

図1 先天性代謝異常疾患に対する造血幹細胞移植

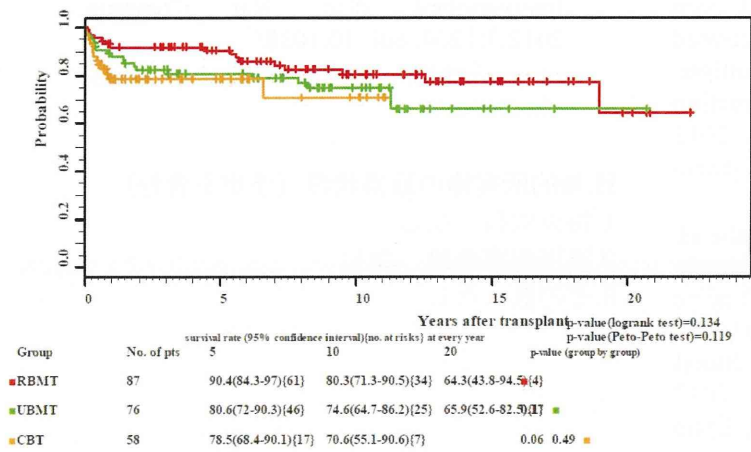


図2 移植種類別にみた全生存率(OS)

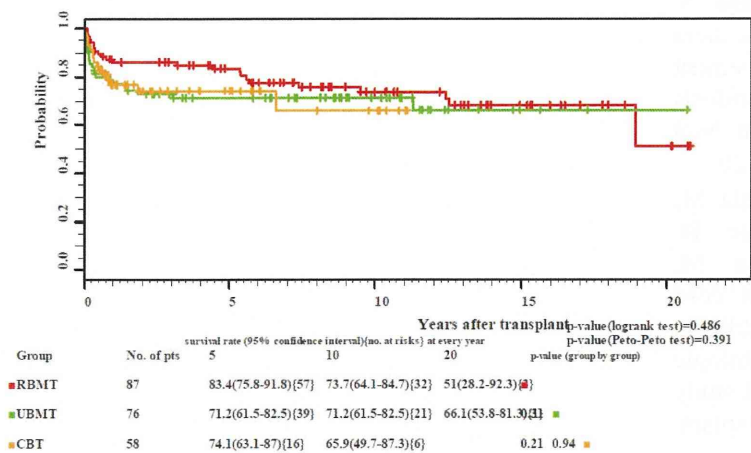


図3 移植種類別にみた無病生存率(DFS)

Hunter 病モデルマウスに対するレンチウイルスを使用した ex vivo gene therapy

研究分担者 小林博司¹⁾

研究協力者 大橋十也¹⁾, 若林太一²⁾

1) 東京慈恵会医科大学 DNA 医学研究所遺伝子治療研究部

2) 東京慈恵会医科大学小児科学講座

研究要旨

ライソゾーム病である Hunter 病のモデルマウスに対して、レンチウイルスベクターを使用した ex vivo gene therapy を行う。酵素発現した造血幹細胞が分化し各臓器に分布する事による治療効果を狙う。更には酵素補充療法や in vivo gene therapy のみでは十分な効果が得られない中枢神経系病変に対し、骨髄造血幹細胞がマイクログリア細胞に分化することでの治療効果を期待する。

A.研究目的

Hunter 病を含むライソゾーム病は近年酵素補充療法の開発により治療が行われるようになったが、定期的に酵素製剤の点滴を行う必要があることや酵素の中枢神経への移行の問題などが指摘されている。一方、単一遺伝病であるライソゾーム病は今後の新しい治療として、遺伝子治療が期待される分野である。Hurler 病や Pompe 病などのモデルマウスへの、レンチウイルスによる遺伝子治療(ex vivo therapy)が一定の効果を示している事が報告されている。しかし日本人に多い Hunter 病への同様な報告はなく、治療による病状の改善効果を明らかにする事は、今後の重要な課題である

B.研究方法

1. 組換えレンチウイルス

HIV 由来であり NEF,VIF などの副蛋白を除去し、IRES 配列を介してレポーター遺伝子として GFP を組込んだレンチウイルスベクターに MPSII の欠損酵素 IDS をクローニングし、組換えレンチウイルス

ベクタープラスミドを作成した。これにパッケージングプラスミド、エンベローププラスミドとともに大量培養した 293 T 細胞に対し Co transfection, 上清を超遠心により濃縮精製し組換えウイルスを作成。

2. 細胞培養

・実験に使用する 293A 細胞は 10%ウシ胎児血清と抗生物質とを加えた DMEM(D-10)培地を用いて、5%二酸化炭素の環境下において、37°Cで培養した。これに対し組換えウイルスを希釈を系列を作って感染させ、GFP および欠損酵素の力価を計測した。

・骨髄未熟細胞の感染時における培養においては DMEM(D-10)に 10%ウシ胎児血清と抗生物質を加え、更に stem cell factor である SCF, Flt-Ligand も加えた。一晩の感染の後に細胞を回収して治療に使用した。

3. 週齢 8 マウスへの投与:

週齢 8 の病気マウス大腿骨、脛骨より回収した骨髄細胞を lineage depletion kit を使用し未熟細胞のみとして作成した組換えウイルスを感染させる。一晩感染させた後に 10⁶ 個の骨髄未熟細胞を尾静脈よ

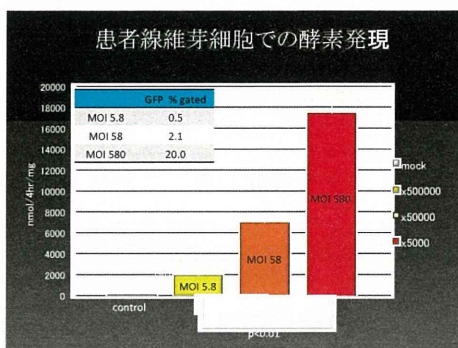
り注射する。24週間で臨床所見、病理、脳、肝臓などでの欠損酵素およびレポーター遺伝子発現を評価した。また蓄積物質であるグリコサミノグリカンの評価も行う。

(倫理面への配慮)

C.研究結果

第2世代レンチウイルスベクターに Hunter 病での欠損酵素である human iduronate-2-sulfatase の cDNA をクローニングし、患者線維芽細胞に感染させての酵素発現を in vitro にて確認した (図1)。

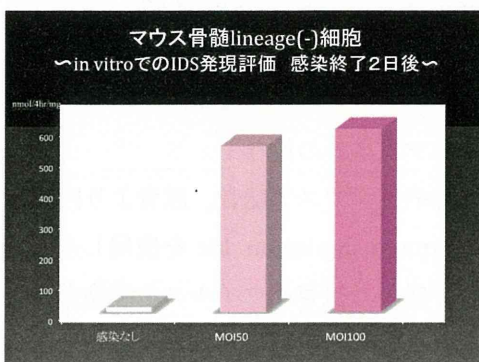
図1



次に、本研究のメインテーマである骨髄造血幹細胞を使用した ex vivo gene therapy を開始する為に、骨髄血の lineage(-)細胞の分離を行い、その細胞集団における in vitro での酵素発現も確認した(図2)。

今後は、感染させた骨髄 lineage(-)細胞を週齢8週のマウスに静脈注射し、6ヶ月後の酵素発現、基質の蓄積評価などを行っていく。

図2



D.考察

ex erapy により骨髄造血幹細胞が各種臓器の細胞系に分化していく事が既に示されている。6ヶ月後の治療評価では、特に中枢神経での酵素発現の上昇、それによる蓄積物質の低下が期待される。

E.結論

レンチウイルスベクターを用いた exo vivo gene therapy の有用性が MPSII においても明らかになりつつある。

F.健康危険情報

特記事項なし

G.研究発表

(発表雑誌名巻号・頁・発行年なども記入)

14. 論文発表

なし

2.学会発表

なし

H.知的所有権の取得状況 (予定を含む)

なし

大阪大学における造血細胞移植の経験、ALD における MRS の意義について

研究分担者 酒井 規夫

研究協力者 橋井 佳子

大阪大学大学院医学系研究科小児科学

研究要旨

大阪大学では今年度までに代謝疾患に対する造血細胞移植を 18 例に対し 19 回施行している。対象疾患は副腎白質ジストロフィー；4 例、ムコ多糖症 I 型；3 例、ムコ多糖症 II 型；4 例、クラッペ病；2 例、異染性白質ジストロフィー；3 例、I-cell 病；1 例（2 回）、GM1 ガングリオシドーシス；1 例の 18 例である。これらの移植成績についてまとめた。

また、副腎白質ジストロフィーの造血細胞移植の適応を決める為の検査として、MRS の意義について解析した。NAA/Cr ピークの低下していないことは当然であるが、Cho/Cr ピークの低いことが病状の進行スピードが遅いことの指標になる可能性があると考えられた。これは発端者のみならず、非発症者のフォローにおいて、移植のタイミングを検討するときの指標としても参考になる可能性がある。

A.研究目的

代謝疾患に対する治療法として、造血幹細胞移植の治療効果がどのようにあるか、後方視的に観察する事により明らかにする事を目的とする。特に副腎白質ジストロフィーの経過を画像で評価するために MRS の評価法について観察する事を検討した。

B.研究方法

大阪大学の小児科で先天代謝異常疾患に対して 1990 年以降造血細胞移植を行なった症例について、後方視的に解析を行なった。

特に副腎白質ジストロフィー（以下 ALD）の症例においては移植症例、非移植症例において、MRI, MRS 画像の解析を行ない、MRS の NAA/Cr, Cho/Cr のピーク比の経過を解析し、臨床経過と比較した。

C.研究結果

造血細胞移植症例の疾患分類は下記の通りであった。

副腎白質ジストロフィー；4 例

ムコ多糖症 I 型；3 例

ムコ多糖症 II 型；4 例

クラッペ病；2 例

異染性白質ジストロフィー；3 例

I-cell 病；1 例（2 回）

GM1 ガングリオシドーシス；1 例

また生着した症例は、19 回の移植中 16 回であった。移植関連死亡は、2 例（PTLD, GVHD）であった。

疾患の自然経過に明らかに良好な影響を与えている症例は、下記の通りである。

副腎白質ジストロフィー；1 例／4 例

ムコ多糖症 I 型；2 例／3 例

ムコ多糖症 II 型；2 例／4 例

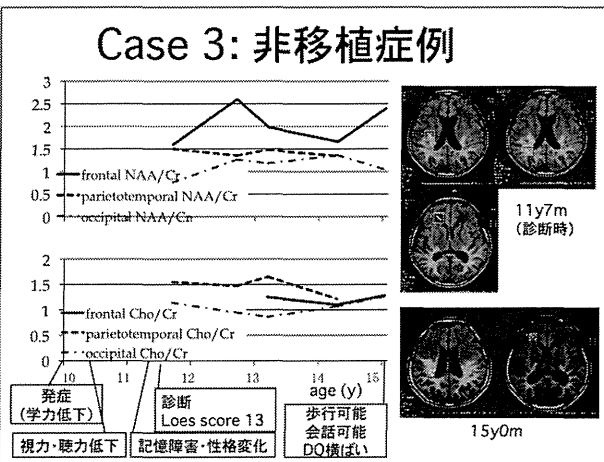
クラッペ病；2例/2例

異染性白質ジストロフィー；2例/3例

経過が自然経過と比較して良好であると判断できない症例は、移植時期が遅くすでに進行していた、もしくは移植した時期の進行スピードが早く、移植後本当の効果がでてくる1年後までに、進行してしまった症例が含まれる。

ALDの比較的長期にMRSの経過を見た症例5例について比較したものが表であり、その中で症例3は、診断時に病変の広がり広範であり移植を断念したが、その後の経過が安定している症例の結果である。

	MRS (occipital)		発症年齢	診断年齢	発症～慢性臥床までの期間	Loes score	診断時DQ FIQ/VIQ/PIQ	移植
	NAA/Cr	Cho/Cr						
Case 1	0.84	2.62	7y11m	8y1m	1y2m	11	-/100/-	(+)→生着
Case 3	0.76	1.14	10y0m	11y8m	-	12	58/68/55	(-)
Case 5	1.16	2.00	7y11m	8y6m	1y0m	8	80/101/61	(+)→拒絶
Case 6	0.79	2.47	6y11m	7y5m	1y2m	14	65/86/50	(-)
Case 7	0.65	2.98	7y7m	7y10m	3m	10	76/99/55	(-)



D. 考察

先天性代謝疾患に対する造血細胞移植は、対象と考えられている疾患につき、適応のある時期に速やかに施行することが望ましいと考えられる。ALD、クラッペ病、異染性白質ジストロフィーな

ど白質ジストロフィーに対する有効性はあると考えられているが、ALDの発症年齢の早い症例、進行スピードが早い症例においては、その有効性は少ない。いかに発症早期の症例で且つ病状進行のスピードが遅い時期であることを発見するかが問題と言える。

Gd造影が今病変が進行していることを目安として使用されてきたが、定量性がない。今回のMRSの解析により、NAA/Crが低値でCho/Crも低値の場合、ALDの神経炎症が弱いと考えられ、移植の適応を考える時に参考になると考えられる。

E. 結論

代謝疾患7疾患に対し、造血細胞移植を施行したが、いずれも施行時期を検討すれば有効性がえられる疾患と考えられた。

特にALDの白質病変の進行スピードを評価するのにGd造影以外に、MRSのデータが参考になる可能性があると考えられる。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

15. 論文発表

- 1) Miyoshi Y, Sakai N, Hamada Y, Tachibana M, Hasegawa Y, Kiyohara Y, Yamada H, Murakami M, Kondou H, Kimura-Ohba S, Mine J, Sato T, Kamio N, Ueda H, Suzuki Y, Shiomi M, Ohta H, Shimosawa N, Ozono K., Clinical aspects and adrenal functions in eleven Japanese children with X-linked adrenoleukodystrophy., *Endocr J.* 57(11): 965-72, 2010
- 2) Tanaka A, Okuyama T, Suzuki Y, Sakai N, Takakura H, Sawada T, Tanaka T, Otomo T, Ohashi T, Ishige-Wada M, Yabe H, Ohura T, Suzuki N, Kato K, Adachi S, Kobayashi R, Mugishima H, Kato S.,

Long-term efficacy of hematopoietic stem cell transplantation on brain involvement in patients with mucopolysaccharidosis type II: A nationwide survey in Japan., *Mol Genet Metab.* 107(3):513-20,2012

3) Tokushige SI, Sonoo T, Maekawa R, Shirota Y, Hanajima R, Terao Y, Matsumoto H, Hossain MA, Sakai N, Shiio Y., Isolated pyramidal tract impairment in the central nervous system of adult-onset Krabbe disease with novel mutations in the GALC gene., *Brain Dev.* 2012 Sep 5. [Epub ahead of print]

2.学会発表

- 1) 酒井規夫、造血幹細胞移植（代謝専門医の立場から）、第1回 先天代謝異常症患者会フォーラム、2012. 8
- 2) 酒井規夫、ファブリー病と遺伝カウンセリング-遺伝カウンセリングとライフプラン、日本遺伝

カウンセリング学会,2012.5

3) MOHAMMAD ARIF HOSSAIN, Takanobu Otomo, Yusuke Hamada, Michiko Shinpo, Motohiro Akagi, Keiichi Ozono, Norio Sakai, The late-onset mutant protein of GALC shows effective processing, 第54回日本先天代謝異常学会、2012.11

H.知的所有権の取得状況（予定を含む）

1.特許取得

なし

2.実用新案登録

なし

3.その他

なし

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）
 先天代謝異常症に対する移植療法の確立とガイドラインの作成に関する研究
 分担研究報告書

肝移植による先天代謝異常症の治療に関する研究

研究分担者 新開 真人¹⁾

研究協力者 大浜用克¹⁾，武 浩志¹⁾，北河徳彦¹⁾，望月響子¹⁾，安達昌功²⁾，森永聡一郎³⁾

- 1) 神奈川県立こども医療センター外科，2) 神奈川県立こども医療センター内分泌代謝科
 3) 神奈川県立がんセンター肝胆膵外科

研究要旨

先天性代謝異常症 6 例の小児（4 ヶ月～18 歳）に対して二施設協同で生体肝移植を実施した。糖原病や有機酸代謝異常、尿素回路異常症など原疾患により、また同一疾患でも症例により効果に異同はあったが、5 例が長期生存しており、いずれも著しい QOL の改善が得られた。全国的な症例の集積と長期フォローアップ結果の解析により、先天性代謝疾患に対する肝移植の適応、至適時期、術後管理法、長期成績があきらかになると考える。

症例	原疾患	発症年齢	診断年齢	移植前状態	移植時年齢	ドナー続柄	血液型	現状	経過年数
1	GSD Ib	0 ヶ月	5 ヶ月	持続注入、G-CSF	18.5 歳	兄	A→A	制限なし、薬なし、就職	13 年
2	GSD Ib	1 ヶ月	3 ヶ月	持続注入、G-CSF	2.6 歳	母	B→B	G-CSF 通学中	9 年
3	MMA	0 ヶ月	0 ヶ月	特殊ミルク、蛋白制限、薬物療法	4 ヶ月	母	A→O	軽度の蛋白制限、薬物療法、通学中	11 年
4	PA	0 ヶ月	0 ヶ月	特殊ミルク、蛋白制限、薬物療法	6 ヶ月	父	AB→AB	蛋白制限、薬物療法、虚血性胆管障害	再移植で死亡
5	Citrullinemia	0 ヶ月	0 ヶ月	蛋白制限	1 歳	母	A→A	制限なし、通学中	9.5 年
6	OTCD	2.2 歳	2.3 歳	特殊ミルク、蛋白制限	2.6 歳	父	A→A	制限なし、通学中、肥満傾向	8.5 年

A.研究目的

先天性代謝異常症のうち酵素欠損ないし活性低下の首座が肝臓にある疾患に対しては肝臓移植の効果が期待される。事実さまざまな疾患に対して移植が行われ治療効果が報告されている。しかし、疾患別の至適移植時期や長期的治療効果についての詳細な解析は行われていない。とくに保因者がドナーとなる可能性の高い生体肝移植については未解明である。当院での経験例をまとめ、

とくに肝移植の効果について議論のあるメチルマロン酸血症の症例について提示する。

B.研究方法

1995 年 1 月から 2012 年 12 月までに神奈川県立こども医療センターとがんセンターが協同で実施した生体部分肝移植 60 回 59 例のうち、原疾患が先天性代謝異常症であった症例は 6 例であった。移植にあたっては「日本移植学会倫理指針」「生

体肝移植ガイドライン」を遵守し、神奈川県立こども医療センター倫理委員会の承認を得た。

C. 研究結果

性別は男児 2 名、女子 4 名で、原疾患は糖原病 I b 型が 2 例、メチルマロン酸血症(MMA)、プロピオン酸血症(PA)、オルニチントランスカルバミラーゼ欠損症、シトルリン血症が各 1 例であった。移植時年齢は生後 4 ヶ月から 18.5 ヶ月である。全例とも移植前には病状に応じて嚴重な食事療法や薬物療法を施行していたが、metabolic crisis や低血糖発作などが避けられず移植適応となった。生体ドナーは母親 3 例、父親 2 例、実兄 1 例である。最終フォローアップ時点で 5 例が生存しており、1 例が死亡した。生存例は全例ほぼ健常児と変わらぬ日常生活を送っており、代謝不全のエピソードは全く認めない。成長発育も良好である。しかし糖原病 Ib の 1 例で白血球減少症が持続するため G-CSF の定期注射を継続しており、また、MMA 症例は L-カルニチンやビオチンの内服と軽度の蛋白制限を行っている。死亡例は PA の 1 例で虚血性胆管障害に引き続いた胆汁うっ滞性肝硬変に対する再移植後に死亡した。

症例 (MMA)

出生後まもなく哺乳不良、頻呼吸、体重減少にて発症。著しい代謝性アシドーシス、高アンモニア血症、尿中有機酸高値から MMA と診断した。遺伝子変異は N219Y であり、プロピオン酸固定化反応は低下していた (正常の 3.6%)。ただちに人工呼吸管理、腹膜透析、栄養療法、薬物療法をおこなって、病状を安定化させたが、成長発育は不良で代謝不全徴候をしばしば認めたので、生後 4 ヶ月時に母親をドナーとする生体部分肝移植を行った。血液型は不適合 (A→O)、グラフトは肝左葉外側区域 (グラフト体重比 2.4%) を用いた。術式の工夫として門脈再建時に一時的な porto-systemic shunt を造設し、閉腹は二期的に行った。術後は外科的な合併症はなかったが、栄

養制限によるとおもわれる脂肪肝や免疫抑制剤による尿細管性アシドーシスを認めたが、次第に改善した。良好な肝機能の下でも尿中 MMA 濃度は正常化しなかったが、自然蛋白摂取量を増量することができた。経口摂取が順調に進めたため、胃瘻造設は不要であった。四肢の運動機能も良好で、現在は普通学校通学中である。成長発育が -2.5 SD から -0.5~+1 SD に改善した。経過中にインフルエンザウイルス感染などで再入院したが、metabolic crisis は一度もなかった。なお母親も同じ遺伝子変異を認めており活性は 24.7%であった。現在 11 年経過し、良好な経過であるが、軽度の肝線維化とシスタチン C、尿酸の軽度上昇を認めた。

D. 考察

先天性代謝異常症のうち、酵素欠損ないし活性低下の首座が肝臓にある疾患に対しては肝臓移植の効果が期待される。尿素回路異常症など異常が肝臓に限局している場合は、肝移植は根治的な治療となる。しかし、MMA などのように肝以外の臓器にも酵素異常が見られる疾患の場合には、その効果には賛否両論がある。移植術後合併症 (感染症、代謝不全、膵炎など) の多さや、移植後も持続する中枢神経系の代謝異常が明らかになるにつれ、MMA に対する肝移植は限定的な意義しかないという見方もある。しかし、本症例のように、栄養制限の緩和と成長発育の改善、代謝不全の頻度の減少、社会活動可能になるなど著しい QOL の改善効果が得られることから、根治性はない場合でも肝移植の意義は少なくないと考えられる。とくに生体肝移植では術前の全身管理を十分行って、代謝上コントロール良好な時期を狙って計画的に移植を実施できるという利点がある。ただ生体ドナーの場合、保因者である可能性が高いので、脳死ドナート比べて短期的、長期的な成績が問題となる。全国的な症例の集積と長期フォローアップ結果の解析により、先天性代謝疾患に対する肝移植の適応、至適時期、術後管理法、

長期成績があきらかになると考える。

E. 結論

先天性代謝疾患に対する生体肝移植は、原疾患や症例によりその効果に相違や限界があるものの、短期的にも長期的にも著しい QOL の改善をもたらす。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

(発表雑誌名巻号・頁・発行年なども記入)

1. 論文発表

2. 学会発表

1. 新開真人、大浜用克、武 浩志、北河徳彦、望月響子、湊 雅嗣、大澤絵都子、浅野史雄、臼井秀仁、田中水緒、田中祐吉：胆管空腸吻合部狭窄治療後のステロイド抵抗性急性拒絶反応に対してラパマイシンを使用した症例。第7回小児生体肝移植懇話会、平成24年6月13日、福岡

2. 新開真人、大浜用克、武 浩志、北河徳彦、望月響子、湊 雅嗣、大澤絵都子、浅野史雄、臼井秀仁、林 拓也、森永聡一郎：抗血液型抗体高値(1024x)の胆道閉鎖症乳児例にABO血液型不適合生体肝移植を行った1例。第30回日本肝移植研究会、平成24年6月14~15日、福岡

3. 新開真人、北河徳彦、望月響子、湊 雅嗣、大澤絵都子、浅野史雄、臼井秀仁、後藤裕明、気賀沢寿人、相田典子、森永聡一郎：切除不能肝芽腫に対する生体肝移植の意義と課題 -当院2例の経験から- 第48回日本移植学会総会、平成24年9月21~22日、名古屋

4. Masato Shinkai, Youkatsu Ohhama, Shogo Fujita, Hiroshi Take, Norihiko Kitagawa, Kyoko Mochizuki, Masashi Minato, Etsuko Osawa, Fumio Asano, Hidehito Usui, Soichiro Morinaga: Biliary complications associated with stent-free biliary reconstruction in a

two-center collaborating program of living donor liver transplantation. IPTA regional educational meeting. 2012/9/23, Nagoya

H. 知的所有権の取得状況 (予定を含む)

1. 特許取得
2. 実用新案登録
3. その他

ムコ多糖症 II 型における造血幹細胞移植の中樞神経への効果：酵素補充療法との比較

研究分担者 田中あけみ

研究協力者 濱崎考史

大阪市立大学大学院医学研究科 発達小児医学

研究要旨

ムコ多糖症 II 型の中樞神経障害に対する効果を造血幹細胞移植と酵素補充療法とで比較した。造血幹細胞移植群と酵素補充療法群のそれぞれの症例について発達年齢の経過を分析した。造血幹細胞移植群の症例においては、知的発達の遅れが明らかになる以前の早期に移植を行えば、歴年齢が進むにつれ発達年齢も徐々に上がって行き、中樞神経障害の進行を緩徐にすることが示された。しかしながら、酵素補充療法群の症例では、早期に治療を行った場合においても歴年齢が進むにつれ発達年齢は下がっていき、中樞神経障害の進行を食い止めることはできないことが示された。

A.研究目的

ムコ多糖症 II 型は、日本において最も多い先天性代謝異常症の一つである。1980 年代より、日本では造血幹細胞移植 (HSCT) による治療が行われて来ているが、欧米では否定的な見解である。2007 年、日本においてムコ多糖症 II 型の酵素治療製剤が承認され、酵素補充療法 (ERT) が広く行われるようになってきているものの、高額な医療費を必要とし毎週の点滴治療が必要である。さらに、中樞神経障害に対する効果は示されていない。そこで、今までに HSCT が行われたムコ多糖症 II 型症例について知的障害の臨床経過を調査し、現在 ERT が行われている症例の臨床経過と比較することにより、HSCT の中樞神経への効果を評価することを目的とする。さらに、この結果を基にムコ多糖症 II 型に対する HSCT の適応ガイドラインの作成を目的とする。

B.研究方法

1990 年から 2003 年に HSCT を受けたムコ多糖症 II 型について全国調査を行い、26 例について臨床経過を追跡した。うち、重症型の 14 例について神経症状への効果を評価した。他方、大阪

市立大学でフォロー中の HSCT を受けたムコ多糖症 II 型患者 5 名と酵素補充療法 (ERT) 中の患者 8 名のデータを加えて、HSCT と ERT との中樞神経に対する効果を比較した。

移植に至るまでの神経症状の進行度を基に、ムコ多糖症 II 型重症型患者をタイプ C とタイプ D の 2 群に分けた。タイプ C はより軽症で 3 歳以降に知的障害が明らかになる群、タイプ D は 2 歳頃までに発達の遅れが明らかである群である。全国調査における症例の内訳は、タイプ C、タイプ D それぞれ 7 例ずつで、大阪市立大学の症例は、HSCT 群はタイプ C が 3 例、タイプ D が 2 例で、ERT 群はタイプ C が 3 例、タイプ D が 5 例である。それぞれの症例において IQ/DQ の検査値を収集し、歴年齢と発達年齢の経過を求めた。

(倫理面への配慮)

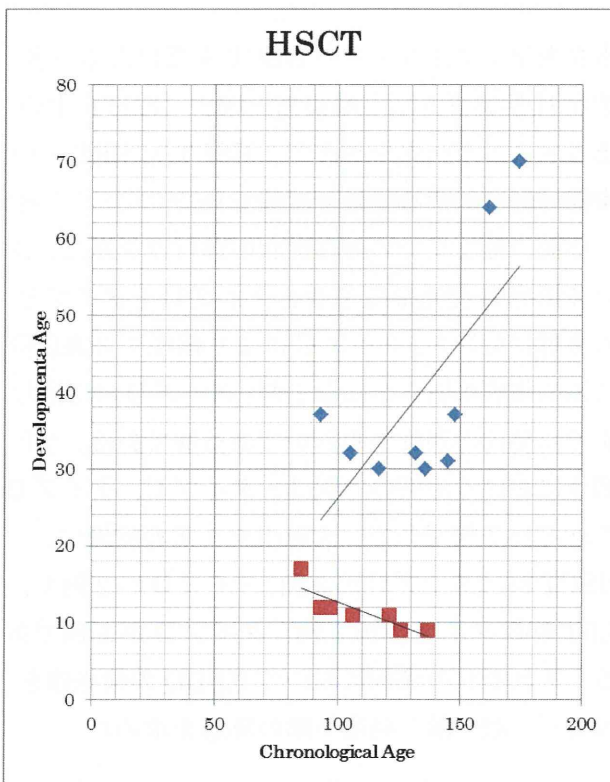
症例は連結可能な匿名化を行った。

C.研究結果

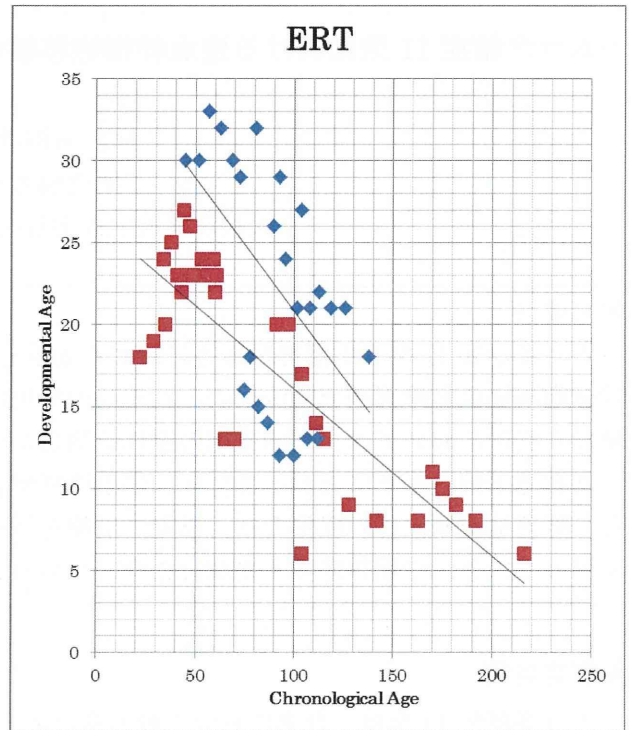
大阪市立大学の症例において、歴年齢と発達年齢の経過を検討した。HSCT 群のタイプ C では右肩上がりで歴年齢とともに発達年齢も進んだが、

タイプ D で右肩下がりであった。これに対し、ERT 群ではタイプ C、タイプ D 共に右肩下がりになり歴年齢が進むに従い発達年齢の低下を認めた(図 2)。全国調査の HSCT を受けた症例と大阪市立大学の HSCT 症例とを統合したデータにおいては、タイプ C、タイプ D 共に右肩上がりの発達を認めた(図 3)。タイプ D の HSCT 群は、大阪市立大学の症例のほうが全国症例より移植年齢が高かった。タイプ D においても、5 歳を過ぎて移植を受けた症例では右肩下がりであったものの、2 歳前後の早期に移植した症例では右肩上がりとなっていた(図 4)。

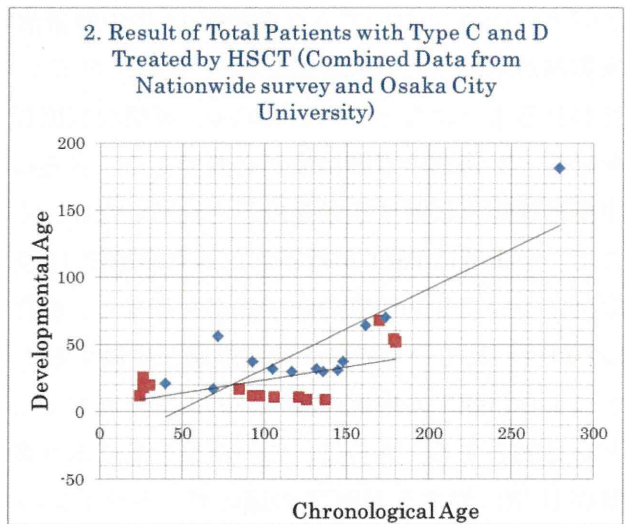
(図 1) 大阪市立大学の HSCT 症例における知的発達の経過



(図 2) 大阪市立大学の ERT 症例における知的発達の経過



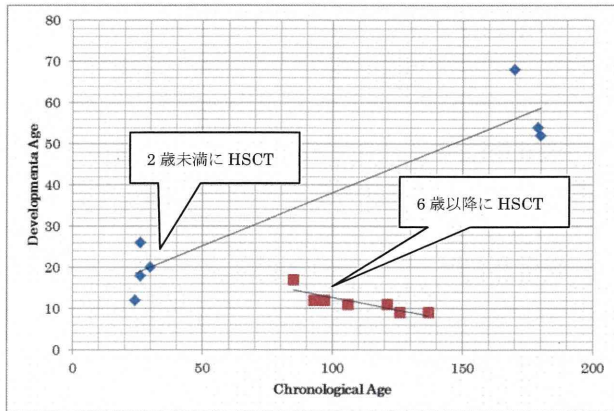
(図 3) 全国調査と大阪市立大学とを統合した HSCH 症例の知的発達の経過



◆ Type C

■ Type D

(図4) タイプDにおけるHSCTを行った年齢と知的発達の経過



D. 考察

大阪市立大学のタイプDのHSCT症例の知的障害に対する効果が悪いのは、移植年齢が高いためと推測される。

無治療患者のデータを得ることができないため、ERTが真に中枢神経への効果が全くないのかどうかの判断はできない。今後もHSCT症例およびERT症例のデータを継続して収集することにより、より信頼性のあるデータを得る必要がある。

E. 結論

ムコ多糖症II型重症型に対するHSCTの中枢神経への効果は、タイプCにおいて認められた。タイプDであっても、低年齢で移植した症例では効果が認められた。このことから、発達の遅れが明らかになる以前に移植を行えば、中枢神経障害を緩和できると思われた。これに対し、ERTはいずれの場合においても退行が進行し、早期に治療を始めても中枢神経に対する効果は期待できないと結論された。HSCTは生活上も経済上も多くの利点があることから、適応ガイドラインを早急に確立していく必要があると考えられた。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

16. 論文発表

- 1) Tanaka A, Okuyama T, Suzuki Y, Sakai N, Takakura H, Sawada T, Tanaka T, Otomo T, Ohashi T, Ishige-Wada M, Yabe H, Ohura T, Suzuki N, Kato K, Adachi S, Kobayashi R, Mugishima H, Kato S, Long-term efficacy of hematopoietic stem cell transplantation on brain involvement in patients with mucopolysaccharidosis type II: A nationwide survey in Japan. *Mol. Genet. Metab.* 107:513-20, 2012

2. 学会発表

- 1) Tanaka A, Okuyama T, Suzuki Y, Sakai N, Takakura H, Sawada T, Tanaka T, Otomo T, Ohashi T, Wada M, Yabe H, Ohura T, Suzuki N, Kato K, Adachi S, Kobayashi R, Mugishima H, Kato S. Stabilization of Symptoms and Activity of Daily Living (ADL) in the Patients with Mucopolysaccharidosis Type II Received Hematopoietic Stem Cell Transplantation. 12th International Symposium on MPS and Related Diseases, Jun 28-Jul 1, 2012 (Noordwijkerhout, The Netherlands)

H. 知的所有権の取得状況 (予定を含む)

なし。

先天代謝異常症の造血細胞移植症例の登録に関する研究

研究分担者 田淵 健 都立駒込病院 小児科

研究要旨

先天性代謝異常症の造血幹細胞移植症例の移植後経過を検討するために、日本造血細胞移植学会の造血細胞移植登録一元管理システム(TRUMP)から対象症例の提供を受けた。TRUMPは、2006年稼働したもので、歴史が浅く、データベースの完全性が十分には確保されていないため、疾患をキーワードにして抽出すると、症例の過不足が生じる。このため、小児血液学会の造血細胞移植学会で管理されてきたデータベース(1983～2005年)と照合作業を行い、その過不足を修正した。また、先天性代謝異常症の移植後重大イベントである生着不全とその最大の対策である再移植を把握するために、複数回移植症例の同定作業を行った。移植後の疾患特異的評価を検討するために、二次調査票を症例毎に作成し、二次調査を開始した。

A.研究目的

先天代謝異常症の根本的な治療の一つに造血幹細胞移植がある。本研究の最大の目的は、先天性代謝異常症に対する造血幹細胞移植の効果を疾患特異的な面から評価することである。

現在、日本国内で行われた造血幹細胞移植は、日本造血細胞移植学会が、造血細胞移植登録一元管理システムTRUMPにより、一元的に登録している。この登録システムは、2006年から稼働したものである。それ以前には、日本小児血液学会、日本造血細胞移植学会、骨髄移植推進財団、日本さい帯血バンクネットワークがそれぞれ独自様式で、それぞれの分野の造血幹細胞移植登録を行ってきたため、重複登録が多く、漏れも少なからず認められ、また同じ症例の登録内容が登録間で内容が異なるというものも散見された。先天性代謝異常症の診療は、小児科で行われることが多く、造血幹細胞移植も殆ど小児科で行われている。小児血液学会の造血幹細胞移植登録は、1983年から行われてきており、先天性代謝異常症に対する造血幹細胞移植データは、その黎明期からほぼ網羅的に取り扱うことが可能である。これらのTRUMP以前の「過去データ」は、TRUMPに取り込まれたため、理論上はTRUMPのデータのみを扱えば、全ての造血幹細胞移植データの症例を把握できるはずである。TRUMPシステムは一元化に大きな功績を果たしたが、今なお、いくつかの問題が残されている。第一に、過去の複数の登録システムに登録されたデータの集約作業のプロセスで、採用されなかった項目情報があること、第二に、個人識別情報の制約から複数回移植症例の同一患者か否かの同定作業が不十分であることであること、第三に移植登録項目に先天性代謝異常症の様な稀少疾患特有の項目が殆ど見られず、移植登録データだけでは、移植の効果を判定できないこと、第四にこれらの修正を機動的に行いうるシステムに

はなっていないこと、などである。

そこで、本分担研究の本年度の研究の具体的な目標は、TRUMPに登録されたデータに加えて小児血液学会でTRUMP移行前の2005年以前の登録データを加えることで、先天性代謝異常症の造血幹細胞移植症例の同定を行い、2010年までに行われた先天性代謝異常症に対するより完全な造血幹細胞移植データベースを構築し、それに基づき、移植後の疾患特異的な評価に関する二次調査票を作成し、二次調査を実施することである。

B.研究方法

日本造血細胞移植学会データセンター(名古屋大学)から、TRUMPで管理されている造血幹細胞移植症例のうち、2010年までに造血幹細胞移植が行われ、主疾患名が「先天性代謝異常症」と登録されている全ての症例の個人識別情報を除く全項目の移植情報の提供を受けた。上述の様にTRUMPの経緯から、登録データに不適切な症例が含まれている可能性、不足症例(提供された症例に含まれない症例)が存在する可能性があるため、日本小児血液学会造血細胞移植委員会事務局(神奈川県立こども医療センター)で管理されている小児造血幹細胞移植登録データを照合した。

次に、登録された項目情報を比較して、複数回移植症例の同定を行った。これに、研究班会議での情報提供を加えて、二次調査対象を固定した。二次調査票の調査項目に関しては、他の分担研究者が策定した項目の提供を受け、二次調査に必要な症例情報の書き込み作業を行った。二次調査は、先天性代謝異常症の評価項目のほか、TRUMP登録情報の確認作業も行っている。

本年度は、データ提供と研究利用にかかる倫理審査手続きを行い、その後二次対象症例の同定、各症例毎の二次調査票の作成、二次調査票の各施設への送付までを行った。

(倫理面への配慮)

TRUMP データの提供に当たり、日本造血細胞移植学会造血細胞移植登録一元管理委員会にデータ提供を申請し、臨床研究倫理審査を受けた。更に本研究の主任研究員所属の東海大学医学部附属病院の倫理委員会の承認を受けた。データ管理は、本分担研究者が所属する東京都立駒込病院データセンター内で行っている。駒込病院の個人情報管理の指針に従い、厳格な安全管理を行っている。二次調査票には、個人識別情報は含まれていないものの、暗号化を施した。

C.研究結果

TRUMP から提供された主疾患名が「先天性代謝異常症」とされた移植は248件であった。また、小児造血幹細胞移植登録に登録されていた先天性代謝異常症の移植は、175 件であった。以下の件数は、本項執筆時点までの作業で同定されたものであり、二次調査の結果次第で修正があり得る。

TRUMP に先天性代謝異常症としては登録されていない移植を 21 件見いだした(提供件数に対して 8.5%)。一方、TRUMP から提供された症例で、今回の対象としなかった移植は、22 件(提供件数の 8.9%)である。そのうち、12 件は大理石病に対する移植であるが、残り 10 件は、先天性代謝異常症ではないものであった(7 件は原発性免疫不全症、3 件は成人の疾患)。本研究の対象となった移植は、差し引き 247 件である。

先天性代謝異常症に対する造血細胞移植を行った施設は 53 施設で、そのうち本疾患の移植件数別施設分布は、1~4 件が 43 施設(78 移植)、4~9 件が 5 施設(32 移植)、10 件以上も 5 施設(137 移植)であった。先天性代謝異常症の造血幹細胞移植は移植件数上位 4 施設で過半数の移植を行っており、移植施設が集中する傾向にある。

患者集約作業により、患者数としては 225 名と同定した。20 名は複数回移植を受け、2 名は 3 回移植を受けている。対象の疾患を患者ベースで見ると、副腎白質ジストロフィー 84 症例、異染性白質ジストロフィー 12 症例、ムコ多糖症 95 症例(内ムコ多糖症 I 型 21、ムコ多糖症 II 型 57、ムコ多糖症 IV 型 5、ムコ多糖症 VI 型 5)、クラッペ病 7 症例などである。

移植種類別では、血縁者間骨髄移植が 92 件(内同胞間 75 件)、非血縁者間骨髄移植 83 件、臍帯血移植 66 件(内非血縁者間 63 件)、血縁者間末梢血幹細胞を含む移植 5 件(内同胞間 4 件)、自家骨髄移植 1 件(拒絶後)であった。

生着不全(拒絶=二次生着不全を含む)は、48 件見られた。初回移植後の生着不全は 45 件(20.0%)であり、その内 20 件が再移植を受けている。2 目移植後の生着不全は 3 件中 2 件が再々移植を受けている。

初回移植後の生着不全率および再移植率はそれぞれ、血縁者間骨髄移植 15.9%、6.0%、非血縁者間骨髄移植 14.5%、5.7%、臍帯血移植 32.2%、15.2%であり、Fisher 検定で、臍帯血移植の生着不全率および再移植率が有意に高かった($p < 0.05$)。再移植に用いられる移植種類は、臍帯血が用いられる傾向が高かった。

D.考察

TRUMP の主疾患名が先天性代謝異常症であるデータに含まれずに、小児移植登録から判明した移植が 8.5%、逆に TRUMP で先天性代謝異常症に含まれているのに、実際には異なる疾患であるものが、4%含まれていたという事実は、TRUMP 一元化作業の過程で、複数の登録システム間の照合作業がきわめて困難な作業であったかを示唆する。一般に、重複する症例が含まれた複数の医療データシステムの統合や参照において、当該データベースの各項目が有効に利用されるためには、単純に症例毎の取捨選択ではなく、同じ症例の項目毎に取捨選択を行う手法の開発が望まれる。

また、データベースの照合作業は、現在は、個人情報保護の観点から、一部の顕名の取り扱いが認められているがん登録などのデータベースを除き、個人識別情報が除去したデータベースで行う必要があり、照合作業を完全な形で行うことは困難である。しかし、稀少疾患の場合、照合が適切に行われていないと、間違った結論を導き出されて、研究の妥当性の問題にとどまらず、患者さんへの還元という側面でも不利益をもたらす可能性がある。このためには、単に照合技術の側面にとどまらず、医療データベースにおける適切な個人識別情報のあり方を議論すべきと考える。

E.結論

日本で行われた先天性代謝異常症の造血幹細胞移植のより正確なデータベースを作成し、これを台帳として、疾患特異的な情報収集するための二次調査票を作成し、二次調査の準備を行った。

F.健康危険情報 (なし)

G.研究発表 別表 4

(発表雑誌名巻号・頁・発行年なども記入)

17. 論文発表

2. 学会発表

H.知的所有権の取得状況 (予定を含む)

- 1.特許取得 なし
- 2.実用新案登録 なし
- 3.その他 なし

成人大脳型副腎白質ジストロフィーに対する造血幹細胞移植の臨床的効果の検討

研究分担者 辻 省次¹⁾

研究協力者 松川 敬志¹⁾, 山本 知孝¹⁾, 熊野 恵城²⁾, 市川 幹²⁾, 高橋 祐二¹⁾, 石浦 浩之¹⁾,
三井 純¹⁾, 後藤 順¹⁾, 黒川 峰夫²⁾

1) 東京大学医学部附属病院神経内科, 2) 東京大学医学部附属病院血液・腫瘍内科

研究要旨

副腎白質ジストロフィー (ALD) の小児大脳型 ALD に対する造血幹細胞移植 (HSCT) の有効性は確立されているが、成人大脳型 ALD に対する HSCT の有効性は確立されていない。成人大脳型 ALD に対して、HSCT の治療効果について検討した。

A. 研究目的

小児大脳型 ALD においては HSCT を早期に実施することが、唯一の長期的に有効な治療法とされているが、成人大脳型 ALD に対する HSCT の報告は 2 症例に留まっており、その有効性は十分に確立されていない。成人大脳型 ALD に対する HSCT を実施し、その臨床効果の検討を行った。

B. 研究方法

症例は 35 歳男性。30 歳時より両下肢痙性を進行性に認めた。35 歳時脳 MRI 上造影効果を伴う両側側頭葉白質病変を認め、病変の拡大を認めた。AMN から成人大脳型への移行と考えられ、大脳病変出現 11 ヶ月後に HLA 完全一致非血縁者間 HSCT を施行。治療・評価プロトコールを作成し、HSCT 前後の評価(神経所見, 認知機能検査, ADL 評価, 血液学的検査, 画像検査, 電気生理検査)を行った。

(倫理面への配慮)

事前に当院における倫理委員会の承認を得た。造血幹細胞移植に関して、ご本人、ご家族に対する十分な説明、同意の上で行った。

C. 研究結果

HSCT 後 1 年の経過で臨床経過は安定しており、

脳 MRI 上病変の拡大はなく、造影効果も徐々に消失。HSCT 後、血漿 sphingomyelin 中の極長鎖飽和脂肪酸の低下を認める。

D. 考察

成人大脳型 ALD に対する HSCT 実施例としてこれまでに報告されている 2 症例と比較して、早期の大脳病変出現の診断が可能であったため、発症早期に HSCT を施行することができ、造血幹細胞移植の結果も良好であった。

E. 結論

成人大脳型 ALD に対する HSCT は有効と考えられた。今後思春期/成人大脳型 ALD に対する HSCT の有効性を確認するには症例の前向き経過観察と早期の大脳病変の診断が重要である。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表 なし

2. 学会発表

第 53 回神経学会学術大会 (2012) 口演
Matsukawa T, Yamamoto T, Seo S, *et al.*
Hematopoietic stem cell transplantation for adolescent and adult onset cerebral adrenoleukodystrophy. Annual Meeting of

American Society of Human Genetics 2012

H.知的所有権の取得状況（予定を含む）

1.特許取得 なし

2.実用新案登録 なし

3.その他 なし

ムコ多糖症に対する造血細胞移植の検討

研究分担者 麦島 秀雄 日本大学医学部小児科学系小児科学分野 教授

研究要旨

日本大学医学部附属板橋病院で造血幹細胞移植を行ったムコ多糖症 II 型の患者 12 例について、移植時期、ドナー分類と HLA 一致度、前処置、生着および拒絶、GVHD など合併症、治療効果について、診療録から後方視的に検討した。長期生着した 5 例では中枢神経症状の進展阻止を含めた一定の効果が認められ、ムコ多糖症 II 型に対する造血幹細胞移植は長期にわたり有効と考えられた。

A.目的

ムコ多糖症 (MPS) は、細胞内小器官であるライソソーム内の加水分解酵素が先天的に欠損し、分解されない基質が全身の細胞内に蓄積することにより、徐々に症状があらわれ死に至る予後不良の先天代謝異常症である。現在は一部には酵素補充療法 (ERT) が開発され治療の主流となり、わが国でも約 500 名の患者がその恩恵をうけている。しかし、酵素製剤は非常に高額であり、点滴投与を生涯継続して行わなくてはならない。また、いまだ酵素製剤が開発されていないムコ多糖症もある。ERT 以前のライソソーム病の唯一の治療法は造血幹細胞移植 (HST) であったが、HST は生着不全や拒絶、移植片対宿主反応 (GVHD)、移植関連死などの問題点があり、ERT 登場後はその危険性から敬遠される傾向であった。しかし、HST では一度生着すればその効果は永続的で QOL も高く、医療費も少ない。症例数が増えるにつれ、ヒトにおいては ERT や HST の効果は血流の豊富な臓器に限定され、進行した症状の改善には期待できないことがわかってきたが、最も予後に重要な中枢神経の病変には ERT は血液脳関門 (BBB) のため効果がなく、HST は一定の効果がみられると報告されている。一方、先天代謝性異常症に対する HST は拒絶の頻度が高く、安全かつ有効な移植法の確立が必要である。今回、

当施設におけるムコ多糖症 II 型 (Hunter 病) に対する HST の長期予後について、検討を行った。

B.調査対象及び方法

1996 年～2009 年までに日本大学医学部附属板橋病院で HST を行ったムコ多糖症 II 型の患者 12 例 (男児 12 例、女児 0 例) を対象とした。診断は、臨床的特徴、尿中ウロン酸の増加及び白血球による Idulonate-2-sulfatase (IDS) 活性測定により行った。移植時期、ドナー分類と HLA 一致度、前処置、生着および拒絶、GVHD など合併症、治療効果について、診療録から後方視的に検討した。生着は好中球が 500/ul を超えた日とし、混合キメラの判定は、血液型、染色体核型、遺伝子多型性などのマーカーにより行った。

C.結果

移植時期

診断時の年齢は 0 か月～6 歳 0 か月で、中央値は 3 歳 11 か月であった。0 か月で診断された 1 例は兄がすでに確定診断されており、症状発現前に診断に至った。移植時の年齢は、2 歳 4 か月～11 歳 6 か月で、中央値は 5 歳 8 か月であった。診断から移植までの期間は 7 か月～5 年 6 か月で、中央値は 2 年 1 か月であった。今回の検討はすべて ERT 開始前の症例で、診断から移植までに

ERT を施行された児はみられなかった。

ドナー及び HLA 一致度および生着。

ドナーソースは、HLA 一致同胞骨髄 (MSD) 1 例、非血縁骨髄 (URD) 8 例、臍帯血 (UCB) 3 例であった。HLA の一致度は、6 座完全一致が 10 例 (MSD1 例、URD 8 例)、1 座不一致が UCB3 例であった。初回移植の生着 (キメラ含む) は 75% (9 例) で、拒絶が 2 例、移植後早期死亡による評価不能が 1 例であった。拒絶は UCB2 例で、混合キメラは URD2 例、UCB1 例の 3 例に認められ、数か月～1 年経過後にはすべて拒絶となった。

移植前処置

移植前処置は、全身放射線照射 (TBI) + Cyclophosphamide (CY) が 10 例のうち 9 例は抗リンパ球グロブリン (ATG) を使用した。sib-BMT1 例は Busulfan (BU) + CY + ALG、移植時 2 歳の症例は BU + CY + Fludarabine (FLU) を使用した。

GVHD および移植合併症

GVHD 予防は cyclosporin A (CyA) + methotrexate (MTX) 11 例、FK506 + CyA 1 例で行った。Grade II 以上の急性 GVHD は 3 例で、いずれもステロイドでコントロール可能であった。ドナーソースは U-BMT2 例、UCB1 例であった。慢性 GVHD は 3 例に認められ、すべて U-BMT であった。

2 例は移植後早期に死亡し、いずれも U-BMT で 4 歳未満であった。死因は肺出血または原疾患によると考えられる突然の心停止であった。

移植後の治療効果の評価

生着 (キメラを含む) した全例において、肝脾腫及び関節拘縮、皮膚肥厚の改善がみられた。長期にわたり生着が確認され、追跡が可能であった 5 例について検討したところ、移植時 IQ が正常範囲の 3 例では、その後も発達遅滞の悪化は認め

ず、頭部 MRI 所見の増悪停止が認められ、移植は有効であったと考えられた (表 1)。

Follow-up of engrafted MPS II 5 patients

Patient No.	Age at		HCT source (HLA match)	Mental Development		Height(SD)		Joint Motion
	HCT	Diagnosis		pre	post	pre	post	
1	5y4m	3y5m	Unrelated-BM (6/6)	IQ 28	Severe delay	-1.6	-2.0	Improvement
2	7y8m	4y6m	Sibling-BM (6/6)	Mild Delay	Mild Delay	-3.4	-3.8	Improvement
3	5y9m	3y8m	Unrelated-BM (4/6)	IQ 93	Normal	-3.0	-3.5	Improvement
4	7y9m	4y4m	Unrelated-BM (6/6)	IQ 90	Normal	-3.4	-2.7	Improvement
5	11y6m	6y10m	Unrelated-BM (6/6)	IQ 94	Normal	-2.0	-3.9	Improvement

D. 考察

ライソソーム病に対する HST は、海外ではムコ多糖症 I 型 (Hurler 病) に対する報告が多くその有効性が示されているが、II 型に関しては症例数も低く、有効性に関しては疑問視されてきた。わが国では、今までの調査でも知られるように、ムコ多糖症 II 型の比率が高く、移植症例も多い。今回は、単一施設における移植について解析を行った。

HST が長期的治療効果を発揮するには、ドナー血液の確実な生着と GVHD 対策による高い移植安全性が必要である。確実な生着を期するため、晩期合併症の問題はあるが、12 例中 10 例は TBI を併用した前処置とした。しかし、UCB3 例は全例拒絶またはキメラ後拒絶され、前処置の改善や HLA 一致度を上げた移植が必要と考えられた。GVHD は、急性・慢性ともに 3 例ずつに認められた。6/6 マッチの U-BMT1 例では、慢性 GVHD のコントロールに難渋し、皮膚硬化や呼吸機能低下をきたし、原疾患の増悪阻止は可能であったものの、移植後の QOL の低下を招いた。非悪性疾患の HST では、治療による QOL の上昇が大きな目標の一つとなる。患児に HLA 一致の同胞がいる場合は第一選択のドナーとなり、移植も比較的安全に行い得ると考えられるが、HLA 一致同胞がいない場合、安全性が高いドナーを骨髄バンク、臍帯血バンクでどのような優先順位で早く選定していくか、今後の課題である。

死亡例は 2 例あり、2 歳例は移植 25 日目に突然の心停止により死亡しており、原疾患に起因するものと考えられた。4 歳例は 2 回目の移植であり（1 回目は他施設における U-CBT で拒絶）、移植による肺出血で死亡した。他の 10 症例は移植時 5 歳以上であり、低年齢の HST における安全性の確保は問題である。しかし、当院では日齢 42 日の Krabbe 病に対し、安全に UCB を施行し良好な結果を得ており、前処置や移植ソースの工夫により、今後十分対応可能と考える。また、今回の移植症例は、わが国でのムコ多糖症 II 型に対する ERT 開始前の HST であったため、酵素補充療法と HST の併用例はみられなかったが、近年は診断後ただちに乳児期より ERT を開始し、成長を待って HST を行うなど、安全性の高い移植が行える状態となっており、今後の検討が待たれる。

ムコ多糖症 II 型に対する移植の最大の目的は、長期にわたる、中枢神経障害の進展阻止である。長期生着を認めた 5 例のうち、移植時の IQ が 90 以上の 3 例に対しては、移植後も明らかな知能レベルの低下は認めておらず、頭部 MRI でも一定の進展抑止が認められ、HST はムコ多糖症 II 型の中枢神経障害に対して有効と判断した。

E. 結論

HST はムコ多糖症 II 型において中枢神経病変に対しても有効な治療法である。しかし、ドナー選択や前処置の更なる改善と GVHD 対策、移植前の ERT の併用、神経症状が進展しない時期に移植を行うための早期診断法の確立など、確実な生着性と安全性の向上、効果を最大にする移植時期の選定やそのための併用療法など、今後さらなる検討が必要である。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Tanaka A, Okuyama T, Suzuki Y, Sakai N, Takakura H, Sawada T, Tanaka T, Otomo T, Ohashi T, Ishige-Wada M, Yabe H, Ohura T, Suzuki N, Kato K, Adachi S, Kobayashi R, Mugishima H, Kato S. Long-term efficacy of hematopoietic stem cell transplantation on brain involvement in patients with mucopolysaccharidosis type II: a nationwide survey in Japan. *Mol Genet Metab.* 107(3):513-20, 2012

2. 学会発表

1. Mika Ishige-Wada, Hiroshi Yagasaki, Maiko Kato, Hiroyuki Shichino, Motoaki Chin, Hiromi Usui, Misao Owada, Teruo Kitagawa, Hideo Mugishima. Allogenic hemaopotietic stem cell transplantation for patients with lysosomal and peroxisomal storage diseases: a single institute experiences (NIHON UNIVERSITY). SSIEM Annual Symposium of 2011, Geneva, Switzerland. 2011.8

H. 知的所有権の取得状況（予定を含む）

なし。

造血細胞移植による脳神経障害修復のマウスモデルにおける研究

研究分担者 八幡 崇¹⁾

研究協力者 高倉広充²⁾, 高張洋子³⁾, 瀧澤俊也⁴⁾

1) 東海大学医学部再生医療科学, 2) 同小児科学, 3) 同教育・研究支援センター,
4) 同神経内科学

研究要旨

新生児仮死による低酸素性虚血性脳症は、意識障害、筋緊張低下、痙攣などの症状を呈する脳障害であり、重症の場合は死亡あるいは重度の障害を残す重篤な疾患である。近年、米国において先天性代謝異常症に対する造血細胞移植の細胞源である臍帯血を移植することにより、著名な治療効果を発揮することが報告された。本年度我々は、本邦での低酸素脳症に対する臍帯血移植の適応を目指して、低酸素脳症の病態の再現と治療効果の評価に適したモデル動物の作製に取り組み、新生仔マウスの頸動脈結紮と低酸素環境下での短期間飼育によって、低酸素脳症を呈するモデルマウスを確立させた。

A. 研究目的

新生児期低酸素性虚血性脳症による脳神経系障害のモデルマウスを作製し、先天代謝異常症に対する造血細胞移植の細胞源である臍帯血を移植することによる治療効果と修復メカニズムを検討する。

B. 研究方法

新生仔マウス（出産7日目）の右側総頸動脈を深麻酔下で結紮後、低酸素環境下（8% O₂）に90分間おくことにより、低酸素脳症のモデルマウスを作製した。処置後7日目にマウスの頭皮を切開し、臍帯血より分離したCD34陽性細胞を開頭せずに頭蓋骨上から30G穿刺針で局所投与した。移植後、経時的に脳組織を採材し、損傷と修復の程度を解析した。また、14週後にローターロッドテストなどにより、行動障害の程度を評価した。

（倫理面への配慮）

本研究で使用した臍帯血は東海大学医の倫理委員会の承認のもと、提供者の同意が得られたものを非連結匿名化したものを使用した。また、動物実験は東海大学実験動物委員会の承認を得て実施した。

C. 研究結果

右側総頸動脈結紮処置群は、右半身不随の症状を呈した。しかし、処置後14週目に行った行動解析においては、未処置群との有意な差は認められなかった。処置後1週目から4週目にかけて脳組織を回収し、組織標本を解析したところ、右脳部位が大きく欠損していることが明らかとなった。

D. 考察

マウスなどの小動物、特に新生仔期は脳障害に対して可塑性が強く、行動神経学的な解析が困難である。しかし、損傷部位の組織学的な解析から、本研究において低酸素性虚血性脳症のモデルマウスが確立したといえる。次年度は、移植した臍帯血由来CD34陽性細胞の損傷部位への集積と再生効果を評価し、その機序の解明を行いたい。さらに、損傷部位への直接投与ではなく、経静脈的に移植を行い、末梢循環血を介した脳障害の修復が可能か否かについて検討を行いたい。

E. 結論

本年度研究計画の遂行により、低酸素性虚血性脳症のモデルマウスの作製法と評価法が確立した。

F.健康危険情報

該当しない。

G.研究発表

（発表雑誌名巻号・頁・発行年なども記入）

18. 論文発表

1. Inoue S, Sato T, Suzuki-Utsunomiya K, Komori Y, Hozumi K, Chiba T, Yahata T, Nakai K, Inokuchi S. Sepsis-induced hypercytokinemia and lymphocyte apoptosis in aging-accelerated klotho knockout mice. Shock. 39(3):311-316, 2013.