

**新規造血幹細胞移植技術評価のための
新規移植後モニタリングシステムの開発に関する研究**

分担研究者 森尾 友宏（東京医科歯科大学・大学院・発生発達病態学分野 准教授）
研究協力者 清水 則夫（東京医科歯科大学・難治疾患研究所・ウイルス治療学 准教授）
今井 耕輔（東京医科歯科大学・大学院・小児・周産期地域医療学講座）
中谷 夏織（東京医科歯科大学・大学院・発生発達病態学分野）

研究要旨

造血細胞移植では、原疾患の治癒が最も重要であるが、早期・晩期拒絶、混合キメリズム、GVHD、感染症、長期的免疫不全症、晩期合併症などが短期・長期予後を規定している。本研究は、骨髄内造血細胞移植における免疫学的再構築や移植後合併症の詳細かつ簡便な解析法を開発することを目的とした。

本年は特に造血細胞移植後の免疫学的再構築の定量的評価を目的に、sjKRECs, cjKRECs, TRECs 解析法にて、造血細胞移植後患者 117 名を対象に B/T 細胞新生能を検討した。その結果臍帯血移植では B 細胞の回復が早いこと、また T 細胞の回復についても骨髄移植と遜色がないことが明らかになった。今後骨髄内造血細胞移植においても検証していくべきと考えている。

A. 研究目的

造血細胞移植では、原疾患の再発に加えて、早期・晩期拒絶、混合キメリズム、GVHD、感染症、長期的免疫不全症、晩期合併症などが短期・長期予後を規定している。骨髄内造血細胞移植などの新しい造血幹細胞移植技術においては、生命予後や移植関連合併症に加えて、その効果及び安全性を多角的にかつ科学的に検証することが重要である。本研究は、骨髄内造血細胞移植における免疫学的再構築や移植後合併症の詳細かつ簡便な解析法を開発することを目的とした。

B. 研究方法

1) 移植後免疫学的再構築能の解析

対象患者：造血細胞移植を行った 117 名の患者（70：悪性腫瘍、47：免疫不全症、年齢：0-62 歳）を対象とした。

全血から抽出した DNA を用いて、signal joint T-cell receptor excision circles (sjTRECs), signal joint kappa deleting recombination excision circles (sjKRECs), coding joint KRECs (cjKRECs) をリアルタイム PCR 系で測定した。

測定結果は μgDNA あたりのコピー数として表し、RNaseP および GAPDH をコントロールとして用いた。

データの欠落のある中、移植後 1, 3, 6, 12, 24 ヶ月後の sj/cjKRECs, TRECs を解析し、生存率、移植後（細菌、真菌、ウイルス）感染症などとの相関を解析した。

また sj/cjKRECs, TRECs の回復に寄与する因子として、ドナー年齢、レシピエント年齢、ドナーソース、前処置法、HLA 一致度、ステロイドの使用などをあげて、単変量・多変量解析を行った。

2) 微生物検査法の全自動化に関する検証

機器の組み合わせにより核酸抽出から解析までを streamline 化できるシステムについて検証を行った。

(倫理面への配慮)

KRECs, TRECs 測定の大半は retrospective study であり、ウイルス検査や遺伝子検査の際に用いた核酸検体の一部を用いて実施した。患者にはできるだけ遡って同意を取得し、また HP 上に本研究についての情報を掲載するなどの配慮を行った。

本研究については東京医科歯科大学医学部倫理審査委員会の承認を得て実施した。

C. 研究結果

1) 免疫学的再構築評価法：

移植後 3 ヶ月時点で TRECs が陽性になることが、悪性腫瘍における生存率と相関があることが明らかになった。また有意差はないものの 1 ヶ月時点での KRECs, TRECs 陽性は重症感染症発症リスクの低下に繋がる傾向にあることが明らかになった。

また TRECs, KRECs の回復に寄与する因子についても解析を加えた。その結果臍帯血移植が KRECs 回復に有利であることや、免疫学的再構築にはレシピエント年齢が関与することなどが明らかになった。

2) 微生物検査法の全自動化

既存のシステムの組み合わせによる検証、既に存在する全自動機器の検証、新規機器の開発を並行して行い、現在も検討中である。

D. 考察

KRECs, TRECs についてはまだ症例数は少ない中、一定の傾向が明らかになりつつあるが、今後は前方視的な大規模解析が必要である。またその実現にあたり体系的ウイルス検査との共通プラットフォームでの自動化リアルタイム PCR 系を立ち上げているところである。

移植後の定量的なモニタリングシステムの開発は新規移植技術評価において極めて重要である。今後

は短期的な解析のみならず、長期的な予後との関連も重要になると考えている。

測定系については、全自動化に載せることにより、さらに簡便かつ低価格に解析ができるようになることが期待される。

E. 結論

造血細胞移植後の免疫学的再構築について、KRECs, TRECs により B/T 細胞新生能の解析を行った。感染症や生存率との関連性も示唆され、今後モニタリングとして有用となると推察される。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kamae C, Nakagawa N, Sato H, Honma K, Mitsui N, Ohara O, Kanegane H, Pasic S, Pan-Hammerstrom Q, van Zelm M.C., Morio T, Imai K, Nonoyama S. Classification of common variable immunodeficiency by quantification of T cell receptor and Ig kappa-deleting recombination excision circles. *J. Allerg. Clin. Immunol.* 49:01839-8, 2012.
- 2) Uchida Y, Matsubara K, Morio T, Kasawaki Y, Iwata A, Yura K, Kamimura K, Nigami H, Fukawya T. Acute cerebellitis and concurrent encephalitis associated with parvovirus B19 infection. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 31:427, 2012.

2. 学会発表

- 1) 森尾友宏：再生医療・細胞治療領域で問題となる微生物のモニタリング、第 60 回日本ウイルス学会学術集会（シンポジウム）大阪、2012 年 11 月 13 日-11 月 15 日
- 2) 森尾友宏：「医療機関における自家細胞・組織を用いた再生・細胞医療の実施について」：免疫細

胞療法における指針及び治療の現状と展望、第
60 回日本輸血細胞治療学会(シンポジウム)、福
島、2012 年 5 月 27 日

H. 知的財産権の出願・登録状況

特記すべきことなし。

