

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 25 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。

まず、これまでに蓄積されたデータとして、免疫不全症班会議の全数調査、造血幹細胞移植学会登録 (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(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。

先天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、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、暫定案を作成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。なお、前処置で用いるbusulfanの血中濃度測定系を確立した。骨髄由来間葉系幹細胞 (MSC) が持つ強力な免疫抑制作用を利用し、MSCを用いたGVHD治療法を開発し、原発性免疫不全症における造血幹細胞移植で応用した。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 勇二

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

森尾 友宏

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科発生発達病態学分野、准教授

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ことが必須である。

一方、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ため移植中の感染症をコントロールし、かつ免疫抑制剤を過剰に使わないでGVHDも起こさないという、極めて困難な移植であり、至適移植法の確立が必須である。

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。

日本の状況は、限定された疾患でパイロットスタディが開始されている。すなわち、重症複合型免疫不全症、慢性肉芽腫症、高IgM症候群では、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。また、これまでに原発性免疫不全症調査研究班により全数調査が行われ、造血細胞移植学会による登録事業 TRUMP, インターネットを活用した中央診断登録システムである(Primary Immunodeficiency Database in Japan,PIDJ)の3つがデータベースとなっている。

以上を踏まえ、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

A. 研究の目的

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

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。

B. 研究方法

1) これまでの移植データ収集

これまでに行われた原発性免疫不全症患者移植例を、1)免疫不全症班会議の全数調査データ、2)造血幹細胞移植学会のデータ(TRUMP)、3)PIDJに登録されたデータの3つのデータベースから情報を収集した。各疾患ごとにデータ収集を行い、その問題点、改善点を明らかにした。

2) 原発性免疫不全症の造血幹細胞移植の問題点の解明

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した。

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った。

2週に一度、免疫系の再構築は、12パラメータによるFACS解析、TREC/KREC測定で行った。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解析などで行った。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、自己免疫疾患の発症の有無も検討した。

4) データ解析

疾患ごとの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した。

5) ガイドライン作成

以上を集計し、前処置法、GVHD予防法、感染症発症、キメリズム、生着、移植後合併症などについて解析し、原発性免疫不全症の至適造血幹細胞移植法を確立するため、疾患ごとにガイドラインを作成した。

6) 骨髓由来間葉系幹細胞(MSC)輸注によるGVHD治療法の確立

骨髓由来間葉系幹細胞(MSC)が持つ強力な免疫抑制作用を利用し、MSCを用いたGVHD治療法を開発し、原発性免疫不全症における造血幹細胞移植で応用した。

7) 遺伝子治療法の基盤整備

自家末梢血幹細胞移植の経験を生かし、iPS細胞、造血幹細胞への原因遺伝子導入と、細胞分化実験を行った。

(倫理面への配慮)

原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、X連鎖リンパ増殖症候群、高IgM 症候群、先天性好中球減少症、Wiskott-Aldrich 症候群、慢性肉芽腫症を対象とした。収集したデータから、以下の項目を検討した。原病、診断時年令、移植時年令、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、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。

造血細胞移植後のウイルス感染のモニタリングと治療法についても、厚生労働科学研究費補助金 (免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業)「臓器移植・造血

細胞移植後日和見感染症に対する有効かつ安全な多ウイルス特異的T細胞療法の開発と導入に関する研究」と連携して検討を行った。

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。こうしたウイルス感染症に対するウイルス特異的T細胞の増幅に成功し、その輸注による効果が期待される。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および移植推奨案

i) 重症複合型免疫不全症

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。SCID に対する移植は諸外国と遜色のない数を行っており、また成績も悪くはないことが明らかになった。今後は米国で導入されている新生児マススクリーニングを日本にも導入し、また英米仏伊で行われている遺伝子治療の導入により、さらなる予後の向上を図ることが望ましいと考えられた。

具体的な前処置としては、限られた症例数であるが、パイロットスタディで骨髄非破壊的前処置の中でも、Flu/L-PAM より Flu/BU(8mg/kg)による前処置がドナー細胞の生着が良好であることが判明し、Flu/BU(8mg/kg)を推奨することとした。さらに共通鎖欠損症についてはFlu+BUで、ADA欠損症については、Flu+BU+ATGを推奨した。

)CD40L 遺伝子異常を伴う伴性劣性高IgM 症候群

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。移植していない 27 例は 10 歳までの生存率が 68%、40 歳での生存率が 28%と長期予後が不良であり、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。さらに、5 歳未満の移植例 13 例は 100%の生存率であり、5 歳以上での移植例の全生存率 71.8%と比較して有意に成績が良好であった($p=0.037$)。また移植後 10 年の無イベント生存率は 78.6%と 5 歳以上での移植例 16 例の移植後 10 年の無イベント生存率 40%と比べ統計学的に有意に良好であった($p=0.0263$)。これは、5 歳以上で臓器障害、特に肝障害、肺障害が進行すること、持続感染が起きることがその原因であると考えられた。この結果から 5 歳未満での移植が推奨された。

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。ただし、5 歳未満の RIC では 3 例中 3 例で生着しており、今後状態の良い患者での RIC での前処置の可能性について検討が必要である。

現時点での推奨案としては、臓器障害がない場合は BU+CY, 臓器障害がある場合は Flu+LPAM+TBI(2Gy)とした。

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、ニューモシスチス感染、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、その予防法を明記した。

)慢性肉芽腫症(CGD)に対する造血幹細胞移植

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った。そこで、至適移植時期、移植までの管理法などについての指針を作成した。造血幹細胞移植の前処置としては、BU+CYによる骨髄破壊的処置の成績が不良であったため、成功率の高い骨髄非破壊的処置である Flu + LPAM + CY + low dose TBI を推奨した。

ドナーは臍帯血では拒絶が多いというデータがあり骨髄血が選択されていた。24例の骨髄移植が施行されていた。年齢は3歳から40歳まで男児でgp91phox 遺伝子異常が23例、gp47欠損が1例であった。活動性感染症を有した状況での移植が18例、消化管病変有した症例が5例、臨床的には活動性感染症を認めない症例が6例であった。全例が生着した。1例で生着遅延(移植後43日目)を認めたが、あとの症例はすべて24日以内にドナー細胞の生着を確認した。そのまま安定した完全キメラを維持した症例が16例、徐々に混合キメラ状態に移行した症例が7例ありDLIを追加した。DLI施行症例はすべて完全キメラに復したが、2例は重度のGVHDを合併し、それぞれ移植後1年半、2年で死亡した。生着遅延の1例は移植後20日に肺炎から呼吸不全となり移植後50日、生着後1週間で死亡した。移

植後8か月で重症感染症からDICとなり頭蓋内出血で死亡。25例中4例が死亡したが、死亡例はすべて成人例であった(18歳, 33歳, 35歳, 40歳)。残りの20例はすべてKarnofsky performance status 90%以上で生存し、社会生活に復帰している。全体の生存率は84%、16歳未満(11例)は100%、16歳以上(13例)が74%であった。

CGDの移植時期においては、若年者が臓器障害の少ないこと、移植関連合併症が少ない点から安全性の面では望ましいと思われる。現行の前処置による晩期障害、特に妊孕性等の問題についての長期フォローアップが必要である。この点が解決されれば、今後の方向性を示すことが可能となるであろう。

)Wiskott-Aldrich 症候群(WAS)およびX連鎖血小板減少症に対する造血幹細胞移植

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。

)慢性好中球減少症に対する造血幹細胞移植

慢性好中球減少症 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。ドナーは臍帯血では拒絶が多いというデータがあり、骨髄血をドナーソースとしている症例が多数であった。

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。G-CSF 非投与群でも MDS/AML を発症していることが判明し、内因性の G-CSF が高いためであると考えられた。そこで、早期の移植を推奨した。

前処置は骨髄破壊的前処置である BU+CY が拒絶が少なかったが、非腫瘍性疾患であることから最小限の晩期障害、特に妊孕性の保持は重要である。これらの点を考慮して前処置として fludarabine, cyclophosphamide, melpharan, ATG, TBI (3 Gy)を用いた RIC が選択された症例もあった。骨髄非破壊的前処置の症例が少ないため、症例をさらに蓄積して、推奨案を策定中である。

)X 連鎖リンパ増殖症候群 (X-linked lymphoproliferative syndrome; XLP) に対する造血幹細胞移植

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。移植ガイドラインを策定中である。また早期診断による EB ウイルスの管理が重要であった。

) 家族性血球貪食症候群に対する造血幹細胞移植

移植成績が極めて不良であるが、骨髄非破壊的前処置による造血幹細胞移植の成功例を受け、推奨案を策定中である。

) 毛細血管拡張製小脳失調症 (Ataxia telangiectasia)

DNA 損傷修復異常が原因であるため、前処置により DNA 損傷が起きて致死的になるため、現段階で推奨できる造血幹細胞移植法は世界的にも存在しない。骨髄非破壊的造血幹細胞が行われているが、極めて予後不良である。推奨できる造血幹細胞移植法が得られないが、重要な免疫不全症であるため、対症療法のガイドラインを作成した。

ix) その他の疾患

STAT1 異常症、NEMO 異常症、complete DiGeorge 症候群などに対しても造血幹細胞移植が行われていた。これらの予後不良な原発性免疫不全症に対する造血幹細胞移植のガイドライン作成も必要である。今後の症例の蓄積が必要である。

3. 骨髄由来間葉系幹細胞 (MSC) 輸注による GVHD 治療法の確立

ドナーの血液から濃厚血小板採取後、血小板融解産物 (Platelet lysate) を調製した。続いて、移植ドナーから MSC 培養用の骨髄液 30ml を採取し、骨髄単核球を Platelet lysate を添加した培養液を用いて、十分量の MSC を調製した。

3例のステロイド抵抗性の重症 GVHD (腸管 GVHD1 例、肝 GVHD1 例) に対する間葉系幹細胞輸注療法を実施した。全例で著効し、長期生存が得られている。1例は慢性肉芽腫症であり、腫瘍性疾患と異なり GVHD がでる必要が無い原発性免疫不全症の造血幹細胞移植において、積極的に活用すべき治療法と考えられた。

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ない。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。

原発性免疫不全症は免疫不全症候群班会議による全数調査のデータ、PIDJ という WEB ベースのデータベース、造血細胞移植学会による登録事業 (TRUMP) のデータが存在する。そのデータには、重症複合型免疫不全症、Wiskott-Aldrich 症候群、高 IgM 症候群、慢性肉芽腫症の造血幹細胞移植データが含まれている。

そこで、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ため、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、ドナーソースなどについて、これまでに蓄積されたデータの収集を行い、解析を行った。具体的には、前処置法、ドナーソース、免疫抑制剤、感染管理法についてデータを収集・解析した。この結果をもとに、疾患ごとの造血幹細胞移植のガイドラインを作成した。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た。

本研究で作成した造血幹細胞移植推奨案により、移植による原発性免疫不全症の根治を目指すことができる。また、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できたことは、難病治療を確立し行政政策

へ活用できた。

E. 結論

免疫不全症班会議の全数調査、造血幹細胞移植学会登録事業 (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、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、臍帯血移植では骨髄移植より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。

疾患ごとの現時点での造血幹細胞移植推奨案も作成できた。

MSCによるGVHDの治療法は、原発性免疫不全症の造血幹細胞移植において重要な治療法になりうる事が示された。

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