

## ウイルス抗原特異的細胞傷害性 T 細胞による造血幹細胞移植後の 難治性感染症の治療

分担研究者 小島 勢二（名古屋大学大学院医学系研究科小児科学講座 教授）

### 研究要旨

ウイルス抗原特異的細胞傷害性 T 細胞（CTL）による臨床第 1 相試験を行った。造血細胞移植の HLA - A2 または A24 陽性ドナー末梢血よりサイトメガロウイルス（CMV）、EB ウイルス（EBV）に対する特異的 CTL を誘導した。CMV 特異的 CTL の投与を 5 名で行った。投与後の発熱、発疹などの急性反応はなく、1 例で GradeIII の肝障害を認めたが無治療で速やかに改善した。他に重篤な合併症も認めなかった。4 名の患者で投与後末梢血から CMV - DNA の低下、消失を認めた。

### A. 研究目的

造血幹細胞移植後の患者における難治性ウイルス感染症に対し、臨床応用可能なウイルス特異的 CTL の体外増幅法を開発し、移植後の難治性ウイルス感染症に対して臨床第 1、2 相試験を行う。

### B. 研究方法

造血細胞移植 HLA-A2 または A24 陽性ドナーの末梢血 30ml から単核球を分離し、ウイルス特異的ペプチドで刺激後、IL-2 添加培地で 1 週間培養し、その後我々の開発した方法に基づき CD3 で刺激した T 細胞に抗原ペプチドをパルスしたものを抗原提示細胞とし T 細胞に加え閉鎖的培養無菌バッグにより培養した。初回投与細胞数、 $1 \times 10^5$ /kg より漸増し、計 3 回の投与を行い、投与前後の末梢血ウイルス DNA の評価を行う。

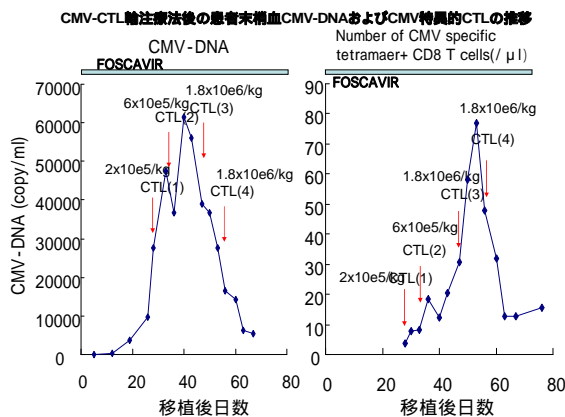
### （倫理面への配慮）

本研究は名古屋大学医学部バイオ先端臨床研究審査委員会の承認後、ドナーから文書による同意を得ておこなう。

### C. 研究結果

造血細胞移植の HLA - A2 または A24 陽性ドナー末梢血よりサイトメガロウイルス（CMV）、EB ウイルス（EBV）に対する CTL を誘導した。培養はこれまでに CMV が 12 名、EBV が 17 名で行い、それぞれ 7 名、7 名で初回投与基準を満たす細胞数の増殖が得られた。うち培養上清中に含まれるウイルス検査の基準も満たしたのは、6 名、3 名であった。

GCV 耐性 CMV 感染を起こした患者 5 名（うち本年度は 2 例）に対し CMV-CTL の投与を行った。いずれも投与後の発熱、発疹などの急性反応はなく、他に重篤な合併症も認めなかった。1 例で GradeIII の肝障害を認めたが無治療で速やかに改善した。5 例中 4 例の患者で投与後末梢血からの CMV - DNA の低下、消失を認めた。CTL 投与後の CMV-DNA の消失および患者体内での CMV-CTL の増加を示す（下図）



別の1名は2回のCTL投与後にウイルスDNAの減少が見られなかったため、ホスカビルの投与を行いCMV-DNAは消失した。

CTL培養に3-4週間かかること、投与基準をみたくCTLが得られるのはCMV特異的CTLで約50%、EBV特異的CTLでは約30%であることから、EBV特異的CTLの誘導ペプチドの追加など培養法の改善が必要と考えられ、またリスクの高い移植患者ではあらかじめドナーより培養し凍結しておくか、第3者からウイルス特異的CTLを培養し保存しておくCTLバンクの作成、運用が望ましいと考えられた。厚労省へ本治療法に関する先進医療への方向性についてご相談し、臨床第2相試験については第3者からのCTL療法を行うよう指導をうけ、現在準備中である。

#### D. 健康危険情報

特記すべきことなし。

#### E. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1). 高橋義行、サイトメガロウイルスに対する細胞療法、症例とエビデンスに学ぶ 造血細胞移植と感染症 2011年、医薬ジャーナル社、p84 - 88

- 2). 高橋義行、移植後 EB ウイルス関連リンパ増殖性疾患、みんなに役立つ造血幹細胞移植の基礎と臨床、中外医学社 in press
- 3). Villalobos IB, Takahashi Y, Akatsuka Y, Muramatsu H, Nishio N, Hama A, Yagasaki H, Saji H, Kato M, Ogawa S, Kojima S. Relapse of leukemia with loss of mismatched HLA resulting from uniparental disomy after haploidentical hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*. 2010 Apr 15;115(15):3158-61.
- 4). Watanabe N, Takahashi Y, Matsumoto K, Hama A, Muramatsu H, Doisaki S, Horibe K, Kato K, Kojima S. Prognostic factors for outcomes of pediatric patients with refractory or relapsed acute leukemia undergoing allogeneic progenitor cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2011 Apr;17(4):516-23.
- 5). Muramatsu H, Takahashi Y, Shimoyama Y, Doisaki S, Nishio N, Ito Y, Hama A, Shimada A, Yagasaki H, Ito M, Kojima S. CD20-negative Epstein-Barr virus-associated post-transplant lymphoproliferative disease refractory to rituximab in a patient with severe aplastic anemia. *Int J Hematol*. 2011 Jun;93(6):779-81.
- 6). Kato K, Otake H, Tagaya M, Takahashi Y, Ito Y, Hama A, Muramatsu H, Kojima S, Naganawa S, Nakashima T. Progressive hearing loss following acquired cytomegalovirus infection in an immunocompromised child. *Am J Otolaryngol*. 2013 Jan-Feb;34(1):89-92.
- 7). Takahashi Y, Muramatsu H, Sakata N, Hyakuna N, Hamamoto K, Kobayashi R, Ito E, Yagasaki H, Ohara A, Kikuchi A, Morimoto A, Yabe H, Kudo K, Watanabe K, Ohga S, Kojima S; Japan Childhood Aplastic Anemia Study Group. Rabbit

antithymocyte globulin and cyclosporine as first-line therapy for children with acquired aplastic anemia. Blood. 2013 Jan 31;121(5):862-3.

## 2. 学会発表

- 1). 高橋義行、難治性ウイルス感染症に対するウイルス抗原特異的細胞障害性 T 細胞 (CTL) の対外増幅法の開発と臨床第 1 相試験、血液シンポジウム、移植・細胞療法の進歩、第 52 回日本小児血液学会総会、2010 年 12 月 18 日、大阪国際会議場、大阪)
- 2). 高橋義行、造血幹細胞移植後難治性ウイルス感染症に対するウイルス特異的抗原特異的細胞障害性 T 細胞 (CTL) の対外増幅法の開発と臨床第一相試験、日本造血細胞移植学会・日本再生医療学会合同シンポジウム、第 34 回日本造血細胞移植学会総会 (2012 年 2 月 24 日、大阪国際会議場、大阪)
- 3). Yoshiyuki Takahashi、Virus specific cytotoxic T-cell therapy for drug resistant virus infection after hematopoietic stem cell transplantation, 細胞療法シンポジウム、第 54 回日本小児血液・がん学会総会 (2012 年 12 月 1 日、パシフィコ横浜会議センター、横浜)

## F. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

特願 2006-22825 (PCT/JP 2006315376)

「ウイルス抗原特異的 CTL 製造法」鈴木進

