

Phosphoethanoamine (PEA)の高値 (5727.4 nmol/mgCr)、骨の石灰化不全、骨端部のくる病様変化、狭胸郭から、周産期型低ホスファターゼ症と診断した。生後3か月から、生後3ヶ月をすぎた頃から、急速に換気不全進行し、人工呼吸開始し、4か月時に気管切開を行った。遺伝子検査では、*TNSALP* 遺伝子の 1559delT の homozygous mutation を認め、骨髄間葉系幹細胞の骨形成能の低下を認めたため、重症低ホスファターゼ症と診断した。

移植後経過：1歳2か月の時に、父 (HLA2 座(B, DR)ミスマッチ) から骨髄移植を行った (血液型同型、移植細胞数 $3.56 \times 10^6/\text{kg}$)。前処置は BU+CY+ATG で行い、浮腫を認めたが対処療法で軽快した。GVHD 予防として short term MTX および FK506 を使用した。骨髄移植 16 日目に、1 回目の間葉系幹細胞移植 (移植細胞数 $1.3 \times 10^6/\text{kg}$) を行った。骨髄は移植 17 日目に生着して、造血細胞は 100%ドナータイプであることを確認した。骨髄移植の移植合併症として、急性 GVHD (skin grade1, Liver 0, Gut 0)、粘膜障害 (気切口)、肝機能障害を認めたが、対処療法で軽快した。骨髄移植後1か月半および3か月の時、原病による気管れん縮を起こし、徐脈を伴うチアノーゼを繰り返したため、低酸素性脳症を発症した。交感神経刺激症状(高血圧、頻脈、発熱、発汗過多)や低 Na

血症を認めたが、症状は一過性で対処療法で軽快したが、2 回目の気管れん縮の後から、追視障害や視覚障害がみられている。頭部 MRI で、高信号であった尾状核、被殻が萎縮して高信号域が消失したため、同部位が低酸素により障害されていると思われる。また、同時期から、甲状腺機能が低下したため、甲状腺ホルモン (チラーゼン) 内服で甲状腺機能が回復している。1 歳 4 か月に、2 回目の間葉系幹細胞移植 (移植細胞数 $1.5 \times 10^6/\text{kg}$) を行った。その後、気管れん縮は認めず、呼吸状態の明らかな改善を認め、2 回目の移植後 5 ヶ月頃からは日中は呼吸器を離脱し、夜間のみ補助呼吸を行っている。しかし、ALP が低値のまま、骨の石灰化も不十分のため、2 歳 3 か月および 2 歳 8 か月に、3 回目および 4 回目の間葉系幹細胞移植を行った (移植細胞数はそれぞれ、 $1.4 \times 10^6/\text{kg}$ 、 $1.3 \times 10^6/\text{kg}$)。2 歳 8 か月現在、身長、体重は徐々に上昇しており、座位も可能となり、歩行器による歩行訓練を開始している。しかし、ALP の低値、骨型 ALP の低値および尿中 PEA の高値は持続しており、生化学的改善は認めていない。骨の石灰化に関して、長幹骨の骨端部から徐々に回復して、骨の石灰化の改善を認めている。骨塩定量は正常よりも低いが、少しずつ回復し、筋肉量も徐々に増加している。なお、経過中、胃軸捻転、腸回転異常症および胃食道逆流症を

認めため、外科的成形術で治癒している。また、原病による難聴を指摘されたが、補聴器により対応している。

症例 2

移植までの経過：妊娠中羊水過多がみられたが、骨の異常は指摘されていなかった。在胎 41 週 2 日、出生体重 3,790g、正常経膈分娩で出生。出生後、徐々に呼吸状態が悪化して、気管内挿管後、人工呼吸を開始した。ALP が低値(9 IU/L)で、レントゲンで、胸郭低形成、骨幹端の不整を認めため、周産期型低ホスファターゼ症と診断した。生後 5 日に痙攣がありピリドキシリン内服開始、以後痙攣は起きていない。生後 1 か月時に気管切開術を施行した。遺伝子型で、*TNSALP* 遺伝子の 1559delT の homozygous mutation を認め、骨髄間葉系幹細胞の骨形成能の低下を認めため、重症低ホスファターゼ症と診断した。

移植後経過：生後 7 か月の時に、母 (HLA1 座(B)ミスマッチ) から骨髄移植を行った(血液型 major mismatch (ドナー B 型、レシピエント A 型)、移植細胞数 (CD34 細胞) $8.83 \times 10^6/\text{kg}$)。前処置は BU+CY+ATG を行ったが、ATG に伴う著明な浮腫を認めため、ATG を減量した。GVHD 予防として short term MTX および FK506 を使用したが、FK506 による高

血圧およびけいれんを発症したため、FK506 を中止して、シクロスポリン(CyA)に変更した。骨髄移植 16 日目に、1 回目の間葉系幹細胞移植 (移植細胞数 $2.0 \times 10^6/\text{kg}$) を行った。骨髄は移植 19 日目に生着して、造血細胞は 100%ドナータイプであることを確認した。骨髄移植の移植合併症として、急性 GVHD (skin grade2, Liver 0, Gut 4)を発症した。皮膚症状はステロイドで軽快した。しかし、消化器症状(下痢、血便)はステロイドやその他の免疫抑制剤で改善しなかったが、2 回目の間葉系幹細胞を移植 (生後 8 か月、移植細胞数 $1.5 \times 10^6/\text{kg}$) した後から、劇的に改善して軽快した。また、移植 55 日目から、原因不明の腹水が貯留したが、腹水穿刺で軽快した。さらに、移植 3 か月ごろから、黄疸および肝機能障害が出現したが、FK506 の投与により治癒した(慢性 GVHD 疑い)。呼吸状態が改善せず、ALP も低値のまま骨の石灰化も回復しないため、間葉系幹細胞を生後 9 か月および 1 歳に追加投与した(移植細胞数 $2.0 \times 10^6/\text{kg}$)。この症例も 2 回目の間葉系幹細胞移植以降は、気管れん縮が消失した。呼吸状態に関して、人工呼吸を必要としているが、少しずつ条件を下げる事ができている。1 歳現在、身長、体重は変化なく、頸定がすこしみられる程度で、経管栄養を続けている。ALP の低値、骨型 ALP の低値および尿中 PEA

の高値は持続しており、生化学的改善も認めていない。骨の石灰化に関して、移植前の骨の石灰化障害が軽度回復しており、胸郭が拡大し、長幹骨が太くなっているが、症例 1 ほどの改善はない。なお、経過中、原病による難聴を指摘されたが、補聴器により対応している。

D. 考察

これまで 2 症例について、細胞治療を行った。効果に関して、呼吸機能の改善は、2 回目の間葉系幹細胞移植以降は原病の合併症である気管れん縮が起こらないこと、移植回数を増やすことで呼吸状態が安定することから、間葉系幹細胞移植が呼吸障害の改善に寄与していることが示唆された。骨の石灰化に関して、どちらの症例も間葉系幹細胞を移植する毎に骨の石灰化が改善しているが、移植前の骨の状態によりその改善度が影響する可能性が示唆された。しかし、生化学検査はこれまでの症例で改善がみられず、臨床症状の改善も十分ではないことから、原時点では間葉系幹細胞の効果が限定的で十分ではないと思われた。骨髄移植の有害事象に関して、感染症はコントロール可能であったが、前処置の薬剤による浮腫が 2 例ともに認めている。また、どちらの症例も GVHD を発症し、特に症例 2 では免疫抑制剤が十分に使用できなかったこと、HLA がミスマッチであっ

たことにより重症の消化管 GVHD を発症したが、間葉系幹細胞移植により劇的に軽快した。間葉系幹細胞の GVHD への効果は成人ではその有効性が示されているが、小児でも効果があることが示された。

E. 結論

致死的で治療法のない重症低ホスファターゼ症に関して、骨髄移植併用同種間葉系幹細胞移植がある程度の効果を認めることが示唆された。しかし、その有効性、有害事象を明らかにするために、今後、症例数を重ねていくことが必要であると思われた。特に、間葉系幹細胞移植を繰り返すたびに、臨床症状は改善しているが、その効果が十分ではないことから、間葉系幹細胞の移植回数について詳細に検討する必要があると思われた。

F. 健康危険情報

総括報告書に記載した。

G. 研究発表

1. 論文発表：なし
2. 学会発表
 - 1) 竹谷健. 低ホスファターゼ症に対する同種骨髄移植併用間葉系幹細胞移植. 第 59 回

日本輸血・細胞治療学会

- 2) 廣田篤史、奈良昇之助、竹田知洋、久枝義也、天方秀輔、櫻井裕子、中尾厚、川上義、竹谷健. 低フォスファターゼ症に対する間葉系幹細胞移植. 城南新生児研究会
- 3) 小山千草、竹谷健、三原綾、高野勉、美根潤、山口清次. 骨髄移植と間葉系幹細胞移植を併用して治療した周産期型低フォスファターゼ症の2例. 第47回日本周産期・新生児医学会

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許所得：なし
2. 実用新案登録：なし
3. その他：なし

資料1

研究計画書

1. 課題名

重症低ホスファターゼ症に対する骨髄移植併用同種間葉系幹細胞移植

2. 研究の背景

低ホスファターゼ症とは、生まれつき骨を作るのに必要なアルカリホスファターゼ（ALP）という酵素が正常に働かないことにより、骨を作ることが障害される病気である¹⁻⁴。この病気の臨床像は、致死的なタイプから歯が抜けやすいだけのタイプまでさまざまである¹⁻⁴。致死型の患者は、乳幼児期に発症して、全身の骨が徐々に菲薄化して骨折しやすくなり、特に呼吸筋を支える肋骨などが骨折するために呼吸不全で死亡することが多い¹⁻⁴。この病気に対する現在の治療は、対処療法しか存在せず、有効な根治療法はない¹⁻⁴。しかし、近年、致死的な低ホスファターゼ症の患者に、健常人（提供者）の骨髄および骨、骨をつくる骨芽細胞や骨芽細胞のもと（起源）の細胞である間葉系幹細胞を移植することによりその提供者の細胞が患者さんの骨に到達（生着）して骨を作り、患者が救命されていることが報告されている^{5,6}。このことから、我々は2004年に同じ疾患の患者さんに骨髄移植、骨移植、間葉系幹細胞移植を行い、患者さんを救命することができた⁷。

現在、申請者らは、島根大学および産業技術総合研究所の共同研究で文部科学省・委託研究「平成20年度再生医療実現化プロジェクト」の1つである「重度先天性骨代謝疾患に対する遺伝子改変間葉系幹細胞移植治療法の開発」（以下、再生医療プロジェクト）に参加して研究を進めている。具体的には、患者本人由来の間葉系幹細胞あるいは間葉系幹細胞由来iPS細胞に正常のALP遺伝子を導入し、導入遺伝子の安全性を確認した上で患者に戻すという遺伝子細胞治療を開発し、根治療法のない同疾患の根治治療を行う予定である。しかし、現時点で遺伝子細胞治療を臨床応用できる段階ではない。したがって、健常人（提供者）からの骨髄および間葉系幹細胞を患者さんに移植することによって、重症低ホスファターゼ症の患者さんを救命することが期待できるために、骨髄移植および間葉系幹細胞移植を臨床研究として開発する。

今回、骨髄移植および間葉系幹細胞を移植する理由は以下のとおりである。

- ① これまで細胞治療を行われた3例は全例骨髄移植が行われている。これは、間葉系幹細胞が拒絶されないために、免疫細胞である骨髄も間葉系幹細胞の提供者と同一とする必要があると考えられているからである。
- ② 骨髄移植後の間葉系幹細胞は患者由来であることが証明されている^{8,9}。そのため、骨髄移植だけでは間葉系幹細胞が提供者由来に変わらないため、骨髄移植と間葉系幹細胞移植を併用する必要がある。
- ③ ラットの実験において、同種の間葉系幹細胞移植は免疫抑制剤を用いることで間葉系幹細胞移植は生存して、骨を形成することが明らかとなっている¹⁰。
- ④ 間葉系幹細胞移植は海外では造血幹細胞移植後の移植片対宿主病（GVHD）、クローン病、1型糖尿病、心血管障害、骨形成不全、先天性代謝疾患などの疾患に臨床応用されている¹¹⁻¹⁴。有効性は各疾患でばらつきがあるが、間葉系幹細胞を投与することの副作用はほとんどなく、安全に行われている¹¹⁻¹⁴。
- ⑤ 研究分担者である産業技術総合研究所・健康工学研究部門は、骨髄から間葉系幹細胞を培養増殖する経験を有している。約80例のさまざまな疾患を有した患者に対して、培養した間葉系幹細胞を移植している。

- ⑥ 骨髄移植は治療の方法や安全性が明らかとなっている。

3. 研究目的

根治療法のない致死的な重症低ホスファターゼ症の患者に提供者由来の間葉系幹細胞移植を行い、患者を救命すること。

4. 研究方法

1) 重症低ホスファターゼ症の診断

低ホスファターゼ症は、四肢の短縮や変形、易骨折性、体重増加不良、低身長などで発見されて、血清ALPが低いことで診断される¹⁻⁴。致死的なタイプは、周産期あるいは乳児期のいずれかに発症する¹⁻⁴。しかし、この時期に発症する患者の中には、成長とともに徐々に症状が改善するタイプが存在する²⁻⁴。血清ALPの値は重症な患者ほど低いが、その閾値を設定することはできない¹。現時点で重症度を決定する因子は、呼吸障害の有無およびALP遺伝子の変異部位である^{2,3,15-18}。呼吸障害は出生時から存在することもあるが、徐々に顕著化することもあるため、診断時に有用なのはALP遺伝子変異部位の同定である。そのため、今回の臨床研究は致死的な患者に限定されるため、致死的な患者を診断する必要がある。そのため、乳幼児期発症の患者において、ALP遺伝子の全領域の遺伝子解析を行い、重症なタイプのALP遺伝子変異を有する患者を同定する。また、骨髄穿刺により骨髄約2mlを採取して、産総研・健康工学研究部門での培養や分化誘導による間葉系幹細胞の増殖能や骨形成能を調べて、患者の間葉系幹細胞の機能評価を行う。

2) 対象

この臨床研究の対象者は、重症低ホスファターゼ症の患者である。これまでの報告および疫学調査から、対象患者の条件として、以下の4項目を満たすものとする^{1-4, 15-18}。

- ① 生後6か月以内に発症する
- ② 呼吸障害を合併している
- ③ ALP活性の低いALP遺伝子変異を有している
- ④ 間葉系幹細胞の骨形成能が低下している

3) 骨髄提供者の選定

本臨床研究は健常人の骨髄および間葉系幹細胞を用いる。間葉系幹細胞は骨髄に存在するため、健常人の骨髄を採取する必要がある。患者の家族（2親等以内）の中でこの病気ではない人から、最も適切な間葉系幹細胞をもつ人を症状および血液検査（ALP、肝機能、腎機能など）、ALP遺伝子検査から選定する。また、骨髄移植を併用するため、患者および骨髄提供者のHLA検査を行い、最適な提供者を決定する。

骨髄提供者の選定基準は、以下のとおりである。

- ① 患者のご家族（血縁関係のある2親等以内）である
- ② 症状および骨レントゲン、骨密度などから、骨形成が正常に行われている
- ③ ALP活性が正常である
- ④ ALP遺伝子が正常である、または、ALP遺伝子異常があってもALP活性が正常である
- ⑤ HLAが一致している、または、一致していなくても骨髄の生着や重篤な移植後合併症が起きる可能性が低い
- ⑥ 感染症マイナス（HIV（ヒト免疫不全ウイルス）、HBV（B型肝炎）、HCV（C型肝炎）、HTLV1（成人T細胞白血病ウイルス）検査結果陰性）である
- ⑦ その他、骨髄提供者として不適切な条件を有していない

骨髄提供者の優先順位は、両親がALP遺伝子異常を認めてもその表現型が正常であり、患者とのHLA不一致の程度が骨髄移植に耐えうる場合、両親のどちらかをドナーとする。しかし、両親のどちらも、ALP遺伝子変異を有し、かつ表現型が正常でない場合（症状がある場合）、HLA不一致の程度が高く骨髄移植の合併症であるGVHDや拒絶反応などの重篤な有害事象を発生する可能性が高い場合にのみ、未成年である同胞をドナーとする。この際は、未成年の人権保護に十分に留意して、親権者に説明する。なお、未成年者からの骨髄採取について、両親に説明して同意を得るだけでなく、可能な限り未成年者本人にも十分に説明する。この場合、15歳以上の場合には、本人の承諾を得て行う。本人の承諾のない場合には、骨髄提供者としない。15歳未満の場合には、年齢に応じて本人に理解できるように説明を試みて、可能な限り本人の承諾を得ることに努力する。さらに、未成年者が骨髄提供者になる場合、島根大学医の倫理委員会で骨髄提供者としての妥当性を審査して、また、ソーシャルワーカーあるいはコーディネーターから家族および未成年である提供者に説明を行った後に、未成年が提供者として適切かどうか決定する。

4) 骨髄提供者からの骨髄採取

最も適している間葉系幹細胞を有している健常人に骨髄採取の説明を行い、同意を得られた後、骨髄を採取する。骨髄提供者が未成年の場合、代諾者に説明して、同意を得る。骨髄採取は、無菌での操作が必要であるため、手術室あるいは無菌室で行う。骨髄採取量は100～120mlである。採取中の麻酔は骨髄提供者、小児科医師および麻酔科医師により決定される。採取方法は、骨髄提供者の腸骨から、1回の穿刺で約10mlの骨髄を採取する。

5) 骨髄移植

① 移植時期

重症低ホスファターゼ症は生後間もなくより呼吸障害が出現して1年以内に亡くなるため、診断が確定したら可及的速やかに移植を行う。

② 骨髄移植の前処置

骨髄提供者の骨髄を生着させる必要があるため、提供者の骨髄を移植する前に患者さんの骨髄を抗がん剤により排除する必要がある。抗がん剤として、ブスルファン（0.9-1mg/kg/dose×4回/day、4日間）、シクロフォスファミド（50mg/kg/dose、4日間）、抗胸腺グロブリン（1.25mg/kg/dose、4日間）を用いる。なお、患者の状態により、投与量および投与薬剤を変更することもある。

③ GVHD予防

骨髄生着により発症するGVHD予防に対して、メソトレキセート（10-15mg/m²/dose、4日間）およびタクロリムスを用いる。タクロリムスの投与量は、0.02～0.04 mg/kg/dayを経静脈的に投与するが、後述している通り、間葉系幹細胞の拒絶のためにもタクロリムスを使用するため、投与量や投与期間などは、間葉系幹細胞移植の状態を考慮して、患者ごとに調節する必要がある。状態が落ち着いてきた場合、タクロリムスは経口投与に変更する。

④ その他

骨髄移植を行うに当たり、抗がん剤の副作用対策（制吐剤など）や感染対策（無菌室、抗菌薬予防内服など）、輸血、栄養管理などは通常の骨髄移植に準じて行う。

5) 間葉系幹細胞の培養増殖

採取された骨髄は産業技術総合研究所・健康工学研究部門に搬送され、牛胎児血清を含んでいる液体培地を用いてフラスコ内で培養すると、約14日間で間葉系幹細胞が増殖する。この培養細胞の一部を後述6)のために保存する。治療に必要な十分な細胞数を得るため、増殖した細胞を分けて、複数の別のフラスコ内で約7日間代培養し、治療に使用する。この増殖した細胞の一部も同様に保存する。牛の血清を使用することで狂牛病との関連が危惧されているが、牛海綿状脳症の発生していない地域（ニュージーランドあるいはオーストラリア）の牛の血清を使用すること、放射線照射などによる最大限の滅菌処理を行うことなどで可能な限りの対処を行う。

なお、間葉系幹細胞の品質等の確認、および間葉系幹細胞の調製機関として適正に関しては、調製機関である産業技術総合研究所の倫理委員会で審査して頂くこととする。

さらに、島根大学での骨髄の採取、産業技術総合研究所・健康工学研究部門への骨

髓の搬送および同施設での間葉系幹細胞の培養増殖、調整された間葉系幹細胞の島根大学への搬送は、本研究の島根大学の研究分担者が行うこととする。

搬送経路は、島根大学⇄出雲空港 30分（車）、出雲空港⇄大阪空港 50分（飛行機（客室内））、大阪空港⇄産総研 30分（車）で行う。なお、空路が使用出来なかった場合、島根大学⇄出雲駅 5分（車）、出雲⇄尼崎4時間30分（JR）、尼崎⇄産総研10分（車）、あるいは本学公用車 約5時間（米子自動車道、中国縦貫自動車道利用）で対応する。

6) 間葉系幹細胞の保存および基礎的研究

培養された間葉系幹細胞の一部は安全性の確認のため、凍結して10年間保存する。さらに、余剰の細胞は基礎的研究に使用する。

7) 間葉系幹細胞移植

① 移植時期

骨髄移植14~21日後、間葉系幹細胞が十分量増殖した後移植する。

② 患者への間葉系幹細胞の投与

産総研で培養増殖された間葉系幹細胞を経静脈的に投与する。間葉系幹細胞の移植細胞数は患者の体重当たり 10^6 個/kg以上を目標とする。

③ 免疫抑制剤の投与

同種移植を行う場合、提供者と患者の主要組織抗原（HLA）を合わせる必要がある。HLAが一致していない場合、拒絶反応が誘発される。間葉系幹細胞は、HLAクラス1の発現がないため、HLAが一致していなくても拒絶反応が起きにくい^{11,19}。しかし、長期に生存し、MSCの機能を維持するためには、免疫抑制剤が必要となる^{10,20,21}。上述したように、免疫抑制剤を長期に使用しなくても、提供者の細胞が骨を作っていることが報告されていること^{6,7}、また、免疫抑制剤を長期使用することによる副作用が懸念されることから、今回は、免疫抑制剤を造血幹細胞移植および臓器移植に準じて、6か月間期間使用することとする。免疫抑制剤の中で、タクロリムスは、間葉系幹細胞の骨への分化を促進し、ALP活性を増強させることが報告されている^{20,21}。また、タクロリムスは、乳児において造血幹細胞移植や臓器移植、ネフローゼ症候群などの免疫疾患に、数多く使用されており、その安全性と有効性が示されている²²⁻²⁶。以上より、今回の移植では、タクロリムスを使用する。

タクロリムスの投与量は、 $0.02\sim 0.04$ mg/kg/dayを経静脈的に投与する。治療濃度域と安全域が狭いため、血中濃度を測定して、trough値を造血幹細胞移植および臓器移植を参考にして、以下のように設定する。移植後180日より、漸減中止とする。しかし、前述したGVHD予防に対してもタクロリムスを使用するため、GVHDの程度などで、投与量や血中濃度を患者ごとに調節する必要がある。

なお、タクロリムス中止後、間葉系幹細胞の生存率および骨形成能も低下して、症状および検査値が悪化する場合は、免疫用剤の投与の延長を検討する。

投与日程	タクロリムスのトラフ値 (ng/mL)
移植前日～移植後1週間	12～15
移植後1週間～30日	10～12
移植後30日～180日	5～10

8) 移植後の評価（移植後から6歳まで）

- ・臨床症状： バイタルサインおよび呼吸状態（毎日）
身体計測、成長・発達（月1回）
- ・検査： 週1回：ALP、カルシウム、リン、マグネシウム、
一般尿（沈査も含む）、尿中カルシウム/クレアチニン
月1回：尿中ホスホエタノールアミン、ピリドキサルリン酸、
NAPスコア、副甲状腺ホルモン、ビタミンD、
骨型ALP、オステオカルシン、尿中NTX、
尿中デオキシピリジノリン
適宜： 末梢血、生化学、免疫グロブリン、
タクロリムスの血中濃度

成長ホルモン、甲状腺ホルモン、骨髄穿刺、骨生検

- ・画像： 月1回：全身骨レントゲン、胸部レントゲン、骨塩定量
 - ・その他： 整形外科、歯科、眼科、脳外科、リハビリテーション
- *なお、臨床研究が終了後、救命された場合、骨の発達などを観察する必要があるため、また、予期せぬ症状なども確認する必要があるため、6歳から18歳まで、年1回、以下の評価を行う。
- ・臨床症状： 身体計測、成長・発達（月1回）
 - ・血液検査： 末梢血、生化学、免疫グロブリン、ALP、カルシウム、リン、マグネシウム、ピリドキサルリン酸、NAPスコア、副甲状腺ホルモン、ビタミンD、骨型ALP、オステオカルシン、成長ホルモン、甲状腺ホルモン
 - ・尿検査： 一般尿（沈査も含む）、尿中カルシウム/クレアチニン、尿中ホスホエタノールアミン、尿中NTX、尿中デオキシピリジノリン
 - ・画像： 全身骨レントゲン、胸部レントゲン、骨塩定量
 - ・その他： 整形外科、歯科、眼科、脳神経外科、リハビリテーション

9) 副作用とその対策

骨髄および間葉系幹細胞を投与することで起こる副作用は、アレルギー反応が挙げられる。それに対しては、抗ヒスタミン剤およびステロイドを前投与して、予防する。

抗がん剤の副作用は、食欲低下、嘔気、嘔吐、下痢などの消化器症状、脱毛、骨髄抑制（貧血、血小板減少、白血球減少）が挙げられる。消化器症状に対して、高カロリー輸液、制吐剤、骨髄抑制に対して、輸血、感染予防（無菌室、抗菌薬投与など）で対応する。

骨髄移植後の副作用として、感染症とGVHDなどが挙げられる。感染症に対して、抗菌薬投与などで対応する。GVHDに対しては、免疫抑制剤を予防的に投与（メソトレキセートおよびタクロリムス）して、もしGVHDが発症した場合、ステロイドなどの他の免疫抑制剤の投与を検討する。

特に、タクロリムスの副作用は、腎障害、高血糖、中枢神経障害（頭痛、けいれんなど）、心不全、高血圧、低マグネシウム血症、高カリウム血症、高コレステロール血症、腹部膨満、下痢、多毛、手指の振戦、感染症などが挙げられる。これらの副作用は、血中濃度に比例するものが多いことから、血中濃度測定を定期的に行い、至適濃度内に管理する。また、症状を観察し、定期的な検査を行うことで、もし副作用が生じた場合、早期に副作用を発見し、対処する。感染症に関しては、抗菌薬内服などで予防に努める。

提供者の間葉系幹細胞が生着したかどうか判定するために、定期的に骨髄検査を行う。この疾患は骨が脆弱であるため、骨髄検査に伴う骨折の危険性がある。しかし、骨髄検査に精通した医師が行うこと、同じ疾患に骨髄検査を数回行ったが骨折などの有害事象が発生していないので、その可能性は低いと思われる。また、骨折が生じにくく、骨髄検査を行いやすい腸骨から骨髄検査を行う。もし、骨折が生じた場合、整形外科の医師とともに、その治療を行う。

10) 再移植の基準と方法

骨髄移植および間葉系幹細胞移植を行った後に、症状が再燃した症例について、その後間葉系幹細胞のみを投与して症状が改善している^{5,7}。そのため、骨髄移植および間葉系幹細胞移植を行った後に、呼吸状態の悪化、骨折、体重増加不良などの臨床症状の悪化がみられた場合に、間葉系幹細胞のみを再移植する。その時は、再度、説明した後、同意を取ってから移植を行う。移植の方法は、骨髄移植の骨髄提供者から再度骨髄を採取して、間葉系幹細胞の培養増殖を行った後、間葉系幹細胞のみを再移植する。投与方法及び免疫抑制剤の投与は、7) ②および③に準じて行う。

11) 重大な事態が生じた場合の対処方法

骨髄移植および間葉系幹細胞移植を行うことにより重大な事態（重篤な有害事象、治療効果が得られない（致死）場合）、研究責任者は研究機関の長に対して、速やかに報告する。その場合、研究機関の長は、原因の分析を含む対処方針につき、速やかに倫理委員会などの意見を聴き、当該臨床研究の中止その他の暫定的な措置を講じるよう指示する。なお、研究責任者または研究機関の

長は、必要に応じ、研究機関の長または倫理委員会の指示を受ける前に、当該臨床研究の中止その他の暫定的な措置を講じる必要がある。

8) 治療期間

承認日（平成22年7月1日）から平成28年3月31日

9) 治療場所

- (1) 島根大学医学部附属病院3階西病棟
- (2) 産業技術総合研究所 関西センター 尼崎事業所

10) 予定人数

5名

5. 倫理的配慮

ヘルシンキ宣言の趣旨に沿って治療を行う。患者本人が幼少のため親権者または法定代理人のみの説明となる。また、骨髄採取においては骨髄提供者または骨髄提供者が幼少の場合はその親権者（法定代理人）に説明する。臨床研究を行うかどうかの決定は親権者または法定代理人の自由意思に基づき、いずれの決定を行っても、不利益を被ることはなく、また、親権者（法定代理人）の意思により、いつでも本治療を中断することが可能である。また、本治療の対象となられた方の名前、住所などの個人情報を特定できるデータは外部へ公表することは一切ない。

6. 治療成果の公表

本治療で得られた結果やデータは学会発表や学術論文として公表する。本研究の詳細な結果は公表されるが、その場合個人に関する情報としては、年齢・性別・疾患名のみであるので、個人情報に関して保護される。

7. 個人情報の保護

上述した通り、本治療で得られた結果やデータは学会や学術論文として公表する可能性があるが、個人の名前などは一切伏せられた状態で取り扱われる。従って、個人情報に関して保護される。また、資料の保存の際の匿名化も行う。具体的には、氏名・生年月日などの個人を特定できる情報をコード化して、患者に関する情報は情報管理者の責任の下で、書類・データベース等に厳重に保管する。

8. 知的財産権

本研究の結果として特許権などが生じる可能性があるが、その権利は、患者とその家族、骨髄提供者に帰属しない。

9. 費用負担

臨床研究にかかわる費用は研究費より支払う。しかし、家族負担が適切と考えられるものについては負担して頂く。

10. 予想される結果とこの研究の発展性

本疾患は放置すると致死的な経過をとるため、救命するためには上記の治療を試みる価値があると思われる。骨髄移植および間葉系幹細胞移植を行うにあたり、免疫抑制剤による副作用、拒絶反応などを合併する可能性が考えられる。これらに対して定期的検査、および適切な治療を行い、細心の注意を払って全身管理を行う。

現在、本疾患に対する根治的治療法はないため、これらの治療が成功した場合、同じ病気で苦しんでいる病気の子供たちへの応用が進み、生命予後の改善に大きく寄与することが予測される。

11. 研究体制

所 属	氏 名	役割分担
島根大学医学部附属病院輸血部・講師	竹谷 健	研究総括、移植医療、基礎研究
島根大学医学部小児科学講座・教授	山口 清次	研究総括、移植医療、情報管理者
島根大学医学部小児科学講座・准教授	福田 誠司	遺伝子検査、基礎研究
島根大学医学部小児科学講座・講師	金井 理恵	移植医療
島根大学医学部小児科学講座・講師	鬼形 和道	遺伝カウンセリング、骨代謝医療
島根大学医学部小児科学講座・助教	小林 弘典	骨代謝医療
島根大学医学部小児科学講座・医員	柴田 直昭	新生児医療
島根大学医学部小児科学講座・医員	斎藤 敦郎	移植医療
島根大学医学部小児科学講座・医員	安部 真理子	移植医療、細胞培養
島根大学医学部小児科学講座・医員	小山 千草	移植医療
島根大学医学部附属病院輸血部・研究員	服部 美保	細胞培養、基礎研究
産業技術総合研究所・産総研招聘研究員	大串 始	CPC運営細胞培養
産業技術総合研究所・部門長	弓場 俊輔	CPC運営細胞培養
産業技術総合研究所・主任研究員	服部 耕治	細胞培養
産業技術総合研究所・研究員	大西 弘恵	安全性試験
産業技術総合研究所・研究員	勝部 好裕	細胞培養
産業技術総合研究所・研究員	小田 泰昭	細胞培養
産業技術総合研究所・研究員	笹尾 真理	細胞培養/安全性試験

12. 若年者骨髄提供者の保護

未成年である同胞が骨髄提供候補者になる場合、未成年の人権保護に十分に留意して、ご両親に説明する。なお、未成年者である骨髄提供候補者が自らの意思を表明できる場合は、その意思を尊重すること（意に反して提供させることのないよう）とする。

未成年者からの骨髄採取について、両親に説明して同意を得るだけでなく、可能な限り未成年者本人にも十分に説明する。この場合、15歳以上の場合には、本人の承諾を得て行う。本人の承諾のない場合には、骨髄提供者としない。15歳未満の場合には、年齢に応じて本人に理解できるように説明を試み、可能な限り本人の承諾を得ることに努める。さらに、未成年者が骨髄提供者になる場合、島根大学医の倫理委員会で骨髄提供者としての妥当性を審査して、また、ソーシャルワーカーあるいはコーディネーターから家族および未成年である提供者に説明を行った後に、未成年が提供者として適切かどうか決定する。なお、ソーシャルワーカーあるいはコーディネーターは本臨床研究とは独立した立場で、骨髄提供者および患者の家族に対応する。

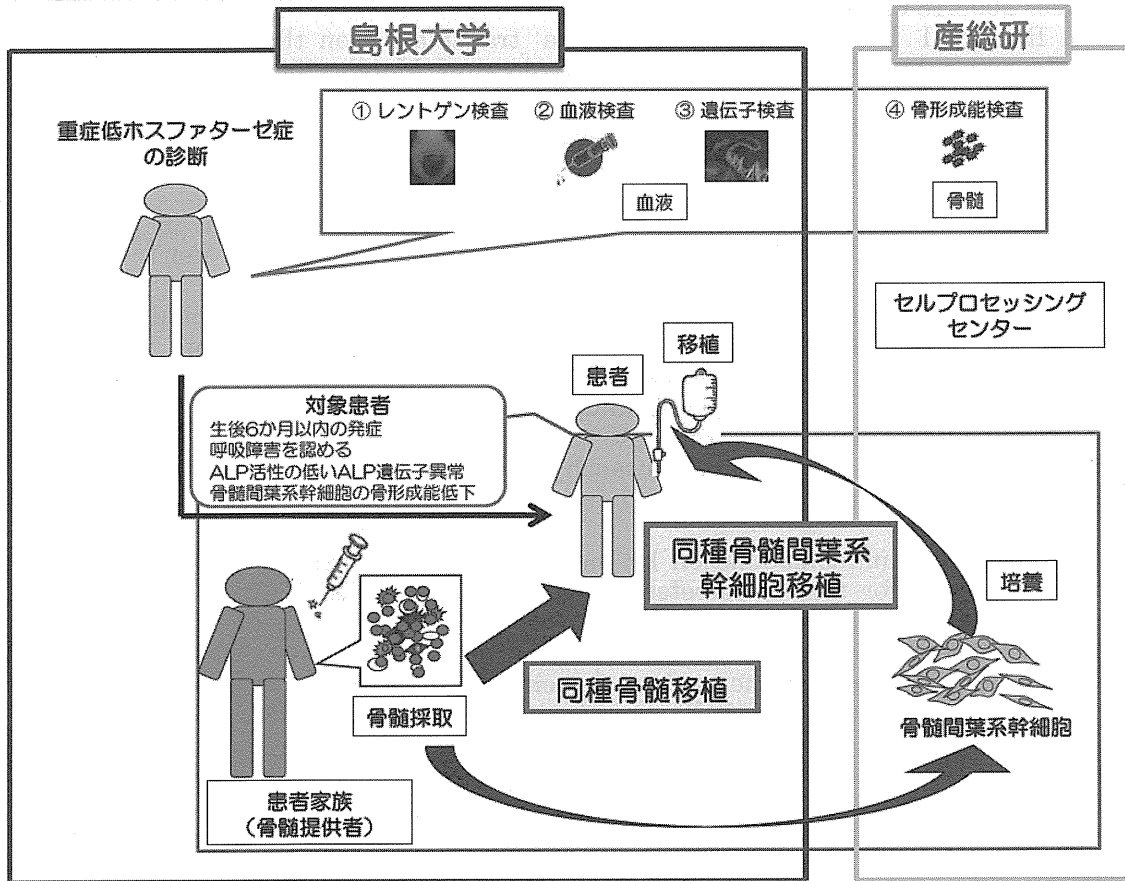
移植コーディネーター 太田桂子 島根大学医学部附属病院地域医療連携センター
ソーシャルワーカー 槇原貴子 島根大学医学部附属病院地域医療連携センター

文献

1. Whyte MP: Hypophosphatasia. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, Childs

- B, Kinzler KW, Vogelstein B (eds); *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 8th ed, McGraw-Hill, 2001; Vol 4:5313-5329
2. Mornet E, Nunes ME: Hypophosphatasia. *GeneReviews*
 3. Mornet E: Hypophosphatasia. *Best Pract Res Clin Rheumatol*.2008;22:113-127
 4. 大藪恵一：低ホスファターゼ症の治療. *Clinical Calcium* 2007;17:1214-1219
 5. Whyte MP, et al: Marrow cell transplantation for infantile hypophosphatasia. *J Bone Miner Res*. 2003;18:624-636
 6. Cahill RA, et al: Infantile hypophosphatasia: transplantation therapy trial using bone fragments and cultured osteoblasts. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007; 92:2923-2930
 7. Tadokoro M, et al: New bone formation by allogeneic mesenchymal stem cell transplantation in a patient with perinatal hypophosphatasia. *J Pediatr*. 2009;154:924-930
 8. García-Castro J, et al: Mesenchymal stem cells are of recipient origin in pediatric transplantations using umbilical cord blood, peripheral blood, or bone marrow. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2007;29:388-392.
 9. Bartsch K, et al: Mesenchymal stem cells remain host-derived independent of the source of the stem-cell graft and conditioning regimen used. *Transplantation*. 2009;87:217-221.
 10. Kotobuki N, et al: In vivo survival and osteogenic differentiation of allogeneic rat bone marrow mesenchymal stem cells (MSCs). *Cell Transplant*. 2008;17:705-712
 11. Abdallah BM, et al: The use of mesenchymal (skeletal) stem cells for treatment of degenerative diseases: current status and future perspectives. *J Cell Physiol*. 2009;218:9-12
 12. Abdi R, et al: Immunomodulation by mesenchymal stem cells: a potential therapeutic strategy for type 1 diabetes. *Diabetes*. 2008;57:1759-1767
 13. García-Olmo D, et al: A phase I clinical trial of the treatment of Crohn's Fistula by adipose mesenchymal stem cell transplantation. *Dis Colon Rectum*. 2005;48:1416-1423
 14. Koç ON, et al: Allogeneic mesenchymal stem cell infusion for treatment of metachromatic leukodystrophy (MLD) and Hurler syndrome (MPS-IH). *Bone Marrow Transplant*. 2002;30:215-222
 15. Zurutuza L, et al: Correlations of genotype and phenotype in hypophosphatasia. *Hum Mol Genet*. 1999;8:1039-1046
 16. Mornet E: Hypophosphatasia: the mutations in the tissue-nonspecific alkaline phosphatase gene. *Hum Mutat*. 2000;15:309-315
 17. Michigami T, et al: Common mutations F310L and T1559del in the tissue-nonspecific alkaline phosphatase gene are related to distinct phenotypes in Japanese patients with hypophosphatasia. *Eur J Pediatr*. 2005;164:277-282
 18. Fauvert D, et al: Mild forms of hypophosphatasia mostly result from dominant negative effect of severe alleles or from compound heterozygosity for severe and moderate alleles. *BMC Med Genet*. 2009;10:51
 19. Le Blanc K, et al: HLA expression and immunologic properties of differentiated and undifferentiated mesenchymal stem cells. *Exp Hematol*. 2003;31:890-896
 20. Isomoto S, et al: Rapamycin as an inhibitor of osteogenic differentiation in bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *J Orthop Sci*. 2007;12:83-88
 21. Dong J, et al: Osteoblastic differentiation and in vivo osteogenic activity of marrow-derived mesenchymal stem cells stimulated by tacrolimus: experiment with rats. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. 2007;87:190-194
 22. Moudgil A, et al: Tacrolimus in pediatric renal transplantation: a review. *Indian J Pediatr*. 1999;66:263-275
 23. Boucek Jr RJ, et al: Pediatric Heart transplantation. *Curr Opin Pediatr*. 2002;14: 611-619
 24. McDiarmid SV: The use of tacrolimus in pediatric liver transplantation. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1998;26:90-102
 25. Sabapathy C, et al: Tacrolimus with mini-methotrexate as prophylaxis for graft-versus-host disease in pediatric patients after allogeneic peripheral blood stem cell transplant or bone marrow transplant. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2008;30:945-949
 26. Choudhry S, et al: Efficacy and safety of tacrolimus versus cyclosporine in children with steroid-resistant nephrotic syndrome: a randomized controlled trial. *Am J Kidney Dis*. 2009;53:760-769

重症低ホスファターゼ症に対する骨髄移植併用同種間葉系幹細胞移植

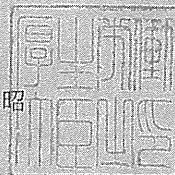


資料2

厚生労働省発医政 0621 第 28 号
平成 22 年 6 月 21 日

島根大学医学部
医学部長 紫藤 治 殿

厚生労働大臣 長妻 昭



ヒト幹細胞臨床研究実施計画について

平成 21 年 11 月 25 日付で申請のあった下記の臨床研究については、実施して差し支えない。

なお、臨床研究の中止、終了などに伴う厚生労働大臣への報告については、ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針(平成 18 年厚生労働省告示第 425 号)の定めるところによるほか、定期的に中間報告書を提出するようお願いする。

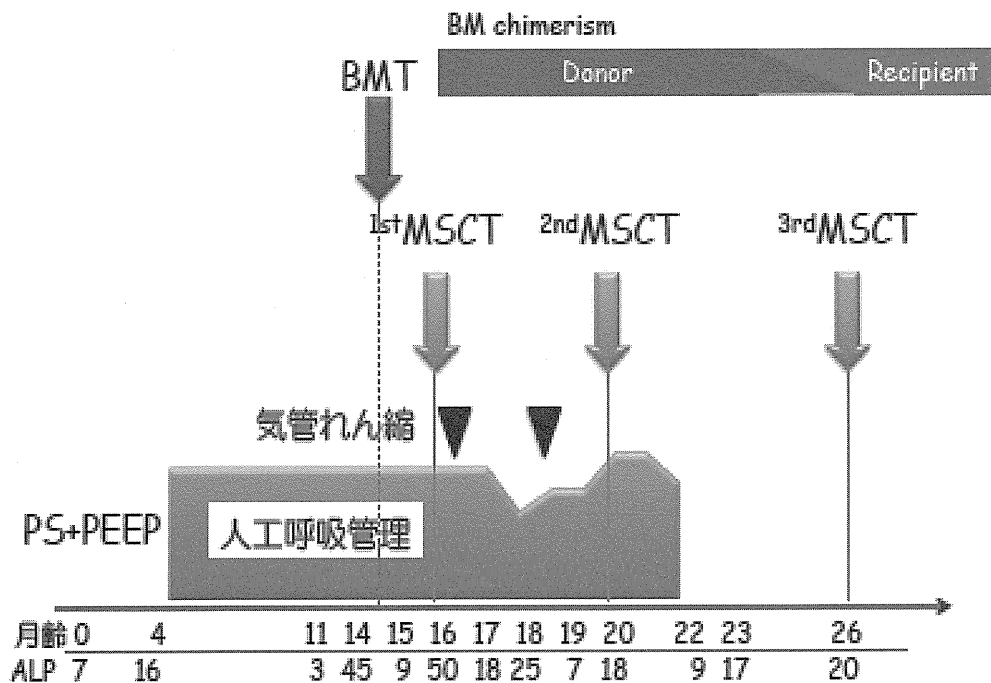
記

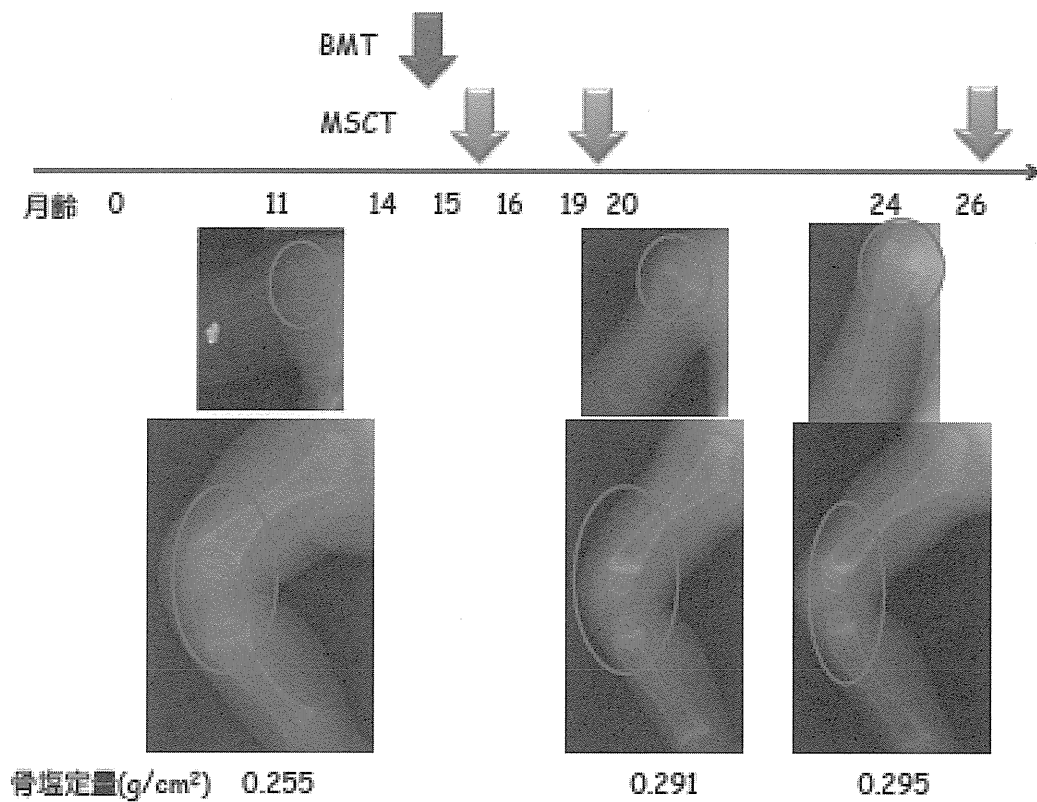
課 題 名：重症低ホスファターゼ症に対する骨髄移植併用同種間葉系幹細胞移植

研究責任者：竹谷 健
(島根大学医学部附属病院・輸血部・講師)

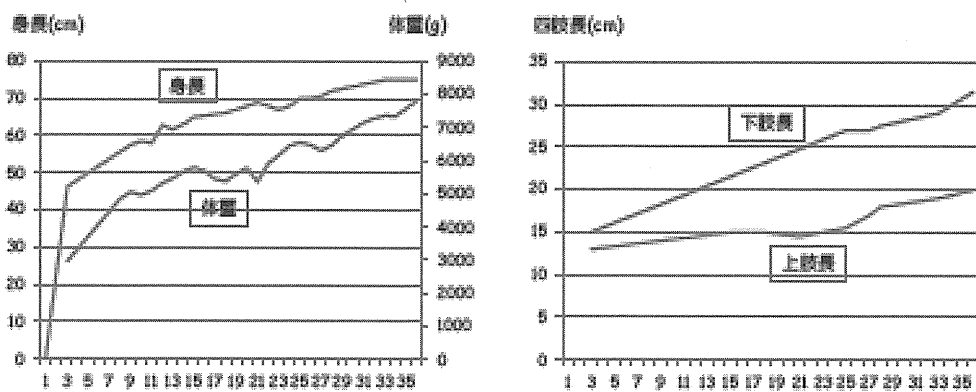
症例1 : 01 Male

骨髄移植	
年齢	1歳2か月
ドナー	父
血液型	A→A
HLA	HLA 2 locus (B, DR) mismatch
移植細胞数	$3.56 \times 10^8 / \text{Kg}$
間葉系幹細胞移植	
移植回数	4回 1歳2か月、1歳6か月、2歳3か月、2歳8か月
有害事象	
後遺症	低酸素性脳障害、甲状腺機能低下症
一過性	気管れん縮、肺炎、気管支炎

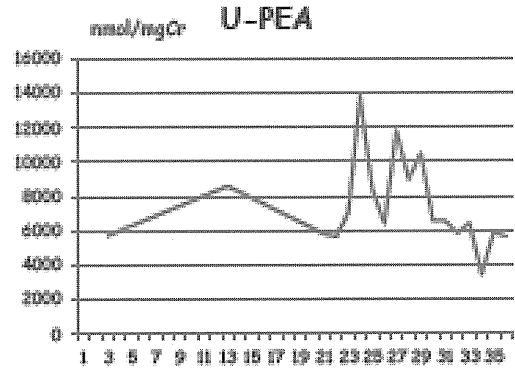
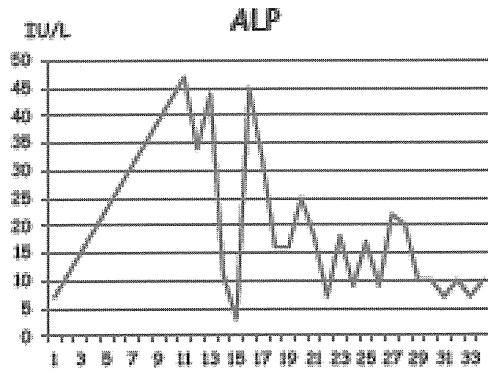




身長・体重・上肢長・下肢長

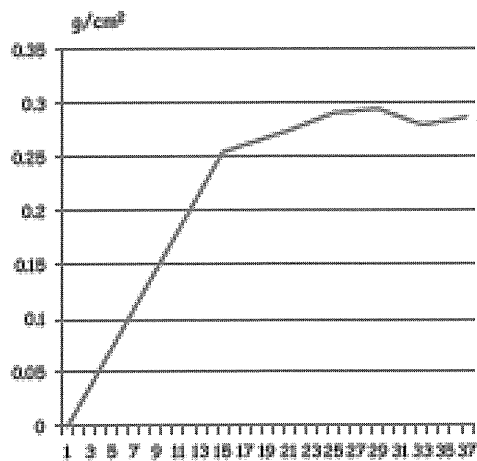


ALP · U-PEA

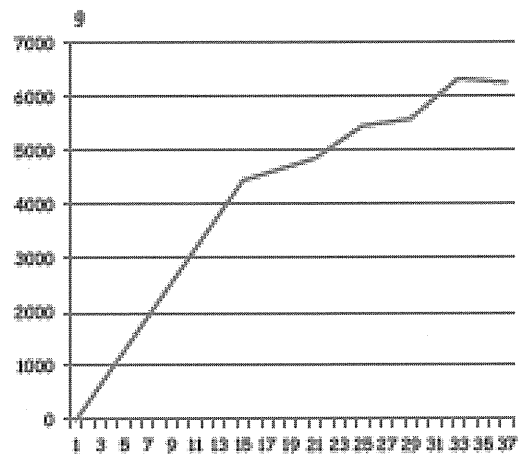


骨塩定量 · 筋肉量

骨塩定量



筋肉量



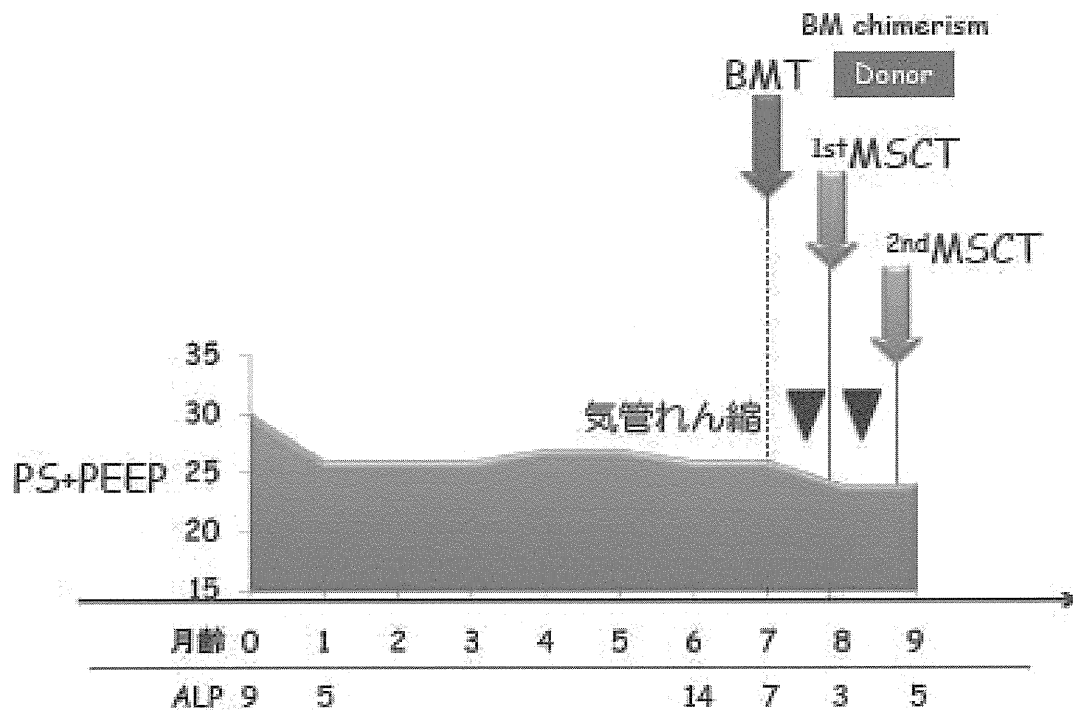
2歳8か月現在

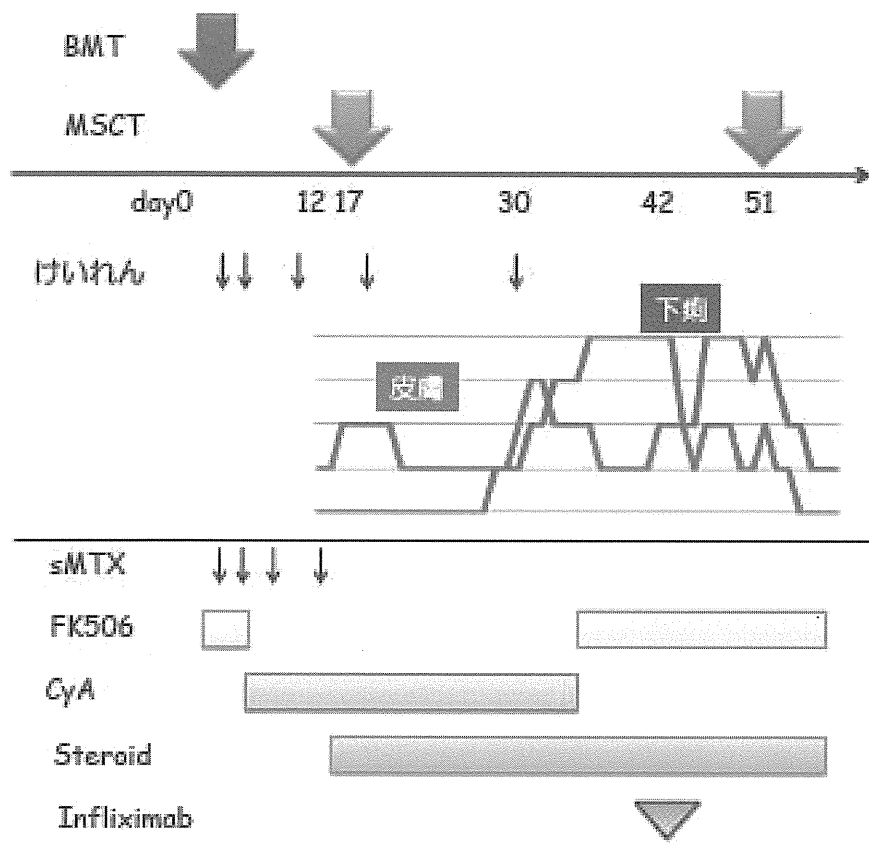
呼吸器離脱：夜間のみ装着
歩行器での歩行訓練中
身長 75cm、体重 7.8kg
ALP 12 IU/L
骨塩定量 0.287 g/cm²



症例2：05 Male

骨髄移植	
年齢	7か月
ドナー	母
血液型	A→B
HLA	HLA 1 locus (B) mismatch
移植細胞数	CD34 8.83×10 ⁶ /Kg
間葉系幹細胞移植	
移植回数	4回 7か月、8か月、10か月、1歳か月
有害事象	
後遺症	なし
一過性	肺炎、けいれん、高血圧、気管れん縮、急性GVHD grade 4：皮膚3、肝臓1、膵臓4





身長・体重・上肢長・下肢長

