

分担研究者の課題

ドナー生涯フォローの基盤作り(小寺)

- ドナー手帳の電子化を含む、本邦におけるドナーの生涯フォローの基盤をさらに発展させるとともに、世界BMT学会と共同で中長期の稀におこる有害事象についての情報収集およびアジア地域のドナー安全の向上を支援する。

ドナーの安全情報の公開および観察研究の遂行(日野)

- 骨髄バンク・ドナー安全委員会と協力し、ドナーの安全情報をアップデートに公開するとともに、「ドナー安全とQOLの観察研究」(H23.1-H25.12)を施行し、ドナーの短期安全性およびQOLを骨髄移植ドナーとの比較し研究する。

末梢血幹細胞の動員と採取の効率化の検討(上田)

- 外来でのG-CSF投与(訪問看護、近医での注射等)と一日採取(CD34陽性細胞数による必要処理量の計算とCa持続的輸注による長時間採取)について、調査検討し(H23年度)、H26.3までに、ドナー安全に留意しこれを検討し、ドナーの意向をかなえるとともに、経済的な貢献もめざす。

URPBSCTに関する観察研究の遂行(宮村)

- 第一期で開始した「同前向き観察研究(H23.1-H24.6)」を完遂する。そのデータを元に、「URPBSCTにおける至適なGVHD予防法の確立」を立案、実施する(H24.7-H26.3)。

URPBSCT認定施設の拡充と推進(田中)

- 認定施設はドナーおよびレシピエントの安全のための様々な基準があり、またフローサイトメーターが未設置、医師に余裕がないために申請施設は現在25施設に限られている。ドナー安全の観点から設けている「採取施設に通えること」から、全国各地に採取施設を設置する必要がある。
- 研究期間内に、バンク各委員会、各学会と協力し、これらの問題点を調査・解決し認定施設を増やし、ドナーがどこに住んでいても希望がかなえられる採取施設を設置する。

「URPBSCTとURBMTの比較研究」の 遂行(長藤)

- 本邦においてPBSCとBMのどちらを選択すべきか明らかでない。
- 両移植ソースの比較を行うにあたり、最適な方法をmatched pair study、第Ⅲ相試験などから決定し、実施する(H24.7-H26.3)。

ECPの導入と有用性の検討(岡本)

- ECPは欧米では広く用いられているステロイド抵抗性GVHDの治療法であるが、本邦には導入されていない。
- 現在厚生労働省「ニーズの高い医療機器等の早期導入に関する検討会」のリストに挙げられている。引き続き学会とも協力し導入実現を果たす。

非血縁者間末梢血幹細胞移植患者 の生涯支援システムの構築 (宮村)

- 移植医療の発展とともに長期生存者が増加し、老齢期に入った患者も多い。二次癌以外にも成人病、一般の癌が問題となると予想される。このことはURPBSCTの導入に伴いさらに重要な問題になると予想される。
- これらの早期発見、早期治療を促し、またそれまでに患者が受けた治療内容、ワクチン歴などがわかる患者手帳を作成し、将来発生する疾患の治療の参考とする(H25.3)。

非血縁移植ソース決定のアルゴリズム 作成(神田)

- URPBSCTでは慢性GVHDによるQOL低下が予想される。URPBSCTが加わり、ドナーソースの決定が複雑になった。
- 「慢性GVHDの有無を期待効用に反映させた臨床決断分析」を用いドナー選択のアルゴリズムを作成する(研究期間内)。

URPBSCTを利用した養子免疫療法の 検討(西田)

- URPBSCTに豊富に含まれる免疫担当細胞は将来重要な治療法となると予想されるが、現在URPBSCTを利用することはできない。
- URPBSCTの細胞の二次利用の規則策定については、各学会とも相談し、骨髄バンク医療委員会に協力、提案を行う。

血液細胞の品質管理向上をめざした 基盤整備(豊嶋)

- 本邦における血液細胞の品質管理は欧米と比較して遅れている。
- 学会が出した「院内における血液細胞処理指針」をURPBSCT施設で行われているか検証するシステムを作る(研究期間内)。

臍帯血移植に関する研究(高橋)

- 今年度は臍帯血研究班がお休みとなったため、本研究班が継続研究課題の受け皿となる同時に、バンクとして共同して行うべき事項について検討する。
- 厚生労働科学研究の研究として行う臨床研究。
 - 複数臍帯血
 - 医科研方式の追試
 - 骨髄内臍帯血ミニ移植第II相試験

臍帯血移植に関する研究(続き)

- 臍帯血バンク、骨髄バンクが共同して行うシステム構築。
 - コーディネートの共通化
 - 細胞数カウントなどの標準化
 - 品質管理
- 臍帯血を利用した細胞治療。

2011.7.3

厚生労働科学研究
「非血縁者間末梢血幹細胞移植開始におけるドナーおよびレシピエントの安全性と成績向上に関する研究」

ドナーの安全情報の公開および観察研究

骨髄バンク・ドナー安全委員会と協力し、ドナーの安全情報をアップデートに公開するとともに、「ドナー安全とQOLの観察研究」を施行し、ドナーの短期安全性およびQOLを骨髄移植ドナーとの比較し研究する。

大阪市立大学 医学研究科 血液腫瘍制御学
(血液内科・造血細胞移植科)
日野雅之

(現時点)

ドナー
(PBSCHに関しては)
・UBMH提供者
・HLA適合
・採取施設に通院可能

登録時はBMH、PBSCHの希望確認はしない。

確認検査時に、両方説明し、承諾しない採取方法を確認する。
ドナーが患者希望を知りたい場合は、情報提供を行なう。

最終同意は決定された採取法のみ

患者
BMT希望
どちらかというBMT希望
どちらかというPBSCH希望

移植法決定
・ドナーが「BMH/PBSCH両方承諾」の場合、どちらの方法で採取を行うかの最終的な希望を出す。
・移植側とドナーの希望が合わない場合にはコーディネーター終了

コーディネートの流れ

移植

非血縁末梢血幹細胞採取例の報告

(詳細は、ドナー安全委員会開催後に)

本邦における非血縁者間末梢血幹細胞採取と骨髄採取のドナーへの影響に関する観察研究

(目的)
わが国における非血縁者間末梢血幹細胞移植の導入にあたり、末梢血幹細胞採取と骨髄採取のドナーへの影響に関して、安全性および身体的、精神的、社会的負担を比較する。

(対象)
骨髄移植推進財団を通じて初めて非血縁者間末梢血幹細胞採取または骨髄採取を行うドナーのうち、研究に対する同意が得られたドナーを対象とする。

(調査項目)
各採取施設より骨髄移植推進財団に報告されたドナー報告およびコーディネーターからの報告、個々のドナーに対するSF-36を用いたQOL調査(3回)
1) 採取約3週間前(骨髄採取の場合は自己血採取前、末梢血幹細胞採取の場合はG-CSF投与前)
2) 採取後1週間
3) 採取後3ヶ月

本邦における非血縁者間末梢血幹細胞採取と骨髄採取のドナーへの影響に関する観察研究

(評価項目)
QOLスコア
(1) 身体機能
(2) 日常役割機能(身体)
(3) 日常役割機能(精神)
(4) 体の痛み
(5) 全体的健康感
(6) 活力
(7) 社会的な生活機能
(8) 心の健康

(目標症例数および研究期間)
非血縁末梢血幹細胞採取ドナー100例、骨髄採取ドナー100例
平成23年×月×日から平成26年3月31日

(*)現時点では、1例のみが採取。初回ドナーへの適応拡大はまだ(ドナー安全委員会で議論)

(検討課題)

- 1) PBSCHの件数が少ない
- 2) 初回ドナーへのPBSCH拡大はまだされていない
- 3) PBSCTコーディネーターはシステム開発の完成が2012年夏頃、その間PBSCHのみ手作業で行なわれるため、混乱がある可能性
- 4) 各施設で骨髄採取の方法自体がまちまちであり、骨髄採取において、施設間でドナーの身体的、精神的負担に差がある可能性があるのでは？
尿道カテーテル留置の有無
骨髄穿刺回数など
- 5) 研究の同意取得を、最終同意時とした場合、調整医師の負担になる。

分担研究課題
ドナーの生涯フォローの
基盤作り

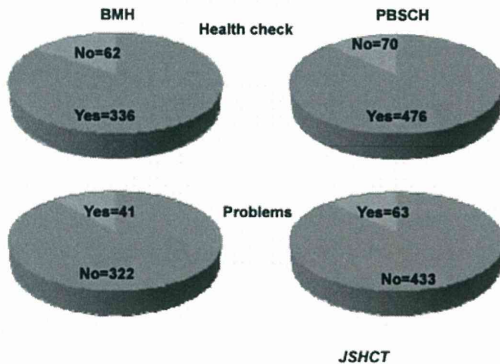
分担研究者 小寺良尚、飯田美奈子

厚生労働省 免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業
非血縁者間同種末梢血幹細胞移植開始におけるドナーおよびレシピエントの安全性と移植成績向上に
関する研究班（宮村道）班会議
平成23年7月3日
於 名古屋

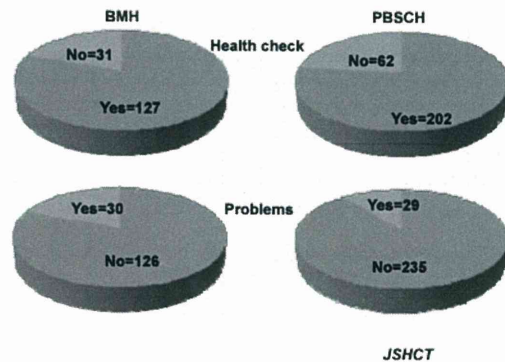
同種造血細胞移植と
同種造血細胞ドネーション

各種血液難病において、高い確率で
"Therapy-free survival curve"を描くことが出
来る治療法として、我が国並びに世界で普及
し続けており、その前提となる同種造血幹細
胞ドネーションの確保と促進は、本治療法の
発展に必須である。ドナーの安全と満足感の
担保はそれらの基盤である。

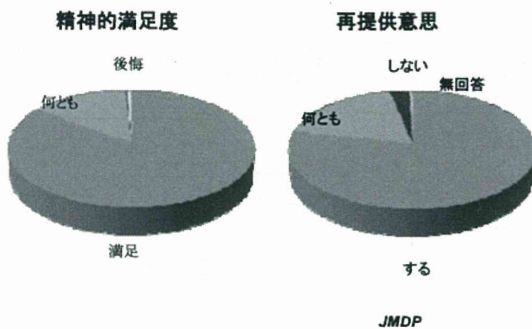
Family donor result: The answers to annual letters within
the first year of post donation



Family donor result: The answers to annual letters after more
than the second year of post donation



採取後3カ月アンケートからの抜粋
2010.12現在、骨髄移植推進財団、有効回答数:8,772



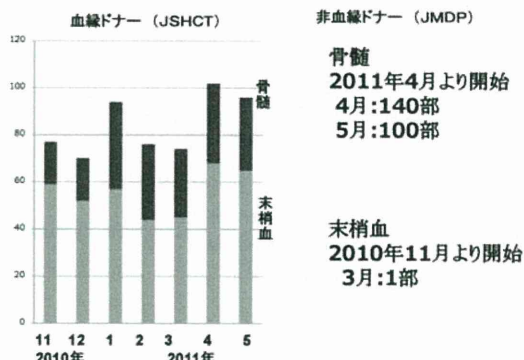
日本造血細胞移植学会
血縁造血幹細胞(骨髄・末梢血)ドナー
フォローアップの仕組み

- ドナー事前登録(全件)
- 血縁ドナー適格性判定基準の設定
- 急性期重篤有害事象報告(全件)
- 傷害保険加入のための適格性判定と保険の発動(加入者)
- 中長期重篤有害事象報告(全件)
- 年次手紙・ドナーの声アンケート5年間(同意取得者)
- 第1期事業期間:2005年4月~2015年3月
- 2010年3月、当初計画された事前登録期間終了後も、事業継続中(傷害保険加入の必要性から)
- 2010年秋から、ドナー手帳発行(JMDPと共通)

**骨髓移植推進財団
非血縁造血幹細胞(骨髓・末梢血)ドナー
フォローアップの仕組み**

- (自動的に)全件事前登録
- ドナー確定から採取後30日目まで、財団ドナーコーディネーターによるフォローアップ(急性期有害事象の把握)
- 傷害保険の発動(全件対象)
- 採取3ヶ月後アンケート
- 採取1年後の電話(再提供の意思確認、1年目までの中長期有害事象の把握を兼ねる)
- 患者からの感謝の手紙1回(患者の気持ちに応じて)
- 2010年秋からドナー手帳の発行(JSHCTと共通)

骨髓・末梢血ドナー手帳発行状況



WHOの基本姿勢

"Vigilance and surveillance are the essence of safety in transplantation. The keys to good vigilance are alertness of professionals and regulators, surveillance mechanisms and wide communication of identified risks to facilitate steps which will rapidly protect donors and recipients alike. Human cells and tissues circulate globally. This implies the need for international collaboration to identify, evaluate and communicate known or suspected risks."

The 3rd Global Consultation on Regulatory Requirements for Human Cells and Tissues for Transplantation

10-12 February 2010, Geneva, Switzerland

**ドナーの生涯フォローの
基盤作り:纏めと考察 (1)**

- ドナーの安全と満足感の確保は移植医療の基盤であり、その生涯フォローシステムの構築・運営はそれの具現化である。
- これは世界的傾向であり、造血細胞移植領域のそれを、WHOは他の移植領域のモデルとして捉えている。
- 非血縁領域ではWMDAが指導的立場にあるが、血縁領域では我が国が先行している。

**ドナーの生涯フォローの
基盤作り:纏めと考察 (2)**

- ドナーに関する多くのこと(選定基準、採取・搬送法、フォローアップ等)は世界標準化の方向にあるので、我が国としては出来上がったものを応用するだけでなく、その策定段階からかかわっていくことが必要であろうし、既にその基盤(世界に発信するもの並びに発信・関わり方)は出来つつあると考える。

**ドナーの生涯フォローの
基盤作り:纏めと考察 (3)**

- 我が国から海外へ発信しても良いものとしては、血縁、非血縁、骨髓、末梢血ドナー共通の (harmonizeしつつある)
1. 事前登録
 2. 急性期有害事象報告
 3. 傷害保険
 4. 年次手紙

が挙げられよう。

平成23年度厚生労働省免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業
「非血縁者間同種末梢血幹細胞移植開始におけるドナーおよびレシピエントの安全性と移植成績の向上に関する研究」班(宮村班) 平成23年7月3日(日)

非血縁末梢血幹細胞採取・移植施設基準の検討

北海道大学大学院医学研究科血液内科学
田中淳司

施設認定について

回答 105/167施設(63%)

非血縁PBSCT採取・移植施設認定に申請する 48施設

非血縁PBSCT採取・移植施設認定に体制が整えば申請する
41施設

非血縁PBSCT採取・移植施設認定に申請しない 13施設

施設認定

認定済み施設	16
認定調査済み施設	2
認定調査予定施設	4
申請予定施設	14
合計	36

平成23年1月7日現在

施設認定

認定済み施設	28
認定調査予定施設	1
申請予定施設	1
合計	30

平成23年6月8日現在

認定済みの施設

北海道地区(3施設) 北海道大学病院 札幌北楡病院 札幌医科大学病院	関東地区(7施設) 東海大学医学部付属病院 神奈川県立がんセンター 日本赤十字医療センター 慶応義塾大学病院 東京都立駒込病院 国立がんセンター中央病院 東京慈恵会医科大学病院
東北地区(3施設) 福島県立医科大学病院 秋田大学医学部附属病院 東北大学病院	

認定済みの施設

中部地区(5施設) 名古屋第一赤十字病院 三重大学医学部附属病院 安城更生病院 名古屋大学医学部附属病院 富山県立中央病院	中四国地区(3施設) 倉敷中央病院 高知大学病院 岡山大学病院
近畿地区(4施設) 大阪市立大学医学部附属病院 大阪市立総合医療センター 神鋼病院 神戸大学医学部附属病院	九州地区(3施設) 久留米大学病院 九州大学病院 大分県立病院

施設認定

平成22年度中に認定を行いたい施設
36施設

北海道3, 東北4, 関東9, 中部6,
近畿8, 中四国4, 九州2

平成23年1月7日現在

施設認定

平成23年6月までの認定施設
28施設(達成率8割)

北海道3, 東北3, 関東7, 中部5,
近畿4, 中四国3, 九州3

平成23年6月8日現在

施設認定について

施設基準を満たすと思われるが未申請の施設
(平成23年6月8日現在)

アンケートにて申請すると答えた施設	15施設
体制が整えば申請すると答えた施設	4施設
申請しないと答えた施設	2施設

施設側の問題点

- *マンパワー不足
- *CD34は当日結果が必要
- * PBSC採取の経験数(特に健常人から)
- * 非血縁PBSCTの必要性?

ドナー側の問題点

- *セカンドドネーション限定
- *採取施設に通院可能
- * HLA遺伝子8/8一致
- * G-CSFに対する不安?

今後の方針

施設認定の促進

ドナー条件の再検討
(ドナー安全委員会)

非血縁PBSCTを希望するドナーさん・患者さんに
非血縁PBSCTの機会を提供できるように

皆様のご協力をよろしくお願い致します

ECP (Extracorporeal photopheresis) の導入と有用性の検討

慶應義塾大学医学部血液内科 岡本真一郎

移植方法及び支持療法の進歩により移植後早期の TRM は有意に低下し、移植後後期合併症、特に慢性移植片対宿主病 (CGVHD) を制御することは、移植成績だけではなく移植による cure の質の向上に不可欠である。血縁および非血縁者間移植における末梢血幹細胞の使用が CGVHD の発症率と重症度の有意な増加につながることはすでに明らかにされており、非血縁者末梢血幹細胞移植が導入された我が国においては、CGVHD に対応する体制をとることが急務と考えられる。

現在、CGVHD の予防法は確立されておらず、治療もステロイド以外の選択肢は限られている。しかし、臨床データと動物モデルを用いた研究成果から、その pathogenesis は徐々に解明されつつあり、TKIs や ECP などの治療法が試みられ、その臨床データが蓄積されつつある。この中で ECP は非血縁者間骨髄移植導入により予想される CGVHD に対する対策に関するアンケート調査においても、その導入の期待が高いことが明らかであった。

非血縁者間末梢血幹細胞移植の導入とその支援体制を検討してきた宮村班では、これまでに ECP の導入を目指して、ECP の海外そしてアジアでの導入の状況、日本での潜在的ニーズ、これまでの CGVHD に対する治療としての ECP の安全性と有効性を検討した臨床研究の文献的考察、現在 on-going の臨床研究の進捗状況に関する情報収集を行った。ECP は慢性 GVHD に有効な治療法として欧米では 150 以上のセンターに導入、保険診療として施行され、現在 1 年間で数百台が販売されている。また、アジアにおいてもほとんどの国で使用経験がある。ステロイド抵抗性の extensive 慢性 GVHD 発症率 20%、年間に移植症例数 (H25 年予測) 2400 例 とすると、ECP の適応となる症例数は 200 例、ここに急性 GVHD 症例を加えると、年間約 400 例の適応症例があると推算される。ECP の有用性を検討した臨床試験の多くは phase I/II であるが、欧米では BMT-CTN および global の臨床第 III 相試験が開始されており、その結果が期待される。

我が国では、学会から「早期導入を要望する医療機器等に関する要望書」を厚生労働省に提出するとともに、研究班から関連企業に「医療ニーズの高い医療機器等の早期導入に関する協力企業の募集」へ申請するように要請をおこない、現在、ECP に関してはニーズ検でテラコス社の機器が選定されている。これと並行して、海外の ECP の施設見学、Ortho 社、JJ 社との情報交換と機器承認にむけて methoxsalen の扱い (device の一部と考えるか IND として対応するか) についての検討を国内及び海外で 6 回行ってきた。

今回の班会議では、これまでの ECP 導入を目指した活動のサマリーと ECP を用いた GVHD の治療に関する最新情報を報告するとともに、今後の導入に向けての取り組みについて報告する。

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」
 複数臍帯血移植臨床第II相試験

主任研究者 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

(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。

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($\times 10^7/\text{kg}$)				
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($\times 10^5/\text{kg}$)				
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。

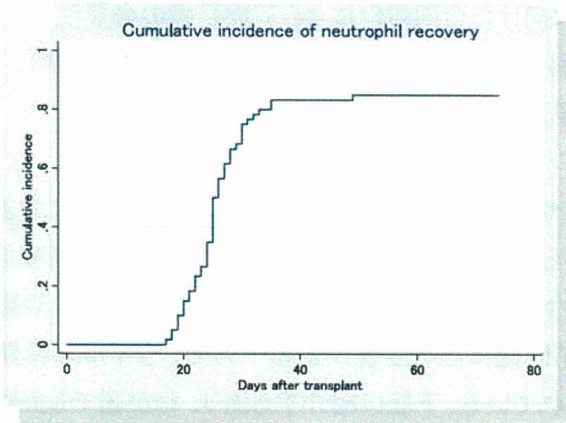


図 1. 好中球生着率

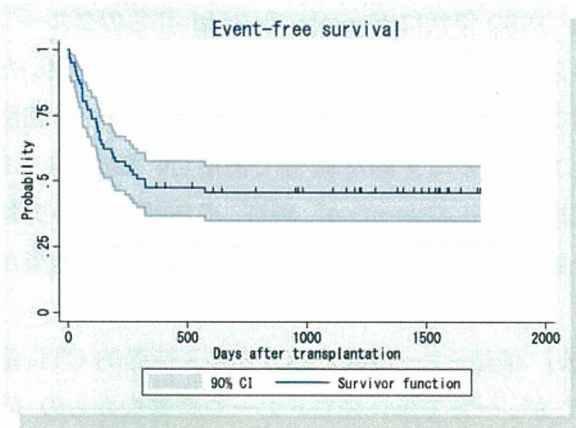


図 2. 無イベント生存率

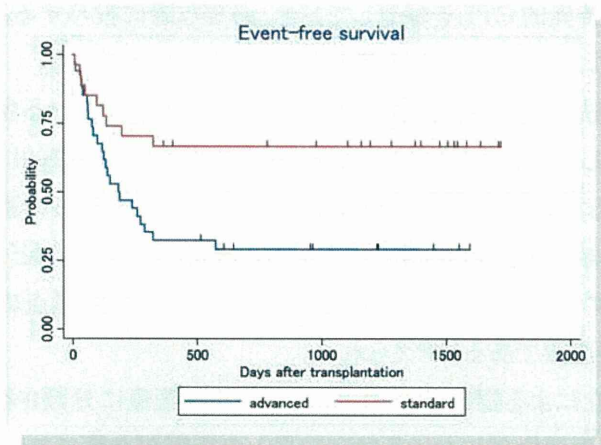


図 3. リスク別無イベント生存率.

同種移植後のウイルス特異的細胞療法確立に向けた全国体制による基盤整備の必要性

高橋 聡、長村 文孝（東大医科研）、小島 勢二、高橋 義行（名古屋大学）、
森尾 友宏（東京医科歯科大学）

【背景】近年におけるウイルスモニタリング法や治療薬の開発にもかかわらず、グラフトに含まれている T 細胞のほとんどがナイーブであり、さらには約 8 割が HLA 不適合である臍帯血移植ではウイルス感染がしばしば致命的になる。抗ウイルス薬剤療法は、耐性ウイルスの出現や臓器毒性のため充分量の投与が困難な例などが問題になる場合がある一方で、ウイルス特異的 CTL 療法は既に欧米で優れた効果が報告されている。下記に紹介する通り、わが国でも少数の前期臨床試験は行われているものの、規制対応に関する問題や、単一施設内での対象患者不足等のために後期臨床試験に進んだプロジェクトは存在しない。

【移植ドナー由来ウイルス特異的 CTL 療法】1990 年代に Seattle の Riddell らのグループによる移植後にドナー由来のサイトメガロウイルス (CMV) 特異的 CTL クローンの輸注を用いた臨床研究は、輸注したクローンが最低 12 週間にわたって体内に存在することやヘルパー T 細胞の重要性、ウイルス感染予防効果などを示したパイオニア的な報告である (N Engl J Med. 1995;333:1038)。国内での臨床試験はこれまで存在しなかったが、現在、名古屋大学小児科の小島・高橋らが進めている CMV を対象とした臨床研究では 2 例で投与が行われ、臨床効果が得られることが示唆されている。

【第三者ドナー由来ウイルス特異的 CTL 療法】移植ドナー由来の抗ウイルス特異的 CTL 療法は有効であることは上記の通り明らかになったが、一方で抗体陰性ドナーや臍帯血からの CTL 作成は最近可能になったものの、その誘導・増幅法は複雑で長時間を要し、特に臍帯血患者では現実的な治療選択肢とはなり得なかった。ところが最近、欧米において、予め HLA 一部一致の第三者ドナーから作成されたウイルス抗原特異的 CTL を保管しておき、必要な際に投与するという「CTL バンク」による治療の試みが行われ、臨床的にも有望であることが報告されている。

【全国体制によるウイルス特異的 CTL 療法に関する基盤整備の必要性】わが国における免疫細胞療法は基礎研究では欧米に比べて決して遅れてはいない状況にもかかわらず、国際的にみて臨床応用が進んでいない現状を打破するために、全国規模での臨床応用を進めるための基盤整備をおこない、規制当局との折衝、各地域での拠点治療施設の設立と患者リクルートなど、これまでの研究者が労力を費やしながらずしもスムーズに解決できてはいなかった問題点の解決法として共通のプラットフォームの構築が必要であると考えられる。

【規制対応への一元的対応システムの確立による臨床研究の効率化】細胞医療に分類される CTL 療法の臨床研究を進めるためには厚生労働省における対応部局との折衝が必要であり、これは細胞療法を進める上で負担になってきた。今後、複数の同様の臨床研究が全国展開することを想定した上で、規制対応を一元的に担当するシステムを構築することは、各臨床試験担当者の負担軽減をもたらし、臨床研究の推進に大きく貢献することが期待される。

造血細胞移植合同班会議（厚労科学研究）

7月3日（日）

灌流法により採取された骨髄細胞を用いた骨髄内骨髄移植療法：基礎から臨床へ（H22-免疫-一般-009）
研究代表者 池原 進（関西医科大学 共同研究講座 幹細胞異常症学）

11:00-11:7

1. 間葉系幹細胞の造血調節機能についての研究
三浦康生¹、一戸辰夫²、¹京都大学医学部附属病院 輸血細胞治療部、
²佐賀大学医学部附属病院 血液・腫瘍内科)

11:7-11:14

2. 移植後肺障害に関するマウスモデルを用いた造血幹細胞の静脈内と骨髄内輸注法の比較
前田嘉信、山筋好子、松岡賢市、品川克至（岡山大学病院 血液・腫瘍内科）

11:14-11:21

3. 難治性ウイルス感染症に対するウイルス抗原特異的細胞障害性T細胞(CTL)の
体外増幅法の開発と臨床第1相試験
高橋義行、小島勢二（名古屋大学大学院医学系研究科 小児科学）

11:21-11:28

4. 同種移植後の再発白血病の治療法開発
赤塚美樹（藤田保健衛生大学医学部 血液内科）

11:28-11:35

5. 汎用可能な新規造血細胞移植後モニタリングシステムの開発
森尾友宏、清水則夫（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）

11:35-11:42

6. 骨髄内臍帯血移植療法の開発
村田 誠（名古屋大学医学部附属病院 血液内科）

11:42-11:49

7. 吸引法により採取された骨髄細胞を用いた骨髄内骨髄移植のプロトコール案
相馬俊裕、小川啓恭（兵庫医科大学 血液内科）

11:49-11:56

8. 新しい骨髄採取方法（灌流法）のメリットと問題点
森 眞一郎、野村昌作（関西医科大学 内科学第一講座 血液内科）
池原 進（関西医科大学 共同研究講座 幹細胞異常症学）

11:56-12:00 質疑応答

間葉系幹細胞の造血調節機能についての研究

三浦康生¹、一戸辰夫²、

¹京都大学医学部附属病院 輸血細胞治療部、²佐賀大学医学部附属病院 血液・腫瘍内科

間葉系幹細胞は骨、脂肪などへの多分化能を有する組織幹細胞である。骨髄に存在し、骨組織、脂肪組織の維持に関与していると考えられる。近年、骨髄微小環境の細胞・分子レベルで検討がなされ、間葉系幹細胞より分化した骨芽細胞が造血幹細胞の維持に関与する骨髄微小環境の構成細胞の一つであることが明らかとなった（造血幹細胞ニッチ）。また生体内で骨髄微小環境の異常が造血異常を引き起こすことがマウスモデルを用いた研究で明らかとなっている。ヒトにおいては培養増幅した自家間葉系幹細胞を経静脈的に投与することにより大量化学療法後の造血回復が促進されること、同種造血幹細胞と同一ドナー由来間葉系幹細胞を同時に移植することによって生着が促進する事が報告されている。

従来より我々は、間葉系幹細胞の造血調整機能に注目し検討を行ってきた。本班会議では間葉系幹細胞の有する造血・骨形成能力が薬物的な刺激により増強されることを報告する。間葉系幹細胞を薬物的に刺激することにより *in vitro* での造血支持能力が増強すると共に、マウス皮下移植モデルを用いた検討により *in vivo* においても造血支持能力が増強する。さらに、間葉系幹細胞の薬物的機能賦活に関連する分子メカニズムとして間葉系幹細胞における STAT5 や TERT の活性化などが関与していた。これらの検討結果は間葉系幹細胞の薬物的機能賦活が造血幹細胞移植後の血球生着を促進する可能性を示唆するものと考えられた。

移植後肺障害に関するマウスモデルを用いた造血幹細胞の静脈内と骨髄内輸注法の比較

前田嘉信、山筋好子、松岡賢市、品川克至（岡山大学病院 血液・腫瘍内科）

【目的】

移植後肺障害 Idiopathic pneumonia syndrome (IPS)は、移植後に感染症以外の原因による肺胞障害により発症する予後不良な肺合併症である。原因として肺への放射線照射の影響やドナー免疫担当細胞の関与が考えられている。ドナー免疫担当細胞を含む造血幹細胞は、静脈内骨髄移植 (iv-BMT) 後では多くが肺へトラップされるが、骨髄内骨髄移植 (intra-BMT) では少ないと考えられる。マウスモデルでは intra-BMT では iv-BMT よりも GVHD が抑制されることが報告されているが、我々は intra-BMT では iv-BMT よりも IPS の発症が軽減されるとの仮説を立て、マウスモデルを用いて IPS に対する intra-BMT の影響に関して iv-BMT と比較検討を行った。

【方法】

Donor マウスには C57BL/6J を使い、RT で前処置したレシピエントマウス B6D2F1 に iv BMT と intra-BMT を行い比較検討した。移植後に体重、GVHD スコアおよび生命予後を評価、また移植後 6 週間後に気管支肺胞洗浄 bronchoalveolar lavage (BAL) を行い、回収液中の細胞を解析した。また、肺組織の病理所見を検討した。また donor マウスに FVB/N lac⁺、レシピエントに BALB/c を用いた系で、IVIS imaging system により移植後輸注細胞の体内分布の時間的、場所的推移に関して iv-BMT と intra-BMT で比較検討した。さらに移植後早期の肺組織中のケモカイン CXCL1、CCL2、3、5 の経時的変化を検討中である。

【結果と考察】

このモデルでは、intra-BMT で iv-BMT に比べて、移植後の体重減少が少ない傾向にあり、また GVHD スコアが低かった。これらの因子が移植後の全身状態に有利に作用したと考えられ、結果として生存率が高かった。また移植 6 週後の BAL による解析では、回収洗浄液中の総細胞数および T 細胞数は、intra-BMT において iv-BMT よりも少ない傾向にあり、組織学的にも intra-BMT において細胞浸潤、組織障害が軽度であった。さらに IVIS imaging system による輸注された移植細胞の体内動態解析では、intra-BMT では iv-BMT に比し移植後早期 (1h-6h) では輸注された移植細胞の肺へのトラップが軽減されていた。肺に存在するドナー細胞は移植後 6h まで低下 (肺から流出) するが、その後、肺におけるドナー細胞は同種移植群にのみ増加し続け、allo 免疫反応と考えられた。以上から IPS は intra-BMT において軽度である可能性が示唆され、移植後早期の移植細胞の肺での動態がこれらの現象に関与していると考えられた。

難治性ウイルス感染症に対するウイルス抗原特異的細胞障害性 T 細胞(CTL)の体外増幅法の開発と臨床第1相試験

名古屋大学大学院医学系研究科 小児科学 高橋義行、小島勢二

【目的】造血幹細胞移植後の患者におけるウイルス感染症は、移植前処置に ATG を用いた場合や GVHD の治療中など強い免疫抑制下で重篤化しやすく、そのコントロールは移植を成功させるために重要である。現在わが国では抗ウイルス薬による治療が行われているが、抗ウイルス薬耐性の症例や、抗ウイルス剤による副作用などの問題がある。欧米の一部の施設では造血幹細胞移植後難治性ウイルス感染症に対してウイルス抗原特異的 CTL の臨床応用が行われ優れた効果が報告されている。我々はウイルス既感染の健常人ドナーより CMV, EBV 特異的 CTL の体外増幅法を開発し臨床第1相試験を行っている。これまで臨床研究に登録され培養されたウイルス特異的CTLにおいて、CMV特異的CTLは6例中4例が初回投与基準を満たしているが、EBV特異的CTL培養においては、10例中3例のみと培養効率が劣っている。EBV特異的CTLの培養効率の向上、および対象となるHLAを広げる目的で誘導に用いる新規抗原ペプチドの検討を行った。【方法】3人の HLA-A24 陽性正常健常人 (HLA-A24 以外に HLA-A2 を持つものが1例、A11 が1例、B35 が1例)に対し、これまで使用している LMP2 由来 HLA-A24 または A2 拘束性ペプチドに加え、EBNA3A, EBNA3B 由来 HLA-A24, A2, A11, B35 拘束性ペプチドを用いて EBV 特異的CTLの増幅培養を行った。末梢血 30ml から単核球を分離し、ウイルス特異的ペプチドで刺激後、IL-2 添加培地で1週間培養し、その後我々の開発した方法にもとづき CD3 で刺激した T 細胞に抗原ペプチドをパルスしたものを抗原提示細胞とし T 細胞に加え培養した。増幅した CTL の細胞数、MHC-tetramer 陽性細胞の濃度により、ウイルス特異的CTLの増幅を確認した。MHC-tetramer のないペプチドにおいては、対象ペプチドでCTLを刺激し、細胞内INF γ をフローサイトメトリー法にて測定し、ペプチド特異的CTLの頻度を同定した。【結果】これまでのLMP由来ペプチドでは day21 において 3 例中 1 例のみに 10%以上のウイルス抗原ペプチド特異的CTLが増幅したのに対し、EBNA3A または EBNA3B に特異的CTLが培養前の 0.03%以下から 1 例が day14 で 27.4%に、残りの 2 例も day21 に 16.9%、38.8%と全例でウイルス特異的CTLの増幅が得られた。内訳は HLA-A24 拘束性ペプチド特異的CTLの増幅が 2 例で、A11 拘束性ペプチド特異的CTLの増幅が 1 例であった。【結論】同じ抗原由来でもドナーによって増幅されやすい拘束性HLAが異なっている。LMP2 由来ペプチドに EBNA3A, EBNA3B 由来ペプチドを加えることで、EBV特異的CTL培養効率の向上がはかれるものと考えられた。わが国においても ATG の使用頻度増加により難治性ウイルス感染の増加している。海外ではウイルス特異的 CTL 療法による予防投与や、ウイルス特異的 CTL をあらかじめ培養凍結しておく CTL バンクの有用性もすでに報告されている。わが国においてもウイルス特異的CTLバンクを含めた細胞療法の整備が必要である。

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

「灌流法により採取された骨髄細胞を用いた骨髄内骨髄移植療法：基礎から臨床へ
(H22-免疫-一般-009)」班

平成 23 年 7 月 3 日 平成 23 年度第 1 回造血細胞移植合同班会議

於：名古屋第一赤十字病院

「同種移植後の再発白血病の治療法開発」

赤塚美樹（藤田保健衛生大学血液内科、愛知県がんセンター研究所腫瘍免疫学部）

血液腫瘍に対する抗原特異的免疫療法として、腫瘍関連抗原ペプチドワクチンや樹状細胞ワクチン、あるいはこれらを用いて体外で誘導した抗原特異的キラーT 細胞（CTL など）が有効であるという報告がされつつある。

我々は HLA-クラス II 不一致移植において CD8 陽性の CTL が ALL などの白血病幹細胞も傷害しうることを NOG マウスモデルにて報告した。また我々は HLA 一致移植ではマイナー組織適合抗原が有望な標的抗原と考え、移植後の再発予防および再発治療を目標としたマイナー抗原ワクチンの安全性と至適投与量および免疫誘導能について臨床研究を実施中である。

エピトープペプチドワクチンの問題点として、①主流の最小限長エピトープを使ったワクチンでは、エピトープが Non-professional 抗原提示細胞でも発現し、Anergy が誘導されうること、②IFA などの抗体産生用アジュバントでは T 細胞反応はえ難いことが多いこと、③誘導された CTL は十分な Avidity を持たず、傷害は外来性ペプチドパルス依存性、本来の腫瘍細胞を傷害しないことがあること、などが問題点である。これに対して、ペプチドパルス樹状細胞は有望であるが、ペプチド依存性 CTL が誘導されうる問題点は残る。また、最近 CTL エピトープ部分にヘルパーT 細胞エピトープを結合したロングペプチドを用いた臨床試験が開始され、より良い結果が報告されつつある。しかし、免疫不全状態の患者において能動免疫がどれほど有効であるかは今後の検討課題である。

他方、抗体療法や養子免疫療法（特に移植の場合はドナーより得られた T 細胞を用いる）はこれらの問題を打開しうる可能性がある。我々はこれまでに同定しペプチドワクチンの臨床試験に用いているマイナー組織適合抗原である ACC-1^Y, ACC-1^C (HLA-A*24:02), ACC-2 (HLA-B*44:03/B*44:02), HA-1 (HLA-A*02:01/A*02:06) ACC-6 (HLA-B*44:03/B*44:02)を高い Avidity で認識する T 細胞受容体 (TCR) 遺伝子を保管している。

本年度はまず、ACC-1^Y（全移植例の約 11%が適応）を認識する TCR をエフェクター細胞に Retroviral vector にて遺伝子導入し、遺伝子導入効率、細胞傷害性、in vitro および in vivo (マウス)における機能発揮や長期維持能について研究を行う。本班会議では、これらの方法論、予備データについて報告を行う。

汎用可能な新規造血細胞移植後モニタリングシステムの開発

東京医科歯科大学大学院・発生発達病態学分野

森尾友宏

東京医科歯科大学・難治疾患研究所・ウイルス感染学分野

清水則夫

前処置、移植源、免疫抑制薬など様々な移植方法が選択され、さらに移植後に免疫細胞療法などの介入が模索されている。治療方法の効果を判断し比較する上で、原疾患のモニタリングに加えて、移植合併症や造血・免疫能再構築能の評価が重要である。

私たちは今までに、新規項目を随時追加可能な高感度迅速網羅的微生物モニタリングシステムの改良や、移植後免疫学的再構築の最初期の指標で定量性に優れた Kappa-deleting recombination excision circles (KRECs:B 細胞新生能及び B 細胞数を反映)、T-cell receptor excision circles (TRECs:T 細胞新生能を反映)の検査項目への導入について検討を進めてきた。前者については試薬としての提供や外部委託検査が可能になり、また技術支援も行える状況である。しかし汎用性にはまだ程遠いと評価している。

これらの検査においては real-time PCR system のみが必要であるが、標準試薬の設定や細かいノウハウの獲得などが必要であり、必ずしも user friendly とは言えない。また安定性・定量性と施設間データ比較が重要な系で、測定誤差を最小にする努力は必須である。

私たちは real-time PCR システムの全自動化を目的として検討を開始した。装置の要件としては信頼性・再現性、小型、経済性（安価）に加え消毒可能で種々の消耗品に対応する必要がある。現在微生物測定システムの確立をはかっているが、将来的には KRECs/TRECs 測定や、キメラ遺伝子解析などへの展開が可能である。機器導入資金に加えて、人材雇用や人材育成に難渋する局面で本システムが活躍する場面は少なくないと考えている。

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

研究課題名「灌流法により採取された骨髄細胞を用いた骨髄内骨髄移植療法：基礎から臨床へ」（池原班）

分担研究者：村田 誠

2011年7月3日 於：名古屋第一赤十字病院

「骨髄内臍帯血移植療法の開発」

名古屋大学医学部附属病院 血液内科

村田 誠

臍帯血移植における生着率の向上を目指して、移植片中に含まれる幹細胞を予め増幅し輸注する方法、複数ユニットを同時に輸注する方法、そして骨髄内に輸注する方法の3つの移植法が各国で試みられている。この中で、骨髄内輸注による移植法は、幹細胞増幅法に比べて手技が簡便なこと、また複数ユニットを用いる方法に比べて安価なことなどの点で期待されている。

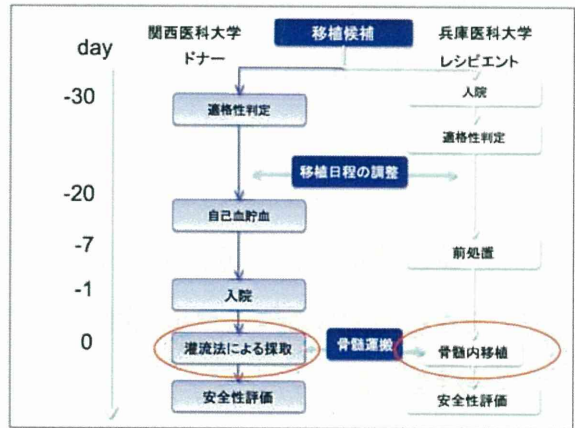
我々は、骨髄非破壊的同種造血幹細胞移植の適応でありながら、骨髄または末梢血幹細胞提供ドナーが得られない成人血液悪性疾患患者を対象として、骨髄内臍帯血移植の臨床試験を実施している。昨年、厚生労働省から本試験は「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」の適用範囲に該当するのではないかと疑義を受けたが、その後の質疑応答を経て、最終的に「該当しない」との判断をいただいた。

本試験の途中経過を報告する。

通常方法(吸引法)で採取された骨髄細胞を用いた骨髄内骨髄移植のプロトコル(案)

相馬俊裕、小川啓恭(兵庫医科大学、内科学講座血液内科)

2011.7.3



灌流法による骨髄採取の利点

末梢血の混入が非常に少ない

- 赤血球の混入少ない
- 遠心分離操作のみで、volumeを減らし、骨髄単核分画を容易に回収可能であり、そのまま骨髄内へ移植できる
- T細胞%低く、CD34%高い

2010.7.30/8.13の両日、灌流法による骨髄採取

いずれも、骨髄内骨髄移植には至らなかった

1. 赤血球の混入率が多く、遠心だけの処理で、骨髄内移植にもって行くことができなかった。
2. 同時に吸引法による骨髄細胞を行い、採取された細胞成分につき、両者の比較がなされたが、CD34%、T細胞混入率において、灌流法の吸引法に対する優位性は、証明できなかった。

採取された細胞の中身からの解析

	CD34(%) (骨髄にある細胞の代表として)	
	7/30 (1例目)	8/13 (2例目)
灌流法	1.29%	0.9%
吸引法	1.45%	1.3%

→ 吸引法はCD34(+)細胞をより多く採取できる

→ 吸引法で骨髄細胞を多く採取できる、しかし差は少ない

2例目のdata解析から

灌流法では、骨髄内(静脈?)のRBCが有核細胞に比して、採取されやすい

