

改正法後の臓器提供におけるコーディネートに関する研究

～コーディネーターの教育体制に関する研究～

研究分担者 小中 節子 社団法人日本臓器移植ネットワーク 理事
研究協力者 芦刈淳太郎 社団法人日本臓器移植ネットワーク 医療本部長
加藤 治 社団法人日本臓器移植ネットワークコーディネーター部 副部長
大宮かおり 社団法人日本臓器移植ネットワーク医療本部 副部長
中山 恭伸 社団法人日本臓器移植ネットワーク東日本支部 主席コーディネーター
朝居 朋子 社団法人日本臓器移植ネットワーク中日本支部 主席コーディネーター
易平真由美 社団法人日本臓器移植ネットワーク西日本支部 主席コーディネーター

A 研究目的：改正臓器移植法施行後は、本人意思不明な中における家族の承諾による脳死下臓器提供、15歳未満の小児からの臓器提供が行われる等、ドナー移植コーディネーター（以下 Co）の行う臓器提供者家族対応はより慎重性が要求される。更に増加傾向の脳死下臓器提供へは公平で適切な Co 対応が必須である。本研究では質向上と効率に視点をおいた Co 業務に関する検討を行い教育体制の構築することを目的とする。

B 研究方法：①韓国の KODA（臓器斡旋機関）を訪問、Co の業務・教育状況を調査。②ネットワーク Co（以下 NWCo）の業務状況調査、JOTNW の習熟 Co による質向上と効率に視点をこいた業務遂行と教育の検討。

C 結果：①韓国の多くの臓器提供病院は移植病院と同一であり、臓器提供時の家族説明・承諾手続、臓器摘出支援等は臓器提供病院内院内 Co が行い、移植希望登録・臓器配分は政府機関（KONOS）所属 Co が行ってきた。2009 年 KODA 設立後は、KODA 所属 Co 1 人と臓器提供病院内 Co 1 人とが連携して家族対応等を行うようになった。2011 年 6 月法律改正に全脳死患者発生時は必ず KODA に連絡することが規定され、2 か月後の 8 月は 42 脳死下臓器提供と増加した。韓国の Co 人数は、KODA36 人と KONOS15 人の合計 51 人であるが、増加する臓器提供数に対応するうえで提供病院内 Co との連携は大きい。Co、院内 Co とともに看護師であり、KODACo 教育は 6 カ月間であり、Co を臓器移植プロセス全ての管理を行う医学的専門家位置づけ、基礎は医学専門的技術・知識教育、アドバンスは潜在的ドナー取り扱い、顧客サービス、宗教と文化等カリキュラムであった。

②NWCo31 人の聞き取り調査では、夫々が前向きに業務習得し、業務に励んでいた。しかし、新人はキャリアに応じた教育カリキュラムの必要性、基本的業務の習得者に対する専門育成ツールやカリキュラムの必要性のある事がわかった。習熟 Co による検討では、今後の Co 業務の質と量の充実には、専門的 Co 業務を確立し、その業務の専門家としての Co 育成が重要とわかった。Co の専門的業務（ドナー家族、臓器摘出手術担当、ドナー管理、臓器斡旋対策本部）毎に WG を設置し、業務の範囲、項目を整理し、業務マニュアル作成中だが、更に実際の業務内容、Co の習得状況を把握し実際のマニュアルに見直す必要がある。

D 考察：韓国では 2 年以上の看護師経験者を採用、その後 6 か月の教育を経た後に提供現場業務実施可能と国のルールで定められ、業務実施に必要な技術・知識教育だけでなく、全プロセスの管理に必要な教育も行なわれていた。今回、業務が多岐にわたり、詳細な調整を必要とするわが国の Co 育成には、NW 発足から 16 年積み上げたわが国独自の Co 業務を確立し、専門的に業務遂行できる Co 育成とともに、臓器移植医療全般をとらえ管理するに必要なカリキュラムを含む教育体制の構築が重要であると思われた。育成された Co が Co チームの要となることで、新人 Co 育成と効率的な業務遂行に繋がると考える。

E 結論：Co 業務の質向上と効率には、多岐で詳細な臓器提供時のコーディネーションを担う専門的業務を担う自立した Co を育成し、この育成された専門家としての Co の比率を高めることが重要である。専門家としての Co には、臓器移植医療全般をとらえた管理的視点は必須である。

改正法後の臓器提供におけるコーディネートに関する研究 ～救急医療におけるコーディネーター体制に関する研究～

研究分担者 横田 裕行 日本医科大学大学院侵襲生体管理学 教授

“救急医療における脳死患者の対応セミナー（以下、本セミナー）”は改正臓器移植法施行後の脳死下臓器提供の理解や円滑な臓器提供を行う目的のために救急現場で活躍する医師、看護師、臨床検査技師等に参加を募り開催した。今回5回目となった本セミナーは臓器提供に際して円滑なコーディネートにも寄与するように、コーディネーターへのカリキュラムも追加した。なお、過去4回と同様に本セミナーは日本救急医学会、日本臨床救急医学会、日本小児救急医学会、および日本脳死・脳蘇生学会の協力を得た。なお、セミナー開催のプログラム作成やセミナー受講者の意見の集約や効果検証は当研究班が担当し、セミナー開催の準備や実施は日本臓器移植ネットワークが行った。また、過去開催した本セミナーの受講者アンケートで指摘された内容を反映したテキストの作成や、職種別のプログラムを作成した。

セミナー開催日時は平成23年11月12日（土）13:00から同11月13日（日）15:30であった。受講者は前述のように医師、看護師、臨床検査技師等であった。上記職種の定員は48名で、日本臓器移植ネットワーク ホームページ上で募集した。セミナー会場はテルモメディカルプラネックス（〒259-0151 神奈川県足柄上郡中井町井ノ口1900-1）を一部を使用して開催した。

セミナーは1泊2日で行われ、1日目は講義、グループディスカッション中心のプログラム構成とし、2日目は実技を重視したプログラム構成とした。その中で、医師、看護師、及び臨床検査技師、コーディネーターの職種別グループに別れ、脳死判定の実際、家族対応、あるいは脳波測定、あるいは臓器提供に関するコーディネーションに関してより詳細な講義や議論が行われた。

移植コーディネーターは移植医療を円滑に遂行するために最も重要な職種の一つである。一般的な手順として、コーディネーターは家族に面会する前に、担当医師の許可を得てドナー候補者の診療録（カルテ）等からの医学的な情報（初期情報）を収集し、ドナー適応評価（第一次評価）を行う。この情報は、ネットワークに送られ、必要に応じてメディカル・コンサルタントがドナー適応を判断することになる。担当医師は、コーディネーターを臓器提供に関する説明者として家族に紹介するが、その際の患者家族のコーディネーターに対する第一印象はその後の臓器提供へ向けて大きなポイントとなる。コーディネーターは家族に、臓器提供の説明に担当医師・看護師の立ち会いを希望するかどうかの確認をした後、家族に対して、①脳死判定の概要、②臓器移植を前提とした法に規定する脳死判定により脳死と判定された場合には、法において人の死と判定されること、③本人が脳死判定に従う意思がないことを表示していない場合であって、「本人が臓器を提供する意思を書面により表示し、かつ、家族が摘出及び脳死判定を拒まないとき」または「本人が臓器を提供する意思がないことを表示しておらず、かつ、家族が摘出及び脳死判定を行うことを書面により承諾しているとき」のいずれかに該当するときに、脳死下臓器提供ができること等を説明するからである。

コーディネーターは、家族が脳死判定を行うこと及び臓器を提供することを承諾する意思があるか否かについて確認するが、説明に当たっては、脳死判定を行うこと及び臓器を提供することに関する家族の承諾の任意性の担保に配慮し、承諾を強要するような言動があってはならず、説明の途中で家族が説明の継続を拒んだ場合は、その意思を尊重する。また、家族の置かれている状況にかんがみ、家族の心情に配慮しつつ説明を行う必要があり、コーディネーター自身の人格形成も重要であると考えられる。コーディネーターは臓器提供に関わる普及・啓発活動はもちろん、日常から臓器提供施設と密接に連携し、臓器提供者が出現した場合、あるいはその可能性がある場合に家族対応を含めた臓器提供への活動が円滑にできるような基盤を構築しておくことが重要である。そのような努力や過程が移植医療の推進に寄与するものと考えられる。そのような意味から移植コーディネーターが救急医療施設の医療スタッフとともに参加する本セミナーの意義は大きいものと考えられ、コーディネーター教育という視点からも重要であると考えられた。今後も移植コーディネーターが参加するこのようなセミナーを企画することで、救急患者における脳死患者や家族の心情を十分配慮した臓器提供への対応が可能となり、本邦の移植医療の推進と発展に寄与するために引き続き本セミナーを企画して行きたいと考えている。

改正法後の臓器提供におけるコーディネートに関する研究

～小児終末期医療を受けている家族の現状～

研究分担者 岡田 真人 聖霊三方原病院救命救急センター 小児科 院長補佐
研究協力者 鈴木 律子 聖隷浜松病院 NICU 看護課長
片橋てるみ 聖隷浜松病院 NIC グリーフケアチームリーダー
小澤 美和 聖路加国際病院小児科
植田 育也 静岡県立こども病院集中治療 センター長

研究目的

臓器移植は終末期における医療の選択肢の一つとして存在する。しかし、日本の小児医療においては終末期の取り組みの遅れが指摘されている。そこで小児終末期医療について総合周産期医療施設と小児がん治療施設、こども病院の集中治療センターにおける家族の現状を調査し、今後の研究の課題を抽出することを今年度の研究目的とした。

方法

総合周産期医療施設である聖隷浜松病院 NICU の看護師長とグリーフケアリーダー看護師に現状の調査を依頼し回答を得た。小児がん治療施設では聖路加国際病院小児科でグリーフケアを担当している医師に現状の調査を依頼し報告を受けた。こども病院の集中治療センターはセンター長に現状を報告していただいた。さらには厚生労働科学研究の平井啓研究班が平成 20～22 年にかけて行った「成人がん患者と小児がん患者の家族に対する望ましい心理的支援のあり方に関する研究」において「終末期における小児がん患者の家族の意志決定に関する研究を行った天野功二先生にインタビューを行った。

結果

聖隷浜松病院 NICU においては主に主治医が中心となって終末期医療の方針を決定していた。この場合看護師の意見も聞かれてはいるが組織的に方針を決定することは稀であった。また医師と看護師と家族とのコミュニケーションが充分取れていないことも報告された。そして終末期医療に対する環境整備は始まったばかりであることも報告された。聖路加国際病院小児科では終末期においては様々な職種がチームとなって対応しているが、グリーフケアを担当しているのは 2 名の医師のみであった。グリーフケアについては家族会中心であるが、そこに医師が参加することで、家族の気持ちを理解する体制が出来ていた。ただし、そのような活動は基本的にボランティア活動であり、病院側の強力な後押しによって成立していた。天野先生からの報告によると病院として小児遺族会などを立ち上げていると施設はほとんど日本には存在せず、終末期医療における家族支援の少なさを指摘された。こども病院においてはセンター長が中心となって家族との関係を構築していたが、グリーフケアについてはほとんど実践されていなかった。

また家族という視点から両親に関心が集中しているようであるが、聖路加国際病院からは苦しんでいるのは兄弟も同様であり、そのサポートなしでは家族を理解したことにならないと報告された。

考察

小児終末期医療においては家族と共に考え、チームの一員として家族を捉えていくという考えは理解されているようだが、実際にそのような家族の意見を反映できている施設はまだ少数であることが示唆された。また兄弟も含めたグリーフケアの必要性を痛感した。特に救急医療における家族ケアの早期確立が必要と思われた。

結論

家族の現状をより深く理解するために、実際に小児終末期医療を経験した家族への調査が必要であると思われた。

改正法後の臓器提供におけるコーディネートに関する研究 ～改正法後の脳死下臓器移植におけるグリーフケアに関する研究～

研究分担者 山之内芳雄 藤田保健衛生大学医学部精神神経科学 講師

グリーフとは、愛着の対象の喪失による深い悲嘆を意味し、人が親しい人や大切なものを喪失したときに体験する複雑な心理的、身体的、社会的反応のことをいう。このような悲嘆を乗り越えるためには、その人が自分なりの悲嘆のプロセスをたどっていく必要があり、重大な喪失体験をした人に対しては、悲嘆のプロセスをサポートすることが望まれる。そして、グリーフケアとはこの悲嘆のプロセスを支援することである。

脳死下において、臓器提供をされた患者の遺族は、大切な家族を突然亡くすという、重大な喪失体験の中にある。ところが、脳死下臓器移植の現場においては、遺族の悲嘆のプロセスを支えるような制度は整えられていない。また、臓器移植はテンポの速い医療が求められるため、医療スタッフは遺族に対して様々な心遣いを行うものの、臓器摘出手術にむけての業務に忙殺される。そのため、心のケアという視点において、十分に遺族に関わることができていない現状にある。本研究では、脳死下での臓器提供の流れの中で、遺族に対してどのようなグリーフケアが望まれるのかを考察し、有効的な支援を実践する制度を整えるためには、どのようなことが必要であるかについて予備的な検討をした。

【研究① 事例調査】

グリーフケアの現状や、臓器移植がすすむ過程において家族がどのような心情であるのかを理解するために、当院での臓器提供事例について調査を行った。

当院では三つの事例があるが、そのうちの一つの事例を中心に上げ、調査した。カルテを参照するとともに、院内コーディネーターに聞き取り調査を行い、詳細把握をしたうえで、考察を行った。

【研究② ヒアリング調査（名古屋第二赤十字病院）】

研究①に引き続き、過去における事例の集積を行うことを目的に、第二赤十字病院の院内コーディネーターを対象として聞き取り調査を行う。同院にて行われた事例の流れを中心に、グリーフケアに対する考えや意見を聞き取った。

家族を亡くした遺族にとって、臓器提供にむけて動いている医療側の人間には、気持ちを表出しにくいということが考えられる。また、忙しくしている医療スタッフに対しては、話をすることもはばかれるだろう。そのため、グリーフケアは、医療から中立性を確保し、ゆっくり時間をかけて寄り添うことが必要である。

また、遺族が様々な気持ちを表出でき、その思いを尊重するような介入が望まれるだろう。介入のタイミングとしては、家族が亡くなられた直後が自然であり、その後、細く長く悲嘆のプロセスを支えていくことが望ましいと考えられる。

改正法後の臓器提供におけるコーディネートに関する研究 ～救急医療における脳死患者家族のケアに関する研究～

研究分担者 重村 朋子 日本医科大学大学院侵襲生体管理学 助教

A 研究目的

提供施設における脳死患者家族は患者の看取りの経過の中で、脳死にともなうオプション提示を受けるという心理的 distress を体験する。提供施設ではこのような家族に対してのオプション提示を含む対応やケアについては模索中であることが多い。

本研究では脳死患者家族の心理過程の把握を継続的に行いながら、救急医療施設の医療・看護職が脳死患者家族に対するケアを行う際に必要な知識・対応方法明確にすることを目的とする。

B 方法

救急医療施設に入院し、脳波が所謂平坦脳波、すなわち electro-cerebral inactivity (ECI) となり聴性脳幹反射が消失し、主治医から「臨床的脳死」と説明を受けた患者家族で18歳以上患者死亡後24ヶ月以上経ち、認知障害がなく、面接に耐えられる心身の状態にある家族を脳死患者家族として対象とする。研究目的を明記した調査依頼書と返信用封筒を送付し、同意のあった家族に面接し調査の詳細を説明する。同意の得られた家族に面接後質問紙記入を求める。質問紙は(ア)Impact of Event Scale-Revised 改訂出来事インパクト尺度日本語版(イ)悲嘆反応尺度 (GRS) (ウ)日本版精神健康調査票 (GHQ) を使用する。インタビュー半構造的面接。

救急医療施設の医療職にオプション提示に関する取り組み・負担感・課題点に関するインタビューを行う。看護職と共同で救急医療現場における脳死患者家族のケアに必要な項目を過去の取り組みのデータ分析から抽出を行う。

C 結果

脳死患者家族への依頼状発送中。看護職と共同研究準備中。医療者へのインタビュー調整中。

改正法後の臓器提供におけるコーディネーターに関する研究

～脳死下臓器提供者遺族の意識調査及び家族支援を行った臓器移植コーディネーターへの調査研究～

研究分担者 朝居 朋子 社団法人日本臓器移植ネットワーク中日本支部 主席コーディネーター
研究協力者 大宮かおり 社団法人日本臓器移植ネットワーク医療本部 副部長
塚本 美保 社団法人日本臓器移植ネットワーク西日本支部 チーフ移植コーディネーター

目的 改正臓器移植法施行により、本人意思不明の場合の家族承諾による脳死下臓器提供者家族への臓器移植コーディネーターの対応の違いを明らかにすること。

方法 「18年度厚生労働科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）分担研究／移植医療の社会的基盤整備に関する研究／脳死臓器提供を承諾した家族の心情と臓器移植コーディネーターによるドナー家族ケアに関する経年的調査研究／脳死臓器提供を承諾した家族の心理に関する研究」で行ったドナー家族対応を担当した臓器移植コーディネーターへの質問票を修正し、改正臓器移植法施行後（2010年7月16日から）に本人意思不明の場合の家族承諾による脳死下臓器提供者家族対応を担当したコーディネーターを対象に調査を実施する（11月現在質問票を作成中）。

1997年法においては、脳死下臓器提供には本人の書面による意思表示が必須であった。旧法下における事例を対象にした18年度調査において、「本人の臓器提供に対する意思の不確実さについて」、「本人の意思があっても、家族が最終決断をするという精神的な負担について」は「聴取の頻度が高く、対応が難しい」は半数以下にとどまった。また、家族の臓器提供の決断の根拠は「本人意思の尊重」がほとんどであった。しかしながら、本人が書面による意思表示（臓器提供意思表示カード）を所持していても、本人と家族間で十分な話し合いや意思の共有がない場合（偶然カードを発見したなど）に、「本当はどういうつもりで書いたのか」と家族が悩むことも少なくなかった。

2010年7月施行の改正臓器移植法においては、本人意思がまったく不明の場合の家族承諾による脳死下臓器提供例が過半数を超える（2010年10月末64例中35例）。これらの事例においては、家族の意思決定の根拠やプロセスに、旧法下との違いがあると思われる。本人意思不明の場合に、家族がする決断の根拠をどう見出すのか。コーディネーターは脳死判定と臓器提供について説明するだけにとどまらず、脳死下臓器提供の意思決定を適切かつ十分に支援し、意思決定の根拠を家族と丁寧に対話することで見出し、脳死下臓器提供を決意した家族が提供後にその意思決定を肯定的にとらえられるようにする。そのためには、コーディネーターの意思決定までの関わり及び意思決定後の関わりが特に重要であり、それぞれに固有の留意点があると思われる。

本研究から、脳死下臓器提供における本人意思不明の場合の家族承諾例の特徴を見出し、旧法下での脳死下臓器提供例との違いを分析することで、改正法下におけるコーディネーターの脳死下臓器提供者家族対応の指針が見出せると考える。

改正法後の臓器提供におけるコーディネーターに関する研究 ～移植コーディネーターの役割に関する研究～

研究分担者 芦刈淳太郎 社団法人日本臓器移植ネットワーク 医療本部長

A. 研究目的

平成 22 年 7 月に臓器移植法が改正され、脳死下臓器提供の件数が大幅に増加したが、それに伴い、実際の脳死下臓器提供事例におけるドナーコーディネーターの業務に質的・量的な変化などが生じていることが予測された。その実態を分析することにより、今後のコーディネーターの業務のあり方やコーディネーターのあるべき体制について検討することを目的とした。

B. 方法

実際の脳死下臓器提供事例におけるコーディネーターの対応をレトロスペクティブに集計し分析する。また、臓器移植法の改正前後を比較検討することにより、コーディネーター業務の質的・量的変化を図る。平成 23 年度は、改正法施行前後のドナー背景因子を分析した。

C. 結果

改正臓器移植法施行前の 86 例と施行後の 64 例を比較し、有意差検定 (χ^2 乗検定及び t 検定) を行った

D. 考察

平均の脳死下臓器提供件数は 1 ヶ月あたり 0.6 から 4.3 に増加し、有意に差が見られた。また、書面による意思表示の割合も有意に差が見られ、さらに家族申し出と選択肢提示の割合では、選択肢提示が有意に増加した。ドナー性別、ドナー年齢、ドナー原疾患 (内因性、外因性の別)、ドナーの血液型には有意差が認められなかった。

移植臓器数は、片肺及び片腎をそれぞれ 1 臓器、肝臓は分割されても元の肝臓を 1 臓器と数えるが、法改正後では、肝臓と腎臓が有意に増加した。心臓、肺、膵臓、小腸では有意差が認められなかった。

また、1 提供当たりの移植臓器数並びに移植患者数には、有意差が認められなかった。

E. 結論

改正臓器移植法施行後は、月当たりの脳死下臓器提供事例数が増加しているが、選択肢提示から結びついている事例が増加し、さらに書面による意思表示がない割合が増加した。また、移植に至っている臓器の割合も高く、特に肝臓と腎臓で顕著であるといえる。

改正法後の臓器提供におけるコーディネートに関する研究
～都道府県コーディネーターの教育・研修に関する研究～

研究分担者 岩田 誠司 財団法人福岡県メディカルセンター 移植コーディネーター

【目的】 都道府県コーディネーターが、より効果的・効率的にコーディネーション業務を習得にするための教育プログラムの作成を目的とする。

【方法】 病院内において、『仮想のドナー』が発生したという情報をもとに、ICUや手術室等において、実際に即したコーディネーション業務を行う研修会を開催する。1組（2～3名）のチームを2組構成し、病院内でコーディネート業務を実施する。院内スタッフに協力を頂くなど、可能な限り実際のコーディネーションに近い状況下で研修を実施する。

参加者は就業3年未満の都道府県コーディネーターとし、心停止後の臓器提供のコーディネーション業務習得に至っていないものを対象とする。

実施予定日時：2011年12月4日（日）9:00～

実施予定場所：大阪大学医学部附属病院

主な内容：

- ① 受講者は病院外で病院からの第一報を受信し、情報収集
- ② 病院への出勤。道中も病院とやり取り。必要関係者への連絡などを実施
- ③ 病院到着 主治医等から情報収集
- ④ 家族説明（病院スタッフの協力を得て）
- ⑤ 採血依頼（主治医・NS） 発送手続きなど
- ⑥ 情報用紙記入（電カル等から） 必要情報は主治医等から収集
- ⑦ 院内調整（主治医、病棟スタッフ、手術部スタッフ、摘出チーム等）
- ⑧ 摘出医到着（器材受け入れ調整 情報共有等）
- ⑨ カニューレーションの調整
- ⑩ 循環動態の変化による適切な対応（関係者への報告や調整等）
- ⑪ お看取りと手術室搬送の調整
- ⑫ 摘出手術（摘出医役は摘出を行う様子を再現し、その流れにあわせた業務を実施）

【結果】 未実施のため未記入

【考察】 未実施のため未記入

【結論】 未実施のため未記入

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

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

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 教授
研究分担者	赤塚美樹	藤田保健衛生大学医学部血液内科 准教授
	一戸辰夫	佐賀大学医学部附属病院 血液・腫瘍内科 准教授
	小川啓恭	兵庫医科大学 内科学 血液内科 教授
	小島勢二	名古屋大学大学院医学系研究科小児科学講座 教授
	品川克至	岡山大学病院 血液・腫瘍内科 講師
	村田 誠	名古屋大学医学部附属病院 血液内科 講師
	森眞一郎	関西医科大学 第一内科、同附属枚方病院 血液腫瘍内科 講師
	森尾友宏	東京医科歯科大学・大学院・発生発達病態学分野 准教授
研究協力者	李 銘	関西医科大学共同研究講座 幹細胞異常症学 講師
	石 明	関西医科大学共同研究講座 幹細胞異常症学 助教
	串田剛俊	関西医科大学附属枚方病院整形外科 講師
	廣澤友也	愛知県がんセンター研究所腫瘍免疫学部 研修生
	三浦康生	京都大学医学部附属病院 輸血細胞治療部 助教
	八尾尚幸	京都大学医学部附属病院 輸血細胞治療部
	吉岡 聡	京都大学医学部附属病院 輸血細胞治療部、 京都大学大学院医学研究科 血液・腫瘍内科
	前川 平	京都大学医学部附属病院 輸血細胞治療部 教授
	高橋義行	名古屋大学大学院医学系研究科小児科学講座成長発達医学 准教授
	山筋好子	岡山大学病院 血液・腫瘍内科 客員研究員
	前田嘉信	岡山大学病院 血液・腫瘍内科 助教
	野村昌作	関西医科大学 第一内科、同附属枚方病院 血液腫瘍内科 教授
	清水則夫	東京医科歯科大学・難治疾患研究所・ウイルス治療学 准教授

A 研究目的

本研究の目的は、HLA の barrier を越えた移植の際にも、拒絶反応や移植片対宿主反応 (GVHR) が起こらない、革新的な移植方法 (骨髄移植と臓器移植を含む) を開発することにある。

研究代表者らは、自己免疫疾患を自然発症するマウスを用いて、正常マウスの骨髄細胞を移植することにより、病気が治療できることを発見した。逆に、自己免疫マウスの骨髄細胞を正常マウスに移植すると自己免疫疾患が transfer されることを見出し、自己免疫疾患は造血幹細胞の異常に起因することを提唱してきた。その後、種々の難病のモデル動物を用いて、1型糖尿病だけでなく、ある種の2型糖尿病や難治性の腎炎もアロの骨髄移植 (BMT) によって治療できることを証明した。

しかしながら、MRL/lpr マウスだけが例外で、このマウスは放射線に感受性のため 8.5Gy 以上の放射線に耐えられず、低線量 (8.5Gy 以下) の放射線と、静脈から骨髄細胞を注入する、従来の BMT の方法では正常なドナーの骨髄細胞が生着せず、自己免疫疾患が再発してくることを明らかにした。そこで、このマウスを用いて mild な conditioning regimen (前処置) でもアロの BMT が成功する方法の開発に努め、新しい骨髄移植の方法として、骨髄内骨髄移植の方法を発見した。これは、骨髄内へ骨髄細胞を直接注入する方法で、この方法を用いれば、造血幹細胞のみならず、間葉系幹細胞も生着・置換が可能で、半永久的に免疫学的寛容が誘導され、mild の conditioning regimen においても、アロのあらゆる臓器 (皮膚、心、肝、脾、副腎、肺等) は拒絶されないことが明らかになった。

マウス、ラット、ウサギ、サル等の動物を用いて、これらの事実が証明できたので、現在、ヒトへの応用を目指して、Phase I Study を実施中である。

B 方法 C 結果

現在、ドナーからの骨髄細胞の採取は、ヒトの場合、腸骨を用いて、100 か所以上に骨髄穿刺針を刺して吸引法で実施されているが、この方法では末梢血 (T 細胞) の混入 (>20%) が避けられないため、GvH 病が生じる。われわれが開発した灌流法を用いれば、生食で骨髄内を灌流するだけであるため、T 細胞の混入は 10% 以下であるため、GvH 病も発症しない。

現在、灌流法の安全性と有用性を従来の吸引法と比較するため、Phase I Study を実施中である。この方法の安全性と有用性が実証されれば、灌流法+骨髄内骨髄移植法を組み合わせた Phase I/II Study を実施する予定である (全員)。

動物実験においては、この革新的治療法の適用範囲拡大のために、モデル動物を用いていかなる難病が治療可能かを解析中である (池原, 品川等)。品川らは、難治性肺疾患等の病因の解析と治療法の開発を目指し、移植後肺障害 (IPS) のモデルマウスを開発し、骨髄内骨髄移植の有効性を明らかにしている。池原らは、aging に伴って発症する難病 (2 型の糖尿病, アルツハイマー病, 骨粗鬆症, 癌等) の病因を解析し、間葉系幹細胞と胸腺の aging がこれらの難病の病因に大きく関わっていることを明らかにしている。

各研究分担者の個々の研究結果に関しては、以下の通りである

①再発ハイリスク造血器腫瘍の再発時または移植後再発予防として、マイナー抗原ペプチドワクチン療法の安全性と有用性を問う臨床試験を実施し、新しい移植方法がヒトへ応用された暁には、これを併用することを計画中である (赤塚)。

②灌流法によって採取された骨髄を用いた骨髄内骨髄移植法では、同所性に造血幹細胞と間葉系幹細胞が移植されることなどにより、従来型の骨髄移植法と比較して移植片の生着効率が向上するとともに GVH 病の発症リスクも低下することが期待されている。しかし、MSC による免疫調節機構については未知の点が多く、その免疫調節機能にかかわる分子機構を解析している。MSC による、CD34 陽性細胞の増幅には MSC の発現するケモカインなどの液性因子と接着分子などの細胞表面分子の双方が関与していることを見出している (一戸, 三浦等)。

③「骨髄内臍帯血ミニ移植」の安全性と有効性を検討している (小川, 村田)。

④灌流法の安全性に関しては、これまで 4 人に実施し、何ら、副作用は認められていないが、兵庫医科大学との共同研究で実施された 2 例に関しては、T 細胞や赤血球の混入の比率が高く、その原因を、現在、追求中である (池原, 小川, 森等)。

⑤造血幹細胞移植後の患者における難治性ウイルス感染症に対し、臨床応用可能なウイルス特異的 CTL の体外増幅法を開発し、移植後の難治性ウイルス感染症に対して臨床第 1、2 相試験を実施している。2 名の投与はいずれも安全に投与でき、うち 1 名で効果が見られた (小島, 高橋等)。

⑥将来、ヒトの骨髄内造血細胞移植実施に向けて、造血細胞移植後の免疫能を詳細に検討する系を開発した (森尾等)。

D 考察

ヒトの同種骨髄移植 (BMT) では①移植片対宿主病②生着不全③T 細胞の機能の回復が不完全などの重要な問題が山積している。

われわれが開発した新しい BMT の技術は、ヒト同種 BMT の主要な問題点を解決する革新的技術であり、造血幹細胞の異常に基づく白血病や自己免疫疾患のみならず、間葉系幹細胞の異常に伴って発症する疾患 (アルツハイマー病, 骨粗鬆症等) の根治療法の開発に直結する。ヒトへの応用を目指して、精力的にサルの実験を実施してきたが、新しい移植方法の安全性と有効性が確認できたので、倫理委員会の承認と患者さんの同意を得て、ヒトへの応用を開始している。安全性が証明されれば、新しい骨髄移植法の適用範囲は、測り知れないものと考えられる。さらに、骨髄内骨髄移植と胸腺移植の併用療法は加齢に伴って発症する疾患 (アルツハイマー病, 糖尿病, 癌等) にも有効であることが判明している (池原等) (Neurosci Lett. 465 36, 2009, J Autoimmun. 35 414, 2010)。

新しい骨髄移植の方法は国際的にもヒトへ応用しようという動きがあるが、現在まで、臍帯血を用いて、腸骨内へ注入しようとするものである。臍帯血中には、間葉系幹細胞が少量しか含まれないこと、また、血管の豊富な腸骨内へ細胞を注入すると細胞が循環系へ移行し易いため、静脈内注入と変わらず、現在までは、顕著な効果は得られていない。われわれは脛骨内へ注入するか、高濃度の骨髄細胞を腸骨内へ注入している。

E 結論

動物実験においては、種々のモデル動物を用いて、新しい骨髄移植の方法の安全性と有効性を証明し、難病の根治療法として新技術が有望であることを実証した。

新技術の特徴としては、i)灌流法での骨髄採取によって、末梢血の混入が少ないこと、ii)従って、GvH病が起らないこと、iii)骨髄内骨髄移植によって、効率良くドナーの造血幹細胞と間葉系幹細胞が移植可能であることがあげられる。それ故、造血幹細胞異常症のみならず、間葉系幹細胞異常症（加齢に伴って発症する疾患）の根治療法としても新移植技術がクローズアップされてきている。

骨髄内へ細胞を直接注入する方法に関しては、臍帯血を腸骨内へ注入することが、世界中で広く実施されるようになってきているが、本班では、先ず、Phase I Study を灌流法で実施し、灌流法の安全性のみならず、灌流法の利点を、従来の吸引法と比較検討している。特に、採取骨髄液中の赤血球とT細胞の混入度を、ドナーの同意を得て、同一人の左右の腸骨を用いて比較している。既に臨床プロトコールを作成し、倫理委員会の承認も得られている。問題点としては、灌流法のドナーが肥満体の場合に、骨髄針が腸骨のような扁平骨の骨髄腔内に上手に刺入できていない可能性をこれまでの症例で経験している。現在、このようなことが起らないための対策として、整形外科医の指導の下でCTの造影や、将来は“ナビゲーション・システム”を開発し、誰にでも容易に灌流法が実施できるように改善する予定である。

新技術により、これまで不治の病であった、種々の難病が根治できれば、患者さんにとって、これ以上の福音はないと考える。

移植技術を用いた難病の根治療法の開発

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	教授
研究協力者	李 銘	関西医科大学共同研究講座 幹細胞異常症学	講師
	石 明	関西医科大学共同研究講座 幹細胞異常症学	助教

A. 研究目的

本研究の目的は、難病の病因を解明し、根治療法を開発することにある。

研究代表者らは、大部分の難病が骨髄の幹細胞（造血幹細胞と間葉系幹細胞）の異常に起因し、この両者を正常の細胞と置換することにより、種々の難病を予防し治療できることを発見した。しかしながら、加齢に伴って発症してくる難病（2型の糖尿病、アルツハイマー病等）は両・幹細胞の移植・置換だけでは、治療できないことを見出した。その理由として、aging に左右され易い細胞は造血幹細胞(HSC)ではなくて、間葉系幹細胞(MSC)であり、もう一つは、胸腺の上皮細胞(TEC)であるからである。

本研究では、主としてマウスを用いて tolerance 誘導のメカニズムを明らかにし、ヒトの胸腺移植への応用に役立てる。

B. 方法 C. 結果

アルツハイマーのモデルマウスSAMや2型の糖尿病を発症するdb/dbマウスに、骨髄内骨髄移植(IBM-BMT)を実施したが、発症の予防はできても、治療には至らず、IBM-BMTに胸腺移植を併用した所、いずれのマウスも免疫能が正常化し、病気が改善した(Neurosci. Lett. 465 36-40, 2009, J Autoimmun. 35 414-423, 2010)。

D. 考察 E. 結論

加齢に伴って発症する難病は、胸腺の萎縮に伴って T 細胞の機能の異常や低下が認められ、感染が引き金となって発症するものと考えられる。

胸腺移植のヒトへの応用を視野に入れて、マウスの新生時期や胎生期の胸腺を用いて解析した結果、成熟した T 細胞を除去すれば、GvH 反応や HVG 反応（拒絶反応）も起こらないことを明らかにした (J Autoimmun. 31 408-415, 2008, Immunology 126 552-564, 2008, Bone Marrow Transplant. 43 829-837, 2009, Stem Cells Dev 20 599-607, 2011, Stem Cell Dev In press)。

すなわち、新しく分化して来た T 細胞は、HSC のみならず、MSC に対しても tolerance が誘導されていることを物語っており、ヒトへの応用の上にも重要な知見である。

ヒトの胸腺移植には、いろいろと問題があり、未だ確実な方法論が確立されていないが、これらの基礎的な動物実験の結果は、今後、IBM-BMT に胸腺移植の併用は aging 関連難病の根治療法として close up されるものと確信する。

同種移植後の白血病再発防止に向けた抗白血病効果増強のための細胞療法の開発に関する研究

研究分担者 赤塚美樹 藤田保健衛生大学医学部血液内科 准教授
研究協力者 廣澤友也 愛知県がんセンター研究所腫瘍免疫学部 研修生

A. 研究目的

同種造血細胞移植は白血病等の難治性造血器腫瘍の根治法として開発されてきた。しばしば致命的となる移植合併症の GVHD や生着不全を減らす目的で、骨髄内骨髄移植が現在検討されている。しかし GVHD と移植後の再発は裏腹の関係にあることから、骨髄内骨髄移植で十分な抗白血病効果が得られるかはまだ明らかではない。そこで我々は移植後再発予防および治療を行うペプチドワクチンの臨床試験を実施してきたが、骨髄腫の 1 例に SD が得られたものの、*in vitro* 解析では十分な免疫反応を誘導することはできなかった。これは移植後 1 年以上経過した症例が多く、アロ反応性の T 細胞前駆体がすでに消失したか、寛容に陥っているためと考えられるので、体外で増幅したマイナー抗原反応性の T 細胞の養子免疫細胞療法の開発を開始した。

B. 方法

我々が血液細胞特異的マイナー抗原 (ACC-1Y) として同定した *BCL2A1* 遺伝子産物に反応性、HLA A*24:02 拘束性の CTL クローン 1B3 から T 細胞受容体 (TCR) α 鎖、 β 鎖 cDNA を得た。これをそれぞれ LZRSpBMN ベクターに組み込み、Phoenix-GALV パッケージング細胞でレトロウイルスを産生させ、TCR β 鎖欠損・CD8 導入 T 細胞株 Jurkat/MA、健常人末梢血 T 細胞に 1~2 回感染させ、その発現、特異性についてフローサイトメトリーと細胞傷害性試験で検討した。次いで、同一 T 細胞で確実に α 鎖、 β 鎖双方を発現させるために、2 つの cDNA を 1 つのベクターに組み込み、それぞれを IRES で結合するか、LRT と内部の PGK プロモーターでそれぞれ発現 (bicystronic) させ、必要に応じて感染細胞をポジティブセレクションで濃縮できるよう NGFR や CD20 を結合したレトロウイルスベクターによる遺伝子導入効率を検討した。

C. 結果

1B3-CTL の α 鎖は TRAV14、 β 鎖は TRBV4-1 であった。まず Jurkat/MA 株にウイルスを 2 回感染し、CD8 抗体、TCR - V β 7.1 抗体および HLA A24/ACC-1Y テトラマーで解析したところ、別々のベクターでも IRES bicystronic ベクターでも 40~60% の細胞でテトラマー陽性細胞が得られた。TV β 7.1 抗体ではさらに 20% ほど多くの細胞が陽性となった。別に作成した TCR に対する shRNA 配列含有、PGK プロモーター結合 α ・ β 鎖ウイルスの単回感染では 10~20% の Jurkat/MA 細胞がテトラマー陽性となったが、これに NGFR をつけるとテトラマー陽性細胞は 1~2% に激減した。次いで、末梢血 T 細胞を PHA と IL-2 で刺激後 3、4 日目に IRES bicystronic ベクターで感染したところ、V β 7.1 抗体陽性分画は CD8 陽性だけでなく CD8 陰性分画でも得られたが、テトラマー陽性細胞は CD8 陽性分画のみで得られた。他方、CD8 陽性・テトラマー陽性細胞数は CD8 陽性・V β 7.1 抗体陽性細胞数の半分程度しか得られなかった。これらの遺伝子導入 bulk T 細胞、CD8 分画、CD4 分画について細胞傷害性試験を行ったところ CD8 分画で 40% 程度の活性が認められた。

D. 考察

TCR 遺伝子導入にて ACC-1Y マイナー抗原への特異反応性が、抗原未感作の健常人 T 細胞へ付与可能であったが、ポジティブセレクションのために細胞膜型 NGFR (約 800bp) を付加するとウイルス titer は 1/5 程度に低下した。これはレトロウイルスベクターに組み込める遺伝子の長さの制約によると考えられ、なるべくシンプルで短い挿入 cDNA デザインが必要であると分かった。また内在性 TCR の発現を抑える shRNA も 500bp 程の長さがあるためか、これを付加すると titer は低下した。Jurkat/MA 細胞ではウイルス感染細胞の 1/5 しかテトラマー陽性とならず、内在性に残存する Jurkat/MA の α 鎖との相互干渉が疑われた。

E. 結論

ウイルス titer や内在性 TCR 抑制効率など改善の余地はあるが、TCR 遺伝子導入メモリー T 細胞はマイナー抗原陽性の白血病細胞を駆逐する養子免疫療法のリソースとなると考えられた。また骨髄はメモリー T 細胞の niche として知られており、骨髄内骨髄移植時にあわせて投与することで、より少ない数の遺伝子導入 T 細胞でも十分な免疫再構築がえられないか検討する必要がある。

間葉系幹細胞の造血調節機能についての研究

研究分担者 一戸 辰夫¹

¹佐賀大学医学部附属病院 血液・腫瘍内科 准教授、

研究協力者 三浦 康生²、八尾 尚幸³、吉岡 聡^{3,4}、前川 平⁵

²京都大学医学部附属病院 輸血細胞治療部 助教

³京都大学医学部附属病院 輸血細胞治療部

⁴京都大学大学院医学研究科 血液・腫瘍内科

⁵京都大学医学部附属病院 輸血細胞治療部 教授

A. 研究目的

大型動物を用いた研究によって、骨髄内骨髄移植法は、従来の経静脈的骨髄移植法と比較して、造血細胞のニッチである骨髄微小環境に造血幹細胞/前駆細胞 (hematopoietic stem/progenitor cells, HSPC) を効率的に生着させるために有効な方法であることが示されている。このような HSPC 生着の促進に寄与し得る要因の1つとして、骨髄内骨髄移植法では、移植片に含まれる間葉系幹細胞 (mesenchymal stem cells, MSC) が、骨髄外臓器にトラップされることなく骨髄微小環境に直接投与されるため、MSC の HSPC に対する造血支持能力が発揮されやすくなる可能性が想定される。また、骨髄内骨髄移植による MSC 生着率の向上は、移植後に出現する組織障害や免疫学的合併症の軽減にも寄与する可能性がある。本分担研究では、このような骨髄内骨髄移植によって期待される有効性を薬理的に増強することを目的として、*in vitro* で活性化された MSC のヒト骨髄由来 CD34 陽性細胞の増幅能に与える影響を検討した。

B. 方法

SCF、FLT3-ligand、TPO、IL-3 存在下にヒト骨髄由来 CD34 陽性細胞とヒト骨髄由来 MSC との共培養を行い、CD34 陽性細胞の増幅率を検討した。次に、あらかじめ parathyroid hormone (PTH) により *in vitro* で刺激したヒト骨髄由来 MSC を用いて同様の検討を行った。

C. 結果

ヒト骨髄 CD34 陽性細胞と MSC を *in vitro* で共培養すると CD34 陽性細胞分画が約 15 倍に増加した。一方、PTH で刺激した MSC と HSPC を共培養すると CD34 陽性細胞分画が約 24 倍に増加した。対照として CD34 陽性細胞を MSC 非存在下で培養した場合には、約 1.6 倍の増加にとどまった。MSC による CD34 陽性細胞の増幅には MSC の発現するケモカインなどの液性因子と接着分子などの細胞表面分子の双方が関与していたが、PTH 刺激によるその増強効果には接着分子などの細胞表面分子のみが関与していた。

D. 考察 E. 結論

In vitro で培養時活性化された MSC が CD34 陽性細胞の増幅を増強する可能性が示唆された。

研究分担者 小川 啓恭 兵庫医科大学 内科学 血液内科 教授

A. 研究目的

関西医科大学、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データより、その有効性が示唆されている。たとえば、灌流法による骨髄細胞の採取は、1) 末梢血の混入が少なく、その結果、移植片対宿主病(graft-versus-host disease=GVHD)を惹起しやすいT細胞の混入が少ない、2) 通常の吸引法に比べて、赤血球の混入が少なく、遠心法のみで骨髄細胞浮遊液の容積を大幅に減らすことができること、また、骨髄内への移植は、静脈内への移植に比して、3) 造血幹細胞が高率に骨髄への生着が期待されること、4) 骨髄は、免疫抑制的な環境にあるため、GVHDが少なく、MHC不適合移植片が許容されることなどの有用性が示されている。しかし、ヒトでの安全性および有用性は不明である。したがって、本研究は、この新規移植法のヒトにおける安全性と有効性を検討することを目的にしている。

B. 方法

対象患者は、慢性骨髄性白血病(第2慢性期以降)、急性骨髄性白血病(初回寛解期を除く)、急性リンパ性白血病(初回寛解期を除く)、骨髄異形成症候群(IPSSでintermediate IIまたはhigh)、悪性リンパ腫(治療抵抗性も低悪性度リンパ腫、化学療法抵抗性の中等度リンパ腫、初回寛解期を除いた高悪性度リンパ腫)とした。ただし、白血病においては、芽球30%以下の症例を対象とした。患者年齢は、12歳以上65歳以下とした。患者のperformance statusは、ECOGの基準で0-1とした。ドナーは、血縁ドナーとし、HLA適合または、GVH方向3抗原不適合までのドナーとした。関西医科大学で、灌流法による骨髄採取を行い、それを兵庫医科大学に運び、患者に移植を行うこととした。

試験の主要評価項目は、「灌流法による骨髄採取に伴う安全性」とした。

C. 結果

灌流法による骨髄採取を2例施行した。骨髄細胞の採取に際しては、左右の腸骨で、採取される細胞成分に関して、灌流法による骨髄採取と通常の吸引法による骨髄採取を比較検討した。その結果、CD34陽性細胞率、T細胞の混入率において、両者の間で差を認めなかった。さらに、灌流法による骨髄採取においては、赤血球の混入が多く、プロトコールに記載されているように、遠心分離法による血球成分の濃縮だけでは、骨髄内移植に用いることができなかった。このため、同時並行で、前処置を行っていた患者に対しては、吸引法で採取した骨髄を、通常の方法に準じて、静脈内へ輸注することにより、移植を行った。

D. 考察 E. 結論

2例の灌流法による骨髄採取の経験から、採取される細胞成分において、灌流法と吸引法とで、差を認めなかったことから、灌流法による骨髄採取の手技において、改良を加える必要があることが判明した。また、赤血球の混入が多いことから、灌流法で採取した後、赤血球を除去する行程が必要なが判明した。骨髄内に移植した骨髄移植を、骨髄腔内に留め置くためには、骨髄液の容積を20ml程度まで減らす必要がある。そのため、幹細胞を失うことなく、大部分の赤血球を除去する方法の開発を合わせて進める必要があることが判明した。さらに、灌流法で採取した骨髄細胞の有用性を証明するためには、コントロールとして、通常の吸引法で採取した骨髄細胞を骨髄内へ移植する方法と比較する必要があると思われる。

研究分担者 小島勢二 名古屋大学大学院医学系研究科小児科学講座 教授

研究協力者 高橋義行 名古屋大学大学院医学系研究科小児科学講座成長発達医学 准教授

A 研究目的

造血幹細胞移植後の患者における難治性ウイルス感染症に対し、臨床応用可能なウイルス特異的 CTL の体外増幅法を開発し、移植後の難治性ウイルス感染症に対して臨床第 1、2 相試験を行う。

B 研究方法

1、HLA-A2 または A24 陽性健常人 9 人の末梢血 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基づき 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 細胞に加え閉鎖的培養無菌バッグにより培養した。増幅した CTL の細胞数、MHC-tetramer 陽性細胞の濃度、特異的 CTL の細胞障害活性を評価した。

2、臨床第 1, 2 相試験として造血細胞移植 HLA-A2 または A24 陽性ドナーの末梢血 50ml から上記の方法により培養した。初回投与細胞数、 1×10^5 /kg より漸増し、計 3 回の投与を行い、投与前後の末梢血ウイルス DNA の評価を行った。

C 研究結果

1、30ml の末梢血より 21 日間の培養で MHC-tetramer 陽性率は平均 54.7% (22.6-84.7%)、ウイルス特異的 CTL としていずれも 10^8 個以上に増幅が可能であった。体外増幅された CTL は特異的ペプチドをパルスした T2 細胞に対して強い細胞障害活性を示した。

2、造血細胞移植の HLA A2 または A24 陽性ドナー末梢血よりサイトメガロウイルス (CMV)、EB ウイルス (EBV) に対する CTL を誘導した。培養は CMV が 6 名、EBV が 17 名で行い、それぞれ 4 名、8 名で初回投与基準を満たす細胞数の増殖が得られた。うち培養上清中に含まれるウイルス検査の基準も満たしたのは、3 名、2 名であった。GCV 耐性 CMV 感染を起こした患者 3 名に対し CMV-CTL の投与を行った。いずれも投与後の発熱、発疹などの急性反応はなく、他に重篤な合併症も認めなかった。1 名の患者で投与後 CMV DNA の低下、消失を認めた。別の 1 名は 2 回の CTL 投与後にウイルス DNA の減少が見られなかったため、ホスカビルの投与を行い CMV-DNA は消失した。3 例めは 2 回めまでの CTL 投与が終了し、現在のところ急性反応の副作用は認めていない。今後、合併症、効果について引き続き観察予定である。

D 考察

健常人ドナーおよび骨髄移植ドナーから 3-4 週間の培養期間で CMV または EBV 特異的 CTL を臨床応用可能なレベルまで培養増幅することができた。当院倫理委員会での承認後、臨床第 1, 2 相試験が開始された。2 名の投与はいずれも安全に投与でき、うち 1 名で効果が見られた。培養に 3-4 週間かかること、投与基準をみたく CTL が得られる確率が少ないことから、誘導可能なペプチドのレパートリーを増やすことによる誘導効率の向上、リスクの高い移植患者ではあらかじめドナーより培養し凍結しておくことに加え、第 3 者からの CTL バンクの準備が望ましいと考えられた。

E 結論

臨床第 1, 2 相試験が開始された。まだ投与例が少なく、今後さらに CTL 培養条件を改善し、症例数を増やす必要があるものの、現在までのところ、いずれも安全に投与可能であり、明らかな効果の見られた症例も認めている。引き続き症例の蓄積が必要である。

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研究

研究分担者 品川克至 岡山大学病院 血液・腫瘍内科 講師
研究協力者 山筋好子 岡山大学病院 血液・腫瘍内科 客員研究員
前田嘉信 岡山大学病院 血液・腫瘍内科 助教

A. 研究目的

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-SCT) 後では多くが肺へトラップされるが、骨髄内骨髄移植 (IBM-SCT) では少ないと考えられる。マウスモデルでは IBM-SCT では IV-SCT よりも GVHD が抑制されることが報告されているが、我々は IBM-SCT では IV-SCT 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 IBM-SCT の影響に関して IV-SCT と比較検討を行った。

B. 方法

Donor マウスには C57BL/6J を用い、RT で前処置したレシピエントマウス B6D2F1 に IV-SCT と IBM-SCT 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経時的に評価、移植 6 週間後に気管支肺胞洗浄 broncho-alveolar lavage (BAL) を行い回収液中の細胞を解析、また肺組織の病理所見を検討した。さらに移植 2 日後の肺組織中ケモカイン CXCL1、CCL2、3、5、8 の mRNA 発現を測定した。次に donor マウスに FVB/N lac⁺、レシピエントに BALB/c を用いた系で、*in vivo* bioluminescence imaging (BLI) 分析により移植後輸注細胞の体内における時間的、場所的推移を IV-SCT 群と IBM-SCT 群で比較検討した。

C. 結果

移植後の体重減少は IBM-SCT 群で IV-SCT 群に比べて少ない傾向にあり、また GVHD スコアが低かった。これらの結果は全身状態維持に有利に作用したと考えられ、IBM-SCT 群で生存率が高かった。また移植 6 週後の BAL 回収洗浄液中の総細胞数および T 細胞数は IBM-SCT 群において IV-SCT 群よりも有意に少なく (9.6 ± 3.5 vs. $21.3 \pm 0.5 \times 10^4/\text{ml}$, $p < 0.05$)、組織学的にも IBM-SCT 群において細胞浸潤、組織障害が軽度であった。BLI 分析では、移植後 1h では IV-SCT 群でほとんどの細胞が肺に取り込まれたが、IBM-SCT 群では輸注下肢にとどまり肺に取り込まれた細胞は有意に少なかった (3.1 ± 0.7 vs. $16.7 \pm 1.1 \times 10^5$ photons/sec/animal, IBM-SCT vs. IV-SCT, $p < 0.01$)。また移植後 2 日目の各種ケモカイン mRNA 発現は、IV-SCT 群で高い傾向にあり CCL2 では有意であった (0.098 ± 0.020 vs. 0.020 ± 0.003 units/GAPDH mRNA, $p < 0.05$)。以上の 2 つの結果は syngeneic の系においても同様の結果が得られたため (2.4 ± 0.6 vs. $11.6 \pm 1.3 \times 10^5$ photons/sec/animal, $p < 0.01$)、移植早期の輸注細胞の肺へのとりこみは IV と IBM の輸注手技の違いによることが示唆された。移植後 5 日目の BLI 分析では syngeneic の系において肺への取り込みは IV-SCT 群と IBM-SCT 群で差はなかったが (4.8 ± 1.1 vs. $4.6 \pm 2.5 \times 10^7$ photons/sec/animal, $p = 0.94$)、allogeneic の系では移植後 2 日目よりさらに有意に IV-SCT で増加した (50.9 ± 6.6 vs. $16.0 \pm 6.2 \times 10^7$ photons/sec/animal, $p < 0.05$)。以上の結果より移植後 2 日目の各種ケモカイン mRNA 発現増加は allo 免疫反応を誘導していると考えられた。

D. 考察

IPS マウスモデルによる IV-SCT と IBM-SCT の比較研究は過去になく、今回肺局所のリンパ球の集積の差異が経時的に *in vivo* 観察され、その機序がケモカインレベルで証明された意義は大きいと思われる。IBM-SCT が移植後肺障害軽減の点からも有効であることが示唆され臨床応用が期待される。

E. 結論

今回検討した IPS マウスモデルでは IPS は IV-SCT 群に比し IBM-SCT 群において軽度である可能性が示唆され、移植後早期の輸注細胞の肺での物理的動態およびケモカイン発現の差異がこれらの現象に関与していると考えられた。

臍帯血を用いた骨髄内移植療法の開発

研究分担者 村田 誠 名古屋大学医学部附属病院 血液内科 講師

A. 研究目的

本分担研究では、骨髄非破壊的前治療を用いた非血縁臍帯血移植における生着率の向上を目的とし、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安全性と有効性を確認する臨床試験を実施している。

本分担研究を通じて得られる、例えば臍帯血の洗浄・濃縮技術や、骨髄への注入技術などは、主任研究者の研究課題である「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」の確立に必ずや寄与するものと考えられる。

B. 方法

本試験のデザインは臨床第 II 相試験。対象は骨髄非破壊的前治療を用いた非血縁臍帯血移植の適応となる成人血液悪性疾患患者。主として、フルダラビン+シクロフォスファミドによる前治療法と、短期メソトレキセート+タクロリムスによる GVHD 予防法を用いる。解凍した臍帯血を洗浄、濃縮したのち、後腸骨稜から通常の骨髄穿刺針を用いて注入する。主要評価項目は移植後 60 日時点での生着かつ生存。予定登録数は 22 例で、登録期間は 4 年を予定している。追跡期間は最終症例の移植後 1 年。

C. 結果

本試験は厚生労働省より「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」には該当しないとの見解を得たのち、本年度は 3 例（11 月 8 日現在）に対して試験を実施した。うち 2 例は他施設からの登録だったが、臍帯血ユニットの解凍、洗浄、濃縮や、骨髄内への注入などは、他施設においても問題なく実施することができた。3 例とも重篤な有害事象は認めず、また生着不全も認めなかった。これまでの試験実施症例数は計 10 例となった。

D. 考察

造血幹細胞を用いた臨床研究を行う際には、改訂された厚生労働省「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」との関係を確認した上で、実施の判断をする必要がある。現在、さらに登録症例数を増やすべく、本試験への参加施設の拡大を検討している。

E. 結論

引き続き、安全性に配慮しながら本試験を進める。

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

研究分担者 森眞一郎 関西医科大学 第一内科、同附属枚方病院 血液腫瘍内科 講師

研究協力者 野村昌作 関西医科大学 第一内科、同附属枚方病院 血液腫瘍内科 教授

A. 研究目的

40年以上のわたる造血幹細胞移植の歴史において、骨髄採取方法は大きな変化がなかった。したがって現在でも全身麻酔による有害事象や合併症を避けることはできない。近年、池原らによって開発された灌流法による骨髄採取は動物実験において1) 造血幹細胞の濃縮2) T細胞や赤血球の混入が少ないといったことが報告され、効率的な採取によって全身麻酔を回避できる可能性が示唆された。我々はヒトへの応用を検討するため、末梢血幹細胞採取不良のリンパ腫患者に対し灌流法による骨髄採取を実施し赤血球の混入が少なかったことを報告した。しかし、採取骨髄細胞は目標の10%であった。骨髄に障害のある患者が対象であったことも一因と考えられたため、今回健常者を対象とした臨床試験を計画した。

B. 方法

対象：HLA 適合またはGVH 方向血清3抗原以内不適合血縁者。適格条件、除外条件については、非血縁バンクドナーの基準に準ずる。

方法：全身麻酔下にて吸引法（従来法）を実施する前に片側腸骨から灌流法で骨髄採取する。2本の骨髄穿刺針を腸骨に約3～5cmの間隔で穿刺し、生理食塩水30mlを一方よりゆっくり注入し、同時に対側から軽く吸引する。この時、採取側シリンジには、ヘパリン（10～30U/mlとする）加生理食塩液（約0.5ml）を使用する。灌流法による骨髄採取が終了後、従来法である吸引法を用いて必要細胞数に達するまで骨髄採取を継続する。灌流法による骨髄採取の安全性と有用性を検討する。

主要評価項目：灌流法による骨髄採取に伴う安全性をprimary endpointとする。

副次的評価項目：灌流法に要した手術時間、骨穿孔、皮膚穿孔数・採取量、採取有核細胞数、ヘマトクリット、CD3(+), CD34(+), CFU-C及びCFU-F。

C. 結果

昨年度2例の健常同胞ドナーを対象に施行した。1例目 26歳、男性。9回灌流法を施行。NCC2.8x10⁷、CD34陽性細胞1.29%の骨髄細胞が採取された。2例目 22歳、男性。3回灌流法施行。採取量56ml、NCC1.8x10⁷、CD34陽性細胞1.07%、CD3陽性細胞10.0%、Ht23.1%であった。いずれも灌流法のみでは目標細胞数に到達しなかったため、吸引法による骨髄採取に変更し目標細胞数を得た。骨髄細胞は、レシピエントへ静脈点滴され正常に生着した。ドナーに重篤な有害事象は発生しなかった。

D. 考察

腸骨に3cm間隔で骨髄穿刺針を2本たてることは可能であるが、通常のハンドル付骨髄穿刺針では作業できなかった。容易な作業性を考慮し適切なデバイスの開発、適切な間隔を検討する。生食注入速度と圧力は採取骨髄中の赤血球混入量と関連する可能性が考えられた。今回の試験では2例とも生食を注入する際強い圧力を必要とした。また採取側でも強く骨髄液を吸引する必要があった。これが採取骨髄中の赤血球混入増加に寄与したと考えられた。骨髄穿刺針の口径も注入圧に影響する因子と考えられ、通常の13Gより大きな口径の穿刺針も検討する必要がある。さらに、骨髄穿刺針先端の深さが採取量に影響する可能性も示唆された。骨髄腔のどの程度の深さで固定されているか、CT透視下などで確認する必要があると考えられた。この作業に関して今後整形外科医の参加を予定している。また、骨髄採取デバイスの改良も検討する。ハンドルが小さく、深度の正確な把握、側溝型にするなどの改良を行っている。今年度はドナーからの骨髄採取回数を限定したプロトコールが倫理委員会で承認された。実臨床での負担を軽減することによる症例登録の促進を期待している。