

201324052B

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

平成 24～25 年度 総合研究報告書

研究代表者 加藤 俊 一

平成 26 年（2014 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（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

平成 24～25 年度 総合研究報告書

2012-13 Comprehensive Report of the Research Committee of
Establishment of Transplantation for Inborn Errors of Metabolism and
Issue of Guideline,
Research on Rare and Intractable Diseases
Health and Labour Sciences Research Grants,
The Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan

平成 26 年（2014 年）3 月

March, 2014

研究代表者 加藤 俊一

Chairman: Shunichi Kato, MD, PhD.

東海大学医学部

Tokai University School of Medicine

はじめに

本研究班は難治性疾患等克服事業の難治性疾患克服研究事業の一つとして、平成24年度から2年間の研究期間で希少難治性疾患である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を目的として認められたものである。

先天代謝異常症は酵素欠損により中間代謝産物が諸臓器や諸組織に蓄積する病態をとる遺伝性希少疾患である。また、その多くはごく最近まで有効な治療法がなく、乳幼児期から小児期に不幸の転帰をとるものが多かった。

移植療法は欠損する酵素を産生する正常な臓器や細胞を移植することにより、組織中に蓄積した中間代謝産物を減少あるいは消失させることを目的として開発されたものである。主に肝臓中に存在する酵素欠損症に対する肝移植と、ライソゾーム病など血液細胞中にも存在する酵素欠損症に対する造血細胞移植などがある。

わが国においては1980年代から骨髄移植を始めとする造血細胞移植が、1990年代から肝移植が実施されるようになり、適切な時期に適切なドナーから移植を受けた症例では著明な効果がえられている。しかし、移植時期が遅すぎた場合や、移植された臓器や細胞が拒絶された場合などは、移植の効果が得られないばかりか、かえって死期を早める結果になることも少なくない。また、移植に伴う種々の合併症による治療死やQOLの低下もありうる。

2年間という短い研究期間であったため、既存の研究班や関連学会との有機的な連携によってわが国における先天代謝異常症に対する移植の実施状況を調査し、国際的レベルのガイドラインを作成するように努力した。

研究分担者、研究協力者ならびに全国の多数の施設の全面的な協力により、わが国における先天代謝異常症に対する造血細胞移植と肝移植症例のほとんどについての調査を完了し、わが国における移植の実施状況と治療効果を明らかにすることができた。

また、国際的なコンセンサスを踏まえつつ、先天代謝異常症の専門家と造血細胞移植ならびに肝移植の専門家の間で精力的な討議を重ねた結果、わが国における先天代謝異常症に対する造血細胞移植と肝移植のガイドラインを作成することができた。

さらに、先天代謝異常症の診断と移植後の治療効果の評価を行う専門家と、移植を実施する専門家の診療ネットワーク形成について、関連する学会と共同で基盤整備を進めることができた。

研究代表者 加藤俊一

研究組織

研究者名	分担する研究項目	所属研究機関／専門分野	職名
研究代表者			
加藤 俊一	研究計画と統括	東海大学医学部基盤診療学系／造血幹細胞移植・再生医療科学	教授
研究分担者			
足立 壮一	副腎白質ジストロフィーに対する造血細胞移植に関する研究	京都大学医学研究科人間健康科学系専攻／血液腫瘍学	教授
飯田 美奈子	臨床研究進捗管理と移植成績の統計解析に関する研究	愛知医科大学医学部造血細胞移植振興寄附講座／造血幹細胞移植	助教
猪股 裕紀洋	先天代謝異常症に対する肝移植に関する研究	熊本大学大学院生命科学研究部／小児外科学	教授
上本 伸二	先天代謝異常症に対する肝移植の成績向上に関する研究	京都大学（医学研究科）／肝臓移植	教授
遠藤 文夫	先天代謝異常症に対する移植療法のガイドライン作成に関する研究	熊本大学大学院生命科学研究部小児科学分野／先天代謝異常症	教授
奥山 虎之	先天代謝異常症に対する移植療法と酵素補充療法の効果効果の比較に関する研究	国立成育医療研究センター／先天代謝異常症	診療部長
笠原 群生	先天代謝異常症に対する肝移植の確立に関する研究	（独）国立成育医療研究センター・臓器移植センター／肝移植	センター長
加藤 剛二	副腎白質ジストロフィーに対する造血細胞移植に関する研究	名古屋第一赤十字病院小児血液腫瘍科／造血細胞移植	小児科部長
小林 博司	先天代謝異常症に対する移植治療モデルに関する研究	東京慈恵会医科大学DNA医学研究所遺伝子治療研究部／先天代謝異常症	准教授
酒井 規夫	異染性ロイコジストロフィー、クラッペ病に対する造血細胞移植に関する研究	大阪大学大学院医学系研究科小児科／小児神経、代謝疾患	准教授
新開 真人	肝移植による先天代謝異常症の治療に関する研究	神奈川県立こども医療センター外科／肝移植	部長
田中 あけみ	ムコ多糖症に対する造血細胞移植の効果評価に関する研究	大阪市立大学大学院医学研究科／小児科学・先天代謝異常症	准教授

田 瀨 健	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	都立駒込病院小児科／造血細胞移植・医療統計学	医長
辻 省次	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に関する研究	東京大学医学部附属病院神経内科／神経内科学	教授
麦島 秀雄	ムコ多糖症に対する造血細胞移植に関する研究	日本大学医学部小児科学系小児科学分野／造血細胞移植	教授
八幡 崇	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	東海大学医学部基盤診療学系再生医療科学／造血発生学	准教授
矢部 普正	先天代謝異常症に対する治療法の確立に関する研究	東海大学医学部基盤診療学系／小児血液学・造血幹細胞移植	准教授
渡邊 順子	I-cell病に対する造血細胞移植に関する研究	久留米大学医学部小児科学教室／先天代謝異常症	講師
研究協力者			
梅下 浩司	肝移植の全国登録に関する研究	大阪大学大学院医学研究科／保健学	教授
大橋 十也	先天代謝異常症に対する遺伝子治療に関する研究	東京慈恵会医科大学DNA医学研究所／遺伝子治療	教授
加我 牧子	副腎白質ジストロフィーの治療効果に関する研究	国立精神神経医療研究センター精神保健研究所／脳神経生理学	所長
下澤 伸行	副腎白質ジストロフィーに関する研究	岐阜大学生命科学総合研究支援センター／先天代謝異常症	教授
鈴木 康之	副腎白質ジストロフィーに関する研究	岐阜大学医学教育開発研究センター	教授
高倉 広充	先天代謝異常症における造血細胞移植に関する研究	東海大学医学部小児科／先天代謝異常症	助教
芳野 信	I-cell病に関する研究	久留米大学高次脳疾患研究所	教授
水田 耕一	OTCD/CPSIDに対する肝移植の研究	自治医科大学移植外科／肝移植	准教授
林田 真	糖原病に対する肝移植の研究	九州大学小児外科／肝移植	助教

目 次

I. 総括研究報告	1
研究代表者 加藤 俊一	
II. 分担研究報告	
1. 副腎白質ジストロフィーに対する造血細胞移植に関する研究	9
研究分担者 足立 壮一	
2. 「Treosulfan を用いた先天性代謝異常に対する移植前処置の開発第1相試験」 臨床研究進捗管理報告	15
研究分担者 飯田 美奈子	
3. 有機酸代謝異常症 (Organic acidemia) に対する肝移植成績とガイドライン	19
研究分担者 猪股 裕紀洋	
4. 先天性胆汁酸代謝異常症および胆汁酸移送トランスポーター異常症に対する 肝移植のガイドラインの作成	27
研究分担者 上本 伸二	
5. 診療ネットワークに関する研究	31
研究分担者 遠藤 文夫	
6. 先天代謝異常症診療ネットワーク (造血細胞移植)	39
研究分担者 奥山 虎之	
7. わが国における高シュウ酸尿症に対する肝移植成績	45
研究分担者 笠原 群生	
8. 副腎白質ジストロフィーに対する造血細胞移植ガイドライン	55
研究分担者 加藤 剛二	
9. 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	59
研究分担者 小林 博司	
10. 異染性白質ジストロフィー、クラッペ病に対する造血細胞移植成績と ガイドライン	63
研究分担者 酒井 規夫	
11. Wilson 病に対する小児肝移植成績とガイドライン	69
研究分担者 新開 真人	
12. ムコ多糖症 II 型における造血幹細胞移植の適応に関するガイドライン	75
研究分担者 田中 あけみ	
13. 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	81
研究分担者 田淵 健	

14. 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	85
研究分担者 辻 省次	
15. 先天代謝異常症の造血細胞移植における脱分化脂肪細胞の生着促進効果に 関する検討	87
研究分担者 麦島 秀雄	
16. 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	93
研究分担者 八幡 崇	
17. Treosulfan を用いた先天性代謝異常に対する移植前処置の開発；第 I 相試験	97
研究分担者 矢部 普正	
18. I-cell 病に対する造血細胞移植成績とガイドライン	111
研究分担者 渡邊 順子	
19. 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 ～尿素サイクル異常症～	115
研究協力者 水田 耕一	
20. 糖原病	119
研究協力者 林田 真	
Ⅲ. ガイドライン	
1. 先天代謝異常症に対する造血細胞移植ガイドライン	125
2. 先天代謝異常症に対する肝移植ガイドライン	152
Ⅳ. 研究成果の刊行に関する一覧表	197

I . 総括研究報告

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 加藤 俊一 東海大学医学部基盤診療学系再生医療科学 教授

研究要旨

遺伝性難治性希少疾患である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を目的として、以下の研究を実施した。

1. わが国における先天代謝異常症に対する造血細胞移植と肝移植の実施状況について全国的な疫学調査を実施した。（後方視的研究）
2. 造血細胞移植における移植方法の改良プロトコル案を作成し、前向き臨床研究を計画した。（前方視的研究）
3. 移植実施のためのネットワーク、移植による治療効果を評価する全国的なネットワーク構築のための検討を行った。
4. 関連学会や他の研究班と共同で移植治療と評価方法に関するガイドライン作成のための検討を行った。
5. 海外の移植情報の収集を行った。
6. 関連疾患の患者会を開催し、情報提供を行った。
7. 新しい細胞治療法開発のための基礎研究を行った。

A. 研究目的

先天代謝異常症の根本的な治療としては欠損している酵素の定期補充療法と造血細胞移植や臓器移植などの移植療法がある。わが国においては1983～2010年の期間に約220例の造血細胞移植、1990～2009年の期間に約180例の肝移植が実施されているが、疾患別の治療法や治療効果についての詳細な解析は十分には行われていない。本研究においてはわが国における先天代謝異常症に対する移植療法について全国的な規模による調査研究と多施設共同研究を行うことを目的とした。

- ① 移植症例の詳細調査（後方視的研究）
- ② 造血細胞移植における移植方法の統一と前向き登録による臨床研究（前

方視的研究）

- ③ 移植ネットワークの構築
- ④ 移植による治療効果の評価と評価医療機関のネットワーク構築
- ⑤ 関連学会や他の研究組織と共同で移植治療と評価方法に関するガイドライン作成
- ⑥ 新しい細胞治療法開発のための基礎研究（iPS細胞など）
- ⑦ 海外の移植情報の収集と国際共同研究への参加

B. 研究方法

1. 研究期間全体を通じた研究方法

本研究においてはわが国における先天

代謝異常症に対する移植療法について全国的な規模による調査研究と多施設共同研究を行いたい。

- ① 移植症例の詳細調査 (後方視的研究)
- ② 造血細胞移植における移植方法の統一と前向き登録による臨床研究 (前方視的研究)
- ③ 移植ネットワークの構築
- ④ 移植による治療効果の評価と評価医療機関のネットワーク構築
- ⑤ 関連学会や他の研究組織と共同で移植治療と評価方法に関するガイドライン作成
- ⑥ 新しい細胞治療法開発のための基礎研究 (iPS細胞など)
- ⑦ 海外の移植情報の収集と国際共同研究への参加

2. 24年度に実施した研究方法

(1) 班会議の開催

2年間という短期間で確実に成果をあげるために、頻回に班会議を開催して研究班としての研究計画、研究の実施、情報の共有などに務めた。

第1回：平成24年5月11日 国立成育医療研究センターにて

- ・研究班の目的と計画
- ・研究方法についての検討

第2回：平成24年7月27日 国立成育医療研究センターにて

・後方視的研究 (先天代謝異常症に対する造血細胞移植、肝移植) の計画書作成

・前方視的研究 (造血細胞移植、L-シトルリン) の計画書作成

第3回：平成24年12月1日 パシフィコ横浜会議センターにて

・Duke大学Kurtzberg教授の講演と意見交換

第4回：平成25年2月8日 東京慈恵会医科大学にて

- ・平成24年の研究成果報告
- ・平成25年度の研究計画

* 患者会フォーラム：平成24年8月5日

キャンパスイノベーションセンター (東京・田町)

本研究班と密接に関連する奥山班と合同で研究対象となる先天代謝異常症の患者会フォーラムを開催し、欧州で患者会活動を行っているサマンサパーカー女史を招いて、日欧の患者会交流を支援した。15の患者会から126名の参加があった。

(2) 研究の方法

A. 先天代謝異常の診断と治療効果評価のためのネットワーク構築

研究計画に沿って、日本先天代謝異常学会と共同して同学会のガイドライン策定委員会の協力のもとに、肝臓移植対象疾患である尿素サイクル異常症、メルクマロン酸血症、プロピオン酸血症の診断基準の作成をおこなった。この基準策定に参加した、専門医のネットワークの構築を進めた。

また、アメリカにおいて最も多く先天代謝異常症に対する造血細胞移植を行っているDuke大学のKurtzberg教授が関連の学会 (第54回 日本小児血液・がん学会総会) で来日した折りに講演会と第3回班会議を開き、先天代謝異常症に対する造血細胞移植の治療効果とその評価法などについてKurtzberg教授との意見交換を行った。

B. 移植症例に関する研究

①後方視的調査研究 (過去の移植症例の一次ならびに二次調査)

造血細胞移植については日本小児血液学会造血細胞移植委員会 (前委員長：加藤俊一、現委員長：矢部普正)、日本造血細胞移植学会移植データ一元化遺伝性疾患ワーキング・グループ (責任者：矢部普正) ならびに関連する厚生労働省研究班 (平成11～16年度辻班、17～22年度西澤班、19～24年度衛藤班、19～23年度奥山班) において行っていた後方視的研究を本班にて継続することとした。

日本造血細胞移植学会が一元的に管理している造血細胞移植データの利用 (一次調査) 申請と二次調査の倫理審査申請を行い、先天代謝異常症における249例の造血細胞移植データを手に入れた。二次調査について学会ならびに研究代表者施設の倫理承認を得て、各施設への依頼作業を開始した。

肝移植については日本肝移植研究会に登録された194症例について一次調査を行い、それらの症例についての二次調査に関する倫理審査承認がえられ、移植に関する詳細データの収集を開始

した。

②前方視的臨床研究

先天代謝異常症に対する造血細胞移植の成績を改善する目的で統一前処置を用いた前向き臨床研究を計画し、プロトコルの中央審査を終了し、参加予定施設での倫理審査申請または準備を行った。

また、OTC欠損症、CPS I欠損症患者に対するL-シトルリンの投与試験を実施し、コアの施設を結ぶコンソーシアムを立ち上げを検討した。

C. 臨床研究の支援

臨床研究支援組織 (C-SHOT) における臨床研究の進捗管理と報告データの入力体制が整い、前向き臨床試験の開始が可能となった。

D. 基礎研究の推進

研究計画に基づき以下の基礎研究が進捗している。

- ① 代謝異常マウスにおける移植モデルの作成
- ② ヒト臍帯血の神経系細胞への分化と造血細胞移植による脳神経系障害修復に関するマウスモデルの作成
- ③ 副腎白質ジストロフィー患者からのiPS細胞の作成
- ④ 間葉系幹細胞の造血細胞移植への応用に関する開発

E. ガイドラインの作成

わが国における移植成績を基に、先天代謝異常症に対する移植ガイドラインを作成した。

- ① 先天代謝異常症に対する造血細胞移植ガイドライン
- ② 先天代謝異常症に対する肝移植ガイドライン

倫理面への配慮

・先天代謝異常症に対する造血細胞移植の二次調査 (後方視研究)

主たる施設 (東海大学) における初回承認: 平成24年7月19日

日本造血細胞移植学会倫理審査: 平成24年11月27日

主たる施設における変更申請の承認: 平成24年12月18日

・先天代謝異常症に対する肝移植の二次調査 (後方視的研究)

主たる施設 (国立成育医療研究センター) における承認: 平成24年7月27日

・Treosulfanを用いた先天性代謝異常に対する移植前処置の開発 (前方視的研究)

主たる施設 (東海大学) における倫理審査: (平成25年2月12日条件付承認)

・臨床研究の登録状況

Treosulfan: UMINへの登録準備中

C. 研究成果

1. 研究班全体としての研究成果

- ① 先天代謝異常の診断と治療効果評価のためのネットワーク構築

関連する日本先天異常学会 (理事長: 遠藤文夫; 研究分担者) との有機的な連携により、同学会のガイドライン策定委員会の協力のもとに肝移植の対象疾患の診断基準作成を行った。この基準策定に参加した専門医によるネットワークの構築に着手し、順調に進捗している。

(遠藤文夫、奥山虎之、酒井規夫、田中あけみ、辻 省次、渡邊順子)

- ② 先天代謝異常症に対する造血細胞移植ならびに肝移植症例の後方視的調査研究

関連する日本造血細胞移植学会、日本肝移植研究会の協力のもとに、先天代謝異常症に対する造血細胞移植と肝移植症例の一次調査を円滑に開始した。わが国における移植に関する本格的な実態調査として極めて意義のあるものであり、一次調査を踏まえた二次調査と併せて今後のガイドラインの作成や行政面での活用が期待できるものと考えられる。

また、Duke大学のKurtzberg教授との意見交換は国際的にも希少疾患である先天代謝異常症に対する造血細胞移植の情報共有という点で極めて有用であった。

(造血細胞移植: 足立壮一、加藤俊一、加藤剛二、田淵 健、麦島秀雄、矢部普正)

(肝移植: 猪股裕紀洋、上本伸二、笠原群生、新開真人)

- ③ 先天代謝異常症に対する前方視的臨床研究

厚生労働省による臨床研究に関する倫理指針を遵守して前方視的臨床研究を進める場合には、研究計画立案から倫理審査までにそれぞれ数ヶ月以上の期間が必要である。 Treosul

fanを用いた造血細胞移植の臨床研究（研究分担者：矢部普正）においては、研究計画に十分な時間をかけ慎重に行った。

④ 対象疾患の患者会フォーラムの開催と国際交流

先天代謝異常症のような遺伝性希少疾患においては、疾患を有する患者とその家族への情報提供による早期診断と早期治療の推進が重要となる。本研究班と密接に関連する奥山班と合同で患者会フォーラムを開催し、国内のみならず国際的なネットワークを構築することができたことは、学術的にも社会的にも極めて意義深いものと考えられる。

また、2012年6月にオランダで開催された第12回国際ムコ多糖症と関連疾患に関する国際シンポジウムに参加し、わが国におけるムコ多糖症Ⅱ型への造血細胞移植の成績を発表するとともに、欧米の研究者と学術的な交流を行った。同シンポジウム期間中に開催された国際的な患者会にわが国からの患者家族が参加するための支援を行った。今後アジア地区における日本の果たすべき役割は大きく、継続的に協力を行っていくべきものと考えている。（田中あけみ、加藤俊一）

⑤ 臨床試験支援システムの構築

後方視的調査研究（造血細胞移植）については研究分担者（田淵 健）が日本造血細胞移植学会ならびに日本小児血液・がん学会の登録業務の中心となっていることから、円滑に支援システムを構築できた。

また肝移植においても日本肝移植研究会の登録事務局（大阪大学外科）との連携が円滑に進められ、研究分担者（笠原群生他）を中心にして研究が進行している。

前方視的臨床研究については、この分野で多数の実績を有するC-SHOTの全面的な協力により、研究分担者（飯田美奈子）を中心として支援システムを構築することができた。

⑥ ガイドラインの作成

欧米におけるガイドラインを参考にしながら、わが国における移植成績を基にして先天代謝異常症に対する移植ガイドラインを作成した。

作成にあたっては代謝異常の専門家と移植療法の専門家の間で精力的な討議を重ね、現段階におけるコンセンサスを形成することができた。

造血細胞移植のガイドラインは、今後日本先天代謝異常学会と日本造血細胞移植学会のガイドラインとして、肝移植のガイドラインは、日本先天代謝異常学会と日本肝移植研究会のガイドラインとして活用されることとなっている。

2. 分担研究項目の成果

上記の研究班全体の研究以外の成果は以下のとおりである。

① ムコ多糖症Ⅱ型（Hunter病）における造血細胞移植

わが国におけるムコ多糖症Ⅱ型における造血細胞移植について論文化を行った。

（田中あけみ、奥山虎之、矢部普正、加藤剛二、足立壮一、麦島秀雄、加藤俊一が著者）

② 先天代謝疾患マウスの移植モデル（小林博司）

ムコ多糖症Ⅱ型（MPSⅡ）のモデルマウスに対し、遺伝子治療を行った。

③ ヒト臍帯血移植による脳神経系障害修復に関するマウスモデルの作成（八幡 崇）

ヒト臍帯血中の幹細胞が神経系細胞に分化しうるかをマウスのモデルで検討した。

④ 副腎白質ジストロフィー患者からのiPS細胞の作成（足立壮一）

副腎白質ジストロフィー患者の皮膚からiPS細胞を作成中である。

⑤ 間葉系幹細胞の造血細胞移植への応用に関する開発（麦島秀雄）

間葉系細胞（MSC）を造血細胞移植に応用するための基礎的研究を行った。

D. 考察

2年間という短期間に集中的に研究を行う計画で、年度初めから頻回の班会議やメール会議を開催し、研究班全体での計画と班員間での分担作業を進めた。

先天代謝異常症は希少疾患であり、根治療法としての造血細胞移植や肝移植の持つ重要性は臨床現場で直接活用されるものである。また、難治性疾患である先天代謝異常症においては移植療法以外に酵素補充療法が開発され、両者の比較、使い分け、併用法などについてのガイドラインが完成したことにより、今後の活用が期待されることである。

E. 結論

遺伝性難治性希少疾患である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を目的として、後方視的疫学調査研究、前方視的臨床研究、診療ネットワークの構築、ガイドラインの作成、海外の研究者との情報交換、該当疾患の患者会への情報提供、新しい細胞治療法開発のための基礎研究などを行った。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

別途掲載

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

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
総合研究報告書

副腎白質ジストロフィーに対する造血細胞移植に関する研究

研究分担者 足立 壮一 京都大学大学院医学研究科人間健康科学 教授

研究要旨

副腎白質ジストロフィー(ALD)は副腎不全、中枢神経系の脱髄を主体とする X 連鎖性変性疾患で、特に小児期に発症する小児大脳型(CCALD)は発症後、急激に進行する予後不良の病型である。現時点では造血幹細胞移植が唯一の治療法とされているが、移植合併症の頻度が多く、治療成績が不良なために、移植適応及び移植前処置、GVHD 予防法等のガイドライン作成が重要である。また、CCALD 発症機序及び新規治療法開発を目指して、CCALD 移植後患者から iPS 細胞を作成し、神経細胞への分化誘導中である。

A.研究目的

副腎白質ジストロフィー(ALD)、特に小児期に発症する小児大脳型(CCALD)は発症後、急激に進行する予後不良の病型である。現時点では造血細胞移植が唯一の治療法であるが、従来の骨髄破壊的移植法に比べて合併症の危険の低い骨髄非破壊的移植法による標準的移植方法の確立及び、CCALD の新規治療法の確立のための iPS 細胞の樹立と細胞の解析を行う。

B.研究方法

1. ALD 患者に対する骨髄非破壊的前処置を用いた造血幹細胞移植について

2005年8月から2009年7月までに京都大学医学部附属病院小児科にて進行型CCALDの4症例に対して骨髄非破壊的前処置を用いた造血幹細胞移植を施行し、その長期的経過観察を行った。CCALDの診断、ならびに移植適応は次の4つの項目:1)小児期発症(10歳未満)、2)血漿極長鎖脂肪酸(VLCFA)解析にてC24:0、C26:0の増加、3)頭部MRI検査における特徴的な大脳白質における異常信号が認められ、かつ造影効果が認められた場合、4)他の中枢神経の変性をきたす疾患の除外、を全て満たした場合に下された。

本症例における造血幹細胞移植治療は家族の治療効果、並びにデメリットを十分に説明し、同意を得た上で施行された。特に従来報告で移植成績が不良とされている症例1、2では、造血幹細胞移植治療効果が乏しく、また治療自体の危険性が懸念されることを十分に説明したが、両親の移植治療への希望が強く、移植治療の同意を得た上で施行した。全例フルダラビン:25mg/m²を1日1回5日間、メルファラン:40mg/m²を1日1回2日間、全身放射線照射:2Gy2を前処置として造血幹細胞移植を行なった。急性GVHD予防として、シクロスポリンまたはタクロリムスに短期メソトレキセートを併用した。キメリズム解析に関しては全例でマイクロサテライト多型を用い、症例1、3ではXY異性間FISHも施行した。

神経学的評価方法

中枢性病変の放射線学的重症度はLoesらが提唱したLoesスコアを用いた。頭部MRIのLoes score評価は移植前、移植後早期(3-6ヵ月)、移植後後期(フォロー期間での直近の時点)に撮影した画像を神経放射線科医が評価した。臨床的な評価としては、神経学的機能と日常生活機能の2つの評価を移植前、移植後後期(フォロー期間での直近の時点)に小児神経科医が行なった。神経学的機能

評価 (Neurological deficit score: NDS) については以下の領域: 視覚機能、聴覚機能、言語機能、歩行やその他の微細運動機能、日常生活の活動について評価した。日常生活機能の評価としてミネソタ大学で作製された ALD-disability rating scale (ALD-DRS) を用いて 0 から IV の 5 段階で評価した。神経心理学的評価としては、はウェクスラー式児童用知能検査第 3 版 (WISC-III) を用い、移植前、移植後 (移植後 2 年) の時点で評価した。

2. iPS 細胞樹立について

ヒト ALD-iPS 細胞を用いた *in vitro* での病態解析研究を目的とし、iPS 細胞から神経細胞、星状膠細胞、および稀突起膠細胞の効率的な分化誘導系の構築に取り組んだ。

(倫理面への配慮)

本試験を施行するにあたり、京都大学の倫理委員会の承認を得た。対象患者の個人情報とは特定されないように厳格な配慮をし、その情報管理は厳密に取り扱うものとした。

C. 研究結果

1. ALD 患者に対する骨髄非破壊的前処置を用いた造血幹細胞移植について

4 症例のうち 2 例が重度進行型であり、2 例は軽度進行型であった。症例 2、3 は同胞発症例であった。診断の契機となったのは、症例 1 は視力障害、症例 2 は進行性の痙性対麻痺であった。症例 3、4 は血縁者が本疾患に罹患しており、発症前より定期的に頭部画像検査を受けていた。頭部 MRI 画像における罹患部位は、症例 1 は頭頂後頭葉、症例 2 は内包および前頭葉、症例 3、4 では大脳脚であった。全例、画像上、病変辺縁部に造影効果が認められた。ABCD1 遺伝子解析では、症例 1、2、3 はいずれも翻訳領域に変異を認め、症例 1 は点変異、症例 2、3 は 2 塩基欠失によるフレームシフト変異であった。症例 4 は非翻訳領域の点変異によるスプライシング異常であった。

移植経過について

症例 3 は非血縁骨髄、残り 3 例は臍帯血を移植ソースとした。移植は診断確定後、症例 1 で 1 ヶ月、症例 2 で 2 ヶ月の時点で施行した。全例造血回復は速やかで、好中球 $>500 \mu\text{L}$ は day 14 から 22、血小板 $>20,000/\mu\text{L}$ は day 17 から 38、網状赤血球 $>10\%$ は day 24 から 29 に到達し、移植早期の重症感染症は認めなかった。ドナーキメラリズムは症例 1、3 でそれぞれ移植後 280 日、28 日の時点で完全キメラとなっていることを確認した。症例 1 では移植後 100 日でのドナー由来の T 細胞は 95%、Non T 細胞が 95% であり、その後、安定した状態で移植後 280 日にて完全キメラに至った。症例 2、4 では移植後 114 日、150 日の時点で混合キメラの状況であった。症例 2 では前処置終了直後に痙性四肢麻痺の症状の進行が認められたが、それ以外の症例では明らかな症状の進行は確認されなかった。急性 GVHD は Grade I-II で、慢性 GVHD は症例 1 以外において認められなかった。症例 1 では慢性 GVHD として、移植後 210 日より末梢神経障害、消化管障害、間質性肺炎を認めたが、ステロイド治療、免疫抑制剤投与により寛解に至り、以後、再燃は認めなかった。残り 3 例では慢性 GVHD は認めなかった。移植後 4 から 8 年が経過し、全例が生存中である。神経学的予後について

移植前に確認された病変周辺部の造影効果は、全例で移植後 3 ヶ月以内に速やかに消失し、以後、新たな造影効果を示す領域は出現しなかった。

WISC III では症例 2-4 で移植前に比し視覚性 IQ、言語性 IQ ともに悪化は認められず、症例 3 では視覚性 IQ が移植前に比し改善していた。NDS では症例 2 で嚥下機能の改善が認められたことより 3 から 2 へ改善していた。それ以外では移植前と比し、神経学的機能障の進行は認められなかった。DRS は全例、移植前と同じ評価点数であり、悪化は確認されなかった。現在、症例 1 は盲学校の高等部、症例 2 は普通小学校の特別支援学級、症例 3、4 は普通中学校の通常学級に在籍し、全例が元気に生活を送っている。

2. iPS 細胞樹立について

臨床的な重症度の異なる 2 例の患者(幼児期発症の小児大脳型造血幹細胞移植後症例の患者) 皮膚生検を施行し、iPS 細胞を作成した。

正常 iPS 細胞では ROCK 阻害剤と小分子化合物を用いた SFEBq (無血清胚葉体形成法) により、神経細胞、星状膠細胞、および稀突起膠細胞へと分化する神経幹細胞類似の細胞群を誘導することが可能であった。今後 ALD-iPS 細胞を用いた各細胞系列の比較検討を行う予定であるが、細胞株により細胞増殖能や分化度に差異がみられ、適正な比較検討のためにはより純度の高い分化誘導系や純化法の確立が必要である。

D. 考察

今回、我々の症例では重度進行型 CCALD2 例に対して、臍帯血を移植ソースに用い、診断後、1-2 ヶ月と比較的短い待機期間で移植が可能であった。今回の研究においては、4 例中の 2 例は移植後 114 日、115 日の時点で混合キメラの状態が続いていた。CCALD の造血幹細胞移植治療において、ドナーキメリズムの状態がどの程度、その後の神経学的予後に影響するかは不明瞭ではあるが、完全キメラ早期到達のためには、メルファランの増量が好ましいと考えられ、CCALD に対する移植ガイドラインの参考資料となった。

E. 結論

骨髄非破壊的前処置を用いた造血幹細胞移植は CCALD に対して有効な治療であり、臍帯血移植を積極的に導入するなど診断後早期に施行する事によって、軽度進行型のみならず、重度進行型においても有効な治療となり得る事が示唆された。CCALD の病態解明及び新規治療法の確立のため、iPS 細胞の樹立と細胞の解析を行っている。

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 MW, 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 and Metab* 2012 107: 513-520
2. Shibata M, Kato T, Awaya T, Adachi S, Heike T. Chronic immune-mediated axonal polyneuropathy following umbilical cord blood transplant for childhood-onset cerebral adrenoleukodystrophy. *Pediatr Transplant* 2012 Dec;16(8):E388-91.
3. Shinzato A, Tabuchi K, Atsuta Y, Inoue M, Inagaki J, Yabe H, Koh K, Kato K, Ohta H, Kigasawa H, Kitoh T, Ogawa A, Takahashi Y, Sasahara Y, Kato S, Adachi S. PBSCT is associated with poorer survival and increased chronic GvHD than BMT in Japanese paediatric patients with acute leukaemia and an HLA-matched sibling donor. *Pediatr Blood Cancer* 2013 Sep;60(9):1513-9.
4. Morishima T, Watanabe K, Niwa A, Saidai S, Tanaka T, Kato I, Umeda K, Hiramatsu H, Matsubara K, Adachi S, Nakahata T, Heike T. Genetic correction of *HAXI* in induced pluripotent stem cells from a patient with severe congenital neutropenia improves defective granulopoiesis. *Haematologica* 2014 Jan; 99(1):19-27.

2. 学会発表

1. Sakai R, Taguri M, Oshima K, Mori T, Ago H, Adachi S, Morita S, Taniguchi S, Fukuda T, Ohashi K, Etou T, Morishima Y, Magamura-Inoue

T, Sakamaki H, Atsuta Y, Murata M; Current status of GVHD prophylaxis in Japan : Retrospective analysis by GVHD WG of the JSHCT
第74回日本血液学会学術集会

2. 田渕 健、足立壮一、東 英一、佐藤 篤、塩原正明、井上雅美、菊地 陽、小林良二、長澤正之、森本 哲、矢部普正 ; 日本における小児診療チームによる造血幹細胞移植実態の年代毎の変遷 第54回日本小児血液・がん学会学術集会

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

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
Tanaka A, Okuyama T, Suzuki Y, Sakai N, Takakura H, Sawada T, Tanaka T, Otomo T, Ohashi T, Ishige MW, Yabe H, Ohura T, Suzuki N, Kato K, <u>Adachi</u> 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 and Metab	107	513-520	2012
Shibata M, Kato T, Awaya T, <u>Adachi S</u> , Heike T.	Chronic immune-mediated axonal polyneuropathy following umbilical cord blood transplant for childhood-onset cerebral adrenoleukodystrophy.	Pediatr Transplant	16	E388-391	2012
Shinzato A,	PBSCT is associated	Pediatr Blood	60	1513-1519	2013

Tabuchi K, Atsuta Y, Inoue M, Inagaki J, Yabe H, Koh K, Kato K, Ohta H, Kigasawa H, Kitoh T, Ogawa A, Takahashi Y, Sasahara Y, Kato S, <u>Adachi</u> <u>S.</u>	with poorer survival and increased chronic GvHD than BMT in Japanese paediatric patients with acute leukaemia and an HLA-matched sibling donor.	Cancer			
Morishima T, Watanabe K, Niwa A, Saidai S, Tanaka T, Kato I, Umeda K, Hiramatsu H, Matsubara K, <u>Adachi S</u> , Nakahata T, Heike T.	Genetic correction of <i>HAX1</i> in induced pluripotent stem cells from a patient with severe congenital neutropenia improves defective granulopoiesis.	Haematologica	99	19-27	2014