

原発性免疫不全症の造血幹細胞移植における骨髄由来 間葉系幹細胞 (MSC) を用いた GVHD 治療法の開発

研究分担者 小島勢二 名古屋大学大学院医学系研究科小児科学 教授
研究協力者 村松秀城 名古屋大学医学部附属病院小児科 助教

研究要旨

近年、骨髄由来間葉系幹細胞 (MSC) が強力な免疫抑制作用を有することが判明し、欧米では、ステロイド抵抗性 GVHD 患者に投与し、良好な成績が報告されている。今回、我々は、血縁者間同種骨髄移植後、ドナー由来のキメリズム低下に対し、ドナーリンパ球輸注療法を施行後、ステロイド抵抗性 GVHD を来とし、骨髄由来 MSC 輸注療法を施行した慢性肉芽腫症の1例を報告する。本症例を含め、ステロイド抵抗性の重症 GVHD (腸管 GVHD2 例、肝 GVHD1 例) に対する間葉系幹細胞輸注療法を3例に実施し、その安全性と有効性を確認した。

A. 研究目的

同種造血幹細胞移植後の重症 GVHD (Graft versus host disease) に対する標準治療はステロイド療法であるが、ステロイド不応性の症例に対する標準治療は確立されておらず、その生命予後は非常に不良である。また、重症 GVHD の発症を完全に予測することはできず、安全な同種移植を確立する上で重症 GVHD に対する有効な治療法確立は大きな問題である。近年、強力な免疫抑制機能を有する間葉系幹細胞 (MSC; mesenchymal stem cell) 輸注療法の難治性 GVHD に対する有効性が報告されている。悪性疾患ではない原発性免疫不全症に対する同種造血幹細胞移植の安全性を向上させるために、間葉系幹細胞輸注療法の開発を行った。

B. 研究方法

慢性肉芽腫症 1 例を含む、ステロイドが無効であった重症 GVHD3 例 (腸管

GVHD2 例・肝 GVHD1 例) に対して、院内のセルプロセッシングセンターで調製した骨髄由来間葉系幹細胞輸注を行った。

(倫理面への配慮)

名古屋大学医学部倫理委員会の承認のもと、患者および患者保護者の同意を取得して治療を行った。

C. 研究結果

1) MSC の調製:

ドナーの血液から血液成分分離装置を用いて濃厚血小板(PC)10 単位(約 200ml) を採取した。採取後、直ちに -80 で凍結した。翌日、凍結した濃厚血小板を解凍して培養に用いる血小板融解産物(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、単核球を分離した。骨髄単核球を Platelet lysate を添加した培養液を用いて GMP 基準に準拠した名古屋大学医学部セルプロ

セッシングセンターにて3週間培養することにより、十分量の MSC を調製した(図 1、2)。

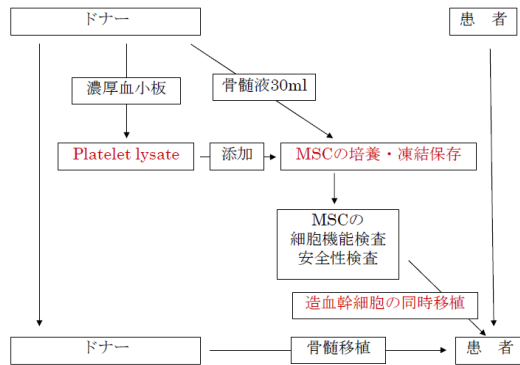


図 1. MSC 投与までの流れ

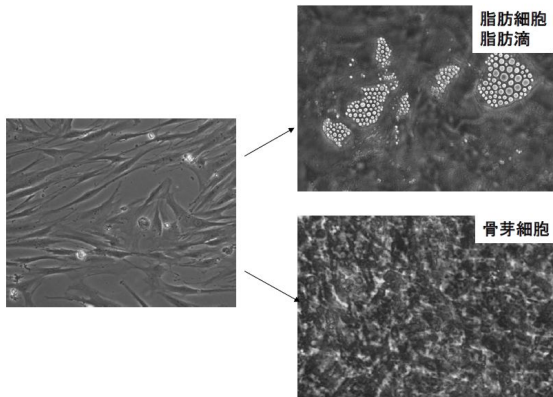


図 2. 培養 MSC の分化能の確認

2) 慢性肉芽腫症の 1 例

25 歳男性。乳児期に肺炎を反復したため A 大学病院にて慢性肉芽腫症と診断され、後日、CYBB 遺伝子変異 (p.His209Arg) が確認された。成長につれて重症感染症は減少したが、2001 年にアスペルギルス肺炎で長期入院、2012 年 12 月には多発肝膿瘍で入院治療を要した。今回 HLA 一致の姉からの造血幹細胞移植目的に当院紹介となった。移植後、混合キメラ状態となったため、ドナーリンパ球輸注を施行したところキメリズム

の回復とともに GVHD 症状が出現した。大量の下痢症状を伴い、メチルプレドニゾンおよび抗 TNF 抗体は無効であった。抗 CD25 抗体投与後下痢量の減少傾向を認め、骨髓由来間葉系幹細胞の輸注後さらに下痢量の改善を認めた(図 3)。

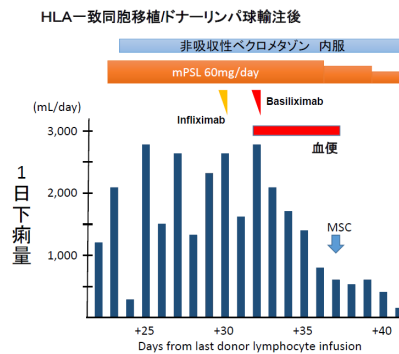


図 3. 慢性肉芽腫症症例の GVHD 経過

本症例に加えて 2 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。

D. 考察

難治性 GVHD に対するヒト由来血小板融解産物を用いた骨髓由来 MSC 輸注療法は安全かつ有効である。悪性疾患ではない原発性免疫不全症に対する同種造血幹細胞移植の安全性を向上させるために、MSC 輸注療法は必須の治療法であると考えられる。

E. 結論

慢性肉芽腫症症例を含んだ、ステロイド抵抗性の重症 GVHD (腸管 GVHD2 例、肝 GVHD1 例) に対する間葉系幹細胞輸注療

法を3例に実施し、その安全性と有効性を確認した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Hira A, Yabe H, Yoshida K, Okuno Y, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Nakamura J, Kojima S, Ogawa S, Matsuo K, Takata M, Yabe M. Variant ALDH2 is associated with accelerated progression of bone marrow failure in Japanese Fanconi anemia patients. *Blood*. 2013 Oct 31;122(18):3206-3209.
- 2) Kunishima S, Okuno Y, Yoshida K, Shiraishi Y, Sanada M, Muramatsu H, Chiba K, Tanaka H, Miyazaki K, Sakai M, Ohtake M, Kobayashi R, Iguchi A, Niimi G, Otsu M, Takahashi Y, Miyano S, Saito H, Kojima S, Ogawa S. ACTN1 mutations cause congenital macrothrombocytopenia. *Am J Hum Genet*. 2013 Mar 7;92(3):431-438.
- 3) Makishima H, Yoshida K, Nguyen N, Przychodzen B, Sanada M, Okuno Y, Ng KP, Gudmundsson KO, Vishwakarma BA, Jerez A, Gomez-Segui I, Takahashi M, Shiraishi Y, Nagata Y, Guinta K, Mori H, Sekeres MA, Chiba K, Tanaka H, Muramatsu H, Sakaguchi H, Paquette RL, McDevitt MA, Kojima S, Sauntharajah Y, Miyano S, Shih LY, Du Y, Ogawa S, Maciejewski JP. Somatic SETBP1 mutations in myeloid malignancies. *Nat Genet*. 2013 Aug;45(8):942-946.
- 4) Nomura K, Hoshino A, Miyawaki T, Hama A, Kojima S, Kanegane H. Neutropenia and myeloid dysplasia in a patient with delayed-onset adenosine deaminase deficiency. *Pediatr Blood Cancer*. 2013 May;60(5):885-886.
- 5) Okuno Y, Murakoshi A, Negita M, Akane K, Kojima S, Suzuki H. CD8+ CD122+ regulatory T cells contain clonally expanded cells with identical CDR3 sequences of the T-cell receptor beta-chain. *Immunology*. 2013 Jul;139(3):309-317.
- 6) Sakaguchi H, Okuno Y, Muramatsu H, Yoshida K, Shiraishi Y, Takahashi M, Kon A, Sanada M, Chiba K, Tanaka H, Makishima H, Wang X, Xu Y, Doisaki S, Hama A, Nakanishi K, Takahashi Y, Yoshida N, Maciejewski JP, Miyano S, Ogawa S, Kojima S. Exome sequencing identifies secondary mutations of SETBP1 and JAK3 in juvenile myelomonocytic leukemia. *Nat Genet*. 2013 Aug;45(8):937-941.
- 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 G. Rabbit antithymocyte globulin and cyclosporine as first-line therapy for children with acquired aplastic anemia. *Blood*. 2013 Jan 31;121(5):862-863.
- 8) Yoshida K, Toki T, Okuno Y, Kanezaki R, Shiraishi Y, Sato-Otsubo A, Sanada M, Park MJ, Terui K, Suzuki H, Kon A, Nagata Y, Sato Y, Wang R, Shiba N, Chiba K, Tanaka H, Hama A, Muramatsu H, Hasegawa D, Nakamura K, Kanegane H, Tsukamoto K, Adachi S, Kawakami K, Kato K, Nishimura R, Izraeli S, Hayashi Y, Miyano S, Kojima S, Ito E, Ogawa S. The landscape of somatic mutations in Down syndrome-related myeloid disorders. *Nat Genet*. 2013 Nov;45(11):1293-1299.

- 9) Yoshimi A, Kamachi Y, Imai K, Watanabe N, Nakadate H, Kanazawa T, Ozono S, Kobayashi R, Yoshida M, Kobayashi C, Hama A, Muramatsu H, Sasahara Y, Jakob M, Morio T, Ehl S, Manabe A, Niemeyer C, Kojima S. Wiskott-Aldrich syndrome presenting with a clinical picture mimicking juvenile myelomonocytic leukaemia. *Pediatr Blood Cancer*. 2013 May;60(5):836-841.

2. 学会発表

(海外)

- 1) Kojima S. Aplastic Anemia : Therapeutic updated in HSCT. 2013 International Forum on Bone Marrow Failure. Aug.16, 2013. Tianjin, China.
- 2) Kojima S. Clonal Evolution from Aplastic Anemia to Myelodysplastic Syndrome with Monosomy7. 7th International Congress on Shwachman-Diamond Syndrome. Nov. 3-6, 2013. Toronto, Canada.

(国内)

- 1) 小島 勢二. 先天性血液疾患の病態研究に関する最近の進歩. 第116回日本小児科学会学術集会. 2013年4月19日. 広島.
- 2) 坂口 大俊、西尾 信博、川島 希、王 希楠、成田 敦、土居崎 小夜子、村松 秀城、濱 麻人、中西 康詞、高橋 義行、土田 昌宏、小林 良二、伊藤 悦朗、矢部 普正、大賀 正一、小原 明、長谷川 大輔、真部 淳、伊藤 雅文、小島 勢二. Telomere length as a predictor for the immunosuppressive therapy in acquired aplastic anemia. 第75回日本血液学会学術集会. 2013年10月12日. 札幌.
- 3) 王 希楠、村松 秀城、坂口 大俊、徐 銀燕、川島 希、成田 敦、土井崎 小夜子、Olfat Ismael、中西 康詞、濱 麻人、高橋 義行、小島 勢二 . GATA2 shows association with familial MDS, but not

AA and JMML in Japanese children. 第75回日本血液学会学術集会. 2013年10月12日. 札幌.

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