

## 先天代謝異常症に対する造血細胞移植の治療効果評価法

研究分担者 奥山 虎之<sup>1</sup>

1) 国立成育医療研究センター臨床検査部 部長

### 研究要旨

先天代謝異常症の中で、ライソゾーム病やペルオキシソーム病の治療においては、造血細胞移植が考慮される。特に、酵素補充療法との比較検討が重要となるムコ多糖症 II 型に対する造血細胞移植の効果を検証するために評価指標を検討した。今後、この評価指標を基に学会等が中心となり、酵素補充療法との比較検討が可能となるような前向き調査を継続的に行い、酵素補充療法では期待できない造血細胞移植の中樞神経症状への効果を明らかにする必要がある。

### A.研究目的

先天代謝異常症の中で、ライソゾーム病やペルオキシソーム病の治療においては、造血細胞移植が考慮されるが、その治療効果は病気の種類や病態の進行度（重症度）によって大きく異なることが知られている。また、造血細胞移植に伴うリスクを考慮すると、より安全性の高い治療法である酵素補充療法が開発されている疾患においては、造血細胞移植の評価は、酵素補充療法との比較ができることが重要となる。本研究事業の中で、分担研究者の田中らは、ムコ多糖症 II 型において、酵素補充療法では効果がない発達遅滞や神経退行において、造血幹細胞移植ではこれらの症状の改善に対する効果を示唆する成績を得ている。上記を考慮し、本研究では、ライソゾーム病の中で特にムコ多糖症を対象として、酵素補充療法との比較が可能となる造血細胞移植の治療効果の評価法を確立することを目的とした。

### B.研究方法

酵素補充療法の製造販売後調査等で使用されている調査指標を基に、造血細胞移植の治療効果評価法を検討する。特に造血細胞移植においては、酵素補充療法では得られないとされている中樞

神経症状の効果が期待できるので、両治療法の違いが明確になるような評価法の確立を試みる。

（倫理面への配慮）

本研究は特に倫理的問題はない。

### C.研究結果

1. 酵素補充療法の製造販売後調査などで用いているものを参考に造血細胞移植後の評価法を、臨床症状、生化学的指標、発達テストの 3 項目から検討した。

（1）臨床症状による評価

1. 消化器症状：肝臓腫大、脾臓腫大、臍ヘルニア、繰り返す軟便、下痢
2. 呼吸器症状：呼吸管理（酸素吸入、気管切開など）、努力肺活量、睡眠時無呼吸、反復性の上気道感染症
3. 耳鼻科症状：繰り返す中耳炎、扁桃肥大・アデノイド、聴力（聴力検査、ABR で評価）
4. 精神神経症状：精神運動発達遅滞、交通性水頭症
5. 骨関節症状：頸椎圧迫症状、手根管症候群、鷲手、側彎、突破医、肋骨オール上変化（X 線所見）、関節拘縮（肩関節）
6. 循環器症状：大動脈弁逆流、僧房弁逆流、不

整脈、心不全

7. 眼科症状、角膜混濁、網膜変性、緑内障

8. 日常生活：介護の要不要、歩行、会話

(2) 生化学的指標による評価

生化学的指標としては、(1) 尿中ウロン酸定量、

(2) 白血球中の酵素活性定量が重要である。また、移植前に酵素補充療法を行っていた症例では、

(3) 外来酵素の対する抗体の力価の推移を観察する必要がある。

2. 発達検査による評価

IQ/DQ テストとして、日常用いられているものを使用する。

#### D. 考察

ムコ多糖症 II 型に対する造血細胞移植の評価は定まっていない。ムコ多糖症 II 型に対する造血細胞移植の効果を疑問視する傾向が欧米を中心にみられる。しかし、ムコ多糖症 II 型の頻度が比較的に多いわが国においては、酵素補充療法が利用可能になる前から相当数の造血幹細胞移植が行われていた。最近の知見では、造血細胞移植を 2 歳前に行った症例では、比較的良好な精神発達を示している症例を認める。これに対して、酵素補充療法を行っている症例では、すべての症例で精神発達遅滞を認めている。この成績を裏付けるためには、前向き研究を行う必要があり、わが国のすべての症例で統一的な評価方法で治療効果を検討することができれば、造血細胞移植の有用性が明らかになると期待される。本研究事業が終了しても、日本先天代謝異常学会が中心になって、前向き調査を継続していくことが重要である。そのためには、主治医と専門医をむすぶ診療ネットワークの構築が不可欠である。

#### E. 結論

酵素補充療法との比較検討が重要となるムコ多糖症 II 型に対する造血細胞移植の効果を検証するために評価指標を臨床症状、生化学的指標、発達テストの 3 項目から検討した。今後、この評価

指標を基に酵素補充療法との比較検討が可能となるような前向き調査を継続的に行う必要がある。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

(発表雑誌名巻号・頁・発行年なども記入)

1. Okuyama T, Yotsumoto J, Funato Y. Survey of second-trimester maternal serum screening in Japan. *J Obstet Gynaecol Res.* 39:942-947,2013.
2. Tajima G, Sakura N, Kosuga M, Okuyama T, Kobayashi M. Effects of idursulfase enzyme replacement therapy for Mucopolysaccharidosis type II when started in early infancy: comparison in two siblings. *Mol Genet Metab.* 108: 172-177, 2013.
3. Niizeki H, Shiohama A, Sasaki T, Seki A, Kabashima K, Otsuka A, Takeshita M, Hirakiyama A, Okuyama T, Tanese K, Ishiko A, Amagai M, Kudoh J. The novel SLCO2A1 heterozygous missense mutation p.E427K and nonsense mutation p.R603\* in a female patient with pachydermoperiostosis with an atypical phenotype. *Br J Dermatol.* doi:10.1111/bjd.12790. 2013 Dec 16.

#### 2. 学会発表

1. Tanaka A, Okuyama T, Suzuki Y, Sakai N, Hamazaki T, Kosuga M, Sawada T, Yabe H, Ishige M, Mugishima H, Kato S : EFFICACY OF ENZYME REPLACEMENT THERAPY VERSUS HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION ON BRAIN INVOLVEMENT IN MPS II, 12<sup>th</sup> International Congress of Inborn Errors of Metabolism, Barcelona, Spain, September. 4. 2013.
2. M. Kosuga, K. Kida, H. Nakajima, J. Fujimoto, T.

- Okuyama: Development of a new method for diagnosis of adrenoleukodystrophy using liquid chromatography-mass spectrometry. 12<sup>th</sup> International Congress of Inborn Errors of Metabolism, Barcelona, Spain, September. 4. 2013.
3. 奥山虎之:患者登録と新規治療の開発法(シンポジウム:先天性希少疾患の治療の進歩と患者会の役割). 第116回日本小児科学会学術集会学会、広島、2013. 4. 19.
  4. 小須賀基通、木田和宏、藤直子、奥山虎之:5つのライソゾーム酵素同時測定によるライソゾーム病の新たなスクリーニング法. 第116回日本小児科学会学術集会学会、広島、2013. 4. 19.
  5. 田中あけみ、鈴木健、奥山虎之、濱崎孝史、藤川研人、坂口知子、小田絵里、藤直子、斎藤三佳、澤田智 北川照男:三施設共同によるライソゾーム病スクリーニング・パイロットスタディ2年6か月のまとめ. 第40回日本マス・スクリーニング学会学術集会、大阪、2013. 8. 24.
  6. 奥山虎之:ライソゾーム病に対する新生児マス・スクリーニングの現状と今後の課題(シンポジウム). 第40回日本マス・スクリーニング学会学術集会、大阪、2013. 8. 24.
  7. M. Kosuga, H. Nakajima, K. Kida, J. Fujimoto, T. Okuyama. Diagnosis of adrenoleukodystrophy using liquid chromatography-mass spectrometry. American Society of Human Genetics 63rd Annual meeting. Boston, USA. 2013, October 24.
  8. Tanaka A, Okuyama T, Suzuki Y, Sakai N, Hamazaki T, Kosuga M. Sawada T, Yabe H, Ishige M, Mugishima H, Kato S. EFFICACY OF ENZYME REPLACEMENT THERAPY VERSUS HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION ON BRAIN INVOLVEMENT IN MPS II. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases (ACIMD)/The 55th Annual Meeting of The Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases (JSIMD). Maihama, Chiba, 2013. Nov. 27.
  9. A. Wakiyama, Y. Oda, Y. Yamada, H. Fujisawa, M. Yotsuya, H. Tsuda, M. Furujo, T. Kubo, T. Okuyama. Application of clinical path in enzyme therapy for uniformization of nurse operations. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases (ACIMD)/The 55th Annual Meeting of The Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases (JSIMD). Maihama, Chiba, 2013. Nov. 28.
  10. 田中あけみ、濱崎孝史、桜庭均、斎藤静司、鈴木健、奥山虎之、門野千穂、坂口知子、工藤聡志、藤川研人、小田絵里、藤直子、澤田智、斎藤三佳、北川照男 Iduronate-2-sulfatase の pseudodeficiency allele は意外に多く存在する? 日本人類遺伝学会第58回大会、仙台市、2013. 11. 23.
- H.知的所有権の取得状況(予定を含む)  
特になし。

別紙 4

研究成果の刊行に関する一覧表レイアウト

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
<u>Okuyama T</u> , Yotsumoto J, Funato Y	Survey of second-trimester maternal serum screening in Japan.	J Obstet Gynaecol Res.	39	942-947	2013
Tajima G, Sakura N, <u>Kosuga M</u> , <u>Okuyama T</u> , Kobayashi M.	Effects of idursulfase enzyme replacement therapy for Mucopolysaccharidosis type II when started in early infancy: comparison in two siblings.	Mol Genet Metab.	108	172-177	2013
Niizeki H, Shiohama A, Sasaki T, Seki A, Kabashima K, Otsuka A, Takeshita M, Hirakiyama A, <u>Okuyama T</u> , Tanese K, Ishiko A, Amagai M, Kudoh J.	The novel SLC02A1 heterozygous missense mutation p.E427K and nonsense mutation p.R603* in a female patient with pachydermoperiostosis with an atypical phenotype.	Br J Dermatol.		Dec16. doi:10.1111/bjd.12790.	2013

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

先天代謝異常症に対する肝移植成績とガイドライン総論

研究分担者 笠原 群生<sup>1)</sup> センター長

研究協力者 猪股 裕紀洋<sup>2)</sup>, 梅下 浩司<sup>3)</sup>, 阪本 靖介<sup>1)</sup> 副センター長, 新開 真人<sup>4)</sup>,  
八木 孝仁<sup>5)</sup>, 林田 真<sup>6)</sup>, 水田耕一<sup>7)</sup>, 三淵 浩<sup>8)</sup>, 吉澤 淳<sup>9)</sup>

1) 国立成育医療研究センター 臓器移植センター, 2) 熊本大学医学部附属病院 小児外科・移植外科 教授,  
3) 大阪大学医学部保健学科 周手術期管理学研究室 教授, 4) 神奈川県立こども医療センター外  
科 部長, 5) 岡山大学病院 肝胆膵外科 教授, 6) 九州大学病院 小児外科 助教,  
7) 自治医科大学 移植外科 准教授, 8) 熊本大学新生児学寄附講座 特任教授,  
9) 京都大学医学部附属病院 肝胆膵・移植外科 助教

**研究要旨**

日本肝移植研究会事務局に登録された先天代謝異常症の肝移植症例（約 200 例）を対象とする。「先天代謝異常症に対する肝移植治療の予後に関する研究事務局」（成育臓器移植センター内設置）から、症例の属する各医療施設に調査票を郵送し、医師が調査票を記入する。調査項目はレシピエントの身体情報、治療方法、成長発達及びドナーの予後を含む。調査票は返信用封筒にて郵送で回収、集計後、統計学的処理を行い、現状把握及び問題点を考察する。

**A.研究目的**

我が国において小児の肝移植例は年間 100-120 例実施されるようになったが、その約 70%が胆道閉鎖症であり、代謝性肝疾患の占める割合は約 5%と少ない。代謝性肝疾患は内科的治療の進歩によって予後改善がみられたが、根治治療には至っていない。

肝移植に至る代表的な先天代謝異常症である尿素サイクル異常症は、繰り返す高アンモニア血症によって精神発達遅延を認めることが多く、厳しい蛋白制限等が求められる。グリコーゲン蓄積症は併存する好中球減少により、呼吸器及び皮膚粘膜の感染症を繰り返すことが多い。低血糖発作を頻発する場合、生活の質は著しく低下する。更に有機酸代謝異常症では、繰り返す代謝性アシドーシス発作が精神発達遅延を招くだけでなく、致死的発作を惹起する。成長発達過程にある小児において、十分な栄養を吸収する機会が制限され、成長に支障を生じる発作を起こすことは、患児のクオリティオブライフにおいても、大きな損失をもたらすと考えられる。近年代謝性肝疾患に対し

て肝移植治療が実施されている。肝移植により食事制限等の内科治療が緩和され、移植前後の患児のクオリティオブライフの改善が見込まれる。術後の長期的な経過を評価に含め、本邦における先天代謝疾患の患児に対する肝移植治療の適応・予後について、明示することが本研究の目的である。

**B.研究方法**

本研究は下記の調査対象となる各医療機関(肝移植実施施設)で、診療録から得られる過去の診療情報を後方視的に収集し解析する観察研究である。また本研究は厚生労働科学研究費補助金難治性疾患等克服研究事業「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」（研究代表者 東海大学医学部 加藤 俊一）の一部として位置づけられるものであり、先天代謝異常症に対する肝移植治療の予後に関して患児の成長発達、クオリティオブライフの面から検討するため、国立成育医療研究センター内に事務局を設置し、調査を実施する。

予備調査としてまず「先天代謝異常症に対する肝移植治療の予後に関する研究事務局」（成育臓

器移植センター内設置)から、日本肝移植研究会事務局(事務局は大阪府吹田市山田丘 2-2 (E2) 大阪大学大学院医学系研究科消化器外科教室内に設置され、肝移植に関する諸問題を研究し、その進歩・普及を図ることを目的とする。)に予備調査票(資料 1)を送付し、同研究会に登録された先天代謝異常症の肝移植症例について、記入の後、郵送で「先天代謝異常症に対する肝移植治療の予後に関する研究事務局」に返送してもらう。次に、予備調査にて判明した各症例の属する各医療施設に対して一次調査票(資料 2)を郵送する。調査票の記入は医師が行う。

調査項目は移植時年齢・性別・状態・タンパク制限・内科治療・免疫抑制剤・合併症・成長・発達・ドナー予後・肝機能等を含むことにより、移植後の対象者の肝機能、全身の健康状態及び成長発達についても把握することができる。

返信用封筒にて「先天代謝異常症に対する肝移植治療の予後に関する研究事務局」に郵送された一次調査票を回収し、医療機関名を匿名化した上で集計後、統計学的処理を行い分析する。その後、一次調査で生存が確認された症例について、患児の生活の状態を把握するために肝機能評価、移植関連合併症、感染症、免疫抑制剤の投与状況と副作用、外来受診の頻度、初潮、食事、骨塩量、通学・通園、体育参加状況、学業、対人関係、就職等を質問項目として含めた二次調査票(資料 3)を所属する医療施設に郵送する。医師により記入の上、郵送で「先天代謝異常症に対する肝移植治療の予後に関する研究事務局」に返送してもらう。これらの結果から、レシピエントの身体評価及び成長発達について詳細な情報を収集し、考察を行う。特に、乳幼児期、学童期、思春期など心身の変化が著しい小児の発達過程において、肝移植を選択したことによって、どのような変化が認められたのかを知ることは、肝移植治療によってもたらされる影響を対象者のクオリティオブライフから考察することにつながる。

なお一次調査、二次調査いずれの場合においても、

各医療機関における疫学研究、および医療情報の二次利用に関する対応に従って、各施設で手続きしてもらい、研究を実施してもらう。更に、予備調査、一次調査、二次調査で回収した質問紙は最低3年間は保管する。一端、回収した質問紙に関しても、回答施設からの取り下げや破棄の要請があった場合には、速やかにこれに対応する。(資料 4)(倫理面への配慮)

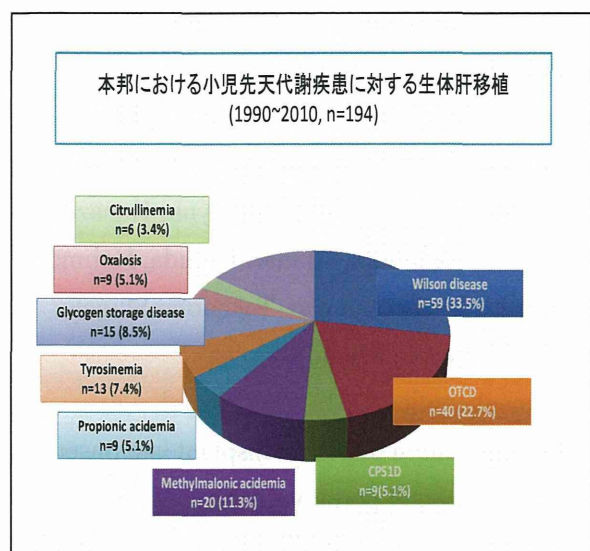
当該治療の成果は、学会報告や学術雑誌、データベース上等で公表されることがあるが、匿名化を行うなど、個人情報を保護する。

### C.研究結果

先天代謝異常に対する小児期の生体肝移植は1987年～2010年末までに194例実施されている(図1)。銅代謝異常で肝硬変に至るWilson病が59例(33.5%)と最多で、尿素サイクル異常症(オルニチントランスカルバミラーゼ欠損症 OTCD, カルバミルリン酸合成酵素1欠損症 CPS1D) 49例(27.8%)、有機酸代謝異常症(メチルマロン酸血症、プロピオン酸血症) 29例(16.4%)と続く。代謝性疾患に対する生体肝移植の累積生存率は1年5年10年で90.0%、84.8%、82.9%と安定した成績の治療手段である2)。Wilson病・尿素サイクル異常症・有機酸代謝異常症の累積生存率は5年10年で87.8%、86.6%・95.2%、95.2%・85.0%、85.0%と比較的良好であるが、高シュウ酸尿症(Oxalosis)は累積生存率50%、50%<sup>4</sup>と非常に悪い。シュウ酸沈着のため、肝移植と同時に腎移植を考慮する必要があるが、単一生体ドナーからの2臓器同時摘出が倫理的に困難であること、肝移植後腎移植までの透析管理が非常に難しいことによると思われる。高シュウ酸尿症1型は、診断が付き次第肝移植を考慮すべきである。

先天代謝異常症に対する小児生体肝移植の年次別累積症例数をみると、2007年以降の尿素サイクル異常症の増加、Wilson病に対する肝移植症例数の減少が明らかである。これは尿素サイクル異常症の長期予後が悪いと報告されてきたこと、尿

素サイクル異常症に対する肝移植成績が良好であると認知されたこと、Wilson 病の早期診断・治療が進歩してきたことがあげられる。



#### D. 考察

上記疾患の中で肝不全（非代償性肝硬変や劇症肝炎）に至る疾患の肝移植適応に異論は少ないと思われるが、欠損酵素を補充する目的で行われる肝移植で、日常診療において肝移植の時期判断に迷う症例が多い。表 1 に提示した症例の中で、内科治療が奏功し臨床症状を認めない症例に、生命予後を左右する可能性のある肝移植医療を推進すべきではないと考えるが、有症状の尿素サイクル異常症、高尿酸血症 I 型、家族性高コレステロール血症は確定診断がつき次第、家族に将来的な肝移植医療の可能性を説明すべきであろう。また糖原病 1b は、血糖コントロールが容易になり、肝移植後に免疫抑制剤を投与しているにも関わらず易感染性が是正されるため、積極的に肝移植を考慮すべきと考えている。

#### E. 結論

代謝性肝疾患に対する肝移植の成績は良好である。ドナー・レシピエントの長期経過を観察する必要がある。

#### F. 健康危険情報

なし

#### 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

1. Pediatric liver-kidney transplantation for hepatorenal fibrocystic disease from a living donor. Sakamoto S, Kasahara M, Fukuda A, Tanaka H, Kakiuchi T, Karaki C, Kanazawa H, Kamei K, Ito S, Nakazawa A. *Pediatr Transplant*. 2012;16:99-102.
2. Portal vein reconstruction in pediatric living donor liver transplantation for patients younger than 1 year with biliary atresia. Kanazawa H, Sakamoto S, Fukuda A, Shigeta T, Loh DL, Kakiuchi T, Karaki C, Miyazaki O, Nosaka S, Nakazawa A, Kasahara M. *J Pediatr Surg*. 2012;47:523-7.
3. Functional recovery of donation after cardiac death liver graft by continuous machine perfusion preservation in pigs. Shigeta T, Matsuno N, Obara H, Mizunuma H, Kanazawa H, Tanaka H, Fukuda A, Sakamoto S, Kasahara M, Uemoto S, Enosawa S. *Transplant Proc*. 2012;44:946-7
4. Pretransplant screening and evaluation of liver graft viability using machine perfusion preservation in porcine transplantation. Obara H, Matsuno N, Enosawa S, Shigeta T, Huai-Che H, Hirano T, Muto M, Kasahara M, Uemoto S, Mizunuma H. *Transplant Proc*. 2012;44:959-61
5. Glycemic management in living donor liver transplantation for patients with glycogen storage disease type 1b. Karaki C, Kasahara M, Sakamoto S, Shigeta T, Uchida H, Kanazawa H, Kakiuchi T, Fukuda A, Nakazawa A, Horikawa R, Suzuki Y. *Pediatr Transplant*. 2012; 16: 465-470.
6. The Role of Liver Transplantation for Congenital Extrahepatic Portosystemic Shunt.

- Sakamoto S, Shigeta T, Fukuda A, Tanaka H, Nakazawa A, Nosaka S, Uemoto S, Kasahara M. Transplantation. 2012;27;93(12):1282-7.
7. Diaphragmatic hernia in infants following living donor liver transplantation: Report of three cases and a review of the literature. Shigeta T, Sakamoto S, Kanazawa H, Fukuda A, Kakiuchi T, Karaki C, Uchida H, Matsuno N, Tanaka H, Kasahara M. *Pediatr Transplant*. 2012; 16: 496-500.
  8. Effective control of Epstein-Barr virus infection following pediatric liver transplantation by monitoring of viral DNA load and lymphocyte surface markers. Imadome KI, Fukuda A, Kawano F, Imai Y, Ichikawa S, Mochizuki M, Shigeta T, Kakiuchi T, Sakamoto S, Kasahara M, Fujiwara S. *Pediatr Transplant*. 2012 ;16(7):748-57
  9. Devastating outflow obstruction after pediatric split liver transplantation. Sakamoto S, Nakazawa A, Shigeta T, Uchida H, Kanazawa H, Fukuda A, Karaki C, Nosaka S, Kasahara M. *Pediatr Transplant*. 2013; 17(1):E25-8.
  10. Detection of portal venous gas by ultrasonography after liver transplantation: a possible early sign of bacterial translocation. Shigeta T, Sakamoto S, Nosaka S, Fukuda A, Kanazawa H, Uchida H, Hamano I, Kasahara M. *Open J Organ Transpl Surg* 2012;8
  11. Usefulness of Monitoring Stroke Volume Variations for Fluid Management during Pediatric Living-Donor Liver Transplantation. Yoshihiro Kasagi, Manabu Hashimoto, Shugo Kasuya, Seisuke Sakamoto, Mureo Kasahara, Yasuyuki Suzuki, Eiichi Inada. *Open Journal of Anesthesiology* 2012;2:146-149
  12. Living Donor Liver Transplantation with Renoport Anastomosis for a Patient with Congenital Absence of the Portal Vein. Hajime Uchida, Seisuke Sakamoto, Takanobu Shigeta, Ikumi Hamano, Hiroyuki Kanazawa, Akinari Fukuda, Chiaki Karaki, Atsuko Nakazawa, Mureo Kasahara. *Case Rep Surg*. 2012;2012:670289.
  13. Living donor liver transplantation with hyper-reduced left lateral segment grafts: a single-center experience. Hiroyuki Kanazawa, Seisuke Sakamoto, Akinari Fukuda, Hajime Uchida, Ikumi Hamano, Takanobu Shigeta, Chiaki Karaki, Mureo Kasahara. *Transplantation*. 2013;95(5):750-4
  14. Recanalization of post-transplant late onset long segmental portal vein thrombosis with bidirectional transhepatic and transmesenteric approach. Nosaka S, Isobe Y, Kasahara M, Miyazaki O, Sakamoto S, Uchida H, Shigeta T, Masaki H. *Pediatr Transplant* 2013; 17(2):E71-5
  15. Incidentally detected cholangiocarcinoma in an explanted liver with biliary atresia after Kasai operation. Fukuda A, Sakamoto S, Kanazawa H, Shigeta T, Karaki C, Hamano I, Uchida H, Kitagawa H, Okuse C, Miyazaki O, Nosaka S, Nakazawa A, Kasahara M. *Pediatr Transplant*. 2013;17(2):E62-66
  16. Reducing the thickness of left lateral segment grafts in neonatal living donor liver transplantation. Mureo Kasahara, Seisuke Sakamoto, Takanobu Shigeta, Hajime Uchida, Ikumi Hamano, Hiroyuki Kanazawa, Megumi Kobayashi, Toshihiro Kitajima, Akinari Fukuda, Mohamed Rela. *Liver Transplantation* 2013;19(2):226-228
  17. Pancreatoblastoma with portal vein involvement in a child: A case report H Tanaka, Y Kitano, H Takayasu, S Matuda, W Yamada, M Kasahara, Y Genma, C Kiyotani, T Mori, K Matsuoka, A Nakazawa, Y



- Fuchimoto, Y Kanamori. *Journal of Solid Tumors* 2013;3(2),44-49
18. Current status of hepatic glycogen storage disease in Japan: clinical manifestations, treatments and long-term outcomes. Jun Kido, Kimitoshi Nakamura, Shirou Matsumoto, Hiroshi Mitsubuchi, Toshihiro Ohura, Yosuke Shigematsu, Tohru Yorifuji, Mureo Kasahara, Reiko Horikawa. *Journal of Human Genetics* 2013 ; 58(5):285-92.
  19. Living donor liver transplantation with alternative porto-left gastric vein anastomosis in patients with post-Kasai extrahepatic portal vein obstruction. Toshihiro Kitajima, Seisuke Sakamoto, Hajime Uchida, Ikumi Hamano, Megumi Kobayashi, Hiroyuki Kanazawa, Akinari Fukuda, Mureo Kasahara. *Pediatric Transplantation* 2013 ; 17(3):E100-3.
  20. Long-term Outcomes of Pediatric Living Donor Liver Transplantation in Japan: An Analysis of More than 2,200 Cases Listed in the Registry of the Japanese Liver Transplantation Society. Mureo Kasahara, Koji Umeshita, Yukihiro Inomata, Shinji Uemoto. *Am J Transplant* 2013;13(7):1830-1839
  21. Transgenic pig expressing the red fluorescent protein kusabira-orange as a novel tool for preclinical studies on hepatocyte transplantation. Shigeta T, Hsu HC, Enosawa S, Matsuno N, Kasahara M, Matsunari H, Umeyama K, Watanabe M, Nagashima H. *Transplant Proc.* 2013;45(5):1808-10.
  22. A Feasible Surgical Approach for Treating Extensive Hepatoblastoma Using a Backup for Living Donor Liver Transplantation: Case Report. Hajime Uchida, Seisuke Sakamoto, Ikumi Hamano, Takanobu Shigeta, Hiroyuki Kanazawa, Chiaki Karaki, Akinari Fukuda, Shunsuke Nosaka, Atsuko Nakazawa, Mureo Kasahara. *Surgical Science* 2013;4:72-76
  23. Impact of rewarming preservation by continuous machine perfusion: improved post-transplant recovery in pigs. Shigeta T, Matsuno N, Obara H, Kanazawa H, Tanaka H, Fukuda A, Sakamoto S, Kasahara M, Mizunuma H, Enosawa S. *Transplant Proc.* 2013;45(5):1684-9.
  24. Impact of the current organ allocation system for deceased donor liver transplantation on the outcomes of pediatric recipients: a single center experience in Japan. Sakamoto S, Uchida H, Hamano I, Shigeta T, Sasaki K, Kanazawa H, Fukuda A, Kasahara M. *Pediatr Surg Int.* 2013;29:1109-1114
  25. Hepatocyte transplantation using a living donor reduced-graft in a baby with ornithine transcarbamylase deficiency: a novel source for hepatocytes. Shin Enosawa , Reiko Horikawa, Akiko Yamamoto, Seisuke Sakamoto, Takanobu Shigeta, Shunsuke Nosaka, Junichiro Fujimoto, Akito Tanoue, Kazuaki Nakamura, Akihiro Umezawa, Yoichi atsubara, Akira Matsui, Mureo Kasahara. *Liver Transpl.* 2013 Nov 23. doi: 10.1002/lt.23800. [Epub ahead of print]

## 2.学会発表

1. 内田 孟, 阪本靖介, 福田晃也, 金澤寛之, 唐木千晶, 濱野郁美, 堀川玲子, 笠原群生: 当院における糖原病 1b 型に対して施行した生体肝移植例の検討. 第 48 回日本移植学会, 名古屋, 2012/9/22

2. 藤丸拓也, 岡田麻理, 宮園明典, 佐藤舞, 小  
椋雅夫, 亀井宏一, 伊藤秀一, 宮下健悟, 堀  
川玲子, 田中秀明, 笠原群生: メチルマロン  
酸血症に対する ABO 不適合腎移植術の 1 例  
(優秀演題賞 腎移植部門). 第 34 回日本小  
児腎不全学会学術集会, 州本, 2012/09/14

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

## 別紙 4

## 研究成果の刊行に関する一覧表レイアウト

## 書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者	出版年	ページ
厚生労働科学研究費補助金難治性疾患等克服研究事業 肝移植班	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	分担研究者 笠原群生	2014	40

## 雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Sakamoto S, <u>Kasahara M</u> , Fukuda et al	Pediatric liver-kidney transplantation for hepatorenal fibrocystic disease from a living donor.	Pediatr Transplant.	16	99-102	2012
Kanazawa H, Sakamoto S, Fukuda A, Shigeta T, Loh DL, , Nosaka S, Nakazawa A, <u>Kasahara M</u>	Portal vein reconstruction in pediatric living donor liver transplantation for patients younger than 1 year with biliary atresia.	J Pediatr Surg.	47	523-7	2012
Shigeta T, Fukuda A, Sakamoto S, <u>Kasahara M</u> , Uemoto S, Enosawa S. et al	Functional recovery of donation after cardiac death liver graft by continuous machine perfusion preservation in pigs.	Transplant Proc.	44	946-7	2012
Karaki C, <u>Kasahara M</u> , Sakamoto S, Shigeta T, Uchida H, et al	Glycemic management in living donor liver transplantation for patients with glycogen storage disease type 1b.	Pediatr Transplant.	16	465-470	2012
Sakamoto S, Shigeta T, Fukuda A, Nosaka S, Uemoto S, <u>Kasahara M</u> .et al	The Role of Liver Transplantation for Congenital Extrahepatic Portosystemic Shunt.	Transplantation	27;9 3 (12)	1282-7	2012
Shigeta T, Sakamoto S, Kanazawa H, Fukuda A, Kakiuchi <u>Kasahara M</u> .et al	Diaphragmatic hernia in infants following living donor liver transplantation: Report of three cases and a review of the literature.	Pediatr Transplant.	16	496-500	2012
Imadome KI, Fukuda A, Kawano F, Imai Y, Ichikawa S, Mochizuki M, Shigeta T, Kakiuchi T, Sakamoto S, <u>Kasahara M</u> , Fujiwara S.	Effective control of Epstein-Barr virus infection following pediatric liver transplantation by monitoring of viral DNA load and lymphocyte surface markers.	Pediatr Transplant.	16(7)	748-57	2012
Sakamoto S, Nakazawa A, <u>Kasahara M</u> . et al	Devastating outflow obstruction after pediatric split liver transplantation.	Pediatr Transplant.	17(1)	E25-8.	2013

Shigeta T, Sakamoto S, Nosaka S, Fukuda A, Kanazawa H, Uchida H, Hamano I, <u>Kasahara M.</u>	Detection of portal venous gas by ultrasonography after liver transplantation: a possible early sign of bacterial translocation.	Open J Organ Transpl Surg	8		2012
Yoshihiro Kasagi, Manabu Hashimoto, Seisuke Sakamoto, Mureo Kasahara, et al	Usefulness of Monitoring Stroke Volume Variations for Fluid Management during Pediatric Living-Donor Liver Transplantation.	Open Journal of Anesthesiology	2	146-149	2012
Hajime Uchida, Seisuke Sakamoto, Takanobu Shigeta, <u>Mureo Kasahara.</u> et al	Living Donor Liver Transplantation with Renoportal Anastomosis for a Patient with Congenital Absence of the Portal Vein.	Case Rep Surg.	2012	670289	2012;
Hiroyuki Kanazawa, Seisuke Sakamoto, <u>Mureo Kasahara.</u> et al	Living donor liver transplantation with hyper-reduced left lateral segment grafts: a single-center experience.	Transplantation	95(5)	750-4	2013
Nosaka S, Isobe Y, <u>Kasahara M,</u> Miyazaki O, Sakamoto S, Uchida H, Shigeta T, Masaki H.	Recanalization of post-transplant late onset long segmental portal vein thrombosis with bidirectional transhepatic and transmesenteric approach.	Pediatr Transplant	17(2)	E71-5	2013;
Fukuda A, Sakamoto S, Kanazawa H, <u>Kasahara M.</u> et al	Incidentally detected cholangiocarcinoma in an explanted liver with biliary atresia after Kasai operation.	Pediatr Transplant	17(2)	E62-66	2013;
<u>Mureo Kasahara,</u> Seisuke Sakamoto, Takanobu Shigeta, et al	Reducing the thickness of left lateral segment grafts in neonatal living donor liver transplantation.	Liver Transplantation	19(2)	226-228	2013
H Tanaka, Y Kitano, <u>M Kasahara,</u> et al	Pancreatoblastoma with portal vein involvement in a child: A case report	Journal of Solid Tumors	3(2)	44-49	2013
Jun Kido, Kimitoshi Nakamura, Shirou Matsumoto, , Mureo Kasahara, et al	Current status of hepatic glycogen storage disease in Japan: clinical manifestations, treatments and long-term outcomes.	Journal of Human Genetics	58(5)	:285-92	2013
Toshihiro Kitajima, Seisuke Sakamoto, Hajime Uchida, Ikumi Hamano, Hiroyuki Kanazawa, Akinari Fukuda, Mureo Kasahara et al	Living donor liver transplantation with alternative porto-left gastric vein anastomosis in patients with post-Kasai extrahepatic portal vein obstruction.	Pediatric Transplantation	17(3)	E100-3	2013
<u>Mureo Kasahara,</u> Koji Umeshita, Yukihiro Inomata, Shinji Uemoto.	Long-term Outcomes of Pediatric Living Donor Liver Transplantation in Japan: An	Am J Transplant	13(7)	1830-1839	2013

	Analysis of More than 2,200 Cases Listed in the Registry of the Japanese Liver Transplantation Society.				
Shigeta T, Hsu HC, Enosawa S, Matsuno N, <u>Kasahara M</u> , Matsunari H, et al	Transgenic pig expressing the red fluorescent protein kusabira-orange as a novel tool for preclinical studies on hepatocyte transplantation.	Transplant Proc.	45(5)	1808-10	2013;
Hajime Uchida, Seisuke Sakamoto, , <u>Mureo Kasahara</u> . et al	A Feasible Surgical Approach for Treating Extensive Hepatoblastoma Using a Backup for Living Donor Liver Transplantation: Case Report.:	Surgical Science	4:	72-76	2013
Shigeta T, Matsuno N, Obara H, Kanazawa H, Tanaka H, Fukuda A, Sakamoto S, <u>Kasahara M</u> , et al	Impact of rewarming preservation by continuous machine perfusion: improved post-transplant recovery in pigs.	Transplant Proc	45(5)	1684-9.	2013
Sakamoto S, Uchida H, Hamano I, Shigeta T, Sasaki K, Kanazawa H, Fukuda A, <u>Kasahara M</u> .	Impact of the current organ allocation system for deceased donor liver transplantation on the outcomes of pediatric recipients: a single center experience in Japan.	Pediatr Surg Int.	29	1109-1114	2013:
Shin Enosawa , Reiko Horikawa, Akiko Yamamoto, Seisuke Sakamoto, Takanobu Shigeta, Shunsuke Nosaka, Junichiro Fujimoto, Akito Tanoue, <u>Mureo Kasahara</u> .	Hepatocyte transplantation using a living donor reduced-graft in a baby with ornithine transcarbamylase deficiency: a novel source for hepatocytes.	Liver Transplantation		Nov 23. doi: 10.1002/lt.23800 . [Epub ahead of print]	2013

## 国内の副腎白質ジストロフィーに対する造血細胞移植成績

研究分担者 加藤 剛二<sup>1)</sup>

研究協力者 矢部 普正<sup>2)</sup>、加藤 俊一<sup>2)</sup>、足立 壮一<sup>3)</sup>、橋井 佳子<sup>4)</sup>、河 敬世<sup>5)</sup>、熱田 由子<sup>6)</sup>  
1) 名古屋第一赤十字病院小児医療センター血液腫瘍科 部長, 2) 東海大学再生医療科学, 3) 京都大学人間健康科学科 教授, 4) 大阪大学小児科 講師, 5) 日本赤十字社近畿ブロック血液センター 所長, 6) 名古屋大学造血細胞移植情報管理・生物統計学 講師

### 研究要旨

進行性の脱髄性疾患である副腎白質ジストロフィー（以下ALD）に対する国内での同種造血細胞移植成績を日本造血細胞移植学会に蓄積されたデータを基に解析した。1988年から2010年までに76例に対して骨髄移植48例、臍帯血移植28例が実施された。生着は59例に得られ、10年生存率は83.7%。同無病生存率は64.1%であった。多変量解析にて前処置の骨髄移植および全身放射線照射施行が予後良好因子であり、また2005年以降の臍帯血移植の成績向上が認められた。

### A.研究目的

ALDは有効な薬物療法がなく発症早期の造血細胞移植のみが臨床的に有効な治療法とされている。このため国内での造血細胞移植成績を解析し、その予後因子を解析して今後の治療の方向性を検討することを目的とした。

### B.研究方法

日本造血細胞移植学会に蓄積された国内の造血細胞移植データから全ALD症例を抽出し、移植前処置、移植細胞、移植年代等を変数として単変量解析および多変量解析を行った。

なお個人情報は匿名化されており、日本造血細胞移植学会への報告に関する了解は得られているため倫理的な配慮はなされていると考えられる。

### C.研究結果

国内では1988年から2010年までに76例に対して造血細胞移植が実施され、移植細胞は骨髄48例（同胞26例、非同胞血縁5例、非血縁17例）、臍帯血28例（同胞1例、非血縁27例）であった。一時的生着は65例に得られたが永続的生着は59例であった。76例中10例が死亡し（移植関連合併症死亡は8例）、10年生存率(OS)は83.7%。生着不全と死亡を考慮した10年無イベント生存率

(EFS)は64.1%であった。EFSの予後因子解析では前処置の全身放射線療法、および移植細胞の骨髄が予後良好因子であった。また移植細胞源別では骨髄移植と臍帯血移植の10年OSおよびEFSはそれぞれ83.8%、88.5%( $P=0.751$ )、78.7%、53.3%( $P=0.022$ )であったが臍帯血移植のOSは2005年以降、2004年以前と比較して改善の傾向にあった(94.7% vs 68.6%、 $P=0.090$ )。

図1. 移植細胞源別無病生存率

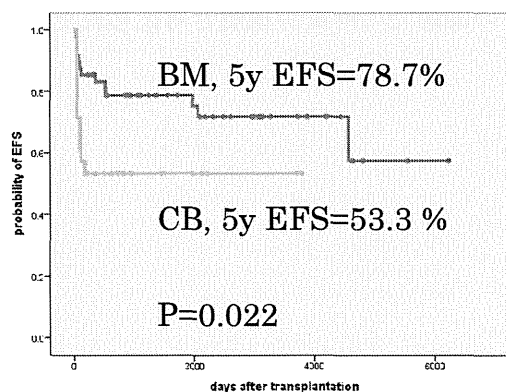
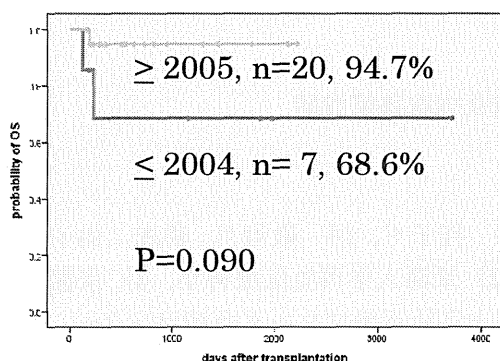


図2. 臍帯血移植における移植年代別生存率



#### D. 考察

ALD に対する造血細胞移植は 1988 年以来様々な移植前処置および移植細胞源を用いて実施されてきた。よりよい移植成績を得るためには症例に応じた至適前処置および移植細胞を選択することが重要である。進行性でかつ不可逆性の本疾患においては診断後早期の造血細胞移植を安全に施行することが重要であるが今回の解析で 2005 年以降、従来成績不良であった臍帯血移植の成績向上が確認され緊急的移植に対応可能であることが明確になった。また至適前処置としての全身放射線照射の重要性も確認された。

#### E. 結論

ALD の造血細胞移植において前処置の全身放射線照射は無病生存率の予後良好因子であり、今後の移植に用いられるべきであり、また臍帯血も積極的に用いるべきと考えられた。今後は神経学的予後との関連での解析が重要と考えられた。

#### F. 健康危険情報

なし

#### 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

Kato K, Yoshida N, Matsumoto K, Matsuyama T. Fludarabine, cytarabine, granulocyte colony-stimulating factor and melphalan (FALG with L-PAM) as a reduced toxicity conditioning regimen in children with acute leukemia. *Pediatr Blood Cancer*. 2014 ;61:712-6

##### 2. 学会発表

加藤剛二、矢部普正、加藤俊一、足立壮一、橋井佳子、河敬世、熱田由子、国内における副腎白質ジストロフィーに対する同種造血細胞移植成績、第 35 回日本造血細胞移植学会総会 2013 年 3 月 9 日 金沢

#### 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

別紙 4

研究成果の刊行に関する一覧表レイアウト

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kato K, Yoshida N, Matsumoto K, Matsuyama T.	Fludarabine, cytarabine, granulocyte colony-stimulating factor and melphalan (FALG with L-PAM) as a reduced toxicity conditioning regimen in children with acute leukemia.	Pediatric Blood and Cancer	61	712-716	2014



## 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<sup>1)</sup> 准教授

研究協力者 大橋 十也<sup>1)</sup> 教授, 若林 太一<sup>2)</sup>

1) 東京慈恵会医科大学総合医科学研究センター遺伝子治療研究部

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食細胞系として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た第 2 世代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 293T 細胞に対し Co transfection, 上清を超速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の希釈系列を作って感染させ、酵素活性を計測した。

・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剤を加え、更に stem cell factor である SCF, Flt-Ligand も加えた。一晚の感染の後に細胞を回収して治療に使用した。

#### 3. 週齢 8-9 マウスへの投与：

週齢 8-9 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。一晚感染させた後に 10<sup>6</sup> 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。

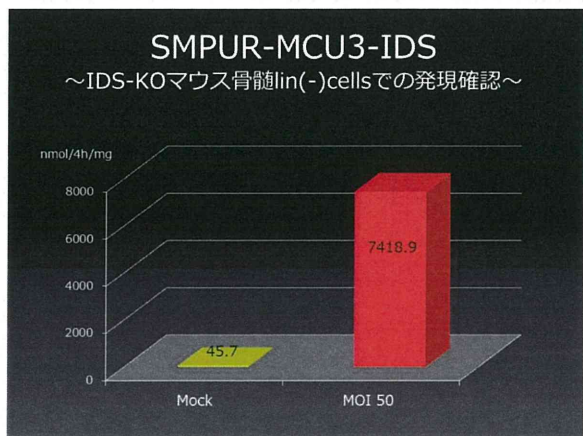
(倫理面への配慮)

東京慈恵会医科大学動物実験委員会の承認を得た上で、実験動物の苦痛を軽減すべく手続きを経て施行している。

### C. 研究結果

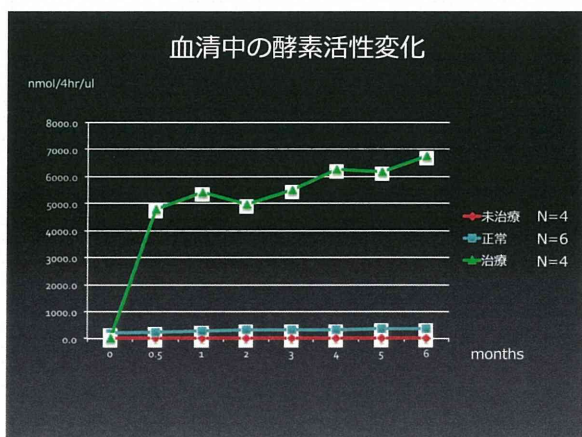
第2世代レンチウイルスベクターに Hunter 病での欠損酵素である human iduronate-2- sulfatase の cDNA をクローニングし、病気マウスの骨髄 lineage negative cells に感染させ酵素発現を in vitro にて確認した (図1)。

図1



8-9 週齢の病気マウスに IDS を発現させた骨髄 lineage negative cells を移植(ex vivo gene therapy)し、その後の血清酵素活性を追ったところ正常よりも 20 倍近く高い結果が動いた(図2)。

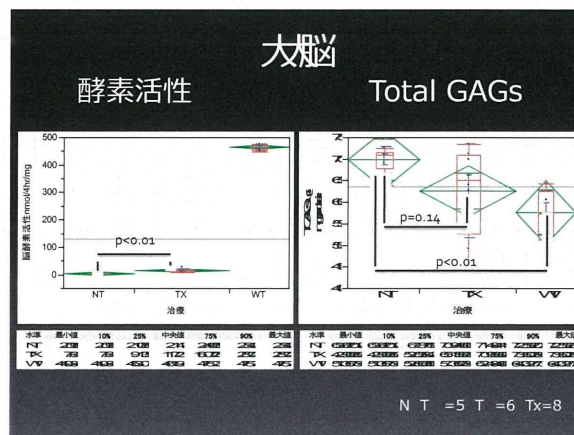
図2



次に移植後 24 週経過後のマウスの大脳の酵素活性と Total GAGs (グリコサミノグリカン) 蓄積物質を評価した。その結果の大脳では正常の 2-3%

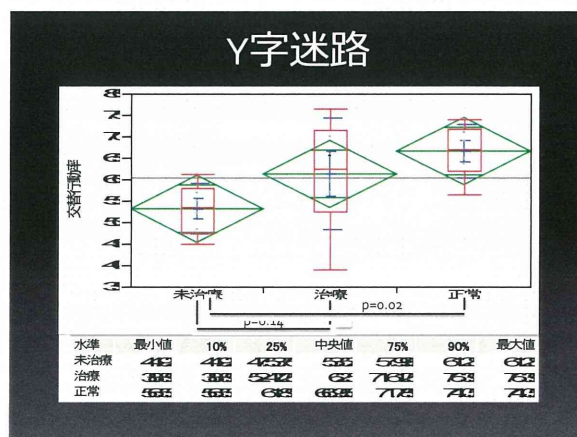
程度の酵素活性が得られ、Total GAGs は未治療マウスに比べて低下傾向が得られた。(図3)

図3



次に、マウスの神経機能として空間認知能力が改善するかを Y 字迷路で評価した。未治療マウスに対して Y 字迷路においても改善傾向を示した。(図4)

図4



### D. 考察

Ex vivo gene therapy による治療により軽度であるが中枢神経での酵素活性の上昇と Total GAGs の低下がみられた。今後は Pathological GAGs という手法をもちいて蓄積物質をより特異的に評価していく。また大脳での酵素活性の上昇が、高いレベルの血清酵素活性が血液脳関門を通過し

たことによるのか、遺伝子導入された骨髄血がマ  
イクログリアに分化し酵素を産生しているのか  
について評価を行う必要がある。そのため、同ウ  
イルスに eGFP を組み込み同じプロトコールで治  
療をし、遺伝子導入されたマイクログリアが中枢  
神経系に入り込んでいるかを評価していく予定  
である。

#### E. 結論

ムコ多糖症 II 型に対するレンチウイルスベクタ  
ーによる *exo vivo gene therapy* がモデルマウス  
において有効であり、将来的に臨床応用の可能性  
も示唆される結果と考えられる。

#### 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)

- |         |     |
|---------|-----|
| 1. 論文発表 | 未発表 |
| 2. 学会発表 | 未発表 |

#### 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 |

研究成果の刊行に関する一覧表レイアウト

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の 編集者	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	ページ

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年