. 洗浄をしない臍帯血を骨髄内輸注することによる副作用は認めなかった。
3. 骨髄内臍帯血ミニ移植の有効性の検討のため2相試験予定である。

患者選択基準 (抜粋)

- (1) 従来の治療では治療が望めない造血系悪性腫瘍患者
急性骨髄性白血病: 初回寛解期以外
急性リンパ性白血病: 初回寛解期以外
初めて予後不良の初回寛解期急性白血病(寛解導入に複数コースの化学療法を要した初回寛解急性白血病, Ph陽性急性白血病など)を含む
慢性骨髄性白血病: 第 2 寛解期以外
治療抵抗性悪性リンパ腫
骨髄異形成症候群: int-2以降、寛解後再発
- (2) 初回造血幹細胞移植
- (3) 65歳以上、70歳未満の成人患者
55歳未満で臓器障害などにより骨髄破壊の前処置が適応と成らない患者
- (4) 非血縁者にHLA一致ドナーが得られない患者、あるいはHLA一致ドナーがいても、患者の病態から早急に移植を必要とする患者