

201441010A

厚生労働科学研究 **委託費**

難治性疾患等実用化研究事業

造血幹細胞移植に用いる細胞の  
安全な処理・保存・品質管理体制の確立に関する研究

平成26年度

**委託業務成果報告書**

研究代表者 田野崎 隆二

(独立行政法人国立がん研究センター中央病院輸血療法科)

平成27(2015)年 3月

本報告書は、厚生労働省の厚生労働科学研究委託事業（難治性疾患等実用化研究委託事業（免疫アレルギー疾患等実用化研究事業 移植医療技術開発研究分野））による委託業務として、独立行政法人国立がん研究センター（理事長 堀田知光）が実施した平成26年度「造血幹細胞移植に用いる細胞の安全な処理・保存・品質管理体制の確立に関する研究」の成果を取りまとめたものです。

# 目 次

I. 総括研究報告	
造血幹細胞移植に用いる細胞の安全な処理・保存・品質管理体制の確立に関する研究	2
田野崎隆二	
(資料) 技術講習会(テクニカルセミナー)の開催と細胞処理テキスト発刊に関する資料	
II. 分担研究報告	
1. 骨髄有核細胞数測定法の研究・新規造血幹細胞算定法(HPC)の開発に関する研究	13
高梨 美乃子	
(資料) 有核細胞数および生細胞数測定についてのアンケート調査計画書 新規末梢血幹細胞測定法 (HPC)	
2. CD34陽性細胞数測定法の標準化に関する研究	20
奥山 美樹	
3. 細胞調製認定管理師制度導入に向けて	23
長村 登紀子(井上登紀子)	
半田 誠	
(資料) 細胞治療認定管理師 制度規則 細胞治療認定管理師制度テキスト案	
4. 末梢血造血幹細胞採取における臨床多施設共同研究	40
大戸 斉	
5. 造血幹細胞移植における造血幹細胞輸注時有害事象の実態調査	43
大戸 斉	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	45

平成 26 年度厚生労働科学研究委託費（免疫アレルギー疾患等実用化研究事業）  
総括研究報告書  
造血幹細胞移植に用いる細胞の安全な処理・保存・品質管理体制の確立に関する研究  
（H26－難治等（免）－一般－105）

研究代表者：田野崎 隆二 国立行政法人国立がん研究センター中央病院 輸血療法科長

## 研究要旨

造血幹細胞移植に用いる細胞の処理・保存・品質管理は移植の成否に極めて重要である。欧米ではFACT-JACIE指針に基づき施設監査が義務付けられているのに対し、本邦関連学会が策定した末梢血幹細胞の「動員・採取ガイドライン」および「院内における細胞処理に関する指針」は強制力に乏しい。安全な移植を確保するための体制整備は喫緊の課題である。

そこで、本研究の目的は、網羅的に造血幹細胞移植に用いる細胞の安全な処理・保存・品質管理体制を確立することである。

本研究は日本輸血・細胞治療学会の細胞治療委員会を中心に以下の研究グループを組織して3年間の予定で今年度より開始した。すなわち、1) 自動血球分析装置による新規造血幹細胞測定法(HPC)の開発・応用、2) CD34陽性細胞数測定法の標準化、3) 末梢血造血幹細胞採取（アフエレーシス）機種の評価、4) 骨髄有核細胞数測定の標準化、5) 造血幹細胞輸注時の有害事象監視、6) 末梢血造血幹細胞採取および「院内における細胞処理の指針」の周知度調査と改訂、7) 細胞治療認定管理師制度の確立、8) 技術講習会の開催と細胞処理テキストの発刊である。

1) 新規造血幹細胞測定法では、従来法（CD34陽性細胞数）とHPC数を、同一検体を用いて比較する多施設共同評価研究を実施し、現在解析中である。また、薬事承認申請準備中である。2) CD34陽性細胞数測定については、前述の多施設HPC研究におけるデータをもとに、CD34陽性細胞数の施設間差について解析中である。また、日本臨床検査標準協議会（JCCLS）および関連学会・団体・メーカー等と協議しつつ、我が国におけるCD34陽性細胞数測定の現状把握、ガイドライン作成等の準備をした。3) 採取装置の機種の評価では、COBE SpectraとOptiaの2種類の性能を多施設で比較検討する臨床試験が開始され、所期の登録患者数に来年度初めには到達する予定。4) 骨髄有核細胞数測定法は多施設アンケート調査が実施されている。5) 造血幹細胞輸注時の有害事象監視では、前方視研究を進行中で、1年目では300例以上の症例が登録されたが、1000例を目標として進行中である。6) 幹細胞採取および処理・管理に関するガイドライン改訂については、次年度アンケート調査等を計画している。7) 細胞治療認定管理師制度については、関連学会と協議し、体制作りと規則・細則を作成した。次年度より、申請を受付、セミナーや認定を開始する。テキスト作成中。8) 技術講習会は、第62回日本輸血・細胞治療学会総会（奈良県開催）で実施し、次年度総会（東京開催）でも開催予定。また、「造血幹細胞移植の細胞取り扱いに関するテキスト（初版）」を関係団体より次年度早々に発刊する予定。全国の移植に携わる医療スタッフが学会ウェブサイト等より無償でダウンロードできるようにする。

### 研究分担者

1. 高梨美乃子 日本赤十字社 副本部長
2. 奥山 美樹 東京都立駒込病院 部長
3. 長村登紀子 東京大学医科学研究所 準教授
4. 半田 誠 慶應義塾大学医学部 教授
5. 大戸 斉 福島県立医科大学 教授

### A. 研究目的

造血幹細胞移植に用いる細胞の処理・保存・品質管理は移植の成否に極めて重要である。欧米では FACT-JACIE 指針に基づき施設監査が義務付けられているのに対し、本邦関連学会が策定した末梢血幹細胞の「動員・採取ガイドライン」および「院内における細胞処理に関する指針」は強制力に



乏しい。安全な移植を確保するための体制整備は喫緊の課題である。

そこで、本研究の目的は、網羅的に造血幹細胞移植に用いる細胞の安全な処理・保存・品質管理体制を確立することである。

## B. 研究方法および進捗状況

本研究は日本輸血・細胞治療学会の細胞治療委員会を中心に以下の研究グループを組織して3年間の予定で今年度より開始した。すなわち、1) 自動血球分析装置による新規造血幹細胞測定法(HPC)の開発・応用、2) CD34 陽性細胞数測定標準化、3) 末梢血造血幹細胞採取(アフエーシス)機種の評価、4) 骨髓有核細胞数測定の標準化、5) 造血幹細胞輸注時の有害事象監視、6) 末梢血造血幹細胞採取および「院内における細胞処理の指針」の周知度調査と改訂、7) 細胞治療認定管理師制度の確立、8) 技術講習会の開催と細胞処理テキストの発刊である。

### 1) 新規造血幹細胞測定法(田野崎、高梨)

末梢血造血幹細胞移植においては十分量の造血幹細胞を移植(輸注)することが、移植の成否に大きく影響する。造血幹細胞測定法としては、現在、フローサイトメトリー法によるCD34 陽性細胞数が広く用いられているが、1回の測定に1~2時間要し、試薬が高価で、技術的にも難しく、少なくともわが国では標準化されていない。研究代表者らは自動血球分析装置で安価に少量の検体から5分以内に全自動で測定できる新規造血幹細胞測定法(HPC)を企業と共同開発した。その有用性を評価する目的で、従来法(CD34 陽性細胞数)とHPC 数を、同一検体を用いて比較する多施設共同評価研究を実施した。計約100例が登録・測定を終了し、解析中である。また、本測定法の薬事承認申請を準備中である。

### 2) CD34 陽性細胞数測定法の標準化(奥山)

適正なCD34 陽性細胞数測定は、既に述べたように、造血幹細胞移植に極めて重要であり、欧米では約20年前から外部精度評価による施設間差を減らす試みやガイドライン(ISHAGE 法)策定などが積

極的に実施されていた。けれども、わが国ではそのような施策はほとんど行われてこなかった。

我々は前述の多施設HPC 研究において、同時に測定したCD34 陽性細胞数の施設間差についても検討した。まず、参加5施設において、測定法(シングルプラットホーム法かデュアルプラットホーム法か、内部標準ビーズを用いるか否か、など)は様々であることが判明した。現在、CD34 陽性細胞数の施設間差について解析中である。

また、以前よりCD34 陽性細胞数測定法ガイドラインについて検討してきている日本臨床検査標準協議会(JCCLS)および関連学会・団体・メーカー等と協議して、本方法のわが国での標準化や外部精度評価体制の整備を検討する予定である。

### 3) 末梢血造血幹細胞採取機種の評価(大戸)

血液成分採取装置の特性を把握することは、安全な幹細胞採取において重要なことである。従来より広く用いられている採取装置と、新規にわが国に発売された採取装置の2種の機種を多施設で前方視的に比較検討した。ほぼ目標症例数に達したため、近く登録を終了し、解析を進める予定である。

### 4) 骨髓有核細胞数測定の標準化(高梨)

骨髓移植においては、移植(輸注)する骨髓有核細胞数は患者体重あたり $2\sim 3 \times 10^8$ 個の有核細胞数が、確実な生着に必要とされている。骨髓有核細胞数は以前からチュルク染色後に血球計算盤を用いて目算されていた。しかし、最近では自動血球分析装置による白血球数(WBC)で代用されていることが多い。けれども、目算では個人差が大きく、自動血球分析装置は通常骨髓細胞測定には対応しておらず、混入する脂肪的や骨片、多くの有核赤血球などの影響を受け、かなり誤差やばらつきがある印象がある。本研究では、まず多施設にアンケート調査を行い、骨髓バンクを介して他施設で採取され運搬される移植用骨髓液において、採取施設と移植実施施設間で、骨髓有核細胞数にどの程度の差があるかを評価する。その結果、測定の標準化や指針策定が必要かを検討していく。

#### 5) 造血幹細胞輸注時の有害事象監視(大戸)

通常の輸血においては、ABO・Rh 不適合輸血やそれによる溶血性副作用、発熱、アレルギー、輸血関連急性肺障害 (TRALI)、輸血関連循環過負荷 (TACO)、輸血後 GVHD、細菌感染症など、さまざまな副反応が知られている。骨髄や末梢血、臍帯血移植では、これらの幹細胞は、時に 1~1.5L と大量で、抗凝固剤(ヘパリン)が大量に含まれていたり、ヒトには認可されていない凍害保護薬(DMSO)や培養液(RPMI 1640)などの試薬が使用されていたり、凍結解凍による死細胞により凝集塊が輸注されたり、ABO 不適合であることを前提に移植されたりする。しかも、輸注のタイミングは、一般的に中~大量抗がん剤・放射線照射をうけて間もない時期である。このような状況なので、通常の輸血副作用に比較して、造血細胞移植の輸注有害事象は、より重篤なイベントがいつでも起こりうる状態である。けれども、移植に伴う危険性についてはあまり知られておらず、対策も立てられていない。

本研究では、これらの事象を前向きに評価し、造血幹細胞輸注に伴う有害事象の全体像を網羅的に調べる。1 年目では 300 例以上の症例が登録されたが、1000 例を目標として進行中である。

#### 6) 末梢血造血幹細胞採取指針および「院内における細胞処理のための指針」の周知度調査と改訂(田野崎)

日本造血細胞移植学会および日本輸血・細胞治療学会で策定した末梢血幹細胞採取ガイドラインおよび院内における細胞処理のための指針は定期的に見直されて改訂が必要である。これらは、本研究の母体となっている日本輸血・細胞治療学会が主体的に策定に関与したこともあり、本研究班ではこれらの使用状況などについてアンケート調査を実施し、必要に応じて改訂作業に取り掛かることを予定している。

#### 7) 細胞治療認定管理師制度の確立(長村、半田)

安全で品質管理して細胞治療を進めるために、細胞調製等を実際に行う技術者を養成・認定・支援することを目的として、日本輸血・細胞治療学会と日本造血細胞移植学会は、医療系の国家資格を有する学会員を対象として、細胞治療認定管理士認定

制度を設けることとした。初めに、本制度の規約を作成し、日本造血細胞移植学会と協議会を組織し、すでに今年度から認定制度を開始した日本再生医療学会とも意見交換をし、主に造血幹細胞移植における細胞処理・管理等の技術者を養成する

#### 8) 技術講習会の開催と細胞処理テキストの発刊(田野崎)

日本輸血・細胞治療学会では毎年総会時に細胞処理・管理・検査に関する技術講習会を開催し、安全・安定した技術の標準化を目指している。今年度中に学会からテキストを発刊することを目指している。

#### (倫理面への配慮)

本研究では個人情報の取り扱いが最小限としている。また、必要に応じて、いずれの研究においても施設内の倫理委員会承認のもとに実施している。

#### C. 研究結果

いずれの研究も、現在進行中である。詳細については、各分担研究者の項を参照されたい。

#### D. 考察

現在、多少の遅れはあるものの、ほぼスケジュール通りにいずれの研究も進行中である。次年度より少しずつ成果が出るのが期待される。

#### E. 結論

各プロジェクトがほぼ予定通りに進行中である。

#### F. 健康危険情報

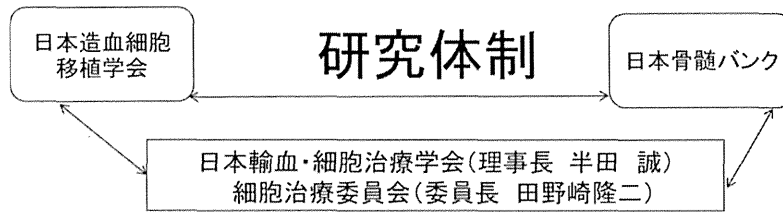
該当せず。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

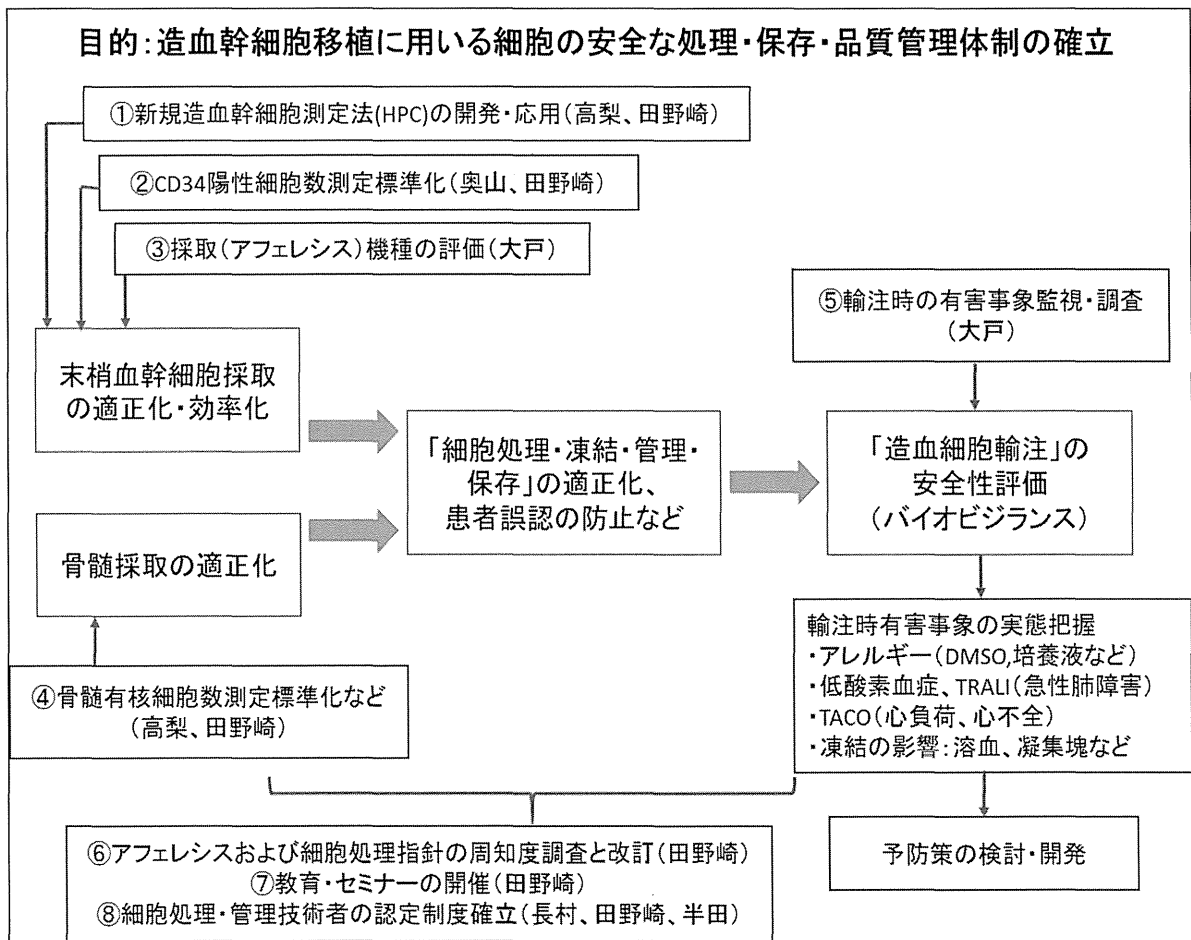
- 1) Kodera Y, Yamamoto K, Harada M, Morishima Y, Dohy H, Asano S, Ikeda Y, Nakahata T, Imamura T, Kawa K, Kato S, Tanimoto M, Kanda Y, Tanosaki R, Shiobara S, Kim SW, Nagafuji K, Hino M, Miyamura K, Suzuki R, Hamajima N, Fukushima M, Tamakoshi A, Halter J, Schmitz N, Niederwieser D, Gratwohl

- A. PBSC collection from family donors in Japan: a prospective survey. Bone Marrow Transplant. 2014;49:195-200.
- 2) Tanosaki R. Recent therapeutic strategy for hematologic disorders—hematopoietic stem cell transplantation. Overview. Rinsho Ketsueki. 2014;55:159.
- 3) 田野崎隆二. 特集:造血器疾患—最新の治療戦略(造血幹細胞移植)—オーバービュー. 臨床血液 2014;55:159
- 4) 黒澤彩子、森 文子、塚越真由美、山口拓洋、金 成元、藤 重夫、山下卓也、田野崎隆二、福田隆浩. 同種造血幹細胞移植後の長期フォローアップシステム:単施設の実現可能性調査. 日本造血細胞移植学会雑誌 2014;3:49-58
- 5) Maie K, Fuji S, Tajima K, Tatsuno M, Yamagata S, Takahashi N, Ueda R, Hashimoto H, Takano K, Inoue Y, Ito A, Hayashi Y, Okinaka K, Kurosawa S, Kim SW, Tanosaki R, Heike Y, Yamashita T, Fukuda T. A higher number of infused CD34+ cells has a positive impact on the clinical outcome after related PBSC transplantation. Bone Marrow Transplant. 2014;49:1113-5
- 6) Kawamata T, Ohno N, Sato K, Kobayashi M, Jo N, Yuji K, Tanosaki R, Yamano Y, Tojo A, Uchimaru K. A case of post-transplant adult T-cell leukemia/lymphoma presenting myelopathy similar to but distinct from human T-cell leukemia virus type I (HTLV- I)-associated myelopathy. Springerplus. 2014;3:581
- 7) Suehiro Y, Hasegawa A, Iino T, Sasada A, Watanabe N, Matsuoka M, Takamori A, Tanosaki R, Utsunomiya A, Choi I, Fukuda T, Miura O, Takaishi S, Teshima T, Akashi K, Kannagi M, Uike N, Okamura J. Clinical outcomes of a novel therapeutic vaccine with Tax peptide-pulsed dendritic cells for adult T-cell leukemia/lymphoma in a pilot study. Br J Haematol 2014 accepted.
- H. 知的財産権の出願・登録状況  
(予定を含む。)
1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし



常設小委員会	委員長
1. 標準的細胞治療小委員会	田野崎 隆二(国立がんセ)
2. 実験的細胞治療小委員会	長村 登紀子(東大医科研)
3. 細胞療法認定管理士認定制度小委員会	長村 登紀子(東大医科研)

研究グループ/タスクフォース	委員長
1. 顆粒球輸血研究グループ	菊田 敦(福島医大)
2. 骨髄TNC測定研究グループ	高梨 美乃子(日赤)
3. HPC研究グループ	高梨 美乃子(日赤)
4. CD34陽性細胞研究グループ	原口 京子(都立駒込)
5. 幹細胞輸注の有害事象研究グループ	大戸 斉(福島医大)
6. SpectraOptia共同研究グループ	大戸 斉(福島医大)





8) 技術講習会(テクニカルセミナー)の開催と細胞処理テキスト発刊に関する資料

## **テクニカルセミナーについて**

造血細胞移植に必要な細胞処理・検査に関する技術講習会(第3回)  
平成26年5月17日(土)13:30~15:30 第2会場(奈良県文化会館2F 小ホール)

座長:室井 一男(自治医科大学附属病院輸血・細胞移植部)  
田野崎隆二(国立がん研究センター中央病院輸血療法科)

TS-1 末梢血幹細胞採取から処理まで  
上田 恭典(倉敷中央病院)

TS-2 アフェレーシスナーズの役割  
松本 真弓(神鋼病院看護部)

TS-3 同種骨髄移植における採取・輸注と検査  
池田 和彦(福島県立医大)

TS-4 細胞採取から輸注・検査までについてのQ&A  
奥山 美樹(都立駒込病院), 伊藤 経夫(北大), 上村 知恵(慶應大),  
岸野 光司(自治医科大), 松本 真弓(神鋼病院)

# 「造血幹細胞移植の細胞取り扱いに関するテキスト(初版)」(仮称)

## 執筆要項・内容目次

(平成 26 年 10 月 17 日)

編集: 日本輸血・細胞治療学会 細胞治療委員会

発行者: 日本輸血・細胞治療学会

印刷所: 三美印刷株式会社(完全原稿入稿予定)

出版費: 平成 26 年度厚生労働科学研究委託費(難治性疾患等実用化研究事業(免疫アレルギー疾患等実用化研究事業 移植医療技術開発研究分野))「造血幹細胞移植に用いる細胞の安全な処理・保存。品質管理体制の確立に関する研究」(H26-難治等(免)一般-105)による。

### 編集方針

#### 1. 刊行の趣旨

わが国では造血幹細胞移植を実施する施設が200以上と多数あり、これまで細胞採取・処理・管理保存・検査等に関するテキストが少なかったこともあり、手技は多種多様にわたる。しかし、各施設の設備や操作法について、わが国では届け出制度や監督省庁からの監査などの体制はなく、現時点では、わが国の細胞処理・管理の安全性が担保されているとは言い難い。このため、この度、日本輸血・細胞治療学会(以下、本学会)が中心となり、造血幹細胞の採取・移植に関わる細胞採取・処理・管理保存・輸注・検査等の理論と実践のためのテキストを刊行する。

平成 24 年 5 月に開催された本学会総会の技術講習会で参加者限定で配布したテキストが好評で、写真も多く、完成度が高かったので、これをもとに追加修正する。本学会から発刊されている認定医制度指定カリキュラムなどと同様に有償販売とすることを検討したが、厚生労働科学研究委託費のもとに、移植を実施する施設に無償配布し、また、関連団体のホームページに掲載して無償でダウンロードできるようにする。

#### 2. 本書の目的

わが国の造血細胞移植における細胞の適切な取り扱いを実現するために、造血幹細胞の採取・移植に関わる細胞採取・処理・管理保存・輸注・検査等の理論と実践のための教科書を移植に携わる医療従事者に提供することを目的とする。

#### 3. 読者対象

造血幹細胞移植に携わる医師、臨床検査技師、看護師、薬剤師、臨床工学技士等を対象とする。

#### 4. 本の形態

一部カラー刷りA4版、200 頁

#### 5. 原稿の執筆・校正・編集について

- 1) 執筆要項・内容目次(案)について細胞治療委員会および標準的細胞治療小委員会にて確認の後、本学会の編集委員会に申請し、発行者、印刷所、費用などについて了解を得る。費用は平成 26 年度厚

生労働科学研究委託費より全額支出する。

- 2) 執筆担当者に原稿依頼をする。(執筆料については要相談)
- 3) 原稿は、提出された後、細胞治療委員会および標準的細胞治療小委員会の指定された2名の委員が査読する。修正原稿を2名の委員が確認する。記載内容の大幅な変更をお願いする場合がある。
- 4) 査読が終了した原稿は、編者らが書式の統一などを行い、原則として1回著者校正が行われる。
- 5) 最終のPDF版は、細胞治療委員会および標準的細胞治療小委員会の各委員に確認を受け、印刷所で1,000部、(一部)カラー製本される。

## 6. 著作権の帰属について

日本輸血・細胞治療学会に帰属させる。(参考資料1)

## 7. 進行スケジュール

- 1) 執筆要項・内容目次の決定 2014年5月14日(総会前日委員会)
- 2) 原稿締切 2014年10月17日(秋季シンポ前日)
- 3) 原稿査読期間 2014年11月30日
- 4) 修正原稿締切 2015年12月31日
- 5) 編集・校正期間 2015年3月
- 6) 刊行目標 2015年4月

## 執筆要項

### 1. 概要・形式

図や写真を多く使用して、初学者でも理解しやすく、利用しやすいようにご配慮ください。

### 2. 検査や処置に関する項では、実地臨床ですぐに利用できることを念頭に、なるべく以下の形式にそってまとめてください。

- 1) はじめに
- 2) 適応
- 3) 方法
- 4) フローチャート
- 5) 作業手順書・記録書(例)
- 6) 結果報告書(例)
- 7) 参考文献など

※なるべくエビデンスに基づいた手技をご紹介ください。

### 3. 検査や処置に関連しない項では、ガイドライン、ウェブサイトなどを紹介して図で示すなど、わかりやすくなるように努めてください。

### 4. 執筆者数

1項目原則2人まで。

5. 改訂方針

日本輸血・細胞治療学会が主体となり、必要に応じて、改訂版を出版する。

6. 本文、字体・フォント、依頼枚数について

テキスト本文は「だ・である」調でお書きください。本文の書体は、なるべくMSP明朝体11ポイントでお願いします。略語を用いる場合には、必ず初出箇所に正式名をお書きください。各項A4で5～10頁でお願いします。

7. 図・写真・表について

理解しやすいように、なるべく図や写真を多く入れてください。但し、著作権が問題にならないように、ご自身で作成した図やオリジナルの写真を用いてください。また、写真や図・表はなるべく体裁のよいように文中に入れてください。

8. 引用・参考文献、参考書、ウェブサイトについて

文献は原則20編までとし、文中に上付き数字(例:・・・である<sup>1)</sup>)で、挿入してください。

- 雑誌の場合:著者名. 表題. 雑誌名. 巻:引用ページ初め-終わり, 発行年
- 書籍の場合:著者名. 表題. 書籍名. 引用ページ数初め-終わり, 出版社(発行所)、発行年
- ガイドライン名. 作成元. 出版元. 発行年度. HTTPアドレス

※著者が3名以上いる場合は、3人まで記載し、「ほか」、海外文献は「et al.」としてください。

9. 原稿送付にあたって

- 依頼時に、平成24年度日本輸血・細胞治療学会技術講習会の原稿ファイルがある場合には、これをお送りします。必要に応じて、これをもとに、改訂・追加してください。
- 新規に執筆していただくのでもかまいません。
- 編集は出版社ではなく、編者や本学会委員の皆様をお願いすることになります。このため、極力そのまま原稿として印刷・製本できるようなA4原稿としてお送りくださるようお願い申し上げます。

内容目次

1. はじめに(室井一男、田野崎隆二)
  2. 骨髄採取 (池田和彦)
  3. 末梢血幹細胞採取(上田恭典)
  4. 末梢血幹細胞採取における看護師の役割(松本真弓)
  5. バンクコーディネートについて(金森平和)
  6. 院内における血液細胞処理のための指針の概要(室井一男)
  7. 衛生・保存管理、環境整備(伊藤経夫、長村登紀子)
  8. 細胞処理の基本的操作と生細胞数の測定(長村登紀子)
  9. CD34 陽性細胞数の測定(高梨美乃子)
  10. コロニー培養とコロニー形成細胞の測定(尾上和夫、長村登紀子)
  11. 末梢血幹細胞の処理と凍結保存(伊藤経夫)
  12. 骨髄液からの赤血球除去(岸野光司)
  13. 骨髄液の血漿除去(上村知恵)
  14. 造血幹細胞の解凍と輸注(田野崎隆二)
  15. 輸血管理システムを利用した造血幹細胞の管理とバイオビジランス(田野崎隆二)
  16. 骨髄バンクを介する骨髄細胞、ドナーリンパ球、末梢血幹細胞の取り扱い(奥山美樹)
  17. 輸血に用いる顆粒球の取り扱い(菊田敦、藤盛好啓)
  18. 海外における細胞処理ガイドラインおよび規制の現状(豊嶋崇徳)
  19. Q&A シリーズ(奥山美樹)
- (※2名の執筆者が記載されている場合には、初めの方が執筆主担当)

付録

1. 骨髄採取マニュアル 第4版
2. 同種末梢血幹細胞移植のための健常人ドナーからの末梢血幹細胞動員・採取に関するガイドライン 第5版
3. 非血縁者間末梢血幹細胞採取 マニュアル暫定版
4. 院内における血液細胞処理のための指針 第1版
5. フローサイトメトリーによる CD34 陽性細胞検出に関するガイドライン(JCCLS H3-P V1.0)

(以下、平成26年度 厚生労働科学研究公募要項 20ページより抜粋)

## Ⅶ. 研究成果の取扱い

### 1. 研究報告書の提出

受託者は、研究成果をとりまとめた研究報告書（A4版）を提出していただきます。

研究報告書の提出期限は平成27年3月31日（火）となりますので注意してください（厚生労働科学研究費補助金と提出期限が異なります）。

なお、期限までに研究報告書の提出がなされない場合、委託契約が履行されなかったこととなり、委託費の支払い等が行えなくなるため、提出期限は厳守してください。また、執行管理事務委託先が主催する成果報告会で発表を求めることがあります。

### 2. 研究成果の帰属

研究を実施することにより取得した特許権や著作権等の知的財産権については、産業技術力強化法（平成12年法律第44号）における日本版バイ・ドール規定に基づく一定の要件の下で受託者に帰属させることができます。その詳細については契約時に定める契約条項によることとします。

### 3. 成果の利用

事業の成果を利用（成果によって生じた著作物及びその二次的著作物の公表等）できるのは、受託者に所属する職員であり、国内外にかかわらず事業の一部の請負先は利用できません。

### 4. 研究成果のオープンアクセスの確保

受託者は、可能な限り研究成果のオープンアクセスを確保するよう努めてください。

※研究により得られた成果は研究の成果を継続的に追跡して評価するため、「行政効果報告（助成研究成果追跡資料）WEB登録（<http://mhlwgrants.niph.go.jp/research/gyosei.html>）」に必ず登録してください。



## 骨髓有核細胞数測定法の研究・新規造血幹細胞算定法(HPC)の開発

研究分担者： 高梨 美乃子 日本赤十字社血液事業本部 副本部長

### 研究要旨

造血幹細胞移植のうち、骨髓移植については総有核細胞数が移植の安全性または品質の指標とされている。しかしながら骨髓液の採取は採取医療施設の手術室であり、細胞数測定の手技は統一されていない。我が国の移植施設における骨髓有核細胞数測定法の把握、細胞数の施設間差について、実態調査を実施する。細胞数測定法の標準化を提案する。末梢血幹細胞移植においてはCD34陽性細胞数が品質の指標とされている。新規造血幹細胞算定法の開発は末梢血造血幹細胞採取の際に簡便な指標となるような方法の開発を目的とする。

### A. 研究目的

造血幹細胞移植のうち、骨髓移植については総有核細胞数が移植の安全性または品質の指標とされている。しかしながら骨髓液の採取は採取医療施設の手術室であり、細胞数測定の手技は統一されていない。採取施設で測定された細胞数と移植施設にて計数した細胞数との乖離がある事例も経験されていた。我が国の移植施設における骨髓有核細胞数測定法の把握、細胞数の施設間差について、実態調査を実施する。

末梢血幹細胞移植においてはCD34陽性細胞数が品質の指標とされている。新規造血幹細胞算定法の開発は末梢血造血幹細胞採取の際に簡便な指標となるような方法の開発を目的とする。

### B. 研究方法

日本輸血・細胞治療学会の細胞治療委員会を通して、骨髓液採取時、また移植時の骨髓有核細胞数測定の方法と手技の調査を行う。調査結果を解析し、施設間差の実態を明らかにしたうえで、細胞数測定法の標準化を提案する。

#### （倫理面への配慮）

非介入の後方視的多施設共同調査研究である。多施設を対象とした調査では、骨髓液採取または輸注時の検査について方法と結果のみを提出いただく。

個人情報の保護に関しては、各施設外に送られるデータは匿名化され、移植例とは結びつかない。

新規造血幹細胞算定法の開発は国立がんセンターとシスメックス社が共同で行っており、CD34陽性細胞数との相関を解析する。

### C. 研究結果

骨髓有核細胞数測定法について、多施設の実態調査を行っている。

新規造血幹細胞算定法によるHPC数はほとんどの測定においてCD34陽性細胞数と相関した。

### D. 考察

骨髓有核細胞数測定標準化については、現状を移植施設にフィードバックすることで、より安全な採取・移植に資することが期待される。

新規造血幹細胞算定法は末梢血造血幹細胞採取の際に簡便な指標となる。外れ値の解析が必要である。

### E. 結論

骨髓有核細胞数測定標準化については、次年度に解析を行う。

新規造血幹細胞算定法は末梢血造血幹細胞採取の際に簡便な指標となることが期待される。

### F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1) Kanda Y, Kanda J, Atsuta Y, Fuji S, Maeda Y, Ichinohe T, Takanashi M, Ohashi K, Fukuda T, Miyamura K, Mori T, Sao H, Kobayashi N, Iwato K, Sawada A, Mori S; HLA working group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. Changes in the Clinical Impact of High-Risk Human Leukocyte Antigen Allele Mismatch Combinations on the Outcome of Unrelated Bone Marrow Transplantation. Biol Blood Marrow Transplant. 2014 Apr;20(4):526-35.

2) Abe T, Shimada E, Takanashi M, Takamura T, Motoji K, Okazaki H, Satake M, Tadokoro K. Antibody against immunoglobulin E contained in blood components as causative factor for anaphylactic transfusion reactions. Transfusion. 2014;54(8):1953-60.

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許出願 2014-232211

臍帯血および末梢血の凍結保存方法および凍結保存用溶液

課題名：「有核細胞数および生細胞数測定についてのアンケート調査」

背景

骨髓移植において輸注骨髓有核細胞数は生着に重要な因子として用いられている。骨髓有核細胞数測定法には計算盤を用いた目算と自動血球分析装置による方法などがあるが、標準化はされておらず、非血縁者間骨髓移植では採取施設と移植施設間で時に大きな差があることが指摘されている。そこで、日本輸血・細胞治療学会細胞治療委員会では測定方法を標準化することを目標とする。本アンケート調査では実態調査により、まず現状を把握する。

目的

非血縁者間骨髓移植における骨髓有核細胞数および生細胞数の測定において、施設間の差を明らかにし、その原因について検討することを目的とする。

対象

日本輸血・細胞治療学会細胞治療委員会委員の所属する施設において、非血縁者間同種骨髓移植を目的としてこれまでに採取・運搬された全骨髓細胞を対象とする。

研究のデザイン

(1) 本研究は、非血縁者間同種骨髓移植のために提供ドナーより骨髓液採取を行った施設、および移植施設を対象とする多施設共同研究であり、後方視的調査研究である。治療目的で採取された骨髓液の細胞数および生細胞数の測定法を評価し、施設間差を明らかにする。

(2) 解析手法

- 依頼施設数、回答施設数
- 用いられている骨髓有核細胞数測定法の種類
- 総骨髓細胞数について、採取および移植両施設データがそろっている総数
- 両データがそろっている骨髓細胞数、容量の2群間比較と差の程度を検討する。
- 差が大きな場合において、可能な範囲で、その原因について検討する。

(3) 予定研究期間

調査対象期間：非血縁者間骨髓移植施行期間

調査依頼および調査票回収：2014年8月～2014年11月

解析：2014年12月～2015年3月

(4) 研究代表者、研究責任者等

研究代表者

高梨 美乃子(日本赤十字社血液事業本部)

細胞治療委員会骨髓 TNC 測定研究グループ委員長

研究責任者

田野崎 隆二(国立がん研究センター中央病院 病理科・臨床検査科)

細胞治療委員会委員長

研究依頼者

一般社団法人 日本輸血・細胞治療学会(細胞治療委員会骨髓 TNC 測定研究グループ)

以下、学会事務局

東京都文京区本郷2丁目14番14号 ユニテビル5階

電話番号 03-5804-2611

研究協力機関(研究協力者)

国立がん研究センター中央病院(田野崎隆二、吉田茂久)

国立大学法人 千葉大学医学部附属病院(井関徹、酒井紫緒)

公益財団法人 大原記念倉敷中央医療機構 倉敷中央病院(上田恭典)

公立大学法人 福島県立医科大学附属病院(大戸斉、菊田敦、池田和彦)

がん・感染症センター 都立駒込病院(奥山美樹、原口京子)

国立大学法人 東京医科歯科大学医学部附属病院(梶原道子)

神奈川県立 がんセンター(金森平和)

愛知医科大学病院(高見昭良、中山享之)

国立大学法人 東京大学医科学研究所附属病院(長村登紀子、高橋敦子)

国立大学法人 京都大学医学部附属病院(前川平)

自治医科大学附属病院(室井一男、岸野光司)

国立大学法人 北海道大学病院(伊藤経夫)

慶應義塾大学病院(半田誠、渡邊直英、上村知恵)

医療法人社団神鋼会 神鋼病院(松本真弓)

公立大学法人 横浜市立大学附属病院(上條亜紀)

東京女子医科大学(菅野仁、小林博人)

国立大学法人 信州大学医学部附属病院(下平滋隆)

国家公務員共済組合連合会 立川病院(石田明)

順天堂大学 医学部(大坂顯通)

東邦大学医療センター大森病院(小原明)

兵庫医科大学病院(甲斐俊朗)

旭川医科大学(生田克哉、河原好絵)

東邦大学医療センター佐倉病院(清水直美)

(5) 倫理的事項

個人情報の保護については各施設の規定に従う。非血縁者骨髄移植のドナー及びレシピエントについては、各協力施設内で連結可能なID管理を行うこととし、本調査においては移植年と施設内連結番号のみを記載入する。よって個人情報が施設外で特定されることがないとする。

(6) 記録等の保存

本研究で作成した文書の内、保存が必須とされる文書については、研究依頼者および実施医療機関の研究責任者において、被験者の個人情報保護に留意し厳重に保管する。保存期間は、研究終了から2年間とする。

(7) 公表に関する取り決め

研究結果の一部又は全部を学会、雑誌等外部に公表する場合には、事前に研究依頼者の承認を必要とする。

# ①新規末梢血幹細胞測定法 (HPC)

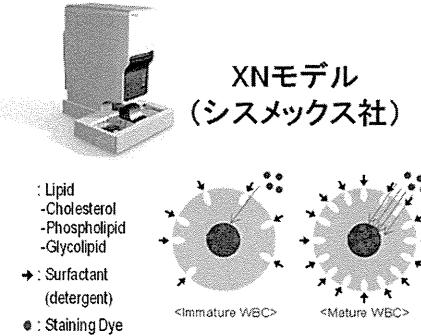
研究担当者: 高梨美乃子先生 (日本赤十字社)  
 研究事務局: 田野崎隆二 (国立がん研究センター)  
 ※日本輸血・細胞治療学会総括研究  
 ※シスメックス社との共同研究

自動血球装置シスメックスXNシリーズモデルによる末梢血幹細胞数測定法(第2世代HPC)の多施設共同評価試験

施設名	担当部署	施設研究責任者	他担当者
国立がん研究センター中央病院	輸血療法科	田野崎隆二	吉田茂久
都立駒込病院	輸血・細胞療法科	奥山美樹	原口京子
千葉大学医学部	輸血・細胞療法部	井関徹	清水直美、酒井紫緒
旭川医科大学	臨床検査・輸血部	紀野修一	生田克哉、河原好絵
慶應大学医学部	輸血細胞治療部	半田誠	渡邊直英、上村知恵

データ検討委員会委員: 室井一男、長村登紀子  
 データ解析: CRO、国立がん研究センター生物統計学部門

## HPC (第2世代)



**XNモデル (シスメックス社)**

- Lipid
  - Cholesterol
  - Phospholipid
  - Glycolipid
- Surfactant (detergent)
- Staining Dye

<Immature WBC>      <Mature WBC>

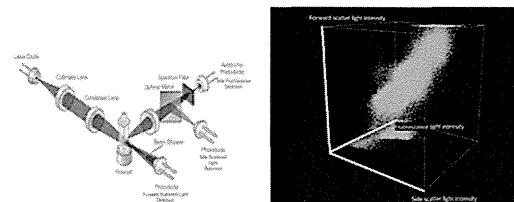


Figure 1: Correlation between XN-determined HPCs and CD34+ cells

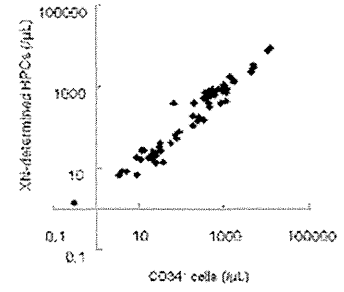
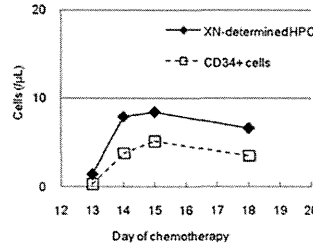


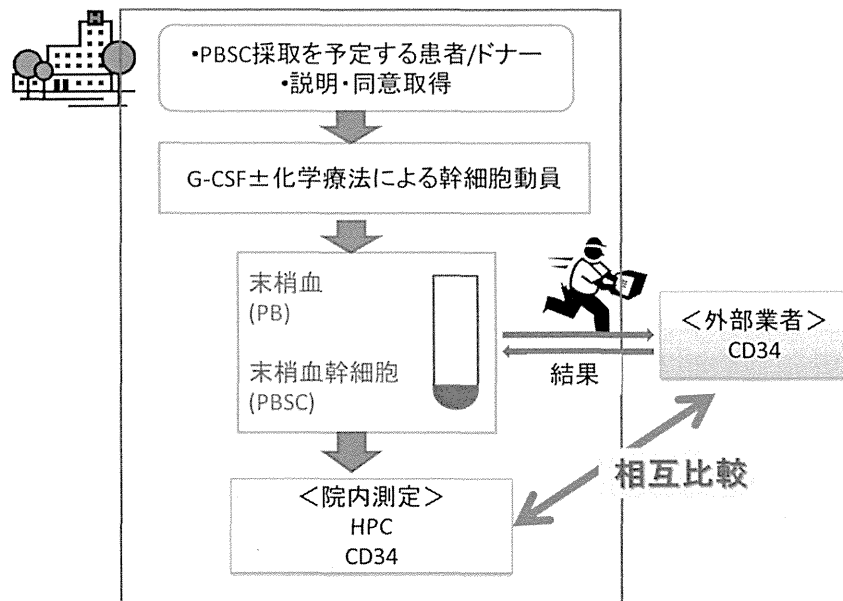
Figure 2: Concentration change



所要時間	5分以内、全自動 ※Gatingは自動調整
必要量	< 200 µL
反応試薬	表面活性剤、色素 (※単クローン性抗体不要)

*Int J Lab Hematol 2013*

多施設、多数例での再現性確認を目的とした研究



## 登録患者・検体

施設記号	同種移植ドナー(人)	自家移植(人)	登録合計(人)	PB	PBSC	全測定数
01	14	21	35	137	72	209
02	23	0	23	46	46	92
03	4	21	25	35	53	88
04	2	2	4	7	7	14
05	3	19	22	52	108	160
計	46	63	109	317	297	614

低信頼性「\*」:13例(全例PBSC, PBSCの4.4%)