

採取回数

Day 4開始
(N=199)

1回で充分 148例 (74%)

2回必要 49例 (25%)

3回必要 1例 (0.5%)

Poor mobilizer 1例 (0.5%)

ドナーのリスクも考えると2回までが妥当では？
Day4採取開始で、3/4は一回で採取終了
G-CSF投与期間も少なくすむ

九州大学病院 遺伝子・細胞療法部

問題点

Poor Mobilizerについて

ブラッドアクセスについて

Poor Mobilizer

凍結をしない

Poor Mobilizerの規定を削除

1日目 CD34 2×10^6 /患者体重kg未満の場合は2日目採取を行う

採取したPBSCを移植に使用する

ブラッド アクセス1

バンクPBドナーでは、末梢静脈からの採取を行う

ドナー適格基準に、上肢に採取に適した静脈がある

ただし、適当な血管があると判断し、
採取を開始した後、十分な血流が得られない場合、
大腿静脈にアクセスする

PBドナーには、大腿静脈にアクセスする可能性がある
ことに同意していただく

ブラッド アクセス2

中心静脈として

欧米では、内頸静脈穿刺

ただし NMDP報告 (blood 2009) では、
内頸、鎖骨下、大腿 ほぼ同じ頻度

日本では、大腿静脈穿刺 現状を生かす

大腿静脈アクセスの方法

比較的短い透析用留置針

比較的長い透析用カテーテル

非血縁末梢血幹細胞の利用についての研究

九州大学病院 遺伝子・細胞療法部
血液腫瘍内科
夏嶋崇徳

BMとPBSC運搬の違い

	BM	PBSC
受け取り日	採取日	採取1日目, 2日目?
運搬方法	室温	低温

- 採取が1日で終了するか不明
- 2日分の人員確保, 旅券確保は非現実的
- NMDPでは2日目にまとめて運搬(2-8°C)

初日分は2-8°Cで保管する
採取後48時間以内に使用する

運搬専門業者によるハンドキャリアー搬送

●天候急変時などの代替輸送路の確保, 温度管理が最大のリスクであり, 運搬の素人である医師, 事務員ではなく, 実績のある専門業者によるハンドキャリアー搬送が望ましい

- 1日目, 2日目別送も可能
- これを機に, 骨髓運搬も

PBSC保管・運搬時の条件

1日目に採取されたPBSCを1日保存する場合, あるいは運搬時の条件

1. 細胞濃度は $2 \times 10^6/\text{ml}$ 以下が望ましい, それ以上の場合, 自己血漿あるいは生理食塩水で希釈する.
2. ACD比率1/13以下で採取した場合, あるいは希釈した場合は, ACDを追加する
3. 2-8°Cで静置保存, 運搬.

採取されたPBSCが過剰な場合

●血縁PBSCで, CD34が多いと($8 \times 10^6/\text{kg}$) 慢性GVHDが多いといふいくつかの施設からの報告があるが, 否定的な論文もある

●非血縁PBSCでは, NMDP 832例の検討($0.3-29 \times 10^6/\text{kg}$)で, CD34多いほうが予後がよい, 慢性GVHDの増加なし
(Blood 113:1266, 2009)

●従って, 現時点では, 慢性GVHDを危惧して輸注量を“間引く”べきではないと考えられる

ただし, 一部はDLI用として凍結保存可能
(採取後24時間以上経過したPBSCは凍結不可)

2 日 目

平成 23 年 1 月 30 日 (日)

厚生労働科学研究 免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業
「臍帯血を用いる造血幹細胞移植技術の高度化と安全性確保に関する研究」班
平成22年度第2回班会議プログラム

日時：平成23年1月30日（日）9時00分～11時30分

場所：東京医科歯科大学湯島キャンパス M&Dタワー2階大講堂

9:00 研究代表者挨拶 加藤 俊一（東海大学医学部基盤診療学系）

<セッション1：基礎的研究>

座長 安藤 潔

9:10 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

○熊本 忠史、東 英一（三重大学医学部・細胞移植療法部）

9:20 さい帯血造血幹細胞の動態解析

○八幡 崇（東海大学医学部・基盤診療学系）、安藤 潔（同・内科学系）

<セッション2：臍帯血採取、品質管理、解析法開発>

座長 高橋 聡

9:30 臍帯血採取法の改良に関する研究

○正岡 直樹（東京女子医科大学八千代医療センター・産婦人科）

9:40 臍帯血の凍結における未熟造血幹細胞の影響について

○池田 裕一、磯山 恵一（昭和大学藤が丘病院小児科）

9:50 キリウム解析／HLA-Flow法で使用する7RIL特異的抗HLA抗体の特異性—実際の解析で判ったこと—

○渡辺 信和、高橋 聡（東京大学医科学研究所幹細胞治療研究センター）

<セッション3：基盤整備と臨床研究（1）>

座長 加藤 剛二

10:00 臍帯血バンクにおける移植データ管理と一元化

○長村 登紀子（東京大学医科学研究所セルプロセッシング・輸血部）

加藤 剛二（名古屋第一赤十字病院小児科）

10:10 小児臍帯血移植のGVHD予防法の確立

○足立 壮一（京都大学大学院医学研究科人間健康科学）

<セッション4：臨床研究（2）>

座長 甲斐 俊朗

10:20 臨床試験データ管理 進捗状況および総括

○熱田 由子（名古屋大学造血細胞移植情報管理・生物統計学）

10:30 複数臍帯血移植—臨床第Ⅱ相試験

○甲斐 俊朗（兵庫医科大学）

<セッション5：臨床研究（3）>

座長 谷口 修一

10:40 東大医科研の方法による成人臍帯血移植の多施設第Ⅱ相臨床試験：進捗状況

○田野崎 隆二（国立がん研究センター中央病院・幹細胞移植科）

10:50 高齢者臍帯血移植成績の時代変遷

○内田 直之、谷口 修一（虎の門病院血液内科）

<セッション6：臨床研究（4）>

座長 小川 啓恭

11:00 臍帯血移植における免疫細胞治療

○森尾 友宏（東京医科歯科大学医学部発生発達病態学分野）

11:10 骨髄内臍帯血ミニ移植（臨床Ⅰ／Ⅱ相試験）

○岡田 昌也、小川 啓恭

（兵庫医科大学・血液内科、輸血部）

<総合討論>

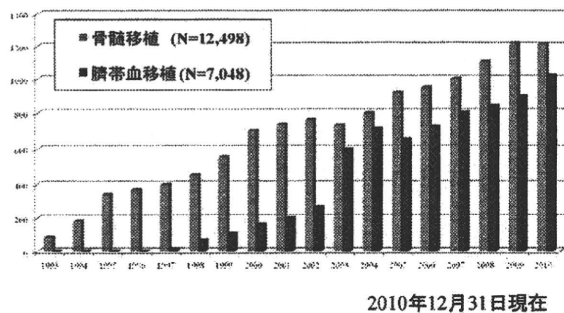
11:20-11:30

平成22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

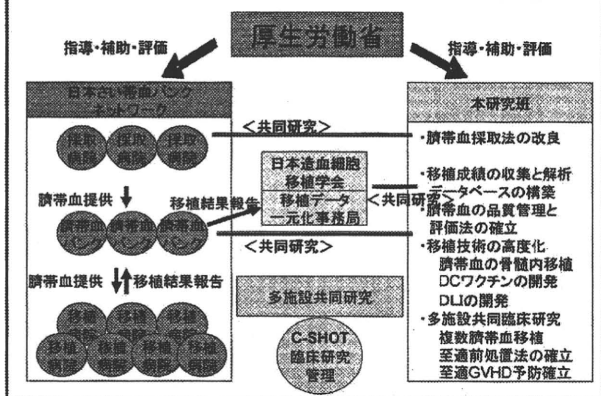
臍帯血を用いる造血幹細胞移植技術
の高度化と安全性確保に関する研究

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



本研究班と関連組織との有機的連携



2期目の大目標

- ・採取から移植までの網羅的研究の継続
- ・量から質へ
- ・後方視的解析から前方視的研究へ

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
3. GMP基準での細胞処理の経費試算 (河原和夫)

基礎的検討から臨床応用へ
4. 臍帯血の骨髄内移植法の開発 (安藤 潔)
 - ・臨床研究の開始 (小川啓恭)
5. 麻疹DCワクチンの開発 (東 英一)
 - ・臨床研究の開始

研究班2期目の目標と計画(2)

臨床研究

6. 小児におけるGVHD予防法の至適化 (足立杜一)
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. 複数臍帯血移植 (甲斐俊朗)
10. 精緻なキメラズム評価法の開発 (高橋 聡)
11. 臍帯血移植における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. 臍帯血移植データベースの確立 (長村登紀子)
15. 臍帯血由来細胞の白血病化 (小池健一)
16. 骨髄内臍帯血移植 (小川啓恭)

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 (小川啓恭教授グループ)
4. 麻疹DCワクチンの開発 (東 英一)
 - ・臨床研究の開始

研究班2期目の成果 採取バッグの改良(正岡直樹先生)

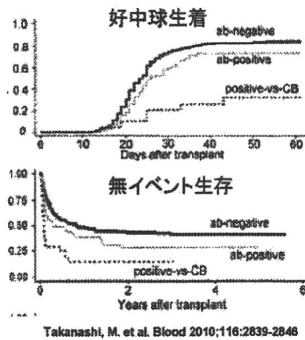


現行バッグ 新バッグ

	現行バッグ n=50	新バッグ n=50
臍帯血採取量(g)	39.17±1.21	39.10±1.16
初産/経産	28/22	31/19
母体年齢	31.69±4.12	30.30±5.16
新生児体重(g)	3028.1±310.2	2994.6±283.6
臍帯血採取量(g)	80.2±26.9	96.8±28.2* (p<0.05)

	現行バッグ	新バッグ
初期 (1~25)	82.6±27.0	88.8±28.7
後期 (26~50)	79.5±27.2	96.4±27.4* P<0.05

研究班2期目の成果 HLA抗体と生着生存(高梨美乃子先生)



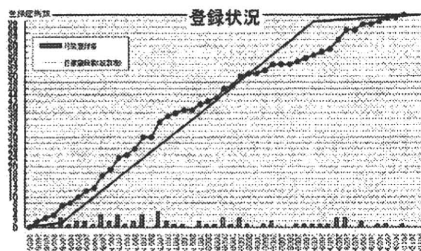
研究班2期目の成果 骨髄内臍帯血ミニ移植(小川啓恭先生)



症例	疾患	年齢	生着		急性GVHD
			好中球	血小板	
1	MDS	64	7	12	II
2	MDS	58	11	67	III
3	ALL	60	9	42	I
4	AML	66	24	51	I
5	MDS	51	17	30	II
6	ALL	62	33	55	I
7	NHL	57	17	40	I
8	AML	63	21	36	I
9	MDS	61	—	—	0
10	NHL	57	17	—	—

研究班2期目の成果 複数臍帯血移植(甲斐俊朗先生)

- ・70例の登録と61例の移植が終了
- ・本年2月に1年無病生存率の解析を開始



研究班2期目の成果 本研究班名で発表された論文

- ・ Yahata T, et al. Quiescent human hematopoietic stem cells in the bone marrow niches organize the hierarchical structure of hematopoiesis. *Stem Cells*. 2008 Dec;26(12):3228-36. Epub 2008 Sep 11.
- ・ Narimatsu H, et al. Chronic graft-versus-host disease following umbilical cord blood transplantation: retrospective survey involving 1072 patients in Japan. *Blood*. 2008 Sep 15;112(6):2579-82. Epub 2008 Jun 16.
- ・ Nagamura-Inoue T, et al. Unrelated cord blood transplantation in CML: Japan Cord Blood Bank Network analysis. *Bone Marrow Transplant*. 2008 Aug;42(4):241-51. Epub 2008 Jun 23.
- ・ Yoshimi A, et al. Unrelated cord blood transplantation for severe aplastic anemia. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2008 Sep;14(9):1057-63.
- ・ Atsuta Y, et al. Disease-specific analysis of unrelated cord blood transplantation compared with unrelated bone marrow transplantation in adults with acute leukemia. *Blood*. 2009 Feb 19;113(8):1631-8. Epub 2008 Dec 22.
- ・ Yazaki M, et al. Incidence and risk factors of early bacterial infections after unrelated cord blood transplantation. *Blood Marrow Transplant*. 2009 Apr;15(4):439-46. Epub 2009 Feb 12.
- ・ Oda M, et al. Survival after cord blood transplantation from unrelated donor as a second hematopoietic stem cell transplantation for recurrent pediatric acute myeloid leukemia. *Int J Hematol*. 2009 Apr;89(3):374-82. Epub 2009 Mar 18.
- ・ Isoyama K, et al. Long-term outcome of cord blood transplantation from unrelated donors as an initial transplantation for children with AML in Japan. *Bone Marrow Transplant*. 2010 Jan;45(1):69-77. Epub 2009 May 11.
- ・ Takanashi M, et al. The impact of anti-HLA antibodies on unrelated cord blood transplantation. *Blood*. 2010 Oct 14;116(15):2839-46. Jul 13. [Epub ahead of print]

造血細胞移植患者に対する 抗麻疹DCワクチンの第I相臨床試験

分担研究「DCワクチンを用いた臍帯血移植後のウイルス感染
予防法の開発に関する研究」

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

目的とエンドポイント

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

対象と投与方法

- ・ 自家あるいは同種造血細胞移植後2年未満の患者。
- ・ 移植後2年以上であっても免疫抑制剤を投与中、など通常の麻疹生ワクチン接種が困難と考えられる患者。
- ・ 投与方法
 - 接種部位と回数:上腕あるいは大腿の皮下に1回接種
 - 1回当たりの接種細胞数:
 - ・ コホート1 2x10⁵3例
 - ・ コホート2 1x10⁶3例
 - ・ コホート3 5x10⁶4例

対象症例とDCワクチン投与細胞数

症例	診断	移植後	ドナー	慢性GVHD	免疫抑制剤	DCワクチン投与細胞数
1	Infant ALL	15M	Unrelated BM	-	-	2 x 10 ⁵
2	T-ALL	27M	Double CB	-	-	2 x 10 ⁵
3	NB	29M	Auto BM	-	-	2 x 10 ⁵
4	AA	12M	Unrelated BM	-	FK506	10 x 10 ⁴
5	Ph+ALL	14M	Unrelated BM	-	-	10 x 10 ⁵
6	AML	15M	Unrelated CB	-	FK506	10 x 10 ⁵
7	AML	10Y	Related BM	+	FK506	50 x 10 ⁵
8	Infant ALL	6M	Unrelated BM	-	-	50 x 10 ⁵
9	AA	10M	Related BM	-	-	50 x 10 ⁵
10	APL	6M	Unrelated BM	-	-	50 x 10 ⁵

安全性

- ・ 10例すべてにおいて接種後24時間以内の有害事象の発生なし。

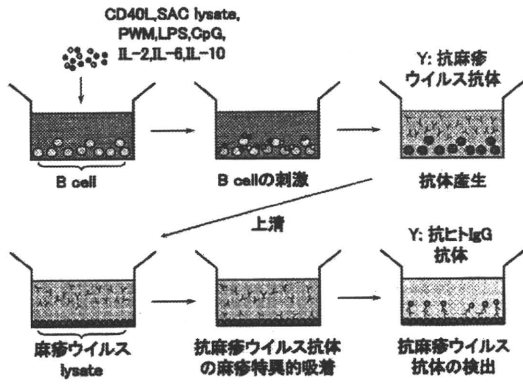


- ・ 10例において接種後6週以内の有害事象の発生なし。
- ・ 10例すべてのDCワクチンの細菌・真菌PCR陰性、エンドトキシン陰性

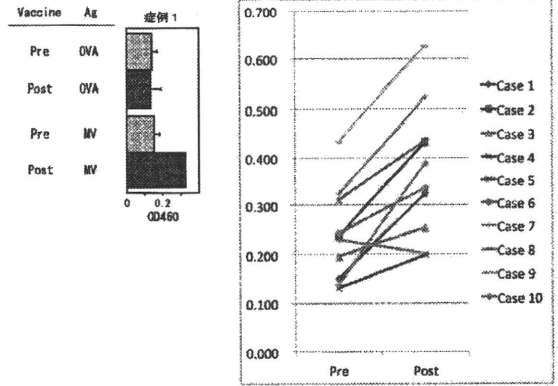
血清麻疹抗体価

症例	コホート	HI		ELISA		
		Pre	6週後	Pre	6週後	4-12月後
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

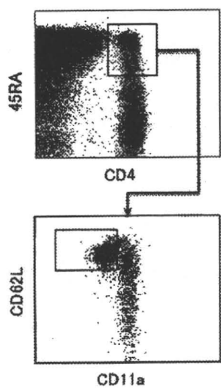
麻疹特異的メモリーB細胞の測定



麻疹特異的B細胞

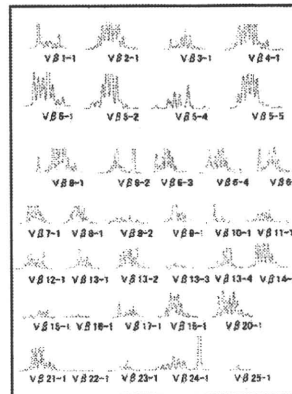


True naive T cell



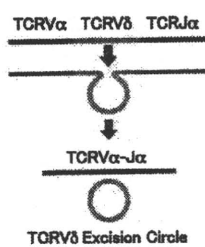
症例	コホート	WBC	TN-CD4	TN-CD8
1	1	17450	1106	624
2	1	7240	139	130
3	1	7600	328	382
4	2	5990	190	138
5	2	3400	31	125
6	2	6540	69	32
7	3	5990	340	227
8	3	5980	7	7
9	3	5840	369	243
10	3	3470	43	3
HCT後2年以上の症例の中央値(n=43)			250	228

TCRβ CDR3 Spectratyping



症例	コホート	ピーク数
1	1	9.4
2	1	7.0
3	1	11.5
4	2	8.9
5	2	10.0
6	2	11.1
7	3	10.5
8	3	8.9
9	3	11.8
10	3	10.3

TCR Excision Circle (TREC)



症例	コホート	TREC (copies/ugDNA)
1	1	811
2	1	1515
3	1	7181
4	2	19420
5	2	9445
6	2	14404
7	3	7329
8	3	0
9	3	9523
10	3	1342

考案

- 麻疹症状やGVHD症状をふくめ、有害事象を認めず、抗麻疹DCワクチンが安全に接種可能であった。
- 麻疹抗体価の陽転(8/10症例)、麻疹特異的MBCの増加(9/10症例)が認められ、有効性が示唆された。
- 有効性は、接種細胞数の用量依存性であることが示唆された。

臍帯血造血幹細胞の老化解析

班員：東海大学医学部 ○八幡 崇、安藤 潔

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

我々はヒト HSC を免疫不全マウスに移植し、ヒト造血系を再構築させた後、再度別個体に移植を繰り返すことにより、ヒト HSC の幹細胞活性が著しく低下し、多くの HSC が幹細胞プールから枯渇してしまういわゆる早期老化状態に陥ることを明らかにした。そこで、移植前、1次移植、2次移植の各段階における CD34+CD38-細胞の性状解析を行なった。その結果、移植の進行にともなって CD34+CD38-細胞の活性酸素種 (ROS) レベルが上昇するとともに、 γ H2AX を指標とした DNA 損傷が、特に2次移植骨髄に生着している CD34+CD38-細胞において顕著に蓄積していることを見いだした。すなわち、長期造血再生反応を繰り返すと、ヒト HSC 内の ROS レベルの上昇し、DNA 損傷の蓄積によって誘導される senescence に至るために、ヒト HSC が造血再生能を失うということを見いだした。

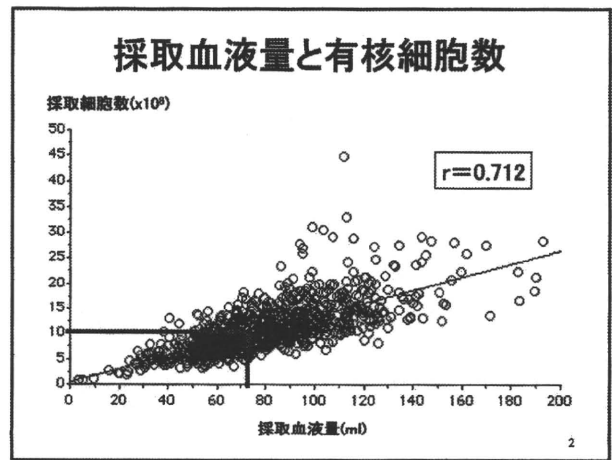
今回我々は、異種移植系で得られた知見の生理的、臨床的意義を明確にするためにヒト検体を用いて検討を行った。本学倫理委員会において承認された研究計画に同意を得て採取された高齢者(72 to 84 y/o; median: 79 y/o, $n = 10$)、臍帯血移植を含めた HSC 移植患者 (34 to 56 y/o; median: 48 y/o, $n = 8$)、さらに移植患者と同年齢層(44 to 56 y/o; median: 50 y/o, $n = 6$)の骨髄液から CD34+CD38-細胞を回収し、異種移植系と同様の検討を行った。その結果、高

齢者のみならず移植患者から得られたHSCでは優位に高いレベルのROSが検出され、DNA 損傷の蓄積が認められた。さらに、HSC 数の減少とともに免疫不全マウスでの造血再構築能も顕著に低下していた。移植患者と同年齢層のHSCではDNA 損傷の程度が低く、免疫不全マウスへの移植能も保持されていた。以上の結果から、長期造血再構築を維持する過程で生じるストレスは、異種移植系のみならず、ヒトの加齢や移植においてもHSCの酸化的DNA 損傷の蓄積を誘導し、ヒトHSCの造血再生能の低下の原因となるということが推察された。

平成22年度厚生労働省科学研究 免疫アレルギー―疾病等予防・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)
 地域社会に信頼される病院としての心温まる医療と
 急性期・高機能・先進医療との調和

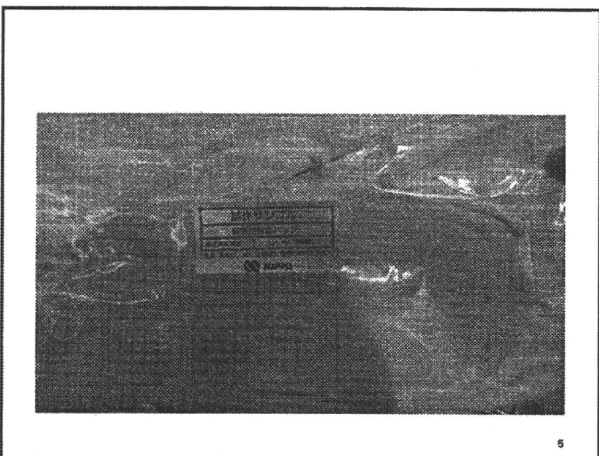
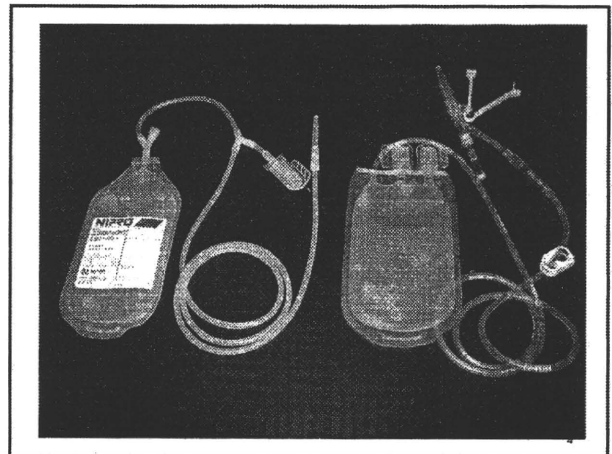


東京女子医科大学 八千代医療センター
 総合母子・小児診療部 正岡直樹



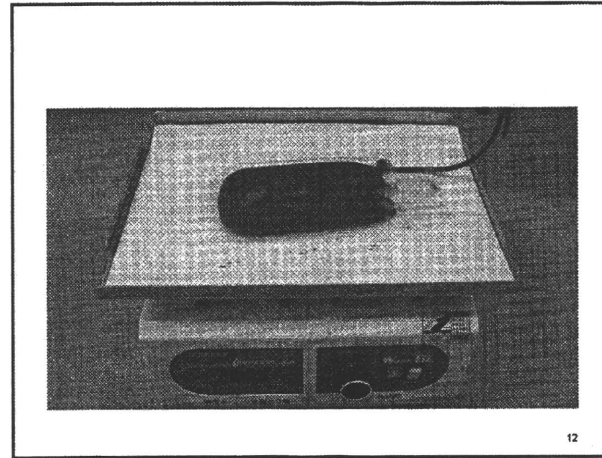
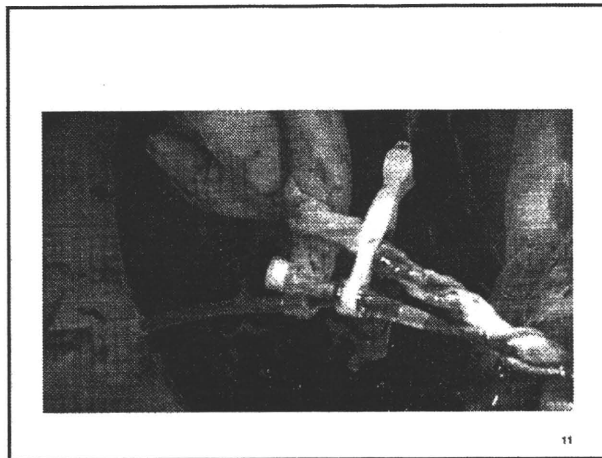
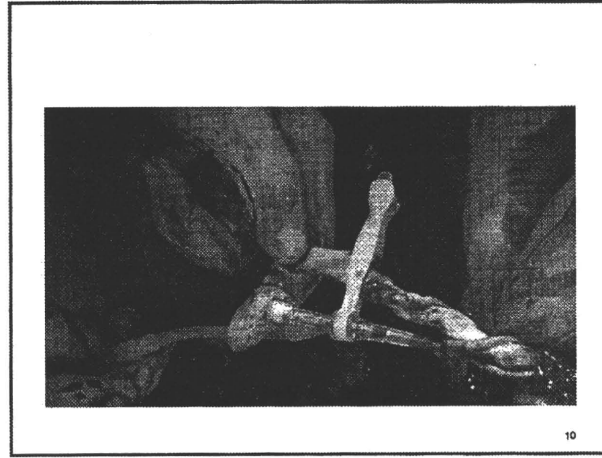
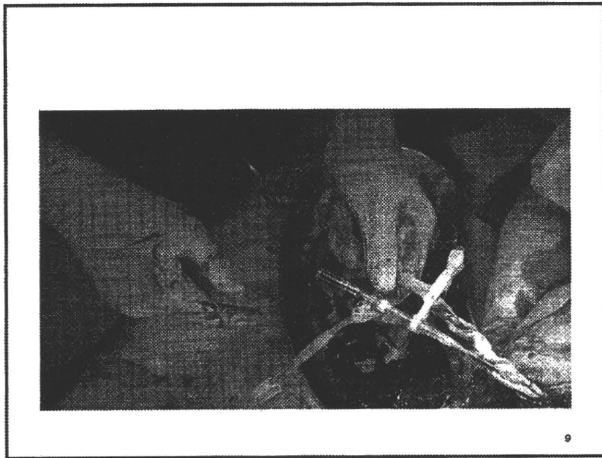
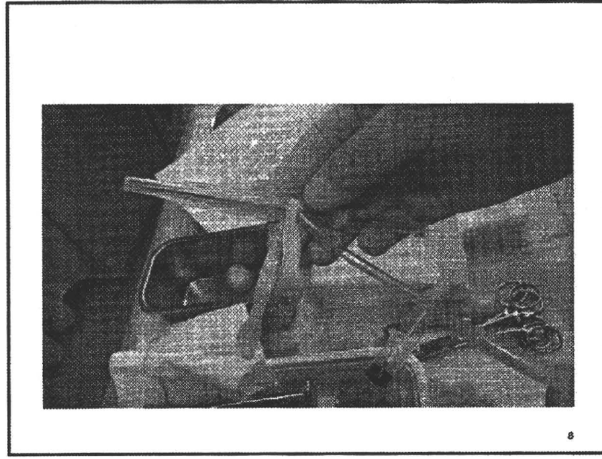
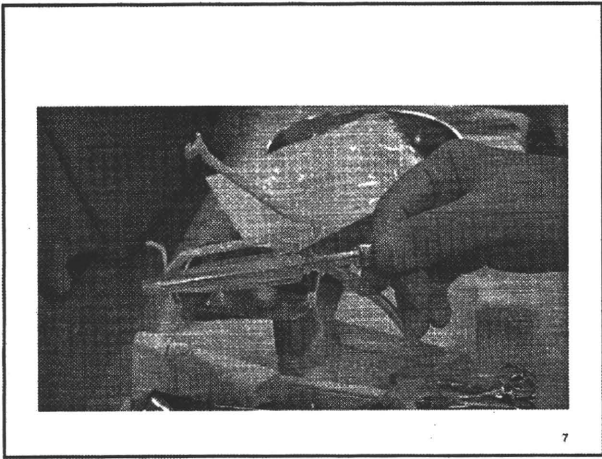
目的

- 我が国において臍帯血幹細胞移植は成人領域でも増加し、骨髄バンクの移植数に匹敵するものとなってきている。しかし成人の移植にあたっては十分な臍帯血の有核細胞数が必要であり、そのためにはより多量の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さ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、臍帯を扱うことが容易となる。



対象と方法

- 平成21年2月1日から平成21年12月31日までの間に東京女子医科大学八千代医療センターにて分娩した、各種産科合併症を有しない経膈分娩100症例を対象とした。
- 従来型の川澄バッグでの採取が50例、ニプロ社の新採取バッグ50例。
- 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。また新採取バッグでの採取の際は、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のために使用されることを説明した。
- 採取には採取技術が同等の3人の医師があたった。
- 両群を無作為化するため、奇数日の分娩は従来型バッグで、偶数日の分娩は新バッグでの採取とした。

13

結果(1)

さい帯血採取量

	従来型バッグ	新採取バッグ
さい帯血採取回数	39/17±1.31	39/10±1.16
初産/経産	28/22	31/19
母体年齢	31.69±4.12	30.30±6.16
新生児体重(g)	3028.1±310.2	2994.6±283.6
さい帯血採取量(g)	80.2±26.9	96.8±28.2* (p<0.05)

14

結果(2)

さい帯血採取量の期間別検討

	従来型バッグ	新採取バッグ
初期(No1~25)	82.6±27.0	88.8±28.7
後期(No26~50)	79.5±27.2	98.4±27.4* P<0.05

15

対象と方法

- 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。
- 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。

16

結果(3)

品質の検討

	従来型バッグ	新採取バッグ
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 ² /μl)	35.9±8.5	45.9±16.6
採取単核球数(x10 ²)	4.9±1.4	5.8±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 ²)	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 ²)	11.9±7.1	9.3±4.7
菌検査陽性	0	0

結論

- 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。
- 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。
- 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。

18

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

昭和大学藤が丘病院小児科 池田裕一, 磯山恵一

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⁻CD34⁺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した。

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⁻)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⁻細胞ならびに Lin⁻CD34⁺細胞数を ISHAGE 法(一部変更)により解析した。さらに Lin⁻細胞を CD34 マイクロビーズで再分離し、Line⁻CD34⁺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。

結果 1: Lin⁻生細胞数は凍結前、2週間後、6ヶ月後で 4.31 ± 3.12 から 2.11 ± 4.55 , $2.4 \pm 1.7 (\times 10^8)$ と有意な減少は無かったが、Lin⁻CD34⁺生細胞数は、凍結前、2週間後、6ヶ月後では 3.65 ± 0.37 から 0.94 ± 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⁻CD34⁺ALDH⁺) の割合は 78.91 ± 9.94 から 24.4 ± 10.12 , 11.45 ± 10.3 (%) と低下した。

結果 2： 凍結前， 2 週間後， 6 ヶ月後で総 CFU 数は 170 ± 56 から 62 ± 26 ， 26 ± 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。

結論： 臍帯血の凍結により， $\text{Lin}^- \text{CD34}^+$ を代表とする未熟な造血幹細胞は著明に減少し， コロニー形成能も低下した。一方で， 凍結 2 週間と凍結 6 ヶ月間の比較では未熟造血幹細胞に有意な影響は認められなかった。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。

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

- 実際の解析から判ったこと -

○渡辺信和¹、松野直史³、谷口修一³、高橋聡²

東京大学医科学研究所 ¹幹細胞治療研究センター・病態解析領域、²附属病院・血液腫瘍内科
³虎の門病院・血液内科

我々は、アリル特異的抗HLA抗体（ASHmAb）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有用であるが、解析の難しさなどの問題もあり、広く普及するには至っていない。

本法で使用されているASHmAbは、おもに米国One Lambda社と英国Ab-D Serotec社で作製されたモノクローナル抗体であるが、それらの特異性はHLA血清学タイピング（リンパ球障害テスト）に使用されていた経産婦血清が示す特異性とほぼ一致している。そのことは、ASHmAbと経産婦血清に含まれる抗HLAポリクローナル抗体が、HLA分子上の同じエピトープを認識していることを示唆している。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、ASHmAbの反応性の不確実さを報告する。

虎の門病院との共同研究における臍帯血ミニ移植後早期のキメリズム解析により、市販の抗HLA-A2抗体（BD Pharmingen社、クローン：BB7.2）はHLA-A*0201やA*0206陽性の白血球を染色可能であるが、A*0210陽性の白血球は全く染色しないことが判明した。また、抗HLA-B13,15抗体（One Lambda社、クローン：IH0129）はHLA-B62（B15）陽性の白血球を染色可能であるが、同じB15のスプリット抗原であるB75陽性の白血球は全く染色しないことが判明した。これらの情報を知らないまま測定すると、結果の判断を間違える危険がある。

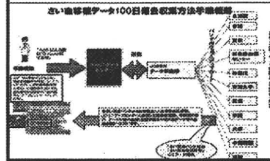
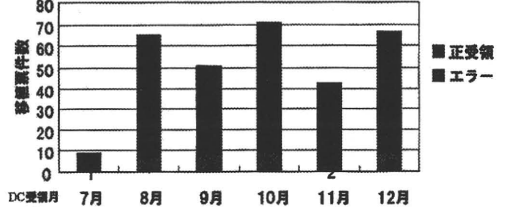
ASHmAbの特異性は、古くより知られている経産婦血清由来の抗HLAポリクローナル抗体の特異性とほぼ一致しており、HLA血清学タイピング（リンパ球障害テスト）の過程で判明した交叉反応性グループ（cross reactive group、CRG）に従っている。しかしながら、現在までにすべてのHLA型に対するASHmAbの染色性をフローサイトメーターで調べた仕事はほとんどなく、今回報告したように予測できない染色性を示す可能性もある。今後我が国でHLA-Flow法を広く普及させるためには、頻度の高いHLAに対するASHmAbの染色性を、網羅的に検証しておく必要がある。

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

1. 一元化移植データの報告システムを用いたデータアップロード状況
2. 日本さい帯血バンクネットワーク (JCBBN) データのTRUMP形式への変換
3. 問題点と注意
 1. 施設コードの統一(臍帯血バンク側と学会データセンター側/および関連情報の更新の遅れ)
 2. ID間違い
 3. HLA表記の(国際)変更およびHLA入力ミス等基本的データのミス

1. 一元化移植データの報告システムを用いたデータアップロード状況

一元化DC経由CBT調査票 (TRUMP) アップデート件数 (100日報告)



エラーの殆どは臍帯血ID間違い

2. 日本さい帯血バンクネットワーク (JCBBN) データのTRUMP形式への変換および移植施設への返還

目的: 過去データも一元化 (TRUMP形式) することにより、一元的に解析しやすいデータとして提供できる。
 過去データも各移植施設で取り込み、移植施設内データの充実化とDC等への報告データの整合性を図る。

JCBBNデータ(2006年12月までのデータ)→TRUMPデータ形式 終了

2010年度内目処に学会DC経由で返還予定。

移植施設内でTRUMPへの取り込み

本登録にて過去、現在データの合体化

本登録データ→各臍帯血バンクへも年度毎報告として送付される

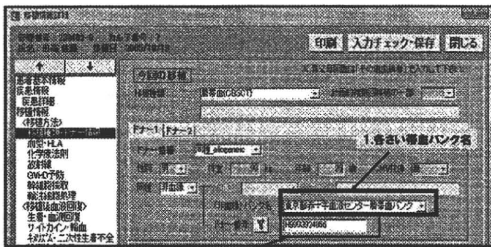
しかし、TRUMPを立ち上げていない施設があるとDCでの過去・現在データの合体作業大変

3-1. 問題点 施設コードの統一化

目的: JCBBNと学会・JMDPで共通の施設・診療科コード (TRUMPに付与) を使用

- ・今年度、JCBNと学会DCとで施設コードの照合実施
- ・臍帯血バンク側のコードの一部変更の遅れ (現行の臍帯血申し込み部分を含めた過去のデータの紐付けとの整合性のため)
- ・統合診療科 (内科/小児科) での申し込み→TRUMPの登録報告は別々の診療科名にて報告の場合、JCBBNの受け取り側の不整合あり
- ・施設名称や診療科の統合による名称変更が多く、コードの照合と連絡先の変更の遅滞あり、→正受領書の送信不能例
- ・責任医師異動等による関連情報の更新の遅れによるメール送信不能例
- ・なお施設コードは施設に対するコード、責任医師に付与されるものではない。

3-2. 問題点 ID間違い



2ドナー番号=さい帯血番号

★JCBBNさい帯血ID (各臍帯血バンクから提示されたさい帯血管理番号を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	施設番号 (さい帯血バンク)	患者氏名	さい帯血番号	移植施設施設番号
2010/4/1	xxx	CBT0720100021	白鳥 太郎	H200909011211B	

3-3. 問題点 HLA表記の国際変更およびHLA入力ミス等基本的データのミス

- ・HLA表記の変更 JMDP/JCBBN骨髄ドナーおよび臍帯血HLA表記が変更されます。
- ・ドナー・患者基本情報の転記は慎重にお願いします。
- HLA部分は移植施設と各臍帯血バンクのみしか真実はわからない!! (データクリーニングが遅れる可能性とHLA Disparityが異なってきます!)

TRUMP臍帯血移植100日報告用データの抽出のweb
送信のお願い

機密 CD 2003, version 2010 7.0
移植施設先生方へ

データの提出状況を今年度末に確認し、次年度より移植施設登録認定の資料とします。提出率の悪い施設は臍帯血移植施設の登録取り消しまたは臍帯血の提供に支障をきたす可能性があります。

各施設の提出状況（100日報告）を2011年2月始めに各移植施設にJCBBNより送付します。ご確認の上、年度内に早急にTRUMP形式で学会DC（一元化事務局）にご提出をお願いします。

【重要事項】

① プログラムのバージョンを確認し、最新版で書き出しを行ってください。

② 各移植施設バンク名および血液検査を「移植施設バンク名」「ドナー番号」の順に必ず入力してください。

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日より回収を開始し、8月よりJCBBNデータ事務局経由で各バンクにアップロード開始した。JCBBN データ事務局から各バンクへのデータアップロードのエラーとしては臍帯血ID間違いが最も多かった。
2. 2006年末までのJCBBNに提出された移植データの移植施設への送達（TRUMPへの取り込み）を年度内の目標を予定し、これにより過去CBTデータの統一化が図れる。
3. JCBBNとJSHCT/JMDP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が、未だ一部不一致部分および統合診療科問題残る。
4. HLAの表記変更に伴う混乱、TRUMPへのHLA入力ミスがあり、今後のデータクリーニング上危険される。
5. より直接的臍帯血関連有害事象や有効性の収集、既存のJCBBN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

【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、800ng/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:小児造血細胞移植を行なっている施設から7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12月末現在 CBT 6例

なお、同時進行の小児造血幹細胞移植例13例(BMT 6例, PBSCT 1例, CBT 6例)

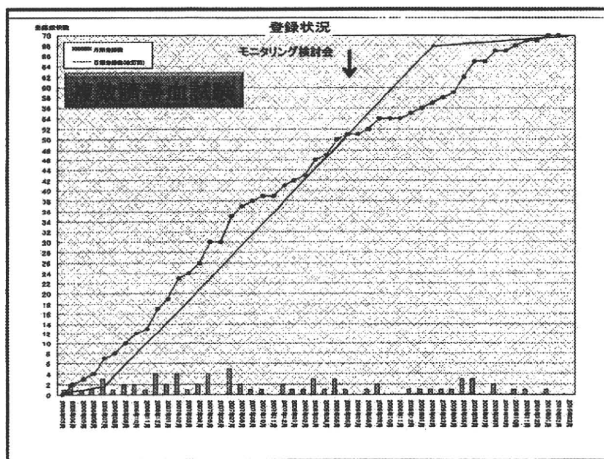
臨床試験データ管理 -進捗状況および総括-

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

加藤班 データ管理担当臨床試験

- 複数臍帯血同時移植の臨床第Ⅱ相試験
- C-SHOT 0507試験
 - 兵庫医科大学 甲斐俊朗先生
- 成人における骨髄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)
- C-SHOT 0603試験
 - 国立がんセンター中央病院 田野崎隆二先生



参加施設名	科名	登録数
兵庫医科大学	血液内科	14
虎の門病院	血液科	9
札幌北緯病院	内科	6
成田赤十字病院	血液腫瘍科	5
大阪府立成人病センター	血液・化学療法科	5
大阪市立大学医学部	血液内科	4
東北大学医学部	血液免疫科	2
北海道大学大学院医学系研究科	血液内科学分野	2
日本医科大学付属病院	血液内科	2
東海大学医学部付属病院	血液内科	2
大阪赤十字病院	血液内科	2
名古屋第一赤十字病院	小児科	2
倉敷中央病院	血液内科	2
長岡赤十字病院	輸血部	1
神奈川県立がんセンター	血液科	1
三重大学医学部付属病院	小児科	1
大阪府立母子保健総合医療センター	血液・腫瘍科	1
兵庫県立成人病センター	血液内科	1
浜の町病院	内科	1
新潟大学医療科学総合病院	高次元無菌治療部	1
九州がんセンター	小児科	1
金沢大学医学部附属病院	血液内科	1
国立病院機構熊本医療センター	内科	1
岡山大学病院	血液・腫瘍内科	1
先端医療センター	診療開発部	1
名古屋第一赤十字病院	血液内科	1
合計	39施設	70

報告書提出状況_100日報告書

	移植後100日報告書		
	移植実施報告書	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/対象症例数	61症例/70症例	61症例/70症例	61症例/70症例
提出期限内に提出がなく督促した症例	17症例 (10施設)	33症例 (16施設)	39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			

報告書提出状況_1年報告書

	移植後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/対象症例数	49症例/70症例	49症例/70症例
提出期限内に提出がなく督促した症例	28症例 (15施設)	29症例 (16施設)
プロトコール中止等につき提出不要の症例	19症例 (12施設)	19症例 (12施設)
提出期限に至っていない症例	2症例	2症例