

## 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

研究代表者	宮村 耕一 名古屋第一赤十字病院 造血細胞移植センター センター長
研究分担者	
岡本 真一郎	慶應義塾大学医学部内科学 教授
日野 雅之	大阪市立大学大学院医学研究科 血液腫瘍制御学 教授
豊嶋 崇徳	北海道大学大学院医学研究科 内科学講座 血液内科学分野 教授
上田 恭典	倉敷中央病院血液内科 主任部長
田中 淳司	北海道大学大学院医学研究科内科学講座 血液内科学分野 准教授
長藤 宏司	久留米大学医学部内科学講座 血液・腫瘍内科部門 准教授
高橋 聡	東京大学医科学研究所・血液腫瘍学 准教授
西田 徹也	名古屋大学医学部附属病院 血液内科 助教
飯田 美奈子	愛知医科大学医学部 造血細胞移植振興講座 助教

### A. 研究目的

「同種末梢血幹細胞移植を非血縁者間で行う場合等の医学、医療、社会的基盤に関する研究」第一期3年において開始されたURPBCTにおける、ドナーとレシピエントの安全性を確保の検証を行うとともに、移植技術の向上と標準化を行い、より多くの患者を救うことを目的とする。2012年10月15日時点で12名の非血縁ドナーから末梢血幹細胞移植後施行された。

### B. 方法

1. ドナー生涯フォローの基盤作り：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。
2. ドナーの安全情報の公開および観察研究の遂行：骨髓バンク・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を骨髓移植ドナーと比較し研究する。
3. 末梢血幹細胞の動員と採取の効率化の検討：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）についてドナー安全に留意の上調査検討し（H23年度）、H26.3までにこれを実現し、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。
4. URPBCTに関する観察研究の遂行：第一期で開始した「同観察研究」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。

5. URPBSCT認定施設の拡充：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、また医師に余裕がないために申請施設は限られている。研究期間内に本邦の施設における認定基準を満たすように、これらの問題点を調査・解決し認定施設を増やす。
6. 「URPBSCTとURBMTの比較研究」の遂行：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。
7. ECP（対外紫外線照射装置：GVHDの治療用）の導入と有用性の検討：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。
8. 患者の生涯支援システムの構築：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。二次癌以外にも生活習慣病、一般の癌が問題となってくると予想される。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がわかる患者手帳を作成し、その新しく発生した疾患の治療の参考とする。
9. 非血縁移植ソース決定のアルゴリズム作成：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。
10. 骨髄・臍帯血バンクのドナー検索の一元化の推進とCD34陽性細胞数測定の標準化（高橋）：両バンクが一体となった米国骨髄バンクの実態を調査し(H23年度)、日本に合ったシステムを各バンクと協力し作り上げる(研究期間内)。また移植成績に大きく影響する造血幹細胞の各施設での測定の標準化を行う。
11. 血液細胞の品質管理向上をめざした基盤整備：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)。骨髄バンクでの「凍結」を検討し、ドナー、患者相互にとって利益となる基準を作る。
12. URPBSCTを利用した養子免疫療法の検討：豊富に含まれる免疫担当細胞を利用した養子免疫療法の研究を進める。バンクの細胞の二次利用の規則策定については、骨髄バンク医療委員会、臍帯血バンクと協力して提言を行う。

## C. 結果

平成 24 年 7 月の班会議およびメールでの討議を行い。今後 1 年間半の研究目標を確認し、以下の項目について、調査し検討した。

### 1. ドナー・レシピエントの安全性の確保と臨床研究

2012 年 10 月 15 日時点で 12 名の非血縁ドナーから末梢血幹細胞が採取された。12 名のドナーには重大な健康被害は生じていないが、血小板減少が問題となり、マニュアルの一部改訂を行った。また、「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」（目標症例数は両群 100 名ずつ）は骨髄移植推進財団倫理委員会で承認され、プロトコールに

従い、末梢血幹細胞移植認定施設において、骨髄または末梢血幹細胞を提供した初回ドナーにアンケート調査を実施し、骨髄提供ドナー30名、末梢血幹細胞提供ドナー6名（対象は9名）の同意が得られ、アンケートを回収中である。ドナー手帳は、採取を受けるすべてのドナーに手渡すシステムが働いていることを確認した。レシピエントの安全については「URPBSCTに関する観察研究」が開始され、現在まで10例の登録（全例）がなされ、今後も観察を続けていく。「URPBSCTとURBMTの比較研究」をmatched pair studyと決定したが、治療法の最適化が進んだ、上記研究終了後に開始とした。日本造血細胞移植学会のデータを利用した血縁者間末梢血幹細胞移植と血縁者間骨髄移植の比較研究を後方視的に行い、慢性GVHDのため本邦における血縁では骨髄移植の方がよい成績であるという2005年までのデータを確認した。患者手帳については全国のアンケートを送り、第二版を作成した。

## 2. 移植成績の向上のための基盤整備

末梢血幹細胞採取認定施設は36施設に増えたが、昨年度調査でCD34が測れないため申請できない、施設基準を満たすが申請していない施設も多数あることなどより、直接電話で聞き取り調査を行った。その結果現在準備中という前向きの施設が多くあった。外来でのG-CSF投与、採取量を増やし1日採取で終わらせる（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）取組については米国の調査を行った。ECPはUVADEXという本邦未承認薬剤をデバイスのキットに梱包し、ECP以外では使用できないようにする方向で厚生労働省と協議した。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成中である。骨髄移植ドナーからのDLIの研究的利用について研究を行った。また末梢血幹細胞採取を血液センターで行うことについての検討を開始した。

## D. 考察

本研究班、新しく開始された治療法の安全性と有効性を確認する作業、欧米と比較して遅れているインフラをそれに近づけるという、明確な研究課題がある。前者においては、各研究が進行しつつある。後者においては「移植に用いる造血幹細胞の適切な提供の推進に関する法律」の成立により、この法律にそった計画を作成中である。

## E. 結論

非血縁者間末梢血幹細胞移植が増えるに従い明らかになってきた問題点、認定施設の不足などにより移植数は増えていないという、これらの問題点を欧米の現状も参考に、ドナー安全に立脚しつつ、ドナーの利便性も考慮した採取システムを改善していき、全国どこにいる患者にも等しく非血縁者間末梢血幹細胞移植の恩恵を受けれる体制と作っていくことが当班の使命である。

## 「URPBSCTに関する観察研究の遂行」に関する研究

宮村 耕一 名古屋第一赤十字病院 造血細胞移植センター センター長

### A. 研究目的

第一期で開始した「同観察研究」を完遂する。本研究の結果を元に「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)。

### B. 方法

本研究の遂行を見守り、問題があれば、その解決をはかる。非血縁者間末梢血幹細胞移植認定施設で、臨床試験審査委員会・倫理委員会への提出を促す。プロトコールに問題があれば、改定する。

### C. 結果（2年目前期）

「URPBSCTに関する観察研究」が開始され、現在まで10例の登録がなされている。現在まで施設の臨床試験審査委員会・倫理委員会を通過した。基幹病院よりプロトコールに「利益相反」、「健康被害に対する補償」の追加を求められたため、改定第二版を作製した。

### D. 考察

平成22年に10月に開始されたURPBSCTは平成22年度に1例、平成23年度には2例、平成24年度は現在まで9例だけが登録された。これはドナーが二回目の採取となる場合に限ったこと、非血縁者間末梢血幹細胞移植を開始するにあたりHLA A, B, C, DRの遺伝子型一致ドナーからの移植に限っていることなどの制限があるためである。今昨年度10月より2回目ドナーの制限が取れ、コーディネートの体制も整ったため、今後非血縁者間末梢血幹細胞移植を受ける患者が増えるものと予想される。本研究の結果により非血縁者間末梢血幹細胞移植の有用性が確認されたあと、HLA不適合に広げる予定である。ここにおいてGVHD予防法の強化が必要であるかの研究が必要となる。非血縁者間末梢血幹細胞移植を全例前方視的に登録し、できるだけ均一なプロトコールの中で、前処置、GVHD予防の最適化を図っていくことが、将来の移植の成績に結びつくことを示しつつ、質の高い臨床研究を行っていくことが重要である。

### E. 結論

「URPBSCTに関する観察研究」が開始されたが、症例の登録はこれからである。

## 「患者の生涯支援システムの構築」に関する研究

宮村 耕一 名古屋第一赤十字病院 造血細胞移植センター センター長

### A. 研究目的

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。二次癌以外にも生活習慣病、一般の癌が問題となってくると予想される。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がわかる患者手帳を作成し、その後新しく発生した疾患の治療の参考とする。また長期の合併症についてのデータを集める手段としての役割を検討する。

### B. 方法

初年度：「移植健康手帳第一版」を作成し、各患者の移植情報を書き入れ、外来患者約150人に配布した。患者、移植医師双方にも意見を求めた。この情報を元に第二版を作製する。

3年間：第二版を班員施設で試用していただき長期の使用の結果をまとめる。同様の試みを行っているグループと連携を取る。クラウド化について通信機器企業から情報を集める。

### C. 結果（2年目前期）

患者の生涯支援システムの構築のために悪性腫瘍、生活習慣病の早期発見、早期治療を促し、またそれまでに患者が受けた治療内容がわかる患者手帳を作成し、名古屋第一赤十字病院の患者165人に配布した。また全国の希望施設にサンプルを送った。これらの施設へのアンケートおよび、患者からの要望から、第二版を作成した。患者側からはいつでも持ち運べるポケットサイズにしてほしい、検査結果を挟めるポケットがほしい、内容が暗くて読む気が起こらないという意見があった。医療側からは移植後の簡単な医療記録、ワクチン接種歴、アントラサイクリン系薬剤のおよその投与量がわかる形への改訂が必要であるという意見があった。またデータを患者が持つのか、医療側が持つかについて厚生労働省情報連携基盤整備室とも打合を行った。また第二版の電子化に向けても、準備を進めている。

### D. 考察

「移植に用いる造血幹細胞の適切な提供の推進に関する法律」の中での位置づけが可能か検討が必要である。

### E. 結論

生涯にわたり有効に手帳を利用してもらうためにはさらなる工夫が必要であり、同様の試みを試行錯誤しているグループや学会と一緒に取り組むことが求められる。

## 「ドナー生涯フォローの基盤作り」に関する研究

研究分担者 飯田 美奈子 愛知医科大学医学部造血細胞移植振興講座 助教

### A. 研究目的

従来、日本における同種末梢血幹細胞採取は G-CSF 投与開始から採取終了までの約 1 週間ドナーの安全のために入院管理を基本としてきたが、この状況は骨髄提供よりドナーの入院期間が長く時間的負担が大きくなる。海外では外来ベースの G-CSF 投与と採取が一般化しており、我が国でも一連の処置を入院せずに安全に行うシステムを構築することが不可欠であると考えられる。

### B. 方法

日本造血細胞移植学会「同種末梢血幹細胞ドナーフォローアップ調査—短期フォローアップ調査票—」のデータでは 233 施設 3264 例中 25 施設 72 例で末梢血幹細胞採取に関するすべての処置を外来で行っていた。今回これらの施設に対して追加のアンケート調査を行った。

### C. 結果

外来採取における重篤な有害事象の報告はなかったが、外来採取については賛否両論が寄せられた。

### D. 結論

こうした実際の移植施設の意見を参考に、外来での同種末梢血幹細胞採取を安全に行うための要件を確立することが必要であると考えられた。

(公開日 July 31, 2012. 日本造血細胞移植学会雑誌 1(2):52-58)

## 「ドナーの安全情報の公開および観察研究の遂行」に関する研究

研究分担者 日野 雅之 大阪市立大学大学院医学研究科血液腫瘍制御学 教授

### A. 研究目的

骨髄移植推進財団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、「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」(H23.10-H26.3)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比較する。

### B. 方法

骨髄移植推進財団ドナー安全委員会に委員として参加し、非血縁者間末梢血幹細胞移植ドナーのコーディネートおよび採取がスムーズに安全に行われるように、協力して検証し、必要な場合は、末梢血幹細胞採取マニュアルを改訂する。合わせてSF-36を用いたアンケート方式による「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」を実施し、骨髄採取と末梢血幹細胞採取のドナー負担を比較する。

### C. 結果

2012年10月15日時点で12名の非血縁ドナーから末梢血幹細胞が採取された(うち3名は骨髄提供経験者)。12名のドナーには重大な健康被害は生じていないが、4名が初日の採取後の血小板数が $8\text{万}/\text{mm}^3$ 以下(最低値 $5.6\text{万}/\text{mm}^3$ )となり、2日目の採取が必要であった4名中3名が $6\text{万}/\text{mm}^3$ 以下(最低値 $5.6\text{万}/\text{mm}^3$ )となった。うち1例は初日採取後の血小板数は $7.7\text{万}/\text{mm}^3$ となったが、多血小板血漿を輸注し、翌日採取前は血小板数 $7.7\text{万}/\text{mm}^3$ となった。いずれの症例においても出血はみられなかった。また、「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」(目標症例数は両群100名ずつ)は骨髄移植推進財団倫理委員会承認され、プロトコルに従い、末梢血幹細胞移植認定施設において、骨髄または末梢血幹細胞を提供した初回ドナーにアンケート調査を実施し、骨髄提供ドナー30名、末梢血幹細胞提供ドナー6名(対象は9名)の同意が得られ、アンケートを回収中である。

### D. 考察

末梢血幹細胞採取後12名中6名で血小板数が $8\text{万}/\text{mm}^3$ 以下となったが、出血傾向はみられなかった。血縁者では3日間の採取が可能であるが、非血縁者では2日のみ認められており、1回の処理量 $200\text{ml}/\text{kg}$ を目指し、血縁者に比べると処理量が多い印象を指摘する施設もあり、今後検証すると共に、ドナー安全を考慮し、現在は $8\text{万}/\text{mm}^3$ 未満で翌日の中止を考慮となっているルールを中止に変更するかどうか、低い場合には多血小板血漿を輸注することをルール化するかどうか、ドナーの安全を担保するために検討する必要がある。問題点としては、目標輸注CD34細胞数 $2.0 \times 10^6/\text{kg}$ を満たさない患者が出る可能性、設備上多血小板血漿を作製できない認定施設があることがあげられる。また、「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」完遂のためには、末梢血幹細胞移植の増加が必要である。現在、ドナー居住地から採取施設まで1時間以内という条件があり、骨髄提供しかできないドナーが存在する。今後、すべてのドナーが両方の選択をできるように認定施設を拡大する必要がある。

### E. 結論

末梢血幹細胞採取12例の結果、策定したマニュアルに従った非血縁末梢血幹細胞採取は、安全に実施可能であったが、血小板数が予想以上に低下していた。末梢血幹細胞移植件数が当初の予想より少なく、すべてのドナーに両方提供できる機会は与えられておらず、認定施設を増やす必要がある。

## 「末梢血幹細胞の動員と採取の効率化、CD34陽性細胞測定標準化」に関する検討

研究分担者 上田 恭典 倉敷中央病院血液内科 主任部長

### A. 研究目的

海外ではドナーのG-CSF投与をわが国よりもflexibleに行っている。またLarge Volume Leukapheresisにより目標細胞数を確実に一日で採取することも行われている。これらの調査を行うとともに、末梢血幹細胞採取過程での、最終CD34陽性細胞収量が、正確に予測できる方法を検討し、本邦で実施可能な、安全かつ臨床的有用性の高い、ドナーからの末梢血幹細胞採取方法について検討する。また、施設間の差のあるCD34陽性細胞測定標準化に向けた検討を行う。

### B. 方法

1年目：外来でのG-CSF投与と一日採取（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、本邦でどのように行われているか調査する。今後主力機器と思われる、Spectra Optiaについて、採取状況を検討する。CD34陽性細胞の測定を、本邦で使用可能なSingle platformによる3種のKitとDual platform法で行い、施設間で差の出ない方法を検討するための基礎的Dataを収集する。

3年間：採取施設以外での外来でのG-CSF投与の基準作りを行う。一日採取の方法を作成し試験的に行い検証する。CD34測定の標準化の案を作り、多施設で検討する。

### C. 結果（2年目前期）

倉敷中央病院で試みている外来でのG-CSF投与、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）の試みについて発表した。Spectra Optiaを用いた採取の特徴について検討した。CD34測定の標準化にむけて、倉敷中央病院において、本邦で使用可能な、Beckman Coulter, Becton Dickinson, Dako, のsingle platformでの測定環境を整備し、検討の準備を行った。

### D. 考察

ドナーの安全に留意しつつ、ドナーの意向をかなえとともに、経済的にも有用な方法の開発は必要である。すべての検討の基礎となるCD34陽性細胞測定標準化は重要である。

### E. 結論

ドナーからの末梢血幹細胞採取の臨床での実施については、検討すべき基礎的な課題がいまだに多く残されており、確実に解決してゆく必要がある



## 「URPBSCT認定施設の拡充」に関する研究

研究分担者 田中 淳司 北海道大学大学院医学研究科内科学講座 血液内科学分野 准教授

### A. 研究目的

非血縁末梢血幹細胞を採取するには医師に多大な負担がかかり、なおかつ認定施設にはドナーおよびレシピエントの安全確保のために様々な基準が設定されている。このため認定施設への申請施設は限られている。これらの問題点を調査・解決して本邦における非血縁末梢血幹細胞採取・移植認定施設の増加を目指すことを目的とする。

### B. 方法

今後の非血縁者間末梢血幹細胞移植数の予想を骨髄移植推進財団への希望ソース実績などを参考に行う。施設基準を満たしながらも、未申請の施設を対象に調査を行い、登録できない理由を調査するとともに、認定申請を要請していく。非血縁者間末梢血幹細胞移植の実施動向を見極め、非血縁者間末梢血幹細胞採取が全国のドナーを対象にできる施設配置を検討し、それを実現するための方策を立てる。

### C. 結果（2年目前期）

昨年度末の末梢血幹細胞採取施設は22施設に留まっていたが、施設基準を満たす施設を中心にアンケート調査を行ったりすることにより施設認定を積極的に進めた結果、36施設までに増加した。一方患者側の希望としてはどちらでもいいを含めても末梢血幹細胞の希望は23%に留まっていた。またドナー側の希望としては約9割が骨髄・末梢血どちらでも対応可という状況であった。

### D. 考察

各施設には採取に際する人員不足などの問題があるため、今後さらなる大幅な認定施設の拡充は困難であることが予想された。今までのところ登録患者のうち移植施設が末梢血幹細胞移植を希望する割合は予想よりは少ないため、現時点では対応が可能となっている。しかし本邦でも非血縁者間末梢血幹細胞移植施行症例数が増加し、経験が豊富になってくれば、その需要は増加すると思われる。またミニ移植などで末梢血幹細胞移植を必要とする患者は確実に存在するため、少なくともそのような患者に非血縁末梢血幹細胞移植を受ける機会を提供すべく今後も施設の拡充をする必要がある。

### E. 結論

現在でもまだ非血縁者間末梢血幹細胞採取の認定施設は限られており、希望する患者とドナーにその機会を提供できるように今後とも認定施設を拡充していく必要がある。

## 「URPBSCT と URBMT の比較研究」の遂行

研究分担者 長藤 宏司 久留米大学医学部 血液・腫瘍内科 准教授

### A. 研究目的

2010 年末より、本邦で非血縁同種末梢血幹細胞移植(UPBSCT)が可能となった。従来行われてきた非血縁同種骨髄移植 (UBMT) に対する UPBSCT の相対的な位置づけを明らかにする。

### B. 研究方法

UPBSCT と UBMT に関する報告の検証を行い、併せて本邦の UPBSCT の現状を評価し、UBMT との比較方法を検討する。

(倫理面への配慮)

「世界医師会ヘルシンキ宣言」(2004 年 10 月改訂版) 及び「臨床研究に関する倫理指針」(平成 16 年厚生労働省告示第 459 号) に従う。

### C. 研究結果

血縁者間では、本邦からの報告で、PBSCT と BMT を比較して、PBSCT で急性 GVHD および慢性 GVHD の頻度および重症度が増加する、標準危険群の白血病では PBSCT の全生存率が BMT より有意に劣る、との報告があるが、これは海外との報告と必ずしも一致しない。NMDP からは、UPBSCT と UBMT のランダム化多施設試験 CTN0201 試験の結果が報告され、同等の全生存率が報告された。UPBSCT で慢性 GVHD が増加することが問題であり、GVHD 予防および治療について改良が必要である。今後、本邦における UPBSCT が至適化された時点で、UPBSCT と UBMT の比較を行う必要がある。そのために相当数の UPBSCT と UBMT を比較する必要があるが、UPBSCT 開始後 2 年を経過して、実施症例数が 10 名であり、現時点で今後の症例数予測が困難のため、前向きな比較研究を計画することが困難な状況である。

### D. 考察

本邦ですでに確立した医療として行われている UBMT に対する UPBSCT の位置づけを明らかにする必要がある。今後 UPBSCT の症例数が増加すること、本邦で行われる UPBSCT のデータを詳細にかつ早期に解析公表し、UPBSCT の至適化を早期に行うことが、UPBSCT の増加につながるかと期待される。その時点で UPBSCT と UBMT の位置づけを明らかにする臨床試験を行う必要がある。

### E. 結論

UPBSCT の症例数が少なく、現時点で UPBSCT と UBMT の前向き割り付け臨床試験は困難な状況である。UPBSCT の症例数の増加とその症例の適切な評価および改良を行い、その後で UBMT との比較を行う必要がある。

## 「ECPの導入と有用性の検討」に関する研究

研究分担者 岡本 真一郎 慶應義塾大学医学部内科学 教授

### A. 研究目的

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。

### B. 方法

本邦におけるステロイド抵抗性の急性および慢性のGVHDの頻度および予後を調査し、ECPを必要とする患者数を算定する。本邦への導入方法について、厚生労働省、ECP関連業者と調整を行う。欧米の使用状況。紫外照射に試用するソラレンの体内動態についてなどを調査する。決定された方法（治験、医師主導、高度先進など）に従い班員施設を中心に、治験を行い、本邦への導入を図る。

### C. 結果（2年目前期）

「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ものの、UVADEXという本邦未承認薬剤について、薬事として治験をする必要があるかについて厚生労働省医療機器審査課と打合を重ねた。調査によりUVADEXはex-vivoで使用され、体内に入る量はわずかであり血中濃度は極めて低いことが明らかになった。UVADEXはTherakos機器の入っている施設のみに提供されるよう、医薬品市販承認取得者により流通が管理され、Therakosの治療にのみ使用されるよう監視すること、学会からUVADEXの適正使用、適正管理に関するガイドライン等を提示することを前提に、医療機器としてECP療法について総合的な評価（安全性と有効性）をする治験届けを提出し、メトキサレン（医薬品）としての治験とはならないこととなった。

### D. 考察

ECPは医療機器でありながら、UVADEXという薬剤を対外で使用し、その一部は体内に入る。この安全性について、当局から確認を求められている。調査の結果は、上記のように体内に入る量は極めて微量であり、経口剤としてすでに本邦で使用されている薬剤であることより、その安全性は高いものと考えられるが、治験においては、血中濃度の測定を含め、薬剤として作用がないことを確認することが重要である。

### E. 結論

欧米で保険診療のもとで行われているGVHDの治療法の多くが本邦では未承認であり、GVHDが問題となるURPBSCTの導入にあたり、これらの治療法の導入が強く求められている。

## 「血液細胞の品質管理向上をめざした基盤整備」に関する研究

研究分担者 豊嶋 崇徳 北海道大学大学院医学研究科内科学講座血液内科学分野 教授

### A. 研究目的

末梢血幹細胞移植の安全性をさらに向上させるため、日本造血細胞移植学会、日本輸血細胞治療学会により作成された「院内における血液細胞処理指針」に基づいた幹細胞採取、細胞処理、凍結、移植のプログラムを幹細胞採取施設、移植施設へ導入し、これを検証するシステムを導入することを目的とする。国際的にも WHO の協力のもとで、WBMT において造血幹細胞移植に関わる細胞の扱いについての国際基準の作成に向けての作業が開始されたところでもあり、このような国際的な動向とも歩調をあわせていく。これにより、将来的な末梢血幹細胞の国際間での提供にわが国も貢献できる体制を作る。

### B. 方法

非血縁者間末梢血幹細胞採取認定において「院内における血液細胞処理指針」の遵守がなされているか検証するシステムを作成する上での問題点と国際的な動向を調査する。最終的には非血縁者間末梢血幹細胞採取認定における「院内における血液細胞処理指針」の遵守について、相互監査を含む監査機構を確立する。

### C. 結果（2年目前期）

学会が出した「院内における血液細胞処理指針」を非血縁者間末梢血幹細胞採取認定施設で行われているか検証するシステムを作成中である。

### D. 考察

非血縁者間末梢血幹細胞採取認定基準の中に「院内における血液細胞処理指針」にそった対応ができているかのチェック項目をいれたことにより、現在までに認定された施設では対応可能であったことが明らかにされた。今後、より広い項目への対応を求めていく際に役立てたい。WBMT での会合により、わが国の細胞処理の現状と国際的な状況の比較ができた。

### E. 結論

今後、より具体的で深い取り組みを行うための現状調査ができつつある。

研究分担者 西田 徹也 名古屋大学医学部附属病院 血液内科 助教

#### A. 研究目的

①末梢血幹細胞採取で採取される細胞に豊富に含まれる免疫担当細胞を利用した養子免疫療法実施に向けた研究を進める。骨髄バンクや臍帯血バンクの細胞の二次利用に関する規則策定については、日本骨髄バンク医療委員会、日本さい帯血バンクネットワークと協力して提言を行う。

②成人難治性血液悪性腫瘍に対する非血縁者間臍帯血移植の有効性を評価し、非血縁者間骨髄移植との前方視的な比較を行う。

#### B. 研究方法

①現在、骨髄バンクにおいて「臨床研究を伴うドナーリンパ球輸注(DLI)申請」が承認されているが、実際の申請は僅かであるため、その問題点について検討し、申請条件の見直しを行う。また、今後の末梢血幹細胞採取で採取された細胞の二次利用へのルール策定における課題を検討する。

②再発高リスク血液悪性疾患患者で適切な血縁・非血縁ドナーが得られない患者を対象にした臍帯血移植の多施設共同臨床第Ⅱ相試験「成人難治性血液悪性腫瘍に対する非血縁者間臍帯血移植の有効性に関する研究」を実施している。

#### C. 結果

①末梢血幹細胞採取で採取される細胞中の免疫担当細胞を利用した養子免疫療法を行う際の審査基準として、現在骨髄バンクで承認されている「臨床研究を伴うDLI申請」条件が基盤となる。2010年7月にその申請条件が決められたが、これまでに提出された申請は3例のみである。その申請条件の中には、DLI実施施設だけでなく、採取施設内での倫理委員会承認などかなりの時間を要するものが含まれている。さらに、養子免疫療法においては、細胞培養を行うため輸注までにさらに時間を要するため、治療が必要なときに直ぐに細胞輸注を行うことが困難である。この問題を解決するために、申請から採血までの時間を短縮する必要があり、以下の変更を日本骨髄移植推進財団医療委員会に提言した。

- ・財団の倫理委員会など適切な場で、臨床研究について検討し承認を得る。
- ・財団で承認が得られた臨床研究のためのDLI用採血に、採取施設内での倫理委員会承認は不要とする。
- ・DLI用の説明同意文書に臨床研究として用いる可能性があることを追記、通常のDLIも臨床研究を伴うDLIの場合も同一の説明同意文書を用いる(ドナーに対するDLIの説明・同意文書の変更案を提出)。

②臨床試験の参加施設は全国44施設で、予定登録症例数60例のところ、現在40例まで登録がすすんでいる。この6ヶ月で仮登録20例、本登録4例。

#### D. 考察

①現在のDLI申請条件として、ドナーからの末梢血採取施設内の倫理委員会においても臨床研究の承認が必要となっているが、骨髄バンクの倫理委員会で承認を得ることで採取施設内倫理委員会での承認を不要とし、採取施設の負担を軽減するとともに採取までの時間の短縮を図る必要がある。

現在、必要以上に末梢血幹細胞が採取できた場合に、一部を凍結保存しDLI等に使用することが可能であるが、今後、養子免疫療法への二次利用に向けて凍結保存の条件などの検討が必要である。

②非血縁骨髄と臍帯血が代替幹細胞源として選択されることが多いが、それらの前方視的比較試験は無く、また、臍帯血移植を実施する際の最適な時期などは明らかになっておらず、現在進行中の臨床試験から得られる結果は非常に重要である。

#### E. 結論

①臨床研究を伴うDLI申請条件の変更を行い、今後、末梢血幹細胞採取で採取された細胞の二次利用に関する規則策定に向けての準備を進める。

②現在進行中の「成人難治性血液悪性腫瘍に対する非血縁者間臍帯血移植の有効性に関する研究」を早期に完遂し、臍帯血移植の有効性を明らかにする。

卵膜由来間葉系幹細胞を用いた  
難治性疾患に対する  
新規移植再生療法の開発

## 卵膜由来間葉系幹細胞を用いた難治性疾患に対する新規移植再生療法の開発に関する研究

研究代表者 池田智明 二重大学医学部産科婦人科学・教授  
国立循環器病研究センター・周産期婦人部・客員部長

研究分担者 高原史郎 大阪大学大学院医学系研究科・先端移植基盤医療学・教授  
丸井晃 京都大学医学部附属病院・探索医療センター・准教授  
相馬俊裕 兵庫医科大学医学部・血液内科・准教授  
田口明彦 先端医療センター・再生医療研究部・部長  
大西俊介 北海道大学大学院医学研究科・消化器内科学分野・助教  
山原研一 国立循環器病研究センター・再生医療部・室長

### A. 研究目的

近年、骨髄や脂肪組織などに存在する間葉系幹細胞（MSC）を用いた再生医療応用研究が行われている。我々は以前から MSC の組織再生作用に着目し、難治性心筋梗塞モデルにおける脂肪 MSC 移植の治療効果を証明し（Nat Med 12:459-65,2006）、更に、難治性心不全患者に対する自己骨髄 MSC 移植の臨床応用研究（臨床試験登録:UMIN00000656）でその組織再生効果を確認している。しかしながら、自己骨髄 MSC の樹立は、1）その採取に侵襲を伴う、2）移植細胞数を確保するための培養期間が必要、3）重症患者あるいは骨髄疾患などの場合は不適、といった問題点がある。これら問題を解決すべく、我々は通常破棄され倫理的問題の少ない胎児付属物である卵膜から MSC の樹立に成功し、その移植による血管再生効果は骨髄由来 MSC に匹敵することを証明した（Stem Cells 26:2625-33,2008）。

一方、組織再生を目的とした研究が進んできた MSC 移植であるが、最近はその免疫調節作用が注目され、骨髄移植における急性移植片対宿主病（GVHD）予防では臨床応用研究が開始されている（Lancet. 371:1579-86,2008）。しかしながら、組織再生同様、骨髄 MSC を中心とした研究が主体であり、卵膜 MSC による免疫制御の可能性を考慮した研究は進んでいない。特に卵膜 MSC は他家移植が想定されるため、骨髄などの自己 MSC と比較し、ホスト側の免疫反応により治療効果が異なる可能性が考えられる。しかしながら、卵膜を含む胎児付属物は免疫原性が低いことから（Circulation 112:214-23,2005）、他家卵膜 MSC 移植は自己骨髄 MSC 同様の免疫調節効果を示す可能性がある。これまでに我々は、心筋炎や腎炎モデルにおいて、自己骨髄 MSC のみならず、他家同種卵膜 MSC による移植治療効果を確認している（J Mol Cell Cardiol. 49:753-61 2010, Am J Physiol Renal Physiol. 299:F1004-13 2010）。

そこで、我々は、新たな細胞移植ソースである卵膜 MSC に着目し、1）その免疫調節作用を細胞レベルにて検証する、2）研究分担者が得意とする各種難治性疾患モデルにおいて卵膜 MSC 移植による治療効果を免疫調節・炎症抑制の観点から検証し、各種難治性疾患に対する新規細胞移植療法開発を目指した基礎的研究を開始した。

### B. 方法

- I. 卵膜 MSC 移植の臨床応用を目指した動物モデルを用いた前臨床研究：昨年度に引き続き、各研究分担者が専門とする動物モデルを用いた卵膜 MSC 移植研究を行った（詳細は各分担研究者抄録参照）。①ラット腎虚血再灌流モデルにおける卵膜 MSC 移植による治療効果検討（高原）
- ②ラット体外循環モデルにおける卵膜 MSC 移植による治療効果検討（丸井）
- ③マウス GVHD モデルにおける臍帯・卵膜 MSC 移植による治療効果検討（相馬）
- ④ラット難治性炎症性消化器疾患モデルにおける卵膜 MSC 移植による治療効果検討（大西）
- ⑤ラット自己免疫性心筋炎モデルにおける卵膜 MSC 移植による治療効果検討（山原）

II. 卵膜 MSC の製剤化とそれを用いた急性 GVHD に対する臨床応用研究: 卵膜 MSC 移植の早期臨床応用を目指し、骨髄 MSC で先行している急性 GVHD に対する細胞治療の準備を開始した (池田、相馬、田口、山原)。

## C. 結果

### I. 卵膜 MSC 移植の臨床応用を目指した動物モデルを用いた前臨床研究

高原らは、腎移植時に必発する腎虚血再灌流障害における移植卵膜 MSC の治療効果メカニズムを検討したところ、IL-10 産生増加を介した T 細胞およびマクロファージ浸潤抑制が関与していることを見いだした (2012 年再生医療学会にて発表、論文投稿中)。丸井らは、体外循環を用いた心臓手術後に生じる全身炎症に対する卵膜 MSC の治療応用の可能性を検討し、卵膜 MSC 移植による炎症性サイトカイン産生抑制と肺障害改善効果を見いだした (2012 年米国心臓協会学術集会にて発表)。相馬らは、GVHD モデルを用い、既報の骨髄 MSC 同様臍帯 MSC が GVHD に対する治療効果を有することを証明した (Cytotherapy. 2012;14(4):441-50)。大西らは骨髄 MSC では既に治験が始まっているクローン病を含む炎症性腸疾患モデルの他、急性膵炎モデルや放射性腸炎モデルにおいて卵膜 MSC 移植がこれら病態での高サイトカイン状態を改善することで改善をもたらすことを見いだした。山原らは、自己免疫性心筋炎モデルでの卵膜 MSC 移植による治療効果メカニズム解析を行い、それがヘルパー T 細胞の分化抑制によるものであることを明らかにした (J Mol Cell Cardiol. 2012;53(3):420-8)。

### II. 卵膜 MSC の製剤化とそれを用いた急性 GVHD に対する臨床応用研究

先行して行われている急性 GVHD に対する骨髄 MSC 治験を参考に、卵膜 MSC の製剤化を目指した検討を開始した。具体的には、(1)国立循環器病研究背端-セルプロセッシングセンター (CPC) を GMP 準拠にするための文書(管理基準書)作成、(2)製剤化工程の文書(製品標準書・SOP)化、(3)培養工程の簡素化、大量培養方法の樹立、品質管理方法の確立、等を行った。また、医薬品化をみすえ、PMDA の薬事戦略相談にて細胞製剤化に関し、事前面談を行った (平成 24 年 10 月 25 日)。更に、急性 GVHD に対する卵膜 MSC の臨床応用研究に関し、国立循環器病研究センター倫理委員会に申請し (平成 24 年 11 月 16 日現在継続審査中)、また、先進医療 B への早期移行を目指し、厚労省研究開発振興課高度医療係との事前相談を行った (平成 24 年 9 月 19 日)。

## D. 考察

MSC に関し、これまではその細胞移植による組織再生効果が研究されてきたが、近年 MSC 移植は骨髄移植後の GVHD やクローン病など、免疫破綻を伴う難治性疾患に対する新たな治療法として報告され、患者の免疫寛容・炎症抑制を誘導することが注目されている。通常 MSC は骨髄由来が用いられており、免疫制御に関しても骨髄由来 MSC を用いた報告が多いが、その採取は侵襲を伴い、また移植細胞数を確保するには一定の培養期間が必要であり、また重症患者や骨髄疾患などの場合は不相当といった問題点がある。そこで、我々は通常破棄されることから倫理的問題が少ない卵膜に着目し、卵膜から MSC が樹立できること、一度に大量の MSC を確保できることを証明してきた。これまでの本研究事業での成果から、各種難治性疾患に対する卵膜 MSC 移植が、組織保護・免疫・炎症調節作用を有することを我々は明らかにし、各学会および雑誌にてその成果を報告した。今後も、各分担研究者が専門とする各種難治性疾患モデル動物において、卵膜 MSC 移植による治療効果検証を続けていく。

また、今年度からヒト卵膜 MSC を用いた細胞治療の早期臨床応用を目指した研究を開始した。米国 Osiris 社は同種骨髄 MSC を製剤化し、急性 GVHD に対する治療薬としての治験を欧米中心に展開しており、今年カナダにおいて小児に限って承認を受けている。日本においても日本ケミカルリサーチ社が治験を行っている。そこで、同治験参加者を研究分担者に迎え、卵膜 MSC の製剤化とその急性 GVHD への細胞治療応用研究をスター



トさせた。体制としては、細胞製剤化を国立循環器病研究センターCPCにて行い、その治療応用は兵庫医科大学血液内科にて行うことにした。細胞製剤化に関しては、国立循環器病研究センターCPC 運営委員会において承認を受け、現在同倫理委員会にて継続審査中である。細胞治療に必要な細胞数が  $10^{10}$  個オーダーと大量培養を必要とすることから、製造工程の簡素化を行い、また、品質管理に関しても外部機関に委託するなど、安全性に配慮している。将来的な医薬品化を目指し、PMDA 薬事戦略相談にて事前面談を行い、MSC 製剤化に係る省令等の確認を行った。治療応用に関しては、兵庫医科大学にて研究計画書を作成しているが、早期の先進医療 B 申請を目指し、厚生労働省との事前相談を踏まえ phase I 試験のみを先行させる予定である。

尚、本研究は、なお、本研究はヒト幹細胞を用いるが、現行の「ヒト幹指針」が臓器や組織の再生を目的とした研究を対象としており、本研究は同指針に該当しない旨をヒト幹細胞臨床研究対策専門官から得ており、来年早々に臨床研究が開始可能と考えている。

## E. 結論

これまでの研究から、腎虚血再灌流、体外循環、GVHD、炎症性腸疾患、心筋炎といった難治性病態において卵膜 MSC 移植が治療効果を示すことが明らかとなった。MSC 移植による治療効果は、従来考えられていた組織再生よりも、組織保護、免疫制御、抗炎症効果である可能性が高く、今後他の難治性疾患モデルを含めて治療効果メカニズム検証を継続していく。

我々がこれまで報告してきた卵膜 MSC のメリットは、元々が医療廃棄物であること、骨髄 MSC と比較して初代培養から大量の細胞を得られることから、低コスト・短期間に MSC を樹立できることである。我々は卵膜 MSC 移植が組織保護のみならず、免疫破綻や炎症疾患を含む難治性疾患に対する安全・普遍的・効果的な新規移植療法となりうると考えており、今後も卵膜 MSC 移植の臨床応用を目指した前臨床・臨床研究を推進していきたい。

研究分担者 高原史郎 大阪大学大学院医学系研究科・先端移植基盤医療学・教授

研究協力者 津田秀年 国立循環器病研究センター・再生医療部・流動研究員

## A. 研究目的

腎移植において虚血再灌流障害は不可避の問題であり、移植腎の機能や生着率に影響するため、できるだけ軽減する必要がある。虚血再灌流障害は炎症がその病態本質であり、その要のT細胞やマクロファージ制御が治療につながると考えられている。そこで、免疫・炎症抑制効果をもつ卵膜由来間葉系幹細胞（MSC）移植による腎虚血再灌流障害に対する有効性を検討した。

## B. 方法

腎虚血再灌流障害モデルは、6週齢雄 Lewis ラットの右腎を摘出後、左腎動脈を60分間結紮することにより作成した。再灌流時にMHCハプロタイプ異なるACIラット由来卵膜MSC（ $5 \times 10^5$ 個）を尾静脈より投与した。その後、6,12,24,72時間後に生化学的・病理学的評価、更に各種サイトカイン測定を行った。

## C. 結果

再灌流24時間後、血中尿素窒素およびクレアチニンの顕著な増加がみられたが、卵膜MSC移植により有意な改善を認めた。組織学的検討では、再灌流24時間後での虚血再灌流に伴う尿細管障害が認められたが、卵膜MSC移植により軽減した。また、尿細管におけるアポトーシスも細胞移植により有意に抑制された。T細胞マーカーであるCD3に対する免疫染色では、再灌流6および12時間後において、再灌流に腎間質におけるT細胞浸潤は卵膜MSC移植により有意に抑制された。同様にマクロファージマーカーであるCD68(ED-1)に対する免疫染色では、再灌流12,24,72時間後において見られた腎間質における著明なマクロファージ浸潤が卵膜MSC移植により有意に抑制された。定量的RT-PCR解析では、炎症性サイトカインであるIL-6やMCP-1の腎臓における遺伝子発現が虚血再灌流により増加を認め、卵膜MSC移植により有意に抑制した。さらに各種血中サイトカインを検討したところ、卵膜MSC移植により抗炎症性サイトカインであるIL-10の増加を認めた。そこで、腎虚血再灌流障害ラットに卵膜MSCと抗IL-10抗体を併用して投与したところ、卵膜MSC移植による腎機能改善効果は減弱された。

## D. 考察

本モデルにおいて、卵膜MSCによる腎機能および組織障害の改善が認められた。また腎間質におけるT細胞およびマクロファージの浸潤を抑制したことより、炎症抑制による腎機能・組織障害の改善が示唆された。この卵膜MSC移植による効果は、IL-10が重要な因子の一つであり、今後その効果発揮メカニズムを解析する予定である。

## E. 結論

本実験により卵膜MSCは、腎虚血再灌流において組織保護および炎症調節作用を有することが明らかになり、腎移植における新たな炎症制御・免疫抑制薬となり得ると考えられた。

## 卵膜由来間葉系幹細胞を用いた体外循環後の全身炎症に対する治療効果に関する研究

研究分担者 丸井 晃 京都大学附属病院・探索医療センター・准教授  
研究協力者 瀧 智史 京都大学医学部研究科・心臓血管外科・大学院生  
船本成輝 京都大学医学部研究科・心臓血管外科・大学院生

### A. 研究目的

体外循環（CPB）を用いた心臓手術後の強い全身炎症は種々の臓器障害を招くことが知られており、原因の一つが高サイトカイン血症とされている。特に全身炎症に伴う急性肺障害は未だに高い死亡率につながり、有効な治療法がないのが現状である。我々はこれまでに心筋炎や腎炎において、他家卵膜由来間葉系幹細胞（FM-MSC）移植が、その抗炎症効果により臓器保護に働くことを証明しており、今回ラット CPB モデルを用いて、FM-MSC による全身炎症ならびに肺障害抑制効果の検討を行った。

### B. 方法

Lewis ラットを Sham 群（カニューレションのみ）、Control 群（CPB のみ）、MSC 群（CPB + FM-MSC）に分け、CPB はオリジナルに作成した回路システムを用いて 50ml/kg/min の flow で 30 分間維持した。MSC 群は、Lewis ラットと MHC ハプロタイプの異なる ACI ラット由来 FM-MSC を CPB 開始前に  $1 \times 10^6$  個経静脈的に移植した。CPB 終了 1 時間後に血清、肺、脾臓を採取し、炎症性サイトカイン値の測定ならびに病理学的評価を行った。

### C. 結果

MSC 群では、CPB 終了 1 時間後の血清サイトカイン値（TNF- $\alpha$ 、IL-6）が Control 群に比し有意に減少し、肺・脾臓における TNF- $\alpha$  および IL-6 mRNA 発現も有意に低かった。病理組織学的検討では、FM-MSC 移植による肺胞形態の維持と好中球浸潤の抑制が認められた。

### D. 考察

ラット CPB モデルにおける FM-MSC 移植は全身炎症ならびに肺障害を抑制し、他疾患モデル同様、移植 FM-MSC による TNF- $\alpha$  や IL-6 産生抑制を介した機序が示唆された。今後、体外循環後長期観察モデルにおける効果の検討や、抗炎症効果の詳細なメカニズム解析を行っていく計画である。さらに体外循環後の腎障害に対する治療効果に対しても実験準備中である。FM-MSC の他家移植が長期体外循環使用心臓手術に伴う合併症の回避および生存率の向上に期待できると考え、臨床応用に向けて研究を進めていきたい。

### E. 結論

卵膜由来間葉系幹細胞移植により体外循環後全身炎症ならびに肺障害を抑制することがラットモデルにて示され、今後のさらなる実験にて、臨床応用できる新しい抗炎症、臓器保護効果を期待できる。

研究分担者 相馬俊裕 兵庫医科大学 准教授  
研究協力者 井上貴之 兵庫医科大学 病院助手

## A. 研究目的

羊膜及び臍帯由来 MSC の臨床応用に向けた前臨床動物実験情報、および効果・安全性情報の作成を目的とする。羊膜由来 MSC に関し、既にヒト-ヒトリンパ球の抑制試験は示されているが、GVHD の抑制能に関し適切な動物モデルがないため、現在作成中である。GVHD モデルに関し異種移植系にする理由は、①マウス由来羊膜 MSC が培養できないこと、②マウス-マウス間の GVHD にマウス骨髄由来 MSC が明確な抑制作用を示さないことから、モデルとして不適切であるからである。

## B. 方法

### ①GVHD 抑制モデル作成

#1 マウス-マウス間の GVHD モデルに対するヒト羊膜由来 MSC の延命効果モデルの作成 (異種モデル) : B6C3F1 マウスに B6 由来骨髄+脾臓細胞を移植し GVHD モデルを作成するが、この際 GVHD 治療として 0, 1, 2, 3, 4 週に臨床相当量の  $1 \times 10^6$  個/kg の臍帯、卵膜由来 MSC を静注し、GVHD 防御効果を見る

#2 ラット由来羊膜 MSC を用いたラット-ラット間 GVHD の抑制モデル作成 : ラット由来卵膜 MSC を用いて GVHD の抑制効果を見る

### ②羊膜由来 MSC、臍帯由来 MSC の静注毒性の検証

#### ○羊膜・臍帯由来 MSC の臨床使用に向けての準備

マウスに対して、ヒト羊膜由来 MSC を臨床使用に相当する質 (凍結融解時 90%以上の生存率)  $2 \times 10^6$ /kg の量を 1 週 1 回、計 4 回を 20 匹に静注したが、一度も静脈注射により死亡、状態急変したマウスは観察されなかった。したがってこの量で安全に静注使用できると期待される。

臍帯由来 MSC の GVHD モデルでの検証はすでに論文発表しているが、現在再実験を行っている。これは、論文ではパッセージ 0 (P0) の細胞を用いていたが、ロット安定性を考え、臨床では P2-3 を用いる予定であることに対する確認行為である。また P2-3 の細胞で何らかの品質管理 (QC) を行い臨床使用する。

### ③臍帯・卵膜由来 MSC の QC 項目の作成

表面マーカー発現の確認と合わせ、採取臍帯、卵膜由来 MSC の性能を MLC の抑制効果で決定することを考えている。MLC が直接 GVHD 抑制のパラメータになりうるかという点は疑問が残るが今のところ適切なアッセイ系がないので、MLC 採用を検討中である。すでに臍帯由来 MSC で同種末梢血単核球の MLC の抑制能を確認している。

## C. 結果

静注毒性は羊膜、臍帯、絨毛膜由来 MSC の繰り返し静注で観察されなかった。GVHD 抑止効果は現在、モデル作成中である。MSC ロットの品質管理 (QC) は MLC を採用する。