

201231114A

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患等克服研究事業

原発性免疫不全症に対する造血幹細胞移植法の確立

平成24年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 野々山 恵章

平成25(2013)年3月

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患等克服研究事業

原発性免疫不全症に対する造血幹細胞移植法の確立

目 次

I. 総括研究報告

 原発性免疫不全症に対する造血幹細胞移植法の確立 ----- 1

 野々山恵章（防衛医科大学校小児科学講座）

II. 分担研究報告

1. X連鎖リンパ増殖症候群に対する造血幹細胞移植法の確立に関する研究 ----- 12

 川口裕之（防衛医科大学校小児科学講座）

2. 原発性免疫不全症に対する造血幹細胞移植法の確立に関する研究 ----- 18

 今井 耕輔（東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科小児・周産期地域医療学講座）

3. iPS細胞を用いた血球分化系の構築およびX連鎖性血小板減少症に対する
 造血幹細胞移植成績の後方視的検討 ----- 31

 中畑 龍俊（京都大学iPS細胞研究所臨床応用研究部門疾患再現研究分野）

4. 原発性免疫不全症に対する造血幹細胞移植法の確立に関する研究 ----- 36

 小原 収（公益財団法人かずさDNA研究所）

5. 移植前処置に用いるブスルファンの至適血中濃度の検討 ----- 40

 小島 勢二（名古屋大学大学院医学系研究科小児科学）

6. 重症複合免疫不全症に対する造血幹細胞移植 ----- 44

 原 寿郎（九州大学大学院医学研究院成長発達医学）

7. 重症先天性好中球減少症の造血幹細胞移植 ----- 49

 小林 正夫（広島大学大学院医歯薬保健学研究院小児科学）

8. WASに対する造血幹細胞移植法の確立に関する研究 ----- 53

 有賀 正（北海道大学小児科学分野）

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表	57
Ⅳ. 研究成果の刊行に関する別冊	62

I 総括研究報告

原発性免疫不全症に対する造血幹細胞移植法の確立

平成 24 年度 総括研究報告書

研究代表者 野々山 恵章 (防衛医科大学校 小児科学講座 教授)

研究要旨

原発性免疫不全症に対する至適造血幹細胞移植法を確立する目的で、以下の研究を行った。

これまでに蓄積されたデータを活用するために、原発性免疫不全症候群班会議の全数調査、日本造血細胞移植学会登録 (TRUMP)、PIDJ (Primary Immunodeficiency Database Japan) の3つのデータベースから、原発性免疫不全症に対する移植データを収集した。対象疾患は、重症複合型免疫不全症、X連鎖高IgM症候群、Wiskott-Aldrich症候群、先天性好中球減少症、X連鎖リンパ増殖症候群、慢性肉芽腫症とした。

重症複合免疫不全症(SCID) では、140例153回の造血幹細胞移植に関するデータが収集できた。骨髓破壊的前処置は必要ではなく骨髓非破壊的前処置で生着して免疫系の再構築が起きる事、海外の成績に比較し本邦では非血縁臍帯血移植の成績が、感染がない場合、91.3%の無病生存と良好である事が判明した。また移植時の感染症の有無で生存率が異なり、感染症があると生存率が50%と有意に低下することが示された。

X連鎖高IgM症候群では、国内症例56例49家系を解析できた。非移植例の27例は40歳での生存率は28%と不良であるが、移植を行った例29例では30年生存率は65.9%と良好であり、本疾患は造血幹細胞移植の適応であると考えられた。5歳未満の移植例13例では移植後10年の無イベント生存率76.2%と5歳以上での移植例16例の10年生存率50%と比べ良好な傾向にあった。

Wiskott-Aldrich症候群では移植後自己免疫疾患を発症する例が多く、特に前処置に骨髓非破壊的処置を用いた場合に多いことが判明した。また、移植後にドナーとレシピエントの混合キメラになる事が他疾患に比較して多いこと、拒絶される症例も多いことが判明した。

慢性好中球減少症では46症例のデータを全国から収集できた。16例で造血幹細胞移植が行われ、15例が無病生存していた。骨髓異形成症候群(MDS)/急性骨髓性白血病(AML)に移行した4例では、1例がGVHDで死亡したが、3例は無病生存し

ている。悪性転化前の早期の移植が、本邦での低いMDS/AML発症率につながっていると考えられた。

X連鎖リンパ増殖症候群 (X-linked lymphoproliferative syndrome; XLP)の造血幹細胞移植では、XLP1は12例中11例が生存していること、XLP2は現時点で国内では1例であったが国際的な共同研究の結果19例の移植例のうち7例が生存していることが明らかになった。前処置は骨髄非破壊的前処置 (RIC) を行なうのが望ましいと考えられた。また早期診断によるEBウイルスの管理が重要であった。

また施設間で前処置法が様々であること、免疫系の再構築が不十分のままであるためウイルスなどの感染症が持続している例が存在すること、移植前の潜伏感染の把握が不完全であったため移植後に感染が顕在化するという問題も明らかになった。そこで、感染症のコントロール、前処置の方法、移植後の免疫抑制剤使用法、ドナーソース感染管理などについて、暫定案を作製し原発性免疫不全症の至適な造血幹細胞移植法を確立することとした。前処置で用いるbusulfanの血中濃度測定系を確立した。疾患由来iPS細胞を作製し、病態解析、遺伝子治療の基礎データを出し、新規移植法の開発への応用をめざした。移植患者登録データベースとしてより有効に活用できるようにPIDJのバージョンアップを行った。

研究分担者

川口 裕之

防衛医科大学校小児科学講座、准教授

今井 耕輔

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科小児・周産期地域医療学講座、准教授

中畑 龍俊

京都大学iPS細胞研究所、臨床応用研究部門・疾患再現研究分野、副所長

小原 収

公益財団法人かずさDNA研究所、ヒトゲノム研究部、副所長
理化学研究所、免疫・アレルギー科学総合研究センター、免疫ゲノミクス研究グループ、グループディレクター

小島 勢二

名古屋大学大学院医学系研究科小児科、教授

原 寿郎

九州大学大学院医学研究院成長発達医学分野小児科、教授

小林 正夫

広島大学大学院医歯薬学総合研究科小児科、教授

有賀 正

北海道大学大学院医学研究科小児科学分野、教授

A. 研究目的

原発性免疫不全症に対する造血幹細胞移植の既存のデータの収集を行い、前処置法、ドナーソース、免疫抑制剤、感染管理法について解析し、最適な造血幹細胞移植法の確立とガイドライン作成など、原発性免疫不全症の至適造血幹細胞移植法を確立し、根治を目指すことを目的とした。

原発性免疫不全症の中で、重症複合型免疫不全症、高IgM症候群、Wiskott-Aldrich症候群、X連鎖血小板減少症、慢性好中球減少症、慢性肉芽腫症、X連鎖リンパ増殖症候群、家族性血球貪食症候群は、造血幹細胞移植が必須であり、移植しない場合生命予後が不良であり絶対適応である。造血幹細胞移植が、遺伝子治療以外の唯一の根治療法であり、至適な移植法を確立する本研究は必須である。

また、ヨーロッパ移植学会(EBMT)・ヨーロッパ免疫不全症研究会(ESID)合同で、2011年6月にこれまでの造血幹細胞移植法を全面的に改定し、新たに骨髄非破壊的処置による前処置、感染管理法、移植後のキメリズム解析などを導入した。そうした中で、日本においても至適薬剤量の決定、国内に存在しない薬剤の代替薬剤の使用など、日本人に最も適した新規造血幹細胞移植法の確立とガイドライン作成は必須である。

これまでに、原発性免疫不全症調査研究班により、免疫不全症の登録制度が進んでおり、全数調査も行われ、申請者はPIDJというインターネットを活用した一般医と専門医をつなぐデータベースも構築した。重症複合型免疫不全症、慢性肉芽腫症、高IgM症候群では、疾患ごとに造血幹細胞移植指針を提案し、全国でパイロットスタディ

が行われデータが蓄積している。すなわち、これまでに移植実施施設と連携が密になされていること、データベース構築、全数把握ができていることから、これまでのデータを解析後に、新規に前向き研究として移植方法の振り分け、移植後合併症、感染症管理、GVHDの発症、移植後キメリズム、予後解析などについて、全例で調査が行えるという大きな特色がある。さらに臍帯血をドナーソースにする移植方法は、日本で最も進んでおり、世界的に見て独創的な研究となる。以上の実績と特色から、原発性免疫不全症に対する至適な造血幹細胞移植法を確立できる。

また、原発性免疫不全症に対する移植は、感染症を抱えたままの移植であるが移植中の感染症をコントロールし、かつ免疫抑制剤を適正に使いGVHDも出さないという極めて困難な移植である。したがって、本研究で得られた解決法は、他の疾患への造血幹細胞移植に活用でき、極めて有用である。さらに、単一遺伝子異常による疾患であり、移植により根治できるため移植が最も適した疾患であるが、さらに自家移植の延長としての造血幹細胞への遺伝子導入による遺伝子治療への基盤整備に応用できる。

B. 研究方法

1. これまでの移植データ収集と解析

これまでに行われた原発性免疫不全症患者移植例を、1) 免疫不全症班会議全数調査、2) 日本造血細胞移植学会登録 (TRUMP)、3) PIDJの、3つのデータベースから情報を収集する。

各疾患ごとにデータ収集を行い、その問

題点、改善点を明らかにする。

2. 原発性免疫不全症の造血幹細胞移植の問題点の解明と暫定推奨案の作成

1. で収集したデータから、原発性免疫不全症における造血幹細胞移植の問題点を明らかにする。その問題点を解決すべく、前処置方法、ドナーソース、免疫抑制方法、GVHD予防法、感染症管理・治療、などについて、暫定的な移植法推奨案を作成し提示する。

3. 免疫系再構築およびキメリズム解析

原発性免疫不全症においては、免疫系の再構築、混合キメラ化が問題となる。そこで免疫系再構築と混合キメラ状態の把握を行う。

2週に一度、免疫系の再構築について、FACS解析、TREC/KREC測定で行う。キメリズム解析は、患者末梢血細胞を骨髓系、リンパ系に分け、HLA タイピング、STR解析などで行う。

生着のマーカーとしても利用する。この結果を、ドナーソース、前処置、免疫抑制剤などとの相関を検討する。自己免疫疾患の発症の有無も検討する。

4. データ解析

研究期間内に患者データを整理し、移植前処置の効果、副反応などを、統計学的に詳細に検討解析する。

5. iPS細胞および遺伝子治療を活用した新規移植法の基盤整備

患者由来iPS細胞を樹立し、分化促進の検討と、原因遺伝子導入を行い遺伝子治

療の基盤整備とする。

(倫理面への配慮)

発性免疫不全症の早期診断法の確立に関する研究(実施責任者: 野々山恵章、防衛医科大学校倫理委員会、平成21年7月27日承認)

先天性免疫不全症の遺伝子解析研究(実施責任者: 野々山恵章、防衛医科大学校倫理委員会、平成21年12月11日承認)

先天性免疫不全症に対する造血幹細胞移植に関する検討(実施責任者: 野々山恵章、防衛医科大学校倫理委員会、平成23年7月1日承認)

原発性免疫不全症の遺伝子解析(実施責任者: 今井耕輔、東京医科歯科大学倫理委員会、平成20年6月24日承認)

小児期発症疾患の遺伝子素因解明に関する研究(実施責任者: 今井耕輔、東京医科歯科大学倫理委員会、平成24年11月5日承認)

“ヒトゲノム・遺伝子解析研究”(実施責任者: 中畑龍俊、京都大学医の倫理委員会、当初承認日:平成20年6月4日、変更・追加承認日:平成24年7月19日)

ヒト疾患特異的iPS細胞の作製とそれを用いた疾患解析に関する研究(実施責任者: 中畑龍俊、京都大学医の倫理委員会、当初承認日:平成20年6月4日、変更・追加承認日:平成24年7月19日)

網羅的な全エクソンシーケンシング研究(実施責任者: 小原收、かずさDNA研究所倫理委員会、平成20年2月5日承認)

RNAシーケンシングを発現プロファイル解析および塩基配列解析研究(実施責任者: 小原收、かずさDNA研究所倫理委員会、平成24年10月16日承認)

稀少小児遺伝性血液疾患における原因遺伝子の探索研究、(実施責任者: 小島勢二、名古屋大学医学部倫理委員会、平成24年2月10日承認)

原発性免疫不全症の遺伝子解析研究(実施責任者: 原寿郎、九州大学ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理委審査委員会、平成20年6月3日承認)

Wiskott-Aldrich症候群およびX連鎖血小板減少症に対する造血細胞移植に関する研究(実施責任者: 有賀正、北海道大学医学部倫理委員会、平成24年10月10日承認)

造血細胞移植後のリンパ球新生能解析法の確立に関する研究(実施責任者: 野々山恵章、防衛医科大学校倫理委員会、平成25年1月9日承認、実施責任者: 今井耕輔、東京医科歯科大学医学部倫理委員会、平成24年11月12日承認)

C. 研究結果

1. 移植データ収集と問題点の解析

これまでに行われた原発性免疫不全症に対する移植データを、原発性免疫不全

症班会議による全数調査、日本造血細胞移植学会登録事業である TRUMP、原発性免疫不全症の中央診断登録システム PIDJ の3つのデータベースを用いて収集した。原発性免疫不全症として、重症複合型免疫不全症、高 IgM 症候群、Wiskott-Aldrich 症候群、慢性肉芽腫症、先天性好中球減少症、X連鎖リンパ増殖症候群を対象とした。収集したデータから、以下の項目を検討した。原病、診断時年齢、移植時年齢、前処置の種類、ドナーソース、免疫抑制剤の種類、Digital PCR による移植時感染症の有無と感染のモニタリング、免疫系の再構築(リンパ球サブセット、血清 IgG, IgA, IgM 値、特異抗体の産生、TREC/KREC のコピー数)、移植後の感染発症の有無、感染症がある場合、その種類と治療反応性、拒絶および生着状況、ドナータイプとレシピエントタイプのキメラ状態(T細胞、B細胞、好中球で分けて解析)、GVHD の発症頻度と重症度、移植後血球貪食症候群の発症頻度、VOD の発症頻度、自己免疫疾患の発症頻度、現時点での生命予後、無病生存率であり、各疾患で検討した。

その結果、移植後長期にわたり患者細胞と造血幹細胞供血者細胞のキメラ状態になり、免疫血液系の再構築が不完全である症例が多い事が判明した。T細胞は生着したが、B細胞は患者由来であり抗体を産生できないため、 γ グロブリン補充を続けなければならない例、T細胞一部のみが生着したため免疫調節異常が起こり自己免疫疾患を発症している例などが多くあった。

前処置に関しては、感染症を抱えていること、多くが乳幼児であることから、骨髄非

破壊的処置を選択している施設が多かったが、前処置の実際の方法については、施設間で大きく異なっているという実態も明らかになった。

こうした前処置方法の改善の一環として、原発性免疫不全症に対する安全な同種造血幹細胞移植法を開発するため、前処置に用いるブスルファン血中濃度測定系を確立した。

また、造血幹細胞移植後患者について、その免疫学的再構築能を、申請者らが確立した T細胞新生能のマーカーである T細胞受容体遺伝子再構成断片(TREC)、B細胞新生能のマーカーである免疫グロブリン κ 鎖遺伝子再構成断片(KREC)を用いて、検討を行った。臍帯血移植では骨髄移植に比較して TREC/KREC の上昇が有意に遅れる事が明らかになった。このことから、臍帯血移植と骨髄移植では、感染予防、免疫抑制剤の使用法、ドナーリンパ球輸注の必要性などが異なる事が示唆された。さらに、免疫系の再構築が不十分のままであるためウイルスなどの感染症が持続している例も多く存在した。また移植前の潜伏感染の把握が不完全であったため、移植後に感染が顕在化するという問題も明らかになった。

また、移植後経過をよりの確に解析するため、原発性免疫不全症データベースである PIDJ (Primary Immunodeficiency Database in Japan)について、遺伝子解析データの自動入力、移植方法、移植後感染症、GVHD、キメラ状態などのデータ入力が容易に行われるようこと、患者情報がPIDJに統一的に入力されるようにすることを目指しバージョンアップした。

2. 各疾患ごとの移植データ収集と解析

- a) 重症複合免疫不全症(SCID)140例153回の造血幹細胞移植に関するデータを収集した。その結果、骨髄破壊的前処置は必要ではなく、骨髄非破壊的前処置で生着し、免疫系の再構築が起きる事、海外の成績に比較し、本邦では非血縁臍帯血移植の成績が感染を起こす前の早期に移植した場合 91.3%の無病生存と良好である事が判明した。また移植時の感染症の有無で生存率が異なり、感染症がないと 91.3%と良いが、感染症があると生存率が 50%と有意に低下することが示された。

平成 24 年度は国内で 3 例の重症複合免疫不全症に対して造血幹細胞移植が行われた。2 例は共通・鎖欠損症で、他の 1 例は ADA 欠損症であった。共通鎖欠損症の 2 例については FLU+BU で、ADA 欠損症の 1 例については、FLU+BU+ATG によって前処置がなされた。いずれの症例も RRT、GVHD、感染症などの重篤な合併症はなく、経過は良好である。当科において染色体異常に伴って発症した複合免疫不全症の患者 1 名に対して、この疾患の病態を解析し、HLA マッチの姉をドナーとして骨髄移植を行った。移植前処置は FLU+CY+ATG で、移植後の経過は良好であった。

- b) CD40L 遺伝子異常を伴う伴性劣性高 IgM 症候群の国内症例 56 例 49 家系を解析した。

27 例が移植しておらず、10 歳までの生存率は 68%であるが、40 歳での生存

率は 28%と不良であり、造血幹細胞移植の適応であると考えられた。一方、移植を行った例 29 例では 30 年生存率は 65.9%と良好であった。

5 歳未満の移植例 13 例では移植後 10 年の無イベント生存率 76.2%と 5 歳以上での移植例 16 例の 10 年生存率 50%と比べ良好な傾向にあった。

また、BU+CY での前処置例 18 例中 15 例が生着しており、骨髄非破壊的前処置(RIC)の 7 例中 4 例に比べ良好な生着率であった。ただ、5 歳未満の RIC では 3 例中 3 例で生着しており、今後状態のいい患者での RIC での前処置の可能性について検討が必要である。

また、T 細胞免疫不全により起きる、クリプトスポリジウム感染、ニューモチスチス感染、真菌感染、ウイルス感染が高頻度に起こること、これらの感染対策が移植成績を決める事を明らかにした。

- c) Wiskott-Aldrich 症候群(WAS)に対する日本の全造血細胞移植について、日本造血細胞移植学会の TRUMP データ全データを取得した。Wiskott-Aldrich 症候群では移植後自己免疫疾患を発症する例が多く、特に前処置に骨髄非破壊的処置を用いた場合に多いことが判明した。また、移植後にドナーとレシピエントの混合キメラになる事が他疾患に比較して多いこと、拒絶される症例も多いことが判明した。

これらの問題点を解決すべく、移植方法について骨髄破壊的前処置、ドナーリンパ球の使用、免疫抑制剤の使用

法などについての暫定的なガイドラインを作成した。

Wiskott-Aldrich syndrome (WAS) 遺伝子に変異を持ち、臨床的に血小板減少があるが、湿疹は存在しないか軽度で、軽度から中等度の感染歴のみである X 連鎖性血小板減少症の患者を対象に、造血幹細胞移植成績の後方視的解析を行った。X 連鎖血小板減少症(XLT)に関しては、海外症例も含めて造血幹細胞移植を受けた 23 例を集積できた。全生存率は約 80%であり、23 例中 22 例で移植前に認めた本疾患の合併症が移植後には全て改善していたということが判明した。骨髄破壊的前処置が本疾患には妥当な可能性が示唆された。すなわち、骨髄破壊的前処置を用いることで、ほとんどの症例で本疾患の合併症が改善すること、生存率および移植関連合併症は許容できるものであった。

d) 慢性肉芽腫症 (CGD)では拒絶およびアスペルギルス感染が大きな問題となっていた。移植時期についても施設間でまちまちであり、至適移植時期、移植までの管理法などについての指針が必要であると考えられた。

e) 先天性好中球減少症46症例のデータを全国から収集した。76%が ELANE 変異、12%が HAX1 変異であった。G-CSF 投与の定期投与は 56%、感染時のみの投与は 22%であった。16例で造血幹細胞移植が行われ、15 例が無病生存している。骨髄異形成症候群

(MDS)/急性骨髄性白血病(AML) に移行した 4 例では、1 例が GVHD で死亡したが、3 例は無病生存している。悪性転化前の早期の移植が、欧米と比較し低い MDS/AML 発症率につながっている可能性が示された。

f) X 連鎖リンパ増殖症候群 (X-linked lymphoproliferative syndrome; XLP) には原因遺伝子の異なる XLP1 と XLP2 がある。これらに対して造血幹細胞移植が行なわれた例についての調査を行った。XLP1 について本邦で行なわれた造血幹細胞移植において 12 例中 11 例が生存していることが判明した。また、XLP2 については、本邦で造血幹細胞移植が行なわれたのは現時点で 1 例のみであったが、国際的な共同研究の結果 19 例に移植が行なわれ、そのうち 7 例が生存していることが明らかになった。XLP1 の移植においては、骨髄破壊的前処置 (MAC) と骨髄非破壊的前処置 (RIC) で治療成績に差がなかったが、XLP2 の移植においては骨髄破壊的前処置 (MAC) の毒性が強い例が多かった。XLP1 と XLP2 の何れに対しても、治療による毒性の少ない骨髄非破壊的前処置 (RIC) を行なうのが望ましいと考えられた。また早期診断による EB ウイルスの管理が重要であった。

3. 暫定造血幹細胞移植推奨案作成

以上の結果から、重症複合型免疫不全症、X 連鎖高 IgM 症候群、Wiskott-Aldrich 症候群、X 連鎖血小板減少症、重症先天性好中球減少症、X 連鎖リンパ増殖症、慢

性肉芽腫症に対する暫定造血幹細胞移植推奨案を疾患ごとに作成した。多施設共同前方視野的研究に展開し、これにより、至適移植方法を確立する。

4. iPS 細胞からの分化系を用いた移植方法改善の試み

移植成績の向上のためには各疾患の病態解明が必須と考えられている。今回、正常あるいは患者の皮膚、末梢血から iPS 細胞を作成し、この細胞から免疫担当細胞を含む各種血球系に分化させる系の構築を目指した。

iPS 細胞からの血球分化系として、従来法である OP9 フィーダーを用いた血球誘導法や胚葉体 (Embryoid body: EB) 形成による血球誘導法その他、フィーダー・血清を使用せずに平面培養で 3 系統 (赤血球・白血球・血小板) を誘導する方法を開発した。本法は分化過程での細胞のソート等を要しない簡便な方法で、成熟血球を誘導することが可能であり、また成熟血球は浮遊細胞となって細胞上清から回収できるため、細胞純化が容易となった。回収した細胞の表面抗原により細胞を分取する技術も確立した。さらに、血球の分化過程を追跡可能であることから、血球分化異常が背景にある疾患の解析も可能となった。また、この方法を改変し、重要な自然免疫担当細胞である単球、樹状細胞、マクロファージをステップワイズに成熟・回収する系も確立した。この系では、浮遊細胞の 80-90% が単球となり、純化が容易である他、培地交換ごとに回収可能であるため、多数の細胞を繰り返し得ることができる。さらに、OP9-DL1 をフィーダー細胞として用いて T リンパ球の分化誘導法につい

ても検討した。上記の細胞分化系を用いて、原発性免疫不全症の疾患特異的な表現型の解析を開始した。

D. 考察

原発性免疫不全症は、先天的に免疫系細胞の分化、機能発現に重要な分子の異常があり、致死的な感染症などを起こす疾患である。原因遺伝子は180程度が知られている。その中の多くの疾患は、造血幹細胞移植が適応である。重症複合型免疫不全症は移植をしない場合、1歳までに90%が死亡するが、移植により根治できる。また、単一遺伝子の異常による疾患であり、造血幹細胞移植により遺伝子の正常化がなされれば根治できる。

しかし、移植時に感染症を併発している事が多く、感染症を抱えたままの移植になることが多い。DNA修復障害が基礎にある疾患では、前処置の強度を最低限にしなければならぬ。またHLA不一致の移植を行わざるを得ないことも多く、GVHDも起こしやすい。このように、造血幹細胞移植の中で解決すべき問題点が多い疾患である。

そこで、感染症のコントロール、前処置の方法、移植後の免疫抑制剤使用法、ドナーソースなどこれまでに蓄積されたデータをもとに前向き研究を行い、原発性免疫不全症の至適な造血幹細胞移植法を確立することを目的とする。

原発性免疫不全症は患者登録、全数調査が行われ、PIDJというWEBベースのデータベースもできている。さらに、重症複合型免疫不全症、Wiskott-Aldrich症候群、高IgM症候群、慢性肉芽腫症では、移植治療指針を作成し、全国でパイロットスタディを

開始している実績がある。そこで、PIDJを利用して必要な全てのデータ収集を継続的に行う。また、難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業の一般研究班である“稀少小児遺伝性血液疾患の迅速な原因究明及び診断・治療法の開発に関する研究”、免疫不全症に関する調査研究班、特発性造血障害に関する調査研究班と分担研究者を通じて十分な連携をとって行う。

具体的には、前処置法、ドナーソース、免疫抑制剤に関して振り分け、感染管理法についても提示し、前向き研究を行う。H24年度に開始しその結果を比較検討する事により、至適な造血幹細胞移植法を確立しH25年度末までにガイドラインを作成する。なお、本研究には、造血幹細胞移植の技術を遺伝子治療に将来的に活用する事も含める。

以上により、移植による原発性免疫不全症の根治を目指す。移植法の問題点を解決し至適移植法を確立すれば、他疾患の造血幹細胞移植、さらに移植治療全体に応用できるため意義深い。

原発性免疫不全症に対する造血幹細胞移植法には様々な問題点があり、施設間で統一されておらず、確立されていない。本研究で、原発性免疫不全症候群に対する至適造血幹細胞移植法を確立し、安全でかつ治癒を目的とした治療法を確立する。これにより新規移植法を確立することによる難病治療を確立し、もって行政政策へ活用する。

E. 結論

免疫不全症班会議の全数調査、日本造血細胞移植学会登録（TRUMP）、PIDJの3

つのデータベースから原発性免疫不全症に対する移植データを収集した。その結果、前処置法によっては、移植後長期にわたり患者細胞と造血幹細胞供与者細胞のキメラ状態になり、免疫血液系の再構築が不完全である症例が多い事が判明した。T細胞は生着したが、B細胞は患者由来であり抗体を産生できないため、 γ グロブリン補充を続けなければならない例、T細胞一部のみが生着したため免疫調節異常が起こり自己免疫疾患を発症している例などがあった。また、臍帯血移植では骨髓移植よりT細胞・B細胞新生能のマーカーである

TREC/KRECの正常化が有意に遅れることも見出した。さらに、免疫系の再構築が不十分のままであるためウイルスなどの感染症が持続している例も多く存在した。また移植前の潜伏感染の把握が不完全であったため、移植後に感染が顕在化するという問題も明らかになった。

また、iPS細胞の利用、遺伝子治療の基礎データを出すことができ、新規移植法の開発に応用できると考えられた。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1.論文発表

巻末別紙参照。

2.学会発表

巻末別紙参照。

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

Ⅱ 分 担 研 究 報 告

X 連鎖リンパ増殖症候群に対する造血幹細胞移植法の確立に関する研究

研究分担者 川口 裕之 防衛医科大学校小児科学講座 准教授

研究協力者

小林 正夫 広島大学大学院医歯薬学総合研究科小児科 教授

原 寿郎 九州大学大学院医学研究院成長発達医学分野小児科教授

金兼 弘和 富山大学附属病院小児科 准教授

研究要旨

X 連鎖リンパ増殖症候群 (X-linked lymphoproliferative syndrome; XLP) には原因遺伝子の異なる XLP1 と XLP2 がある。これらに対して造血幹細胞移植が行なわれた例についての調査を行った。XLP1 について本邦で行なわれた造血幹細胞移植において 12 例中 11 例が生存していることが判明した。また、XLP2 については、本邦で造血幹細胞移植が行なわれたのは現時点で 1 例のみであったが、国際的な共同研究の結果 19 例に移植が行なわれ、そのうち 7 例が生存していることが明らかになった。XLP1 の移植においては、骨髄破壊的前処置 (MAC) と骨髄非破壊的前処置 (RIC) で治療成績に差がなかったが、XLP2 の移植においては骨髄破壊的前処置 (MAC) の毒性が強い例が多かった。XLP1 と XLP2 の何れに対しても、治療による毒性の少ない骨髄非破壊的前処置 (RIC) を行なうのが望ましいと考えられた。

A. 研究目的

X 連鎖リンパ増殖症候群 (X-linked lympho-proliferative syndrome; XLP) には、リンパ球活性化シグナル伝達蛋白をコードする遺伝子 SAP/SH2D1A の異常に起因する XLP1 と、アポトーシス抑制蛋白をコードする遺伝子 BIRC4 の異常に起因する XLP2 (XIAP 異常症) の二種類がある。何れも原発性免疫不全症であり、根治的な治療として造血幹細胞移植が行なわれるが、多数の移植例を集積した検討はなされていなかった。この為、従来 XLP に対する造血幹細胞移植において、最適な前処置とド

ナーソース・移植の際の合併症の種類と頻度についての情報は限られていた。

上記の事情により、XLP に対して造血幹細胞移植を行なった症例を調査・分析し、(i) どの様な移植が戦略的に有利であるかについての基礎的な情報を得ること (ii) 医療資源を効果的に配置する上で有益な情報を厚生労働行政に提供することを目的として、今回の研究を計画した。

B. 研究方法

すべての調査研究はヘルシンキ宣言 (1964 年世界医師会において策定、2000 年改訂) を遵守して行われた。すなわち、

新たに検体を採取する必要のある被験者には、研究の目的・危険性・研究に伴う利益と不利益を説明した上で、書面で同意を得、同意の撤回が可能であることについても説明した。死亡例を含む後方視的な検討においては、各施設から匿名化された情報のみを収集し、各研究分担者は症例の個人情報把握できない様にした。

XLP1 の移植例についての検討方法

XLP1 については、一般的な文献検索の方法により本邦において症例報告のあった症例を抽出した。各症例について、本人もしくは保護者からの書面による同意を得た後、これらの症例について遺伝子型と細胞学的分析、臨床情報の収集を行い、臨床経過と患者の特性、造血幹細胞移植の施行の有無と予後の関連等について質問票により後方視的に分析した。

XLP2 の移植例についての検討方法

XLP2 については、国内症例のみでは総数が少なく検討に堪えないことが予想される為、国際共同研究を行った。文献による報告、国際組織球症研究グループへの報告等から XLP2 に対して造血幹細胞移植を行なった症例を抽出した。研究代表者の所属する医療機関（シンシナチ小児病院）の倫理委員会の承認を得た後、これらの症例について担当医に質問用紙を送付し、遺伝子型と細胞学的分析の結果、臨床情報の収集を行い、臨床経過と患者の特性、造血幹細胞移植内容と予後の関連等について後方視的に分析した。

（倫理面への配慮）
情報を匿名化し、個人情報把握できないように配慮した。また、倫理委員会に申請し、承認を得た。

C. 研究結果
XLP1 についての研究結果

XLP1 について調査の結果、21 家系の 33 症例を見いだした。この 33 例のうち、造血幹細胞移植を受けたのは 12 例であった。この 12 例中 11 例（91.7%）が生存しているのに対して、移植を受けなかった群は全例死亡していた（ $P < 0.01$ ）。これらの症例についての臨床症状と移植についての詳細を下記に示した。

(i) 移植群と非移植群の予後

	生存	死亡	合計	
移植群	11	1	12	$P < 0.01$
非移植群	0	20	20	
合計	11	21	32	

※移植群の転帰の詳細

患者	観察期間 (日)	転帰	死因
1.2	5350	生存	
7.2	2370	生存	
9.1	3830	生存	
9.2	14	死亡	敗血症
10.1	4075	生存	
10.2	1185	生存	
11.3	3345	生存	
14.1	2985	生存	
16.1	1765	生存	
17.2	2005	生存	

18.1	1670	生存	
19.3	1305	生存	

(ii) 移植群の移植内容による内訳

	生存	死亡	合計	
PBSC	2	0	2	P=0.01
BM	9	1	10	
合計	11	1	12	
MSD	2	0	2	
MUD	4	0	4	
mMFD	1	1	2	
mMUD	4	0	4	
合計	11	1	12	
MAC	7	0	7	P=0.07
RIC	4	1	5	
合計	11	1	12	

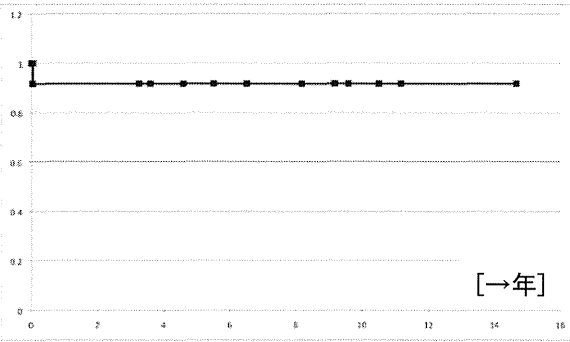
PBSC: 末梢血幹細胞、BM: 骨髓血、MSD: HLA 適合同胞ドナー、MUD: HLA 適合非血縁ドナー、mMFD: HLA 非適合家族内ドナー、mMUD: HLA 非適合非血縁ドナー、MAC: 骨髓破壊の前処置、RIC: 骨髓非破壊の前処置

(iii) 移植前処置の詳細

MAC	TBI/CY	1
	BU/CY/ATG	1
	BU/VP/ATG	1
	BU/CY/AraC	1
	BU/CY	1
RIC	BU/TAI(3Gy)/Flu/CY/ATG	1
	BU/TAI(3Gy)/Flu/CY/ATG	1
	TBI(6Gy)/BU(4mg/kg)	1
	Flu/Mel/ATG/TAI(3Gy)	1
	Flu/Mel/TBI(3Gy)	3

BU: ブスルファン、TBI: 全身放射線照射、CY: サイクロフォスファミド、ATG: 抗胸腺細胞グロブリン、VP: VP-16、AraC: シタラビン、TAI: 胸腹部放射線照射、Flu: フルダラビン、Mel: メルファラン

(iv) 移植群の生存曲線 (Kaplan-Meyer 法)



(v) 移植例についての詳細

Table 3 Characteristics of HSCTs									
Patient ID	Age at HSCT	Donor	Source	Conditioning regimen	GvHD prophylaxis	Acute GvHD	Chronic GvHD	Outcome	
1/2	7 yr	MSD (sib)	PBSC	TBI/CY	CsA/MTX	Grade I	Extensive	Alive (14 yr 8 months)	
7/2	24 yr	MSD (sib)	BM	BU/CY/ATG	CsA/MTX	Grade II	Extensive	Alive (2 yr 6 months)	
9/1	6 yr	MUD (sib)	BM	BU/VP/CY	FKc/MTX	None	None	Alive (16 yr 6 months)	
9/2	6 yr	mMFD (sib)	BM	TBI 6Gy/BU 4 mg/kg	MTX/VP/ATG/mPSL	NE	NE	Deaf (14 days)	
10/1	4 yr	mMUD (sib)	BM	BU/CY/AraC	FKc/MTX	Grade II	Extensive	Alive (11 yr 2 months)	
10/2	1 yr	MUD (sib)	BM	BU/TAI 3Gy/Flu/CY/ATG	FKc/MTX	None	None	Alive (2 yr 3 months)	
11/2	8 months	mMUD (sib)	PBSC	Flu/TAI/ATG/TAI 6Gy	FKc/MTX/mPSL	Grade II	None	Alive (2 yr 2 months)	
14/1	10 yr	MUD (sib)	BM	BU/CY	CsA/MTX	Grade III	Limited	Alive (2 yr 2 months)	
16/1	11 yr	mMUD (sib)	BM	BU/TAI 3Gy/Flu/CY/ATG	FKc/MTX	None	None	Alive (2 yr 10 months)	
17/2	2 yr	mMFD (sib)	BM	Flu/Mel/TBI 3 Gy	FKc/MTX	Grade I	None	Alive (2 yr 10 months)	
18/1	7 yr	MUD (sib)	BM	Flu/Mel/TBI 3 Gy	FKc/MTX	None	Extensive	Alive (4 yr 7 months)	
19/3	15 yr	MUD (sib)	BM	Flu/Mel/TBI 3 Gy	FKc/MTX	None	None	Alive (2 yr 7 months)	

MSD, matched sibling donor; MUD, matched unrelated donor; mMFD, mismatched familial donor; mMUD, mismatched unrelated donor; PBSC, peripheral blood stem cells; BM, bone marrow; TBI, total body irradiation; CY, cyclophosphamide; BU, busulfan; ATG, anti-thymocyte globulin; VP, etoposide; Gy, gray; AraC, cytosine arabinoside; TAI, total abdominal irradiation; FK, tacrolimus; MTX, methotrexate; mPSL, mycophenolate mofetil; NE, not evaluated; HSCT, hematopoietic stem cell transplantation

XLP2 についての研究結果

XLP2 の症例に対して造血幹細胞移植を行った症例について国際調査を行い、19 症例を見いだした。このうち移植後現在まで生存しているのは 7 例 (36.8%) であった。これらの症例についての移植の有無と転帰は下記の通りである。

(i) 予後

患者	観察期間 (日)	前処置	転帰	死因
1	144	MAC	死亡	VOD, 肺出血
2	50	MAC	死亡	VOD, 多臓器不全
3	170	MAC	死亡	肺高血圧症
4	247	MAC	死亡	真菌感染症による肺塞栓
5	414	MAC	生存	

6	17	MAC	死亡	VOD, 肺出血
7	50	MAC	死亡	VOD, 多臓器不全
8	22	Intermediate	死亡	成人呼吸窮迫症候群
9	1765	RIC	生存	
10	285	RIC	死亡	敗血症
11	13	RIC	死亡	多臓器不全, 心不全
12	140	RIC	死亡	脳症
13	1057	RIC	生存	
14	149	RIC	生存	
15	125	RIC	死亡	呼吸不全
16	273	RIC	生存	
17	416	RIC	死亡	呼吸不全, 慢性GVHD
18	867	RIC	生存	
19	139	RIC	生存	

Intermediate: MAC と RIC の中間の強度の前処置、VOD: 肝中心静脈閉塞症、GVHD: 移植片対宿主病

(ii) 移植内容による内訳

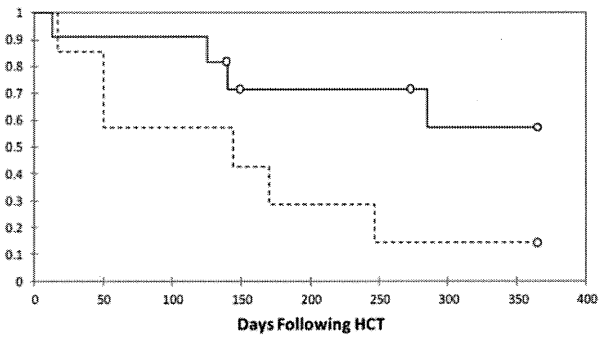
	生存	死亡	合計	
PBSC	1	2	3	P=0.01
BM	5	6	11	
Cord	1	4	5	
合計	7	12	19	
MSD	1	0	1	
MUD	6	4	10	
mMUD	0	8	8	
合計	7	12	19	
MAC	1	6	7	P=0.03
Intermediate	0	1	1	
RIC	6	5	11	
合計	7	11	19	

(iii) 移植前処置の詳細

MAC	BU/Mel/ATG	1
	BU/Cy/ATG/VP	2
	BU/Cy/ATG	3
	BU/Flu/ATG	1
Intermediate	TBI(6gy)/Flu/Cy/Mel(80mg/m ²)	1
RIC	Alem/Flu/Mel	10
	Alem/Flu/Treo/Thio	1

Alem: アレムツズマブ、Treo: トレオスルファン、Thio: チオテーパー

(iv) 生存曲線 (Kaplan-Meyer 法)



(iv) 症例についての詳細

Patient ID	Age at HCT	Donor	Sources	Conditioning regimen	Acute GVHD	Outcome	Cause of death
1	0.42	mMUD	Cord	Bu, Mel, ATG	-	Died	VOD, pulmonary hemorrhage
2	0.58	MUD	Cord	Bu, Cy, ATG, Etop	-	Died	VOD, MOF
3	1	mMUD	BM	Bu, Cy, ATG	II	Died	pulmonary hypertension
4	4	MUD	BM	Bu, Cy, ATG	III	Died	pulmonary hemorrhage
5	5	MUD	Cord	Bu, Flu, ATG	I	Alive	
6	10	MUD	BM	Bu, Cy, ATG	-	Died	VOD, pulmonary hemorrhage
7	14	mMUD	PBSCs	Bu, Cy, ATG, Etop	III	Died	GVHD, MOF
8	1	mMUD	Cord	TBI (6 Gy), Flu, Cy, Mel (80 mg/m ²)	-	Died	ARDS
9	0.4	MUD	BM	Alem, Flu, Mel	-	Alive	
10	0.98	mMUD	BM	Alem, Flu, Mel	→+ (DLI)	Died	sepsis
11	2	mMUD	BM	Alem, Flu, Mel	-	Died	MOF, asystole
12	3	mMUD	Cord	Alem, Flu, Mel	-	Died	encephalitis
13	3	MUD	BM	Alem, Flu, Mel	-	Alive	Alive
14	3	MUD	BM	Alem, Flu, Mel	-	Alive	Alive
15	4	MUD	PBSCs	Alem, Flu, Mel	-	Died	pneumonitis
16	7	MUD	PBSCs	Alem, Flu, Treo, Thio	-	Alive	Alive
17	9	mMUD	BM	Alem, Flu, Mel	I	Died	Pneumonia, GVHD
18	11	MUD	BM	Alem, Flu, Mel	-	Alive	Alive
19	19	MSD	BM	Alem, Flu, Mel	-	Alive	Alive