

『新型コロナパンデミック下の造血幹細胞移植ドネーションを推進するための
システム改革のための研究』

分担研究課題名：スワブを用いた HLA 検査の導入

研究分担者

国立研究開発法人国立がん研究センター・中央病院造血幹細胞移植科・科長 福田 隆浩

研究協力者

北海道大学病院血液内科・助教 後藤秀樹

研究要旨

新規ドナー登録を行う際に必要な HLA 検査において、従来の標準検査である血液検査と、自宅に居ながらして採取可能な口腔内スワブ検査の精度を比較する臨床研究を実施した。対象は、日本骨髄バンクでコーディネートを行なっている 20 歳以上の健常人ボランティアドナー（非血縁ドナー）とした。同意取得キット配送数 171 件、文書による同意取得数 134 件（日本骨髄バンクへ郵送されたもの）、HLA スワブ検体回収数 118 件。研究期間中に年齢的にドナー登録抹消となった 6 件を除き、解析対象は 112 件であった。骨髄バンクコーディネートの確認検査で採取された血液検査での HLA 検査結果と、本研究で回収した口腔内スワブ検体を用いた HLA 検査結果は 112 例全例で一致していた。また、口腔内スワブ検体を用いた HLA 検査において、DNA 量不足で再検査が必要になる者はいなかった。

A. 研究目的

現在、本研究班においてWEB登録システムのプロトタイプを作成している。本研究班で開発中のWEB登録システムを用いて将来的に新規ドナー登録をする際、口腔粘膜検体をスワブで採取してHLA検査を行うことができれば、自宅に居ながらドナー登録が可能となるため、コロナウイルス感染拡大下においてもドナー新規登録数増加が見込める。本分担研究では、コーディネートを行っている健常人ボランティアドナー（非血縁ドナー）において確認検査時にスワブを用いたHLA検査を行い、日本骨髄バンクがコーディネート業務のために入手する血液検体を用いたHLA検査結果と比較することでその精度を検証する。

B. 研究方法

① 研究の種類

スワブを用いたHLA検査の精度について検証するため、口腔粘膜検体採取を行う。軽微な侵襲を伴う前向き観察研究として行なった（臨床研究番号：自

020-0242）。

<倫理面への配慮>

北海道大学病院自主臨床研究事務局ならびに日本骨髄バンクのIRB審査に申請し、承認が得られた後に研究開始した（自主臨床研究番号 自020-242）。JMDPが保有するドナーHLA情報を利用するにあたり、文書による同意書を用いて、調整医師がドナーへ直接説明する。「将来的にドナーのHLA検査方法の選択肢がすることでコーディネート方法が改善し、同種移植医療が改善される可能性がある研究」という内容に同意が得られた後に利用する。

② 対象

- 1) 2020年11月～2021年6月の間に、本研究に参加する施設でコーディネートを行っている非血縁ドナーを対象とした。
- 2) 同意取得時の年齢が20歳以上で、本研究参加施設において非血縁者ドナーとして確認検査を実施

する者を対象とした。

3) 本研究への参加にあたり十分な説明を受けた後、十分な理解の上、研究対象者本人の自由意思による同意が得られた者を対象とした。

③ 収集する検体・情報

- ・口腔内スワブ検体 (HLA情報*、採取DNA量)
- ・日本骨髄バンクがコーディネーター業務のために入手するドナー登録時の血液検体によるHLA情報(日本骨髄バンクが口腔内スワブ検体での結果と確認するために使用)
- ・アンケート調査

*HLA検査法：Luminex法³⁾ (WAK Flow) で日本列島集団において0.01%以上の頻度で見られるHLA alleleを対象とした4桁(第2区域)での検査結果を使用する。

*DNA精製方法(口腔内スワブ検体)：HLA研究所で使用する試薬 (GenFind V2 Kit [ベックマン・コールター株式会社])、QuickGene DNA組織キット [倉敷紡績株式会社] を用いて行う。なお、採取したDNA量が少ない場合には、研究対象者へ説明し、もう1回(本研究で2回目)検体採取することも可能とする(本研究で2回目の検体採取した際でも、2回目のアンケート調査は行わない)

④ 研究の方法

日本骨髄バンク(JMDP)で、確認検査が行われる健康人ボランティアドナーの施設受診日時を確認後、各施設の調整医師へ、検査用のスワブキット、アンケート調査票、同意説明文書、スワブ採取に関する説明書並びにそれぞれの返信用封筒をJMDPが郵送する。研究IDはJMDPが発番し管理を行う。

- 1) 確認検査時に、調整医師はドナーに同意説明文書を用いて説明し、同意が得られればその場で同意文書にサインしてもらう。同意文書は2部用意しておき、1部は本人用、1部はJMDPコーディネーターを通じJMDPへ郵送する(施設に同意文書を保存する必要がある際には、事前に3部準備しておく)。
- 2) 同意が得られたドナーへ調整医師がスワブ採取キット、スワブ採取に関する説明書、アンケート調査票並びに返信用封筒を渡す。
- 3) ドナーはスワブキットを自宅に持ち帰り口腔

内粘膜を擦過し検体を採取し、専用の封筒に入れてHLA研究所へ郵送する(病院では採取しない)。アンケート調査票は別の専用封筒に入れて研究事務局へ郵送する。

4) HLA研究所に送られた口腔内スワブ検体のHLA情報は、研究事務局に報告される。この際、研究IDとHLA情報のみ記載されており、ドナーの個人情報は記載されない。

5) HLA研究所から研究事務局に報告された研究結果をJMDPへ送る。

6) 目標症例数に到達したら、JMDPは同意が得られた全てのドナーの既存のHLA血液検体検査の結果と口腔内スワブ検体で得られたHLA結果を照らし合わせ、齟齬がないか確認し研究事務局へ結果を報告する(血液検体を用いて得られた日本骨髄バンクのHLAデータは研究事務局へ提出しない)。結果を照らし合わせる際には、研究IDとHLA情報のみ記載されている表を用い、ドナーの個人情報は記載されない。

7) 研究事務局は得られた結果・情報をまとめる。

8) 検体は、検査終了と同時に廃棄される。廃棄する際は、個人情報の取り扱いに注意して行う。

⑤ 有害事象発生時の対応

有害事象とは、実施された研究との因果関係の有無を問わず、研究対象者に生じた全ての好ましくない又は意図しない傷病もしくはその徴候(臨床検査値の異常を含む。)とする。研究担当者は、有害事象を認めたときは、直ちに適切な処置を行うとともに、診療録等に記載する。また、侵襲となる行為を中止した場合や、有害事象に対する治療が必要となった場合には、研究対象者にその旨を伝える。

⑥ 研究実施期間

2021年1月5日～2022年3月31日

⑦ 目標症例数

参加施設全体で100例

<症例数の設定根拠>

実施は全国の移植拠点病院、地域拠点病院で行う。研究期間内での実施可能例数より100例を目標症例数と設定した。1人あたり8座のペア(血液/スワブ)

が得られるため、800ペアの一致／不一致を判定する。全例一致した場合、Rule of three則から、約2400ペアに1ペア程度以下の不一致率であることが示せ、十分な精度と考えられる。

<統計解析方法>

主要評価項目について、血液による測定結果と口腔内スワブによる測定結果の一致割合を求め、正確な95%信頼区間を求める。対象者について全ての座が完全に一致するか否か、不一致であった座が1座以内か否か、それぞれのHLA座を独立とみなした場合の3通りの割合およびその95%信頼区間を求めることとする。DNA量については、平均値、中央値、範囲、四分位範囲で要約する。本研究では骨髄バンクドナーの場合スワブ検査と血液検査を実施する機関が異なるが、この点についてはスワブ検査機関にあるスワブ検体データと日本骨髄バンクがコーディネートのために入手する血液検体データを匿名化ID(研究ID)で紐づけし比較する(JMDPが担当)。満足度については、それぞれの回答頻度とその割合を要約する。

⑧ 研究実施体制

- 1) 研究代表者：豊嶋崇徳
北海道大学 血液内科学教室 教授
- 2) 研究事務局：後藤秀樹
北海道大学病院 血液内科 助教
- 3) 統計解析責任者：横田 勲
北海道大学 医学統計学教室 准教授
- 4) データマネジメント 責任者：福田隆浩
国立研究開発法人国立がん研究センター 中央病院造血幹細胞移植科 科長
- 5) HLA測定・データ解析施設：田中秀則
公益財団法人 HLA研究所 所長
- 6) JMDP:公益財団法人 日本骨髄バンク ドナーコーディネート部
- 7) 参加予定施設：全国の造血幹細胞移植推進拠点病院および、各地域の移植拠点病院に付随する地域拠点病院(厚生労働省HPより)
<https://www.mhlw.go.jp/content/10900000/000599628.pdf> のうち本研究にご協力いただける施設

C. 研究結果

本研究の特徴として、確認検査時に同意取得をして検査キット・アンケート調査票をドナーへ渡し、

スワブを用いた検体採取やアンケート調査への記入は確認検査後にドナー自らで行なう形式で行った。また、本研究を行うにあたり可能な限り多くの施設で行うこととし、全国の移植拠点病院、地域拠点病院にも声かけした。最終的に全国41施設からの参加表明のもと、37施設において1件以上の同意取得が行われた。

同意取得キット配送数 171 件、文書による同意取得数 134 件(日本骨髄バンクへ郵送されたもの)、HLA スワブ検体回収数 118 件。研究期間中に年齢的にドナー登録抹消となった 6 件を除き、解析対象は 112 件であった。骨髄バンクコーディネートの確認検査で採取された血液検査での HLA 検査結果と、本研究で回収した口腔内スワブ検体を用いた HLA 検査結果は 112 例全例で一致していた。また、口腔内スワブ検体を用いた HLA 検査において、DNA 量不足で再検査が必要になる者はいなかった。本研究では、参加いただいたドナーにアンケート調査を行なった。アンケート回収数 118 件で、男性 58%、女性 39%、回答なし 3%。年齢は、20 代 18%、30 代 24%、40 代 36%、50 代 19%、回答なし 3%であった。HLA 検査として血液検査と口腔内スワブ検査のどちらの検査も受けた本研究参加者に対して「今後、HLA 検査をしたら血液検査と口腔内スワブ検査、どちらの検査を希望されますか?」との問いに対して、口腔内スワブ検査希望が 24%、どちらかと言えば口腔内スワブ検査希望が 25%、血液検査希望が 7%、どちらかと言えば血液検査希望が 22%、どちらとも言えないが 22%であり、口腔内スワブ検査希望者が多かった。

新規ドナー登録時に口腔内スワブ検査を用いた HLA 検査は、従来の血液検査による HLA 検査の代替検査法として十分許容できる手法であると考えられる。

D. 考察

直接人と会わずにドナー登録できるWEBシステムを構築するには、スワブを用いたHLA検査が必要不可欠である。血縁者をドナーとした際のHLA検査方法としてスワブを用いて口腔内粘膜検体を採取する手法は広く行われているが、血液を用いたHLA検査ときちんと比較されたデータは無い。そこで、本研究は全国の移植拠点病院、地域拠点病院のご協力を得て、各施設でコーディネートをを行っている非血縁ドナーの確認検査時に、スワブを用いたHLA検査も行うことで日本骨髄バンクが保有する血液検体の結果を比較する予定である(JMDPが担当)。今回ご協力いただ

いた施設では、JMDPと直接契約をしている調整医師がいる施設が多く、各施設においてIRB審査を行うかどうかは施設の判断に委ねた。

E. 結論

WEB登録システムを臨床応用していく上で、口腔内スワブ法によるHLA検査の果たす役割は大きいと考えられるが、今回の結果から、従来の血液検査によるHLA検査の代替検査法として十分許容できる手法であると考えられた。

F. 研究発表

【1】論文発表

1. Goto H, Hidaka D, Yamamoto S, Hayasaka K, Kagawa I, Sunagoya K, Iijima H, Hayase E, Shiratori S, Okada K, Sugita J, Onozawa M, Hashimoto D, Kahata K, Fujimoto K, Endo T, Shimizu C, Teshima T: Feasibility and efficacy of low-dose pegfilgrastim for CD34+ cell mobilization in lymphoma. *J Clin apheresis*. 2020 July 29; 35(5):413-419.

【2】学会発表

1. Hideki Goto, Daisuke Hidaka, Satoshi Yamamoto, Koji Hayasaka, Rie Michimata, Ikuko Kagawa, Kana Sunagoya, Hiroaki Iijima, Eiko Hayase, Souichi Shiratori, Kohei Okada, Junichi Sugita, Masahiro Onozawa, Daigo Hashimoto, Kaoru Kahata, Katsuya Fujimoto, Tomoyuki Endo, Chikara Shimizu, Takanori Teshima. Feasibility and Kinetics of CD34+ hematopoietic cells mobilization by low-dose pegfilgrastim in

lymphoma patients. 59th Annual Meeting of American Society of Hematology, Atlanta, USA, 2017

2. 後藤秀樹、日高大輔、山本聡、早坂光司、道又理恵、香川郁子、砂後谷加奈、飯島弘章、早瀬英子、白鳥聡一、岡田耕平、杉田純一、小野澤真弘、橋本大吾、加畑馨、藤本勝也、遠藤知之、清水力、豊嶋崇徳: 悪性リンパ腫患者における化学療法併用 Pegfilgrastim 投与による CD34 陽性細胞の末梢血中への推移 第 40 回日本造血細胞移植学会総会、札幌、2018
3. Hideki Goto, Koji Hayasaka, Rie Michimata, Mutsumi Nishida, Maki Jingu, Yuki Ichihashi, Mitsuhiko Odera, Masayuki Hino, Yoshinobu Maeda, Masashi Sawa, Takanori Teshima. Efficacy and safety of pegfilgrastim for CD34⁺ cell mobilization in healthy volunteers. 47th Annual Meeting of the European Society for Blood and Marrow Transplantation, virtual, 2021

G. 知的財産権の出願・登録状況

【1】特許取得

該当事項なし。

【2】実用新案登録

該当事項なし。

【3】その他

該当事項なし。