

D. 考察

レポーターアッセイにより、インスレーター活性領域ならびにエンハンサー活性領域をそれぞれ 242bp, 185bp という短い領域内に効率的にマッピングすることに成功した。JPAC インスレーター配列のエンハンサー遮断効果は、内在性の JPAC エンハンサー配列に限定されず、(外来配列であり比較的強い活性を持つ) SV40 エンハンサー配列に対しても効果を示した。このことは、JPAC インスレーター配列が様々なエンハンサーに対して効果を示し得る汎用性の高いインスレーターである可能性を示唆している。

JPAC インスレーター配列を両端に付加したをネオマイシン耐性遺伝子のトランスフェクションアッセイで、JPAC インスレーターはバリアー活性を示した。但し、その活性はコントロールとして用いた既知インスレーター配列 cHS4 と比較して弱かった。インスレーター効果には細胞タイプ特異性があることが知られており、今のところ全ての細胞種において万能に機能するインスレーターは知られていない。JPAC インスレーターがどのような細胞種においてエンハンサー遮断効果ならびにバリアー活性を発揮するかを決定するのが、遺伝子

治療ベクターへの応用に向けての今後の課題であると考えられる。

ゲノム配列解析の結果から、JPAC 配列はマウスとヒトで高度に保存されており、ヒト配列もインスレーター活性を示す可能性が強く示唆される。

E. 結論

新規のマウスインスレーター配列として JPAC インスレーター配列 (242bp) を同定した。遺伝子治療ベクターへの応用可能性について来年度にさらに検討する。

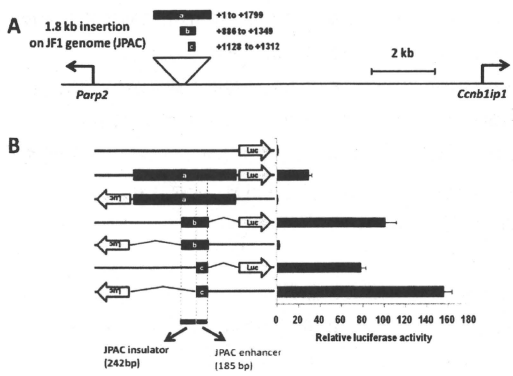
G. 研究発表

なし

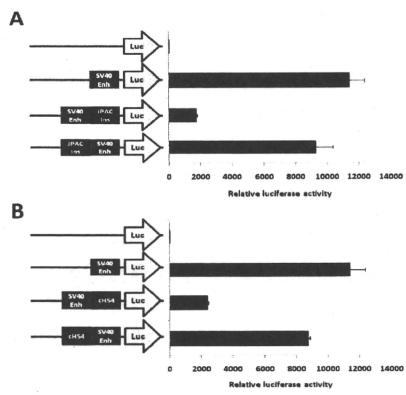
(平成23年度中に学会発表予定)

H. 知的財産権の出願・登録状況

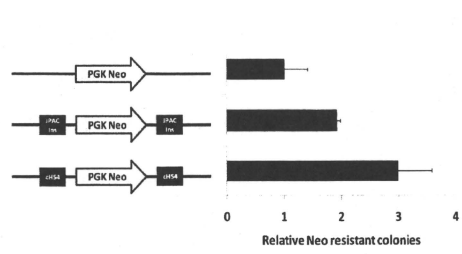
なし



【図 1】
 マウス JF1 系統ゲノムにおける JPAC の位置 (A) と JPAC のエンハンサー遮断効果を示すレポーターアッセイ結果 (B)



【図 2】
 SV40 エンハンサーに対する JPAC インスレーターへの遮断効果 (A) ならびに cHS4 インスレーターへの遮断効果 (B)



【図 3】
 JPAC インスレーターのバリアー活性。ネオマイシン耐性遺伝子の両端に JPAC インスレーターをクローニングし、それを Cos7 にトランスフェクションし、得られたネオマイシン耐性コロニーの数を数えた。

濃厚な治療が奏効せずに死亡したアスペルギルス肺炎の慢性肉芽腫症例

研究分担者 有賀 正 北海道大学大学院医学研究科 小児科学分野教授

研究協力者 山崎 康博 北海道大学大学院医学研究科大学院生

研究要旨： 乳児期にアスペルギルス肺炎を発症した慢性肉芽腫症患者を経験した。造血幹細胞移植をめざして濃厚な感染症治療/肉芽腫治療を行ったが、病勢を抑えきることが出来ず呼吸不全で死亡した。活動性感染症患者にも施行しうる遺伝子治療の必要性を強く実感した。

A. 研究目的

慢性肉芽腫症（CGD）は食細胞の活性酸素産生機構の遺伝的欠陥のために細菌、真菌に対して易感染性を示す原発性免疫不全症である。本疾患では約3から4割の患者が真菌感染症を発症し、その原因のうち最も頻度が高いのがアスペルギルス種である。同感染症は本疾患において主要な死因でもあり、従来の治療だけでは制御不能となる状況もあるため、有効な治療法の開発が望まれている。

本研究報告では、アスペルギルスによる難治性感染症/肉芽腫形成を呈したCGD患者を経験し、病勢をコントロールする治療手段としての遺伝子治療の可能性を考察した。

B. 研究方法

症例：生後7ヶ月時に発熱、咳嗽、鼻汁が出現し、近医で気管支炎、中耳炎として治療を受けた。生後8ヶ月に急激に左腋窩リンパ節が約2.5cmまで腫大したため、近医総合病院を受診した。咳嗽が続くため施行した胸部レントゲンで両側の肺炎を認めた。左腋窩リンパ節生検ではZiehl-Neelsen染色で桿菌を認めた。肺炎は抗菌薬治療で改善せず、BCG菌の関与を疑い抗結核剤が開始されたが、改善傾向がないため当科に診断依頼があり、好中球活性酸素産生能の低下が判明しX-CGDと診断された。血清アスペルギルス抗原が陽性のためMCFGが投与されたが解熱しなかった。入院55日目の生後10ヶ月時に当院に紹介入院となった。当院入院後は図1のような強力な抗菌治療、抗真菌治療、ステロイド、γインターフェロン治療を施行し、造血幹細胞移植治療による根治を目指した。一時小康状態となったが、感染症は改善せず、呼吸不全が進行して死亡した。剖検所見では正常な肺組織はほと

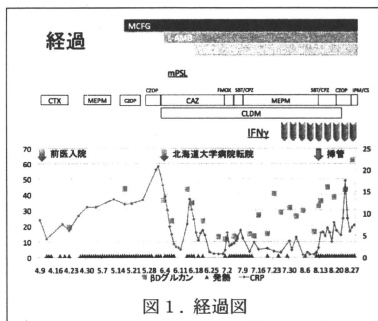


図1. 経過図

んどなく、肉芽腫の形成と破壊像を認め、多数の巨細胞と巨細胞内に多数の真菌を認めた。

C. 研究結果

上記の症例からCGD患者の中には、現在利用可能な治療だけでは感染症/肉芽腫形成の克服が困難な症例が存在することを再確認した。造血幹細胞移植によって食細胞機能が正常化できれば、本症例における真菌感染症を克服できた可能性は否定できない。しかし、活動性の感染症を抑制できなかったため、強力な前処置の必要な造血幹細胞移植は実施不可能であった。もし軽度の免疫抑制で可能な遺伝子治療によって一時的にでも食細胞の活性酸素産生機能を回復することが出来れば、本症例の感染症/肉芽腫形成を抑制し得たかもしれない。

D. 考察

内科的にコントロール不能な重症真菌肺炎を罹患し、救命できなかつたCGDの乳幼児を経験した。剖検では肺は大部分が感染による破壊と肉芽腫で基質化していて、現状の治療手段での救命は困難であったことを確認した。CGDにおける活性酸素産生障害は、病原体に対する殺菌能の障害があるだけではなく、活性酸素産生そのものが過剰な炎症（肉芽腫形成）の制御に重要であることも示唆されている。Ottらによって2006年に報告されたCGDに対する遺伝子治療の2例では、難治性の黄色ブドウ球菌による肝膿瘍と、アスペルギルスによる肺炎を認めたが、遺伝子治療後50日と、52日のFDG-PETで改善が確認している。同様に2009年のBianchiらの症例では重症の活動性アスペルギルス肺病変が、遺伝子治療後42日で回復を認めた。慢性肉芽腫症における遺伝子治療では、効果が長期間続かないこと、発がんリスクなどが懸念されているが、感染症に関しては有効性が示唆されている。我々の症例の様に現在利用可能なあらゆる治療を実施しても感染症/肉芽腫形成を克服できずに死亡する症例がいることを鑑みると、造血幹細胞移植による根治治療を念頭に置き、感染症/肉芽腫形成を制御するための遺伝子治療の試みは意義のあるものだと考えている。仮に遺伝子治療が根治治療とならなくても、病勢をコントロールし、その後の造血幹細胞移植へつなぐことが可能であれば、治療の選択肢の一つとして同様の症例にとって大きな福音となるであろう。

E. 結論

難治性真菌感染症をきたした慢性肉芽腫症患者を通して、感染症治療/肉芽腫治療としての遺伝子治療の必要性を痛感した。

F. 健康危険情報 特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

有賀 正：原発性免疫不全症にみられる自己免疫病態。日本小児ウマチ、2、5-8、2010

有賀 正：原発性免疫不全症。遺伝子診療学：遺伝子診断の進歩とゲノム治療の展望。4。膠原病・アレルギー疾患に対する遺伝子治療。1）原発性免疫不全症。日本臨床68、増刊号8、654-659、2010

有賀 正：免疫不全：主に細菌感染症を繰り返す免疫不全 小児内科。特集：小児感染症：なぜ繰り返す、なぜ治らない。印刷中

Roos D, Kuhns DB, Maddalena A, Roesl

er J, Lopez JA, Ariga T, Avcin T, de Boer M, Bustamante J, Condino-Neto A, Di Matteo G, He J, Hill RH, Holland SM, Kannengiesser C, Köker MY, Kondratenko I, van Leeuwen K, Malech HL, Marodi L, Nunoi H, Stasia M-J, Witwer CT, Wolach B and Gallin J. Hematologically important mutations: X-linked chronic granulomatous disease (third update) Blood Cell Mol Dis, 45: 246-265, 2010

有賀 正 特別講演：日常診療における原発性免疫不全症 千歳市小児科医会講演会 平成22年10月15日 千歳市

有賀 正 特別講演：原発性免疫不全症に対する遺伝子治療の現状と問題点 第17回大分小児アレルギー研究会 平成22年10月22日 大分市

山崎康博 第18回食細胞機能異常抄研究会乳児期にAspergillus肺炎を発症したX連鎖性慢性肉芽腫症の一例 平成22年12月11日 東京都

山崎康博 第4回日本免疫不全症研究会乳児期にAspergillus肺炎を発症し死亡したX連鎖性慢性肉芽腫症の一例 平成23年1月22日 福岡市

H. 知的財産権の出願・登録状況 特になし。

大腸ファイバー検査で見えられた慢性肉芽腫性腸炎(CGD colitis) 3例

研究分担者 布井 博幸（宮崎大学医学部小児科 教授）

研究協力者 水上 智之 唐澤 直希（宮崎大学医学部小児科）

研究要旨

慢性肉芽腫症(CGD)での感染対策は、近年新しい抗生物質や抗真菌剤の登場、日常生活指針の発刊や、重症感染の予防に努めることによりかなり改善してきた。一方でCGD患者における難治性腸炎(CGD colitis)の報告が多くされている。CGDは免疫不全症に関わらずCGD colitisのような過炎症性疾患を伴う事から、活性酸素が炎症を惹起するとともに、一方で炎症抑制にも関わっているのではないかという研究も進んでいる。今回我々は、あまり腸炎症状を疑わせる症状が無く、全身のスクリーニングにて発見されたCGD colitis症例を3名経験した。大腸ファイバーおよび生検組織の結果を、これまでの文献的報告を踏まえ考察し、報告する。

A. はじめに

慢性肉芽腫症(CGD)は多臓器に難治性肉芽腫をきたす予後不良の疾患であり、国内患者数は270名以上で原発性免疫不全症候群の中でも最も多い疾患の一つである。近年抗真菌剤の進歩が著しく、骨髄移植や遺伝子治療を含め治療法の確立が期待されている。しかし、CGDでは、非感染性の炎症状態が長期間持続し、炎症性病変、非乾酪性肉芽腫（食道、胃、膀胱など）や慢性腸炎、SLE様症状などの症候が持続的に認められ、治療計画にも大きな影響を及ぼしている。このようなCGDの合併症の中でも、炎症性腸疾患様病態はCGD患者の約半数に合併し、臨床的、画像的にも肛門病変が多く、非連続性、肉芽腫形成に富み、クローン病に類似している。抗生物質は無効だが、ステロイドや免疫抑制剤など免疫調整療法を行うと、多くの場合で症状が改善する。抗生物質、抗真菌剤の予防内服やIFN- γ 使用とは無関係とされ、gp91^{phox}欠損型に多いことも知られている。

今回は消化器症状ではほとんど気付かれず、全身のスクリーニングで見えられた症例の検討を行った。

B. 方法

患者：【**症例1**】；20歳男性、既往歴；生後3か月で痔瘻、1歳で髄膜炎反復。2歳大学小児科初診。慢性肉芽腫症と診断、その後も4歳でリンパ節腫脹、7歳で肺炎に罹患し、gp91-phox欠損慢性肉芽腫症、McLeod syndromeと診断されている。8歳の時肝左葉に肉芽腫を形成、小児外科で肝部分切除術を施行され、11歳の時当科転院となった。18歳の4月より事務、販売として就職。19歳の春に花粉症で鼻汁、くしゃみ、眼困発赤と持続する咳嗽で、両肺野の肺アスペルギルス肉芽腫と診断され、CTRX、L-AMB治療後、VRCZ+MCFGに变更され、肉芽腫病変の改善を認めていた。最近のCTおよびMRIで、肺病変の著明な縮小、脾肉芽腫および右単径リンパ節肉芽腫の消失、Ga⁶⁷Scnチで異常集積の消失が認められたため、軽快と判断して9月に退院された。退院後はST合剤およびVRCZ内服継続し症状発現なく全身状態良好で経過した。現病歴；19歳の10月当科再診、胸部CT上アスペルギルス肉芽腫残存認めるも器質化していたが、CRP4.51と炎症反応上昇を認めため精査目的にて同日当科入院となった。入院後経過；種々の抗生物質、抗真菌剤の使用に関わらず、

発熱の改善が得られないため、不明熱の精査の一環として大腸ファイバー検査を行い、アフタ性腸炎と診断され、上部消化管もカプセル内視鏡で行われた。

【症例2】：23歳男性、既往歴；1歳ごろに慢性肉芽腫症の診断を受け、以後は繰り返す肺炎や膿瘍などで肺炎切除などの加療を受けていた。18歳春、当科紹介入院となり、繰り返す頸部リンパ節膿瘍、自潰、瘢痕収縮に対してIFN- γ 皮下注射を導入された。以後も頸部・腹部の臓器に膿瘍を形成し、その都度、当科入院となり抗菌薬・抗真菌薬の投与で経過観察されていた。22歳4月に真菌性肺炎にて入院、抗菌薬・抗真菌薬投与されている。生活上の問題もあり、IFN- γ 投与はこの時より中止となっている。現病歴；22歳の10月頃より右鎖骨上窩リンパ節からの排膿が間歇的に続いた。外来にて切開排膿、CTX投与により加療したが、難治性であり、入院での加療継続が必要であると考えられ、12月入院となった。入院後経過；入院経過中特に消化器症状も認めていなかった。CRPの持続陽性など時々不明熱があるという事で、精査のため大腸ファイバー検査が行われた。

【症例3】：18歳9ヶ月男児、症例2の弟、既往歴；生後6ヶ月より蜂巣織炎反復、1歳時に慢性肉芽腫症と診断される。10歳の時虫垂炎の手術、13歳6月に左下肺野に真菌性肉芽腫症にてVRCZ内服、MCPG点滴にて軽快、14歳の10月肛門周囲膿瘍と痔瘻の根治術、16歳の11月には右耳下介部リンパ肉腫、17歳5月には同部位の頸部リンパ節切除を施行されている。現病歴；18歳4月に痔瘻再発。下痢なし、腹痛無し。ほとんど休む事はない。CRP陰性であったが、痔瘻再発したため大腸ファイバー検査が行われた。

C. 結果

1) 大腸ファイバー所見：

【症例1】：アフタ性腸炎；回腸末端に血管透見不良な粘膜域あり。回腸末端にびらん数個あり、盲腸から直腸にかけてアフタが多発している（図1-症例1）。アフタの配列には規則性はないが、直腸のアフタがわずかに大きい。

カプセル内視鏡所見：まず、胃カメラで咽頭、喉頭に軽度のメラノーシス、食道裂孔ヘルニア、胃噴門部小弯に竹の節状外観を確認、十二指腸下行脚まで観察された。その後、カプセル内視鏡により下記の所見が観察された。下部小腸優位に粗造な粘膜、びらんを散見するも、小腸に潰瘍や狭窄は認めない。下部回腸では所々に、回腸末端からは広範囲に粗造粘膜を認め、絨毛が腫大している。結腸内にはアフタが多発している。

【症例2】：腸炎；大腸ファイバーにて回腸末端にはわずかにびらんあり、また同部の粘膜は絨毛構造が破壊されており、インジゴ散布すると通常の絨毛構造よりは小さなうろこ状様の粘膜がみられる。盲腸から直腸にかけてはわずかにアフタが散見される。また黄色の小顆粒状の色素沈着を認める、盲腸と直腸のアフタが最も多く、他の部位はわずかにみられる程度。また上記の沈着の程度は直腸にいくにしたがって増強しており、Rbで最も強い。下行結腸やS状結腸のアフタは通常観察では非常に観察しづらいが、NBIを用いると周囲に紅軍を伴うアフタが容易に観察可能となる。アフタの配列に規則性はない（図1-症例2）。

【症例3】：アフタ性大腸炎；回腸には異常はみられず。盲腸から直腸の背景粘膜は全体的に黄褐色調。盲腸から直腸まで多発するアフタを認める。アフタはS状結腸下部から直腸にかけては大きくなっている。しかし配列には規則性はない。直腸中下部には黄色調の顆粒状の粘膜（色素沈着様）もあり（図1-症例3）。

2) 大腸生検組織検査：

【症例1】：回腸末端、盲腸周辺、下行結腸の小アフタ部位では、粘膜下層を中心とし表層近傍に至るリンパ濾胞様の炎症細胞集簇を認める（図2-1）。横行結腸左側とS状結腸および直腸のアフタ部位では、明らかな肉芽腫形成は認めないが、微小な類上皮細胞様細胞の集簇を切り込み切片には認める（図2-2）。明らかな病原微生物の存在や、悪性所見を認めない。以上の所見より、腸炎の原因とし

て慢性肉芽腫症合併症も考えられるが、クローン病の可能性も否定はできない。

【症例 2】回腸末端の小アフタでは、腸上皮断片のみで、粘膜組織を認めない。横行結腸、下行結腸、S 状結腸、直腸のアフタ部位では、粘膜下層を中心に慢性的炎症細胞の浸潤を認め、瀰漫性の泡沫状のマクロファージ (foamy macrophages) を伴っている。このマクロファージでは暗黒色から暗緑色の色素沈着が認められる (図 2-3)。盲腸孔付近のアフタに小さな肉芽腫性炎症病巣を認めますが、全体的にびらんや高度な活動性炎症を認めない。PAS 染色で微生物を認めない。

【症例 3】回腸末端の小アフタでは寸断された粘膜上皮があり、粘膜下層は浮腫と弱いがリンパ球の浸潤が認められる。盲腸、から直腸のアフタ部位では粘膜下層に泡沫状のマクロファージ (foamy macrophages) の集簇とリンパ球およびプラズマ細胞や好中球の浸潤を伴っている部分がある (図 2-4)。下行結腸のアフタでは、リンパ球に小さな肉芽腫性炎症病巣を認め、S 状結腸のアフタでは、小さく肉芽腫性炎症病巣を数カ所認める。慢性肉芽腫症で認められる病理所見と考えられる (1)。

治療：

上記大腸ファイバーと生検組織検査により、クローン病類似の難治性腸炎と考え、以下のような治療を現在施行中である。症例 1；ブイフェンド 300mg/X2, バクダ配合顆粒 2g/X2, ペンタサ 1500mg/d X3, プレドニゾン 2mg/kg, 症例 2；ペンタサ 2250mg/d X3。症例 3；ペンタサ 2250mg/d X3。

D. 考察・結論

今回報告した3例はいずれもはっきりとした消化器症状も無く、不明熱ないしは、全身のスクリーニングの一環として行われた大腸ファイバー検査でクローン病様の腸炎が発見されたものである。3症例いずれもアフタ性腸炎という大腸ファイバーでの所見であるが、生検病理組織では、回腸末端の小アフタで、

膜下層は浮腫と弱いリンパ球の浸潤が認められ、盲腸、から直腸のアフタ部位では粘膜下層に泡沫状のマクロファージ (foamy macrophages) の集簇とリンパ球および症例によりプラズマ細胞や好中球の浸潤を伴っており、CGD colitisとして報告されている病理像と一致すると考えられた (1)。これら的大腸ファイバー検査および生検病理所見から、CGD colitisは難治性腸炎のクローン病に類似している。クローン病では以下の内視鏡所見が特徴とされる。基本的に大腸内視鏡の他に上部消化管内視鏡検査も含めた全消化管検査が行われ、A) 非連続性病変、B) 敷石像、C) 縦走潰瘍、D) 多発性アフタ、E) 狭窄病変・裂溝・瘻孔病変、F) 胃に竹節状変化がみられることが多いとされている。3名の所見を総合すると、非連続性病変、多発性アフタ、竹節状変化が胃の病変が認められ、クローン病の病期分類では病初期の多発性アフタ期に相当し、内視鏡的に血管透見像の消失、易出血性、びらん、または潰瘍などを認める活動期と考えられる。

CGD患者の約半数で、このような過剰炎症候群を呈しやすい要因として、1) CGDでは刺激下でL-8産生がより長く(4時間後で)2-3倍も正常好中球より増加している (2)、2) 正常者では、活性酸素種がカスパーゼ 1 の活性化を抑制するため、活性酸素の産生できないCGD患者の方が多量にIL-1 β を産生し(3)、炎症の起こりやすく持続する状態を作っている等の報告がなされている。

3症例ともに直腸のアフタ部位では粘膜下層に泡沫状のマクロファージ (foamy macrophages) の集簇が認められ、症例3では小さく肉芽腫性炎症病巣 (多核巨細胞が認められている。泡沫状のマクロファージはM-CSF+IL-6+IFN- γ で誘導され、更に未知のサイトカインでTouton Giant Cellが誘導されてくると考えられている (4)。多核巨細胞には多核の存在様式から肉芽腫に特徴的なLanghans巨細胞 (Langhans Giant cell; LGC) やOsteoclast (破骨細胞)、異物巨細胞 (Foreign body giant cell; FGC)、更にTouton Giant Cellが知られているが、各々マクロファージをGM-CSF+IFN- γ +IL-3、M-CSF+RANKL、GM-CSF+IL-4+IL-13、

M-CSF+IL-6+IFN- γ ?? 等のような炎症性サイトカインと培養する事によって誘導されると考えられている。これらの報告から、CGD colitisでは泡沫状のマクロファージを誘導するM-CSF+IL-6+IFN- γ や多核巨細胞の誘導されやすいGM-CSF+IFN- γ +IL-3の存在する炎症状態が起こっているものと考えられる()。

CGD colitisでは、メサラミン投与で軽快する症例から、ステロイド・免疫抑制剤併用療法に反応乏しい難治性のもまで幅広く、最近では、Infliximab (IFX) 投与にて改善した症例報告はあるが、5例にIFXを投与して、痔瘻閉鎖などの効果が得られたものの、感染症により2例が死亡したとの報告(5)や、IL-1受容体アンタゴニスト (anakinra) の8日間投与では、腹痛発作の回数が減少したものの、便回数は減少しなかったとの報告(6)がなされている。国内ではCGD腸炎15例以上把握されており、現在症例調査、解析、治療ガイドライン作成作業が進められている(厚生労働省難治性疾患克服研究事業「外胚葉異形成免疫不全症の実態調査と治療ガイドラインの作成」研究班)

図1. 大腸ファイバー所見

図2. 大腸生検病理検査

矢印は瀰漫性の泡沫状のマクロファージ (foamy macrophages) を示している。

参考文献:

1. S Levine, et al., *Histopathol* 2005, 47; 508-516
2. Julie A. et al., Lekstrom-Himes, *J Immunol* 2005,174; 411-417
3. van de Veerdonk FL, et al. *PNAS*. 2010,107:3030-3
4. Mark T. Quinn Igor A. Schepetkin, *J Innate Immun* 2009,1:509-526
5. Usel G, et al. *Clin Infect Dis*. 2010, 51(12):1429-34.
6. Meissner F, et al. *Blood*. 2010, 116(9):1570-3.

E. 健康危険情報

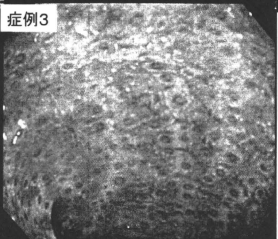
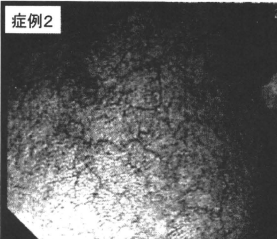
特になし

F. 研究発表

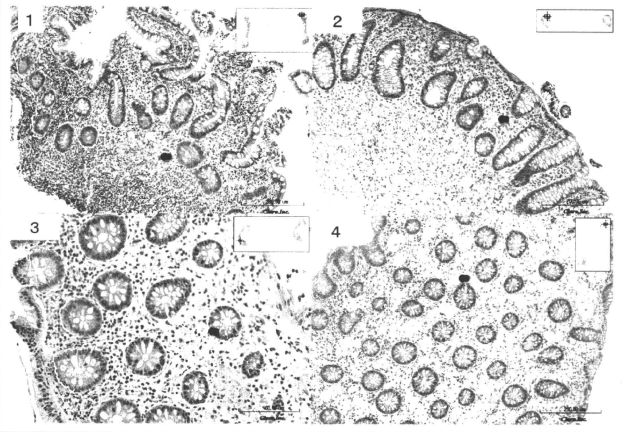
<2010年度論文>

1. Kato I, Umeda K, Awaya T, Yui Y, Niwa A, Fujino H, Matsubara H, Watanabe K, Heike T, Adachi N, Endo F, Mizukami T, Nunoi H, Nakahata T, Adachi S. Successful treatment of refractory donor lymphocyte infusion-induced immune-mediated pancytopenia with rituximab. *Pediatr Blood Cancer*. 2010;54(2):329-31.
 2. Moritake H, Shimonodan H, Marutsuka K, Kamimura S, Kojima H, Nunoi H. C-MYC rearrangement may induce an aggressive phenotype in anaplastic lymphoma kinase positive anaplastic large cell lymphoma: Identification of a novel fusion gene ALO17/C-MYC. *Am J Hematol*. 2011 Jan;86(1):75-8.
 3. Roos D, Kuhns DB, Maddalena A, Roesler J, Lopez JA, Ariga T, Avcin T, de Boer M, Bustamante J, Condino-Neto A, Di Matteo G, He J, Hill HR, Holland SM, Kannengisser C, Köker MY, Kondratenko I, van Leeuwen K, Malech HL, Marodi L, Nunoi H, Stasia MJ, Ventura AM, Witwer CT, Wolach B, Gallin JI. Hematologically important mutations: X-linked chronic granulomatous disease (third update). *Blood Cells Mol Dis*. 2010 Oct 15;45(3):246-65.
- G. 知的財産圏の出現・登録状況、参考文献
なし

大腸ファイバー所見 図1



生検病理検査(図2)



分担研究報告書

遺伝子治療臨床研究における前処置等の検討とそのフォロー

分担研究者 福島 敬

筑波大学大学院 人間総合科学研究科 疾患制御医学専攻 小児科学講師

研究要旨

慢性肉芽腫症（CGD）は、遺伝子異常に伴う好中球機能異常であり、従来から健康人をドナーとした同種造血幹細胞移植（SCT）が根治療法として実施されてきた。日本造血細胞移植学会では、インターネットを利用して、全移植症例のWEB登録を継続し、全国集計を毎年行っているが、それによると、わが国では、296例の原発性免疫不全症患者が同種SCTを受けている。その登録例のうち、22症例がCGDである。

一方で、自家造血細胞を用いた遺伝子治療の場合でも、何らかの前処置を行って遺伝子導入細胞が生着・増殖するための”すきま”（造血ニッチ）を確保することが必要であるとされ、海外の先行臨床研究ではブスルファンを用いた前処置が多く用いられている。ブスルファン自体は古くからSCT前処置に用いられている薬剤であるが、発育期の小児に投与した場合には、短期・長期の治療関連毒性が経験されている。従来のブスルファン併用前処置は、ほとんどが難治性白血病などの悪性腫瘍症例を対象としていたため、SCTに至る以前にアルキル化剤を含む抗がん剤の多剤併用療法や、放射線療法の既往を有するため、ブスルファン単独の有害事象としてではなく、原疾患自体の病態と治療全体による毒性の総和として理解するのが妥当である。

折しも、静注用ブスルファン（ブスルフェクス®）が国内で発売され、使用する機会が急速に増えている。日本造血細胞移植学会では、従来の経口ブスルファンとの比較、前処置のレジメン内容に注目して移植成績との関連性の参考になりえる集計結果を公開している。多くの解析対象症例は白血病等であるが、他山の石として、われわれの臨床研究テーマのうち、前処置の妥当性評価、長期フォローアップ計画作成のためには非常に参考になる情報である。CGD症例にブスルファンを用いることのメリットおよびデメリットを事前に可能な限り検討して、長期フォローアップ計画を含めた臨床研究を準備することが望ましいと考えられる。

A. 研究目的

慢性肉芽腫症（CGD）の臨床試験実現に向けて、日本の現状に即した臨床医学的情報を収集・整理し、対象症例の選択、前処置の工夫およびフォローアップ体制を構築するための基礎づくりを行う。

B. 研究方法

日本造血細胞移植学会で公開している集計結果のうち、われわれの臨床研究に必要な情報を抽出し、分析・検討する。

C. 研究結果

1. CGD に対する同種 SCT の成績について

日本造血細胞移植学会の登録システムには、296 例の免疫不全症のうち 22 症例が CGD である。Wiscott-Aldrich 症候群

(WAS) の治療成績が最も良好であり、重症複合免疫不全 (SCID) と CGD とは同等である (資料 1)。ただし、各疾患ごとの 95%CI をみると、CGD のものが最も広い範囲 (60.6-95.0%) を示し、悪い場合は SCID より悪く、良い場合には WAS よりも良いという数値になっている。この集計は、各担当医が臨床実践として移植を行った症例を、自発的な意思によって登録したものであるため、必ずしも全容を示すものではなく、臨床試験スタイルの研究から得られたデータとはその性格が全く異なるものであるが、わが国においては大きな拠り所となるものである。

2. ブスルファン (Bu) について

SCT 後の overall survival (OS、資料 2) disease free survival (DFS、資料 3) および死亡原因 (資料 4) に示す通り、全症例を対象とした集計では、経口 Bu と静注 Bu との間に、平成 21 年時点では有意差はないが、前処置のレジメンの種類ごとの集計においては、一定の差が見受けられる。

SCT 後の 2 次性悪性腫瘍に関する集計は、全体 (資料 5, 6)、2 次性造血器腫瘍 (資料 7, 8)、2 次性固形腫瘍 (資料 9, 10)、移植後リンパ増殖性疾患 (PTLD、資料 11, 12) として、cumulative incidence (CI) 法と Kaplan-Meier (KM) 法によって示されているが、経口 Bu と静注 Bu との差異は、ほぼ見られない。有意差検定の結果は公開されていないが、レジメンの種類によって 2 次性悪性腫瘍の発生率に差が生じている様に見える。

身長への影響は、現時点では経口・静注の違い、レジメン内容の影響は、いずれも観察されていない (資料 13)。

性腺障害は男女とも、Bu 経口・静注の影響に有意差はないが、レジメンの種類においては、男女とも現時点で有意差がみられている (資料 14)。

甲状腺機能障害については、経口・静注、レジメンの種類双方で有意差が得られている (資料 15)。

3. 遺伝子治療対象症例の選択と実施後のフォロー

資料 16 に示すように、わが国における同種 SCT の成績を踏まえて、現時点で CGD 遺伝子治療の対象例として適切な条件は、「妥当な SCT ドナーが得られないこと」、が主な要件であると考えられる。同種 SCT 実施後の拒絶 (または生着不全) 例も、遺伝子導入用の自家造血細胞を十分に採取できる場合、またはあらかじめバックアップとして自家骨髄細胞や自家末梢血幹細胞を採取し保存しておいた場合には、候補となる。

遺伝子治療実施後のフォローについては、免疫学的評価、ベクターそのものの影響の評価、ブスルファンそのものの毒性評価が必須である。

D. 考察

1. CGD に対する同種 SCT の成績について

同種 SCT 後 CGD 生存率の 95%CI は、他の疾患と比較してレンジが広いが、これは CGD の自然経過で、難治性感染症およびその合併症等を有する状態で同種 SCT に臨まなければならなかった症例かどうか、すなわち移植する際の状況 (合併症の重篤度) の個人差が大きいことが重要な因子であると推測される。深部膿瘍や気道感染症対策において、日常生活指導が非常に重要であり、SCT 実施までの期間、如何にして良好な全身状態を保つかが重要なポイントである。

すなわち、CGD の QOL および生存率向上のためには、CGD に対する同種 SCT 技術そのものの工夫と同等以上に、SCT 実施に至るまでのマネジメントが非常に重要であり、CGD 遺伝子治療適応症例の選択基準を検討する場合にも、これらの進歩を十分に踏まえる必要がある。

2. ブスルファン (Bu) について

Bu と生存率・死亡原因に関する資料 2 および資料 3、資料 4 のデータは、原疾患そのものや、移植前の治療等、種々の因子を十分に踏まえたうえで、更に登録症例の集積、観察期間の延長による集計結果の公表を毎年追跡して評価する必要がある。

前処置レジメンの種類と 2 次性悪性腫瘍の発生率 (資料 5-12) は、非常に深刻なテーマであるが、原疾患の病態や移植までの治療内容、ドナーソースによってレジメン自体を選択していることが多いと推測され、多因子の影響について慎重に評価すべきである。

身長への影響 (資料 13) については、

移植を受けた患児を追跡して最終慎重に到達した時点での評価をもって行うべきであり、現時点では時期尚早である。

前処置レジメンが性腺障害と有意に相関するというデータが資料 14 に、Bu の投与経路および前処置レジメンが、甲状腺機能異常と有意に相関するというデータが資料 15 に示されているが、これらは、原疾患そのものや移植以前に受けた治療内容等と複雑に関連するため、慎重に評価すべきである。

3. 遺伝子治療対象症例の選択と実施後のフォロー

資料 16 に示す通り、CGD 遺伝子治療を実施する場合の症例選択基準は、個別にアンケートを依頼した移植専門医の間でも個人差がある。遺伝子治療自体が非常に特殊な技術であるため、広くコンセンサスを得ようとする、帰って不正確な判断に陥ってしまうことが危惧される。CGD に対して同種 SCT を優先して実施する場合の「適切なドナー」の基準は、医師個人毎に差があり、時代によっても当然変化が生じる。GVHD 対策等の新たな技術が導入される度に、ドナーの条件は緩められる傾向が明らかである。

E. 結論

CGD に対する遺伝子治療適応症例の条件は、支持療法・同種 SCT 技術の進歩と深く関係する相対的なものである。

海外の先行研究で多く採用されている Bu を用いた前処置については、継続して情報収集の上、メリット・デメリットを踏まえて、その妥当性を検討することが望まれる。

遺伝子治療実施後のフォロー体制は、CGD としての評価（好中球機能）、ベクターの影響の評価に加えて、前処置による短期・長期毒性の評価が必須である。

F. 健康危険情報

該当事項なし。

G. 研究発表

1. 論文発表
該当論文なし。
2. 学会発表
該当演題なし。

H. 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。

添付資料

1. 免疫不全症を対象としたSCTの現状
2. SCT症例のOSとブスルファン (Bu)
3. SCT後のDFSとBu
4. SCT後の死因とBu
5. SCT後 2 次性悪性腫瘍とBu
Cumulative incidence(CI)法
6. SCT後 2 次性悪性腫瘍とBu
Kaplan-Meier (KM) 法
7. SCT後 2 次性造血器腫瘍とBu (CI法)
8. SCT後 2 次性造血器腫瘍とBu (KM法)
9. SCT後 2 次性固形腫瘍とBu (CI法)
10. SCT後 2 次性固形腫瘍とBu (KM法)
11. PTLDとBu (CI法)
12. PTLDとBu (KM法)
13. Buと低身長
14. Buと性腺障害
15. Buと甲状腺障害
16. CGD遺伝子治療臨床研究の対象症例択
基準作成にあたって

(以上)

免疫不全症を対象とした造血細胞移植の現状

(平成 21 年度日本造血細胞移植学会集計)

症例数(累積)

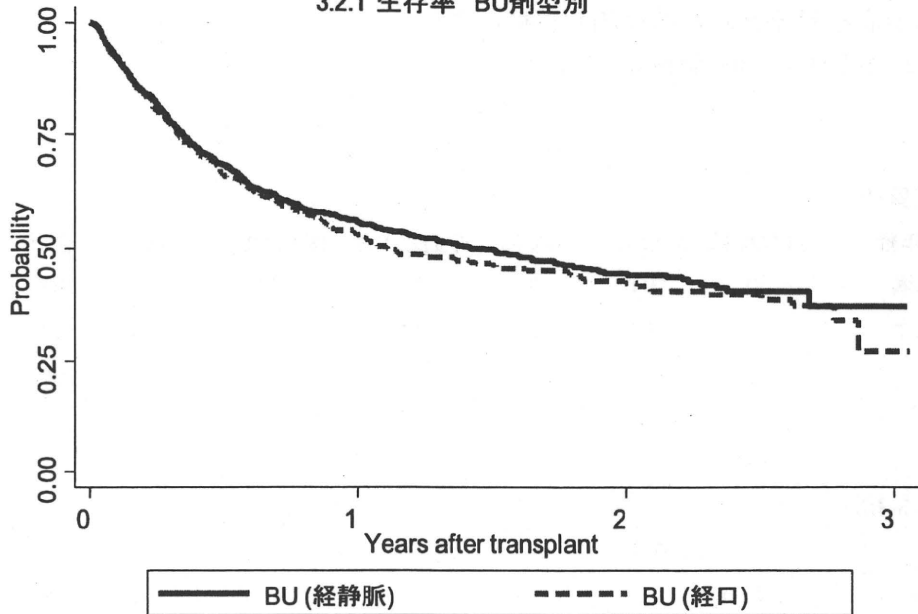
移植時年齢	自家移植	血縁 BM	血縁 PB	非血縁 PB	同種 CB	その他	合計
16歳未満	0	94	13	80	75	2	264
16歳以上	0	18	2	11	1	0	32
合計	0	112	15	91	76	2	296

生存率(累積)

診 断	移植後 1年			移植後 5年		
	症例数	生存率	95%信頼区間	症例数	生存率	95%信頼区間
SCID, 96	63	70.4	60.1-78.6%	30	58.7	47.5-68.3%
WAS, 68	55	89.1	78.4-94.6%	32	77.8	64.6-86.6%
CGD, 22	13	85.2	60.6-95.0%	7	66.2	34.2-85.4%

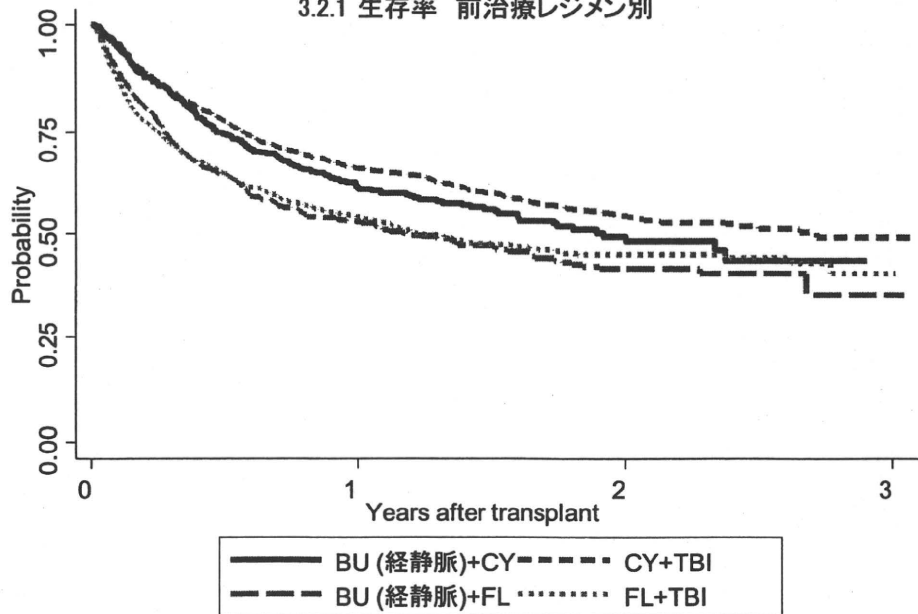
3.2 転帰調査

3.2.1 生存率 BU剤型別



対象レジメン	症例数	移植後 1年			移植後 2年			移植後 3年		
		生存率	95%信頼区間	観察症例数	生存率	95%信頼区間	観察症例数	生存率	95%信頼区間	観察症例数
① BU (経静脈)	1280	56.0%	53.1-58.9%	478	44.3%	40.8-47.8%	124	36.8%	29.4-44.2%	1
② BU (経口)	371	53.3%	47.8-58.4%	157	42.0%	36.4-47.6%	74	27.1%	14.7-41.0%	1

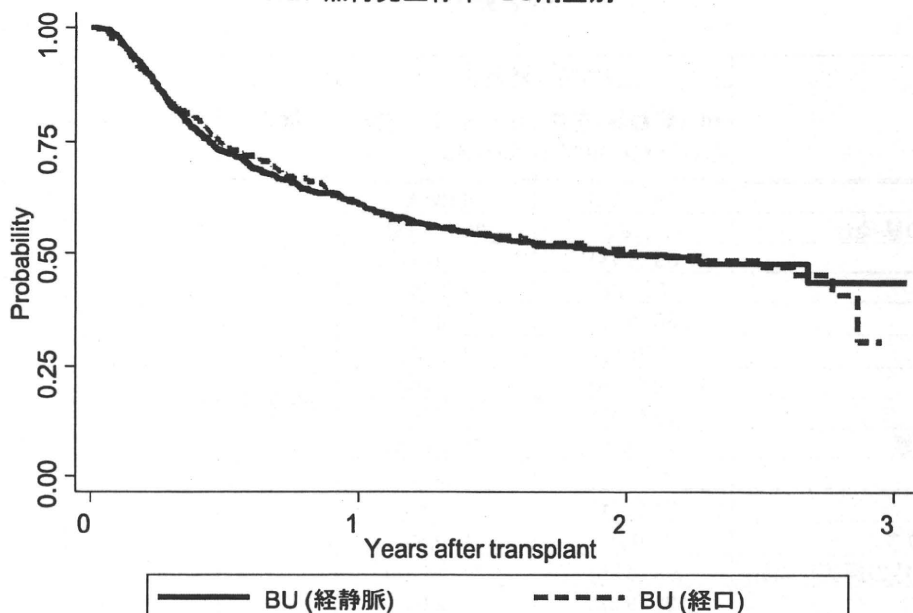
3.2.1 生存率 前治療レジメン別



対象レジメン	症例数	移植後 1年			移植後 2年			移植後 3年		
		生存率	95%信頼区間	観察症例数	生存率	95%信頼区間	観察症例数	生存率	95%信頼区間	観察症例数
① BU (iv) +CY	464	60.9%	55.9-65.5%	185	49.3%	43.2-55.1%	52	.	.	.
② CY+TBI	1923	65.8%	63.4-68.0%	840	54.1%	51.2-56.9%	254	49.1%	44.8-53.4%	3
③ BU (iv) +FL	722	52.7%	48.7-56.5%	248	41.9%	37.2-46.5%	63	35.7%	25.6-45.9%	1
④ FL+TBI	1081	53.9%	50.8-57.0%	418	45.2%	41.7-48.7%	115	40.8%	34.5-46.9%	2

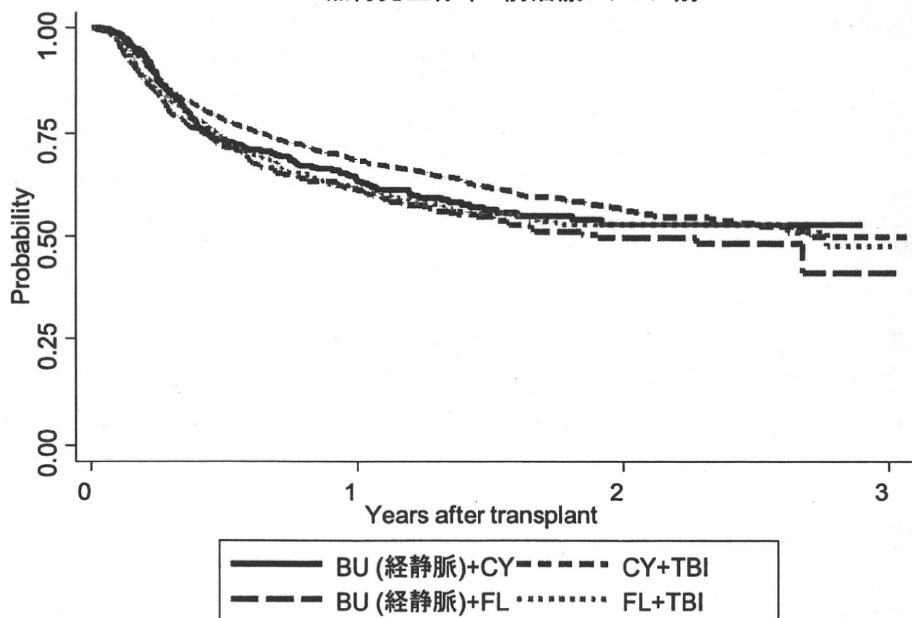
3.2.3 移植後の疾患の状況

3.2.3 無再発生存率 BU剤型別



対象レジメン	症例数	移植後 1年			移植後 2年			移植後 3年		
		生存率	95%信頼区間	観察症例数	生存率	95%信頼区間	観察症例数	生存率	95%信頼区間	観察症例数
① BU (経静脈)	981	64.5%	61.3-67.5%	431	53.1%	49.1-56.9%	114	46.6%	37.5-55.3%	1
② BU (経口)	287	64.0%	58.1-69.4%	147	53.6%	47.0-59.6%	73	35.5%	18.8-52.7%	1

3.2.3 無再発生存率 前治療レジメン別



対象レジメン	症例数	移植後 1年			移植後 2年			移植後 3年		
		生存率	95%信頼区間	観察症例数	生存率	95%信頼区間	観察症例数	生存率	95%信頼区間	観察症例数
① BU (iv)+CY	379	65.9%	60.6-70.6%	168	55.8%	49.3-61.8%	45			
② CY+TBI	1638	69.6%	67.2-71.8%	766	57.8%	54.6-60.8%	228	51.4%	46.3-56.3%	2
③ BU (iv)+FL	526	64.7%	60.2-68.7%	226	53.6%	48.2-58.8%	62	45.7%	32.4-58.0%	1
④ FL+TBI	739	66.4%	62.9-69.7%	386	58.4%	54.4-62.3%	112	53.3%	45.0-60.9%	2

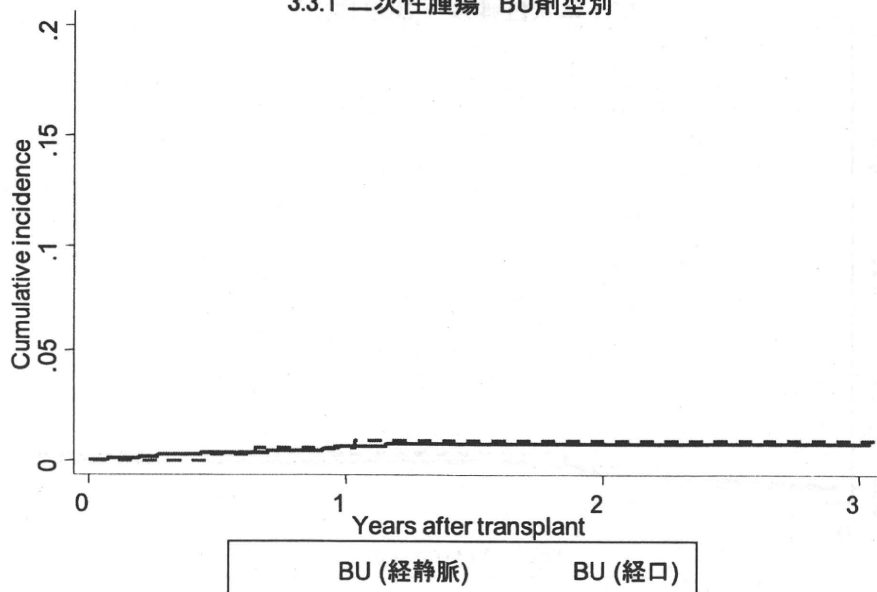
3.2.2 死因

	カテゴリ区分①		検定
	BU(経静脈)を含むレジメン n=583	BU(経口)を含むレジメン n=199	
拒絶・生着不全	19 (3.3%)	6 (3.0%)	P=0.21
間質性肺炎以外の感染症	95 (16.3%)	36 (18.1%)	
間質性肺炎	39 (6.7%)	10 (5.0%)	
ARDS	7 (1.2%)	4 (2.0%)	
急性GVHD	30 (5.2%)	9 (4.5%)	
慢性GVHD	4 (0.7%)	7 (3.5%)	
VOD	16 (2.7%)	4 (2.0%)	
TMA	17 (2.9%)	8 (4.0%)	
原疾患の再発・増悪	249 (42.7%)	71 (35.7%)	
二次性悪性腫瘍	1 (0.2%)	1 (0.5%)	
出血	27 (4.6%)	9 (4.5%)	
外因死(自殺・事故含む)	1 (0.2%)	1 (0.5%)	
臓器不全(上記以外の原因による)	58 (9.9%)	29 (14.6%)	
その他	20 (3.4%)	4 (2.0%)	

	カテゴリ区分②				検定
	BU(経静脈) +CY±other drugs n=185	CY+TBI ±other drugs n=706	BU(経静脈) +FL±other drugs n=348	FL+TBI ±other drugs n=523	
拒絶・生着不全	6 (3.2%)	23 (3.3%)	11 (3.2%)	26 (5.0%)	P=0.04
間質性肺炎以外の感染症	31 (16.8%)	137 (19.4%)	53 (15.2%)	100 (19.1%)	
間質性肺炎	13 (7.0%)	45 (6.4%)	24 (6.9%)	28 (5.4%)	
ARDS	3 (1.6%)	15 (2.1%)	4 (1.2%)	12 (2.3%)	
急性GVHD	9 (4.9%)	26 (3.7%)	15 (4.3%)	30 (5.7%)	
慢性GVHD	3 (1.6%)	11 (1.6%)	1 (0.3%)	6 (1.2%)	
VOD	5 (2.7%)	29 (4.1%)	10 (2.9%)	8 (1.5%)	
TMA	5 (2.7%)	25 (3.5%)	10 (2.9%)	17 (3.3%)	
原疾患の再発・増悪	82 (44.3%)	287 (40.7%)	148 (42.5%)	167 (31.9%)	
二次性悪性腫瘍	0 (0.0%)	2 (0.3%)	1 (0.3%)	2 (0.4%)	
出血	7 (3.8%)	21 (3.0%)	18 (5.2%)	32 (6.1%)	
外因死(自殺・事故含む)	1 (0.5%)	3 (0.4%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	
臓器不全(上記以外の原因による)	13 (1.6%)	62 (8.8%)	41 (11.8%)	73 (14.0%)	
その他	7 (3.8%)	20 (2.8%)	12 (3.4%)	22 (4.2%)	

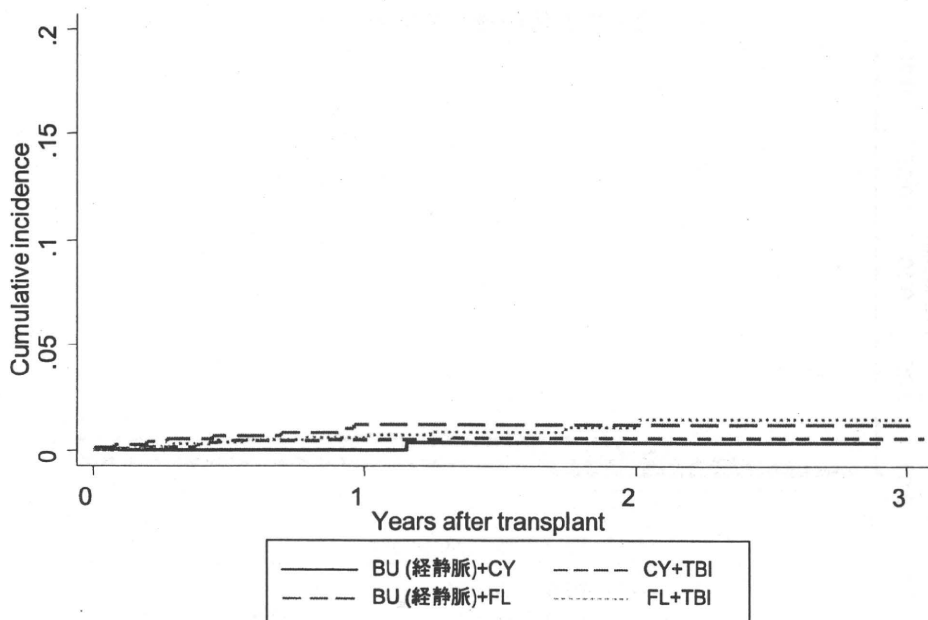
3.3.1 二次性腫瘍累積発現率 Cumulative incidence(CI) 法

3.3.1 二次性腫瘍 BU剤型別



対象レジメン	症例数	移植後 1年			移植後 2年			移植後 3年		
		発現率	95%信頼区間	観察症例数	発現率	95%信頼区間	観察症例数	発現率	95%信頼区間	観察症例数
① BU (経静脈)	1273	0.6%	0.3-1.3%	475	0.8%	0.3-1.5%	124	0.8%	0.3-1.5%	1
② BU (経口)	368	0.6%	0.1-2.0%	156	0.9%	0.3-2.6%	74	0.9%	0.3-2.6%	1

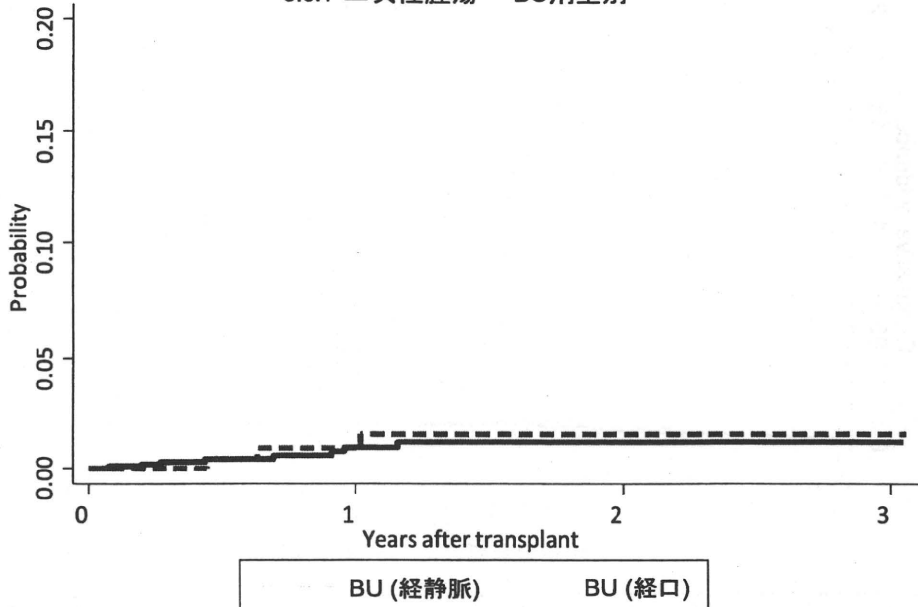
3.3.1 二次性腫瘍 前治療レジメン別



対象レジメン	症例数	移植後 1年			移植後 2年			移植後 3年		
		発現率	95%信頼区間	観察症例数	発現率	95%信頼区間	観察症例数	発現率	95%信頼区間	観察症例数
① BU (iv) +CY	462	0.0%	.	185	0.6%	0.1-4.3%	52	.	.	.
② CY+TBI	1911	0.5%	0.3-1.0%	840	0.6%	0.3-1.1%	254	0.6%	0.3-1.1%	3
③ BU (iv)+FL	718	1.2%	0.5-2.3%	245	1.2%	0.5-2.3%	63	1.2%	0.5-2.3%	1
④ FL+TBI	1071	0.6%	0.3-1.3%	415	1.1%	0.5-2.2%	115	1.5%	0.7-3.0%	2

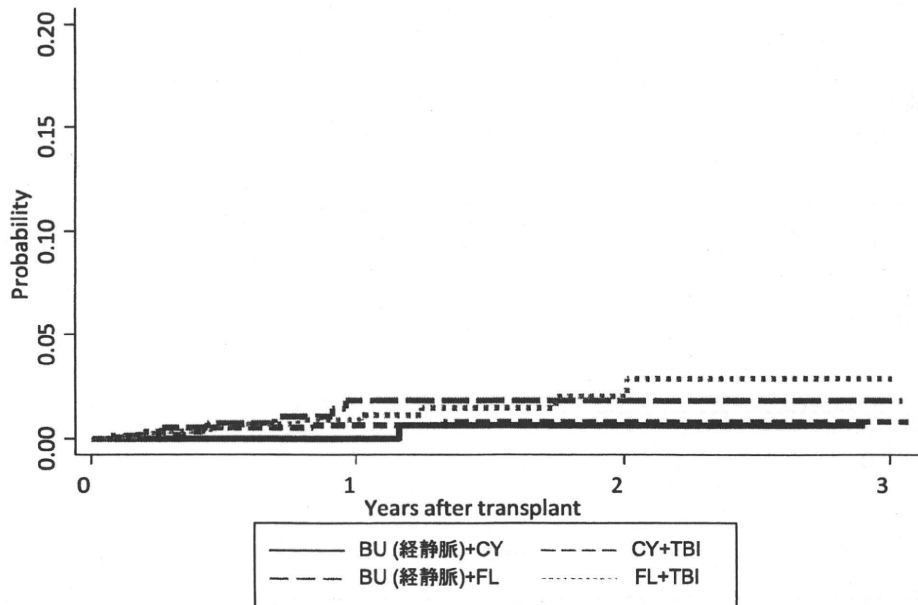
3.3.1 二次性腫瘍累積発現率 Kaplan-Meier (KM) 法

3.3.1 二次性腫瘍 BU剤型別



対象レジメン	症例数	移植後 1年			移植後 2年			移植後 3年		
		発現率	95%信頼区間	観察症例数	発現率	95%信頼区間	観察症例数	発現率	95%信頼区間	観察症例数
① BU (経静脈)	1273	0.9%	0.4-2.0%	475	1.2%	0.6-2.5%	124	1.2%	0.6-2.5%	1
② BU (経口)	368	0.9%	0.2-3.6%	156	1.6%	0.5-4.8%	74	1.6%	0.5-4.8%	1

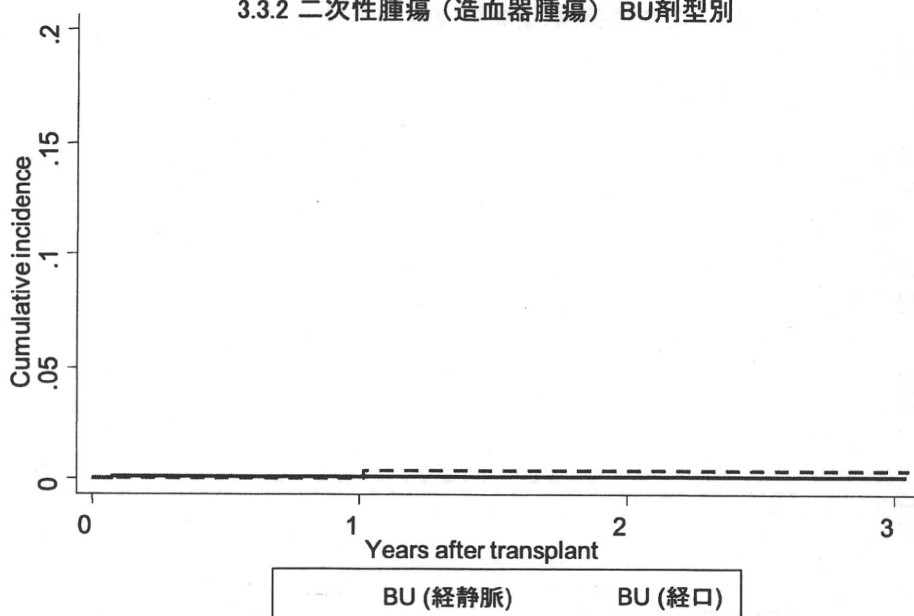
3.3.1 二次性腫瘍 前治療レジメン別



対象レジメン	症例数	移植後 1年			移植後 2年			移植後 3年		
		発現率	95%信頼区間	観察症例数	発現率	95%信頼区間	観察症例数	発現率	95%信頼区間	観察症例数
① BU (iv) +CY	462	0.0%	.	185	0.6%	0.1-4.3%	52	.	.	.
② CY+TBI	1911	0.6%	0.3-1.2%	840	0.8%	0.4-1.5%	254	0.8%	0.4-1.5%	3
③ BU (iv)+FL	718	1.8%	0.8-3.9%	245	1.8%	0.8-3.9%	63	1.8%	0.8-3.9%	1
④ FL+TBI	1071	0.9%	0.4-2.0%	415	2.0%	0.9-4.2%	115	2.9%	1.3-6.2%	2

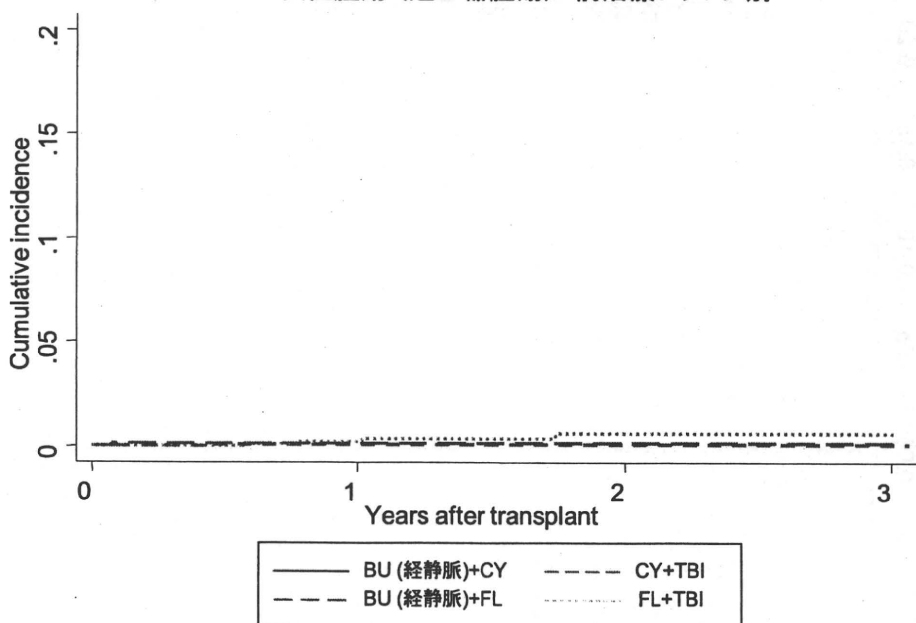
3.3.2 がん腫別累積発現率(造血器腫瘍) Cumulative incidence (CI) 法

3.3.2 二次性腫瘍(造血器腫瘍) BU剤型別



対象レジメン	症例数	移植後 1年			移植後 2年			移植後 3年		
		発現率	95%信頼区間	観察症例数	発現率	95%信頼区間	観察症例数	発現率	95%信頼区間	観察症例数
① BU (経静脈)	1273	0.1%	0.0-0.4%	478	0.1%	0.0-0.4%	124	0.1%	0.0-0.4%	1
② BU (経口)	368	0.0%	.	157	0.3%	0.0-1.8%	74	0.3%	0.0-1.8%	1

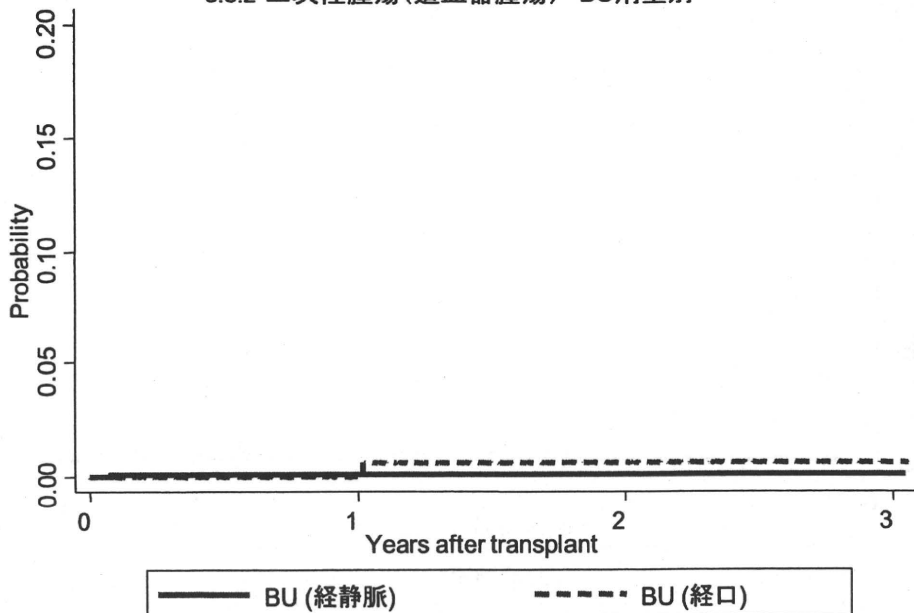
3.3.2 二次性腫瘍(造血器腫瘍) 前治療レジメン別



対象レジメン	症例数	移植後 1年			移植後 2年			移植後 3年		
		発現率	95%信頼区間	観察症例数	発現率	95%信頼区間	観察症例数	発現率	95%信頼区間	観察症例数
① BU (iv)+CY	462	0.0%	.	185	0.0%	.	52	.	.	.
② CY+TBI	1911	0.1%	0.0-0.3%	840	0.1%	0.0-0.3%	254	0.1%	0.0-0.3%	3
③ BU (iv)+FL	718	0.1%	0.0-0.8%	248	0.1%	0.0-0.8%	63	0.1%	0.0-0.8%	1
④ FL+TBI	1071	0.2%	0.0-0.8%	417	0.6%	0.2-1.6%	115	0.6%	0.2-1.6%	2

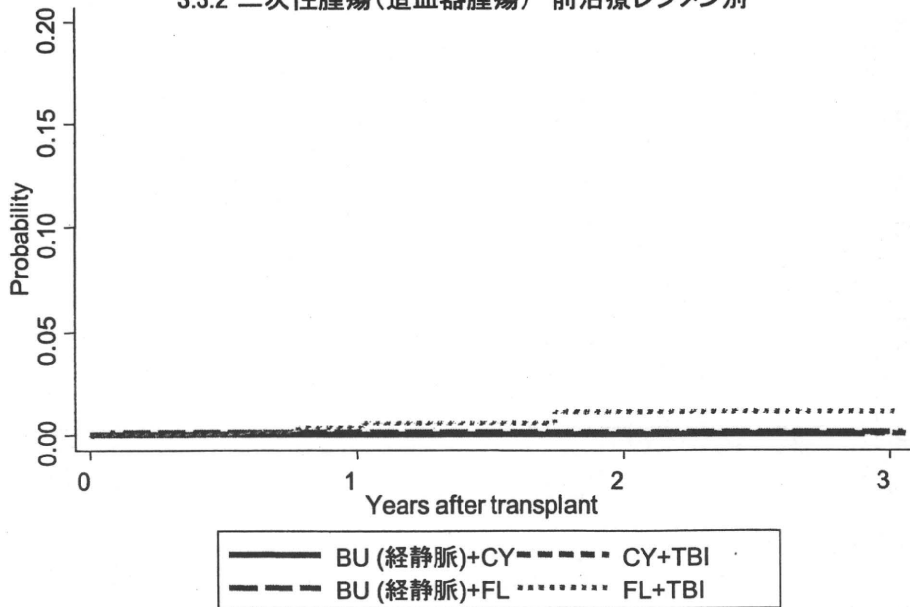
3.3.2 がん腫別累積発現率(造血器腫瘍) Kaplan-Meier (KM) 法

3.3.2 二次性腫瘍(造血器腫瘍) BU剤型別



対象レジメン	症例数	移植後 1年			移植後 2年			移植後 3年		
		発現率	95%信頼区間	観察症例数	発現率	95%信頼区間	観察症例数	発現率	95%信頼区間	観察症例数
① BU (経静脈)	1273	0.1%	0.0-0.6%	478	0.1%	0.0-0.6%	124	0.1%	0.0-0.6%	1
② BU (経口)	368	0.0%	.	157	0.6%	0.1-4.5%	74	0.6%	0.1-4.5%	1

3.3.2 二次性腫瘍(造血器腫瘍) 前治療レジメン別



対象レジメン	症例数	移植後 1年			移植後 2年			移植後 3年		
		発現率	95%信頼区間	観察症例数	発現率	95%信頼区間	観察症例数	発現率	95%信頼区間	観察症例数
① BU (iv)+CY	462	0.0%	.	185	0.0%	.	52	.	.	.
② CY+TBI	1911	0.1%	0.0-0.5%	840	0.1%	0.0-0.5%	254	0.1%	0.0-0.5%	3
③ BU (iv)+FL	718	0.2%	0.0-1.1%	248	0.2%	0.0-1.1%	63	0.2%	0.0-1.1%	1
④ FL+TBI	1071	0.4%	0.1-1.5%	417	1.2%	0.4-3.5%	115	1.2%	0.4-3.5%	2