

造血細胞移植術と中四国臍帯血バンクの現況

河野嘉文, 金丸幸代, 中川竜二, 渡辺力, 大西敏弘,
黒田泰弘

徳島大学医学部小児科学教室

廣瀬政雄

徳島大学医学部附属病院輸血部

島健二

徳島大学医学部附属病院検査部

中山孝善

中山産婦人科

(平成11年3月17日受付)

骨髓細胞の他に末梢血細胞や臍帯血細胞などが移植細胞として用いられるようになるとともに、造血細胞移植術は急速に拡大普及して種々の癌治療戦略に取り入れられている。本稿では造血細胞移植術の現況を概説した。臍帯血は増殖能力に富む造血幹細胞/前駆細胞を多数含んでおり、移植細胞として非常に有用であると考えられている。その中に存在するTリンパ球も幼若で免疫寛容能力に優れていると考えられ、移植関連合併症として問題になる急性あるいは慢性移植片対宿主病(GVHD)を惹起する可能性が少ない。また、必ずしもHLA一致ドナーからの細胞である必要はない。一方、臍帯血から採取できる有核細胞数は限られるので、移植時に生着不全をきたす可能性が高く、臨床的には大きな問題である。さらに、凍結保存を必要とする臍帯血細胞の長期保存に関する安全性も確立されたとは言えない。臍帯血細胞の移植細胞としての評価は慎重に行う必要があるが、採取細胞数の不足や長期凍結保存の問題点は早晩解決されると思われる。最後に、現在準備が整いつつある中四国臍帯血バンクの現況を問題点も含めて紹介した。

はじめに

骨髓移植に代表される造血細胞移植術の発達は目覚ましく、従来からの適応である白血病等の造血器腫瘍だけ

でなく、乳癌や神経芽細胞腫など種々の固形腫瘍の治療戦略にも応用されている¹⁻³⁾。造血細胞移植術の一つである臍帯血細胞移植術(CBCT)は、以前は廃棄処分されていた臍帯/胎盤内の血液中に存在する造血幹細胞(HSC)を移植術に利用する方法で、ドナーの負担がないことと造血細胞として幼若で機能的に優れていることから、1989年から臨床応用された⁴⁾。その後、世界的に施行症例数が急増し、現在までに約600例が報告されている⁵⁾。本邦でも実施症例の蓄積を待たずして臍帯血細胞移植術が保険適応になり、各地で民間の臍帯血バンクが次々に設立された結果、今後施行症例数は急増するものと考えられる。本稿ではCBCTを含む造血細胞移植術の概要と臍帯血バンクシステムの現況について概説する。

造血細胞移植術の種類

従来骨髓移植術(BMT)と呼ばれていた手技は、現在では使用する細胞の多様化に伴い、BMT、末梢血(幹)細胞移植術(PBSCT)、およびCBCTに区別され、総称として“造血細胞移植術”が使用されている。さらに前二者では、他人をドナーとする同種移植術に加えて、自らのHSCを凍結保存しておいて必要時に解凍して使用する自家移植術が行われている。種々の固形腫瘍患者において実施される自家移植術は、ほとんどが末梢血細

胞を用いて行われるようになっているので、現在ではPBSCTが自家移植術の代名詞になっていると言っても過言ではない。血縁ドナーからの同種PBSCTも施行症例数が増加しているが、細胞採取の目的でgranulocyte colony-stimulating factor (G-CSF)をドナーに投与する必要があり、その長期的な副作用が未だ解明されていない理由により、本邦ではバンクを介した非血縁ドナーでは行われていない。CBCTは現在のところ他人からの同種移植術だけであるが、将来的には出生時に自分の臍帯血細胞を保存しておいて必要時に使用する自家移植術が行われるようになるかもしれない。

最近では移植細胞を種々の細胞分画に分けて使用することができ、移植片対宿主病 (GVHD) の原因となるTリンパ球を選択的に除去したり、HSCに最も近いとされるCD34抗原陽性細胞だけを採集して、HLA非適合ドナーからの移植術も実施可能になっている⁶⁾。これらの処理にはモノクローナル抗体と免疫磁気ビーズを用いるが、抗体の種類を変えることにより処理細胞を自由に選択できるため、その応用範囲は広いと考えられる。このように、近代医学としてのBMTが開始されて以来、約30年の間に移植術そのものは確実に進歩してきた。

造血細胞移植術の目的と特徴

心臓移植や肝臓移植などの固形臓器移植術が、臓器不全に陥った臓器を健康な臓器に置き換える目的で実施されるのと異なり、造血細胞移植術は多種の目的で実施される (表1)。自家PBSCTなどの自家移植術は、直前に投与する大量化学療法や放射線療法により廃絶する造血機能を回復させるために行われる。したがって、治療の成否は体内の腫瘍細胞を根絶するために行う化学療法あるいは放射線療法の効果によって決まることになる。つまり、大量の抗癌剤を投与したら良いのではなく、その薬剤が腫瘍を根絶しなければ意味がない。実際には用量依存性に抗腫瘍効果を発揮することが確認されている薬剤は少ない。自家移植術 (自家BMT, 自家PBSCT) が保険適応であるにもかかわらず、その直前に実施される大量化学療法が保険適応になっていないことは、その効果が科学的に証明されていないことも一因である。

実際の臨床現場では、移植術を併用した大量化学療法後に再発する症例を多く経験し、抗癌剤による治療の限界が認識されるようになった。画期的な新薬が開発される期待も少なく、移植術を応用した細胞療法が考案され

つつある。その代表として樹状細胞 (dendritic cell) を抗原提示細胞として利用する方法がある。自己リンパ球に選択的抗腫瘍活性をもたせて制癌効果を誘発する細胞免疫療法として、近年活発に研究が行われている⁷⁾。

一方、同種移植術は主に造血器腫瘍の治療戦略として用いられ、移植前の大量化学療法 (±放射線療法) で体内の腫瘍細胞を可能な限り減少させ、さらに患者のリンパ系細胞をドナーのそれに置換することによる免疫学的な抗腫瘍効果 (移植片対白血病効果; GVL効果) を期待する方法である⁸⁾。従来同種移植術ではGVHDの管理が最重要課題と考えられ、予防および治療について多くの研究が行われているが、現在もなお完成の域に達していない。しかし白血病においては軽度のGVHDを発現した症例で再発率が低いことが知られており、このGVL効果とGVHDの関係は非常に微妙なものである。

このような背景において、最近では白血病だけでなくその他の腫瘍に移植片対腫瘍効果を期待して移植術が行われることが多くなった。これらは細胞免疫療法の概念で実施されているが、実際に重度のGVHDの管理や致死性のウイルス感染症の治療の確立がなければ治療法として完成されたものとはいえない。いずれにせよ、白血病にしても固形腫瘍にしても、移植術の成功と病気の治療とは必ずしも一致しないことを知らねばならない。とこ

表1. 造血細胞移植術の目的

1. 正常の造血幹細胞への置換 異常な造血幹細胞を健常ドナーの幹細胞と入れ替えることを目的とする 例) 重症再生不良性貧血, 先天性免疫不全症候群, 骨髄異形成症候群, 慢性骨髄性白血病の一部などにおける <u>同種移植術</u>
2. 造血幹細胞救済療法としての利用 大量化学療法等で癌細胞を撲滅したのちに造血幹細胞を輸注する 例) 急性白血病における自家および同種移植術, 抗癌剤に感受性を有する固形腫瘍の自家移植術など
3. 免疫療法としてのリンパ系再構築 <u>同種移植術</u> を行い, 新しい免疫組織で腫瘍を排除する 例) 急性白血病などの造血器腫瘍, 移植片対腫瘍効果が期待される各種腫瘍

注意) 同じ疾患でも自家移植と同種移植では目的が異なることがある。

ろが、腫瘍性疾患でないが造血細胞移植術の適応になる再生不良性貧血や先天性免疫不全症候群では、他の臓器移植術と同様に造血細胞を健常なものに置換する目的で同種移植術が行われるので、移植の成功が直接疾患の治療を意味することになる。この違いを理解しておかねば、正確な治療計画を立案することはできない。

臍帯血細胞移植術 (CBCT) の特徴と問題点

臍帯血に含まれる HSC は、成人血液中に存在する細胞に比較して幼若あるいは未熟であると考えられている。その結果、CBCT では他の造血細胞移植術に比べて造血機能回復が遅い欠点がある。一方リンパ球も同様に未熟であるが、それは同種移植の合併症として重要な GVHD が他の移植術に比較して軽度であることになり、CBCT の大きな利点と考えられる。GVHD が重症化しないことで、HLA 完全一致ドナーからでなくても移植ができ、日本では 2～3 万検体の採取保存ですべての患者の移植術に対応できると推測されている。また、すでに保存されている細胞なので、患者の状況に合わせてすぐに移植できる利点も重要である。現在の骨髓バンクの検索システムに比べて迅速で、ドナーの都合によるキャンセルがないので治療計画も立てやすい。再生不良性貧血や白血病など同種移植術が適応となる全ての疾患が CBCT の対象疾患となりうる。

しかしながら、実際には採取できる細胞数に限度があり、BMT や PBSCT のように必要細胞数を確保できるとは限らない。臍帯血から採取できる有核細胞数は、処理方法や手技の熟練度なども影響するので、施設間格差も大きいのではないと思われる。胎盤娩出前と娩出後の採血量の比較、細胞処理方法の種々の工夫などで、CBCT の欠点である採取保存細胞数を増加させる努力がなされているが限界がある。一部に細胞を *in vitro* で培養増幅して移植細胞数を増加させようとする試みが行われているが、未だ実用化の段階ではない。

移植が安全に施行可能な細胞数については種々の議論があるが、現在までに世界的な集計で明らかになっている必要細胞数の基準は、凍結保存時の有核細胞数が $2 \times 10^7/\text{kg}$ 以上ということだけである。今後症例の蓄積とともに CD34 陽性細胞数や造血前駆細胞数 (CFU-GM など) も指標になるかもしれないが、現在のアッセイシステムでは、幼若な臍帯血細胞の特徴を充分評価できないと考えられるために難しい問題である。

中四国臍帯血バンクの現況

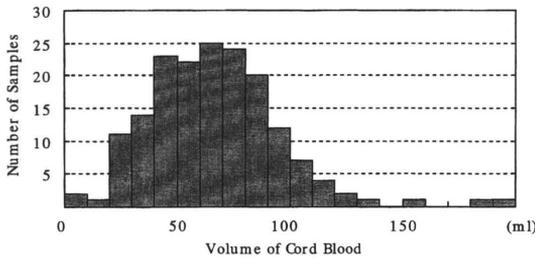
徳島大学医学部附属病院小児科では平成10年4月に倫理委員会で非血縁ドナーからの臍帯血移植の承認を受け、同時に輸血部・小児科・検査部等が中心となって徳島大学医学部附属病院臍帯血バンク (仮称) を設立した。臍帯血バンクにおける採取保存方法は、厚生省班会議 (浅野班) のガイドラインにそって実施したが、現在では厚生省臍帯血移植検討部会の指針に準拠した方法を採用している⁹⁾。

処理方法の概要としては以下の如くである。胎児娩出後で胎盤娩出前に無菌的に抗凝固剤入りのバッグ内に 18G 針で採血し、24時間以内に処理施設で赤血球除去および凍結処理を行なう。有核細胞だけを分離する方法としては、主に hydroxy ethyl starch (HES) を用いて赤血球を沈降させる方法が採用されている。最終的に凍害保護液である dimethyl sulphoxide (DMSO) を 5-10% の濃度で添加して、プログラムフリーザー等で $-1^\circ\text{C}/\text{分}$ のスピードで凍結する。ドナーであるベビーの 6 ヶ月間の成長発達過程を含む各種の検査結果が判明するまで -150°C の電気冷凍庫に保存され、その後は液体窒素タンク内に保存される。これらの処理手順の詳細は他の総説を参照されたい。^{10,11)}

徳島大学のバンクにおいて、平成10年度に採取・処理した臍帯血の量と有核細胞数の分布を示した (図 1, 2)。このように採取臍帯血量の最頻値は 70-80ml で、 1.0×10^9 個以上の細胞が採取できる確率はほとんどなく、仮に $2 \times 10^7/\text{kg}$ 以上を移植の基準にした場合で、最高体重 50 kg までの患者が対象になると予測されている。実際には HLA 一致度や細胞の凍結方法・保存条件によって条件が異なるために、特殊な例として 110kg の成人で成功したことが報告されている⁵⁾。

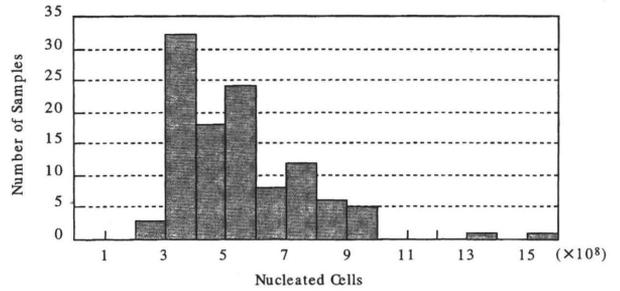
平成10年8月に中四国臍帯血バンクが設立され、徳島大学のバンクはその中の採取保存施設の一つとして稼働することになった (図 3)。さらに、平成11年4月からは公的臍帯血バンクの中四国支部として位置付けられることになっている。今後5年間で2000検体の保存を目標にして中四国臍帯血バンクが運営され、骨髓バンクと同じ経過を辿って、民間から公的バンクに衣替えしていくのであるが、細胞を保存する必要がない骨髓バンクに比較し、凍結保存操作が必要な臍帯血バンクは維持費が膨大になると予測される。公的バンクといえども経済的な補助は少なく、寄付金の募集を含め今後の問題は山積し

図1. 標準的な処理をした場合に採取できる臍帯血量の分布



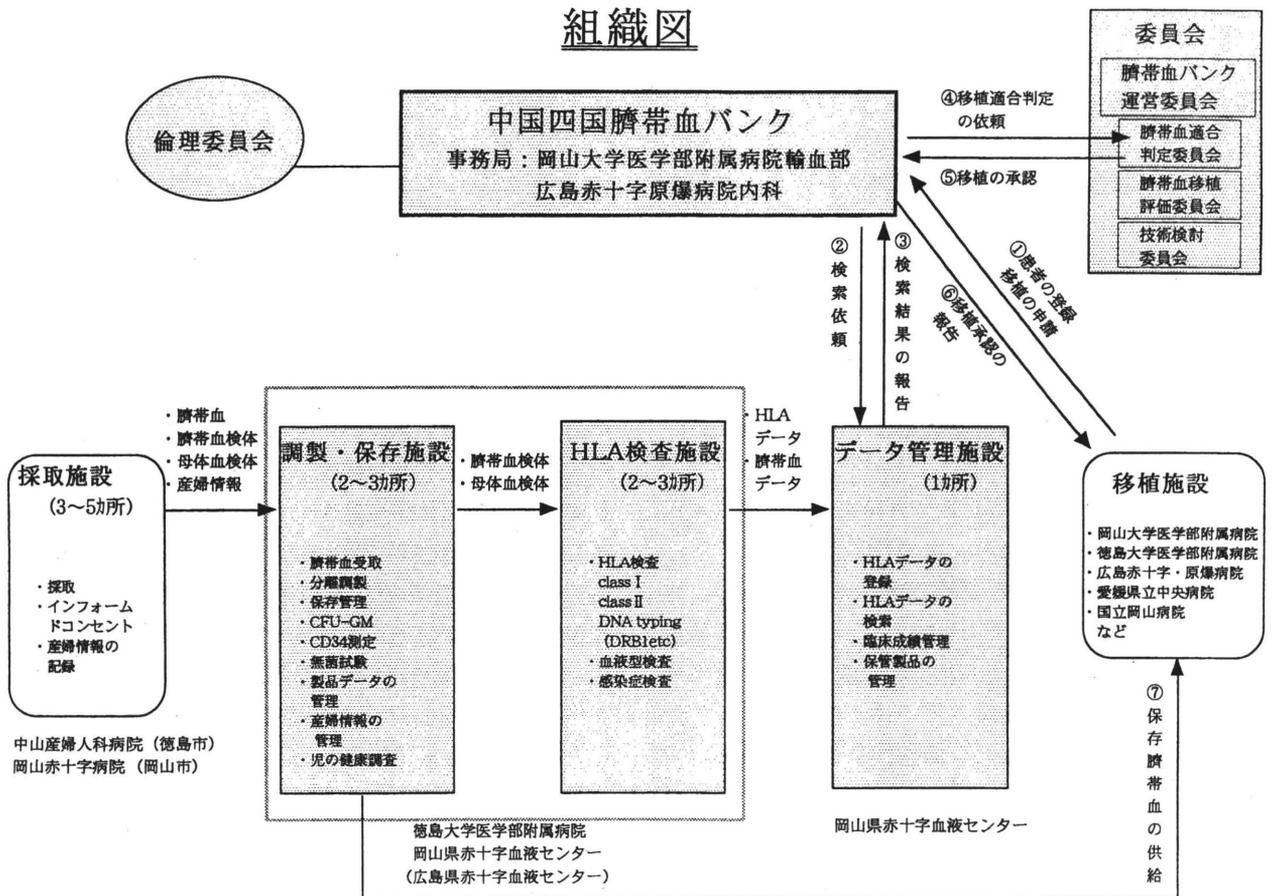
大部分の臍帯・胎盤から40-80ml採取できるが、臨床的に移植可能な細胞数を採取するには60ml以上必要である。

図2. 臍帯血から採集できる有核細胞数の分布



一般に採取臍帯血量 (ml) とは正の相関を示すが、 1×10^9 個以上採取できることはまれである。

図3. 中四国臍帯血バンクの組織図



(平成11年3月1日現在、徳島大学で保存数は200検体、岡山血液センターは2検体、広島血液センターは準備中である。)

ている。従来廃棄されているものを利用するという利点があるが、臍帯血の保存・維持管理の経費で相殺されるようなことになれば、臍帯血バンクの存在価値が低下することは明らかである。また、日本の臍帯血バンクが世界的に細胞を提供できるバンクになるかどうかは、十分な経済

的基盤と厳重な品質管理の観点からの運営が重要であり、国際規格であるISO9000の認定を受けたミラノ臍帯血バンク¹²⁾のような品質管理は先進国としての責務であると考える。

謝 辞

徳島大学医学部附属病院検査部，輸血部，および中山産婦人科の各スタッフの御協力に深謝いたします。

文 献

- 1) Goldman, J.M., Schmitz, N., Niethammer, D., Gratwohl, A.: Allogeneic and autologous transplantation for hematological diseases, solid tumors, and immune disorders: current practice in Europe in 1998. *Bone Marrow Transplant.*, 21 : 1-7, 1998
- 2) To, L.B., Haylock, D.N., Simmons, P.J., Juttner, C.A.: The biology and clinical use of blood stem cells. *Blood*, 89 : 2233-2258, 1997
- 3) Watts, M.J., Linch, D.C.: Peripheral blood stem cell transplantation. *Vox Sang*, 73 : 135-142, 1997
- 4) Gluckman, E., Broxmeyer, H.E., Auerbach, A.D., Friedman, H.S., et al.: Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical cord blood from an HLA-identical sibling. *N. Engl. J. Med.*, 321 : 1174-1178, 1989
- 5) Rubinstein, P., Carrier, C., Scaradavou, A., Kurzberg, J., et al.: Outcomes among 562 recipients of placental-blood transplants from unrelated donors. *N. Engl. J. Med.*, 339 : 1566-1577, 1998
- 6) Kawano, Y., Takaue, Y., Watanabe, A., Takeda, O., et al.: Partially mismatched pediatric transplants with allogeneic CD34+ blood cells from a related donor. *Blood*, 92 : 3123-3130, 1998
- 7) Reid, C.D.L.: The biology and clinical applications of dendritic cells. *Transf. Med.*, 8 : 77-86, 1998
- 8) Khouri, I.F., Keating, M., Korbling, M., Przepioka, D., et al.: Transplant-Lite: induction of graft-versus malignancy using fludarabine-based nonablative chemotherapy and allogeneic blood progenitor-cell transplantation as treatment for lymphoid malignancies. *J. Clin. Oncol.*, 16 : 2817-2824, 1998
- 9) 厚生省保険医療局，厚生省局長諮問委員会，臍帯血移植検討会。「臍帯血移植実施のための技術指針」，厚生省，1998年7月
- 10) 高梨美乃子：臍帯血幹細胞の保存，新しい造血幹細胞移植（原田実根，加藤俊一，藪田精昭 編），南江堂，東京，1998，pp. 121-125
- 11) 西平浩一：臍帯血移植と臍帯血バンクの現況と展望。日小血会誌，12 : 321-329, 1998
- 12) Sirchia, G., Rebulli, P., Lecchi, L., Mozzi, R., et al.: Implementation of a quality system (ISO 9000 series) for placental blood banking. *J. Hematother.*, 7 : 19-35, 1998

Current status of hematopoietic stem cell transplantation and umbilical cord blood bank in Chugoku-Shikoku area

*Yoshifumi Kawano**, *Sachiyo Kanamaru**, *Ryuji Nakagawa**, *Tsutomu Watanabe**, *Toshihiro Ohnishi**, *Yasuhiro Kuroda**, *Masao Hirose***, *Kenji Shima†*, and *Takayoshi Nakayama‡*

**Department of Pediatrics, **Division of Blood Transfusion, and †Division of Central Laboratory, The University of Tokushima School of Medicine, Tokushima ; and ‡Nakayama Maternity Clinic, Aizumi-cho, Tokushima*

SUMMARY

The hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) is rapidly and widely spreading in the treatment strategy of various types of cancers, since peripheral and umbilical cord blood (CB) have been introduced as new sources of transplantable cells in addition to ordinary bone marrow cells. In this report, the current status of HSCT was reviewed. CB is rich in hematopoietic stem/progenitor cells, which have high proliferative potential. T cells in CB are speculated to be immature and immune-tolerable cells with less potential to cause acute or chronic graft versus host disease (GVHD), which are directly related with transplant-related morbidity and mortality. Furthermore, transplants with CB are not strictly restricted by a HLA-disparity. On the other hand, the less number of collected cells from CB is a major problem when the cells are applied for clinical transplantation, because the lower number of infused cells often result in engraftment failure. Further, we have no data of the viability after long term cryopreservation. We must carefully judge the usefulness of CB as a cell source for transplantation, but the benefits of CB may have a possibility to overcome these disadvantage in the near future. Finally, the activity of cord blood bank in Chugoku-Shikoku area, which was started from August 1998, was also introduced.

Key words : cord blood cell transplantation, hematopoietic stem cell, graft versus host disease, cord blood bank, HLA