

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(アフェレーシス)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) 骨髓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(アフエレ-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、内部標準ピ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2~3x10<sup>8</sup>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。骨髓や末梢血、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取り扱いは最小限としている。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。