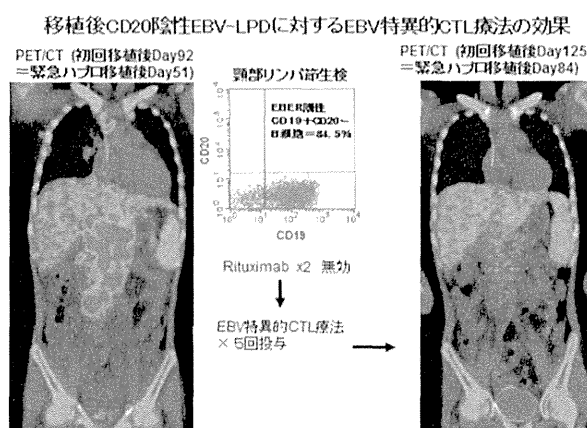


発し、うち4例で白血球細胞表面に不一致HLA発現を消失していた。5例でステロイド抵抗性GVHDを発症したが、全例に抗体療法が、さらに2例にMSCが投与され、急性GVHDによる死亡はなかった。難治性CMV感染に対して特異的CTLを3例に投与し、1例に有効で、1例が末梢血中CMV-DNAは消失したものの、その後CMV脳炎を発症し、亡くなった。リツキシマブ抵抗性CD20陰性EBV-PTLD1例に対してEBV特異的CTLを投与し有効であった（下図）。



D. 考察

骨髓移植ドナーから 3-4 週間の培養期間で CMV または EBV 特異的 CTL を臨床応用可能なレベルまで培養増幅することができた。

当院倫理委員会での承認後、臨床第1,2相試験が開始された。5名の投与はいずれも安全に投与でき、うち4名で効果が見られた。培養に3-4週間かかること、投与基準をみたくCTLが得られるのはCMV特異的CTLで約50%、EBV特異的CTLでは約30%であることから、EBV特異的CTLの誘導ペプチドの追加など培養法の改善が必要と考えられ、またリスクの高い移植患者ではあらかじめドナーより培養し凍結しておくか、第三者からウイルス特異的CTLを培養し保存しておくCTLバンクの作成、運用が望ましいと考えられた。

E. 結論

臨床第1相試験が開始された。まだ投与例が少なく、今後さらにCTL培養条件を改善し、症例数を増やす必要があるものの、いずれも安全に投与可能であり、明らかな効果の見られた症

例も認めた。HLAハプロ一致移植において、ドナー由来ウイルス特異的CTL療法の併用は、より安全な移植に寄与している。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Kawashima N, Ito Y, Sekiya Y, Narita A, Okuno Y, Muramatsu H, Irie M, Hama A, **Takahashi Y**, Kojima S. Choreito formula for BK virus-associated hemorrhagic cystitis after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 21:319-25, 2015.
 2. Kobayashi R, Yabe H, Kikuchi A, Kudo K, Yoshida N, Watanabe K, Muramatsu H, **Takahashi Y**, Inoue M, Koh K, Inagaki J, Okamoto Y, Sakamaki H, Kawa K, Kato K, Suzuki R, Kojima S. Bloodstream infection after stem cell transplantation in children with idiopathic aplastic anemia. *Biol Blood Marrow Transplant.* 20:1145-9, 2014.
 3. Ohye T, Inagaki H, Ihira M, Higashimoto Y, Kato K, Oikawa J, Yagasaki H, Niizuma T, **Takahashi Y**, Kojima S, Yoshikawa T, Kurahashi H. Dual roles for the telomeric repeats in chromosomally integrated human herpesvirus-6. *Sci Rep.* 4:4559, 2014.
 4. Suzuki M, Ito Y, Shimada A, Saito M, Muramatsu H, Hama A, **Takahashi Y**, Kimura H, Kojima S. Long-term parvovirus B19 infections with genetic drift after cord blood transplantation complicated by persistent CD4+ lymphocytopenia. *J Pediatr Hematol Oncol.* 36:e65-8, 2014.
- ##### 2. 学会発表
1. **Takahashi Y**. Hematopoietic stem cell transplantation from an alternative donor for childhood aplastic anemia: HLA haploidentical family donor vs HLA mismatched unrelated donor. **40th Annual Meeting of the EBMT.** Milano, Italia. April 2014.

2. Muramatsu H, **Takahashi Y**, Nishikawa E, Sekiya Y, Kawashima N, Okuno Y, Narita A, Doisaki S, Irie M, Hama A, Kojima S. CD20-negative Epstein-Barr Virus-Associated Post-transplant Lymphoproliferative Disease. **The 19th congress of APBMT**. Hangzhou, China. October 2014.

3. **高橋 義行**、関屋 由子、川島 希、成田 敦、土居崎 小夜子、奥野 友介、入江 正寛、村松 秀城、濱 麻人、小島 勢二： Unmanipulated HLA haploidentical bone

marrow transplantation combined with PBSC using high dose ATG. 第76回日本血液学会学術集会、大阪、2014年10月31日

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
特記事項なし
2. 実用新案登録
特記事項なし
3. その他
特記事項なし

分担研究報告書

ウイルス特異的 T 細胞療法における標的部位の同定 (エピトープマッピング)
に関する研究

研究分担者 立川 愛 国立感染症研究所エイズ研究センター第二室 室長
(東京大学医学研究所 (～平成27年1月31日))

研究協力者 小野敏明 東京医科歯科大学大学院 大学院生

研究要旨

多ウイルス特異的 T 細胞療法の実臨床化に向けて、ウイルス特異的 T 細胞の品質評価法として標的部位的の同定法 (エピトープマッピング) を確立した。OLP マトリックスを用いた ELISpot assay によるエピトープマッピング法を構築し、健常成人の末梢血単核球より増幅した CMV, EBV, AdV 特異的 T 細胞を用いて、標的部位的の同定を行った。各 OLP に対する T 細胞応答を、高感度に定量することが可能となり、ウイルス特異的 T 細胞の質的評価系として有用であることが示唆された。

A. 研究目的

移植後免疫不全状態におけるウイルス感染症は、患者の生命予後を脅かす要因の一つとなっている。サイトメガロウイルス(CMV)、Epstein-Barrウイルス(EBV)、アデノウイルス(AdV)等の日和見感染症では、有効な治療法が存在しないか、あるいは副作用、費用対効果等の問題点があり、抗ウイルス薬以外の治療法が求められている。

近年、移植後ウイルス感染症に対して試験管内で増幅したドナーあるいはアロ由来のウイルス特異的CTLを用いた免疫療法が行われる様になり、劇的な成果を挙げている。特に、ウイルスタンパク質全体をカバーするオーバーラップペプチド(OLP)を抗原とした刺激培養による多ウイルス特異的T細胞の増幅法が確立され、その安全性と有用性が明らかとなりつつある。一つのウイルスタンパク質においても多様なエピトープに特異的なT細胞を増幅することが可能であるため、より多数のウイルス特異的T細胞が増幅され、より高い抗ウイルス効果を発揮することが期待される。

本研究では、増幅されたウイルス特異的 T 細胞の標的部位的を同定するために、IFN- γ ELISpot

assay を用いたエピトープマッピングシステムの構築を目的とする。

B. 研究方法

対象:

書面にて研究参加の同意が得られた日本人の健常成人を対象とした。

ウイルス特異的 T 細胞の培養:

CMV (pp65, IE1)、EBV (EBNA1, LMP2, BZLF1)、AdV (Penton, Hexon)の 3 ウイルス 7 タンパク質の OLP を抗原として、末梢血単核球(PBMC)を IL-4/IL-7 存在下で 2-3 週間培養し、ウイルス特異的 T 細胞を増幅した。本研究では 10 アミノ酸重複する 15 アミノ酸長の OLP を使用した。

フローサイトメトリーによるウイルス特異的 T 細胞の解析:

CMV, EBV, AdV-OLP で 6 時間刺激後、IFN- γ の細胞内染色を行い、FACS Aria にて解析した。

標的部位の特定：

3 ウイルス 6 タンパク質 (CMV-pp65/IE1, EBV-EBNA1/LMP2/BZLF1, AdV-Penton) をカバーする 718 種類の OLP を用いて、16x16 方陣を基本とした 3 つのマトリックス (計 92 pool) を作成した。1 pool に最大 17 種類の OLP を含む。陰性対象を 3well、陽性対照を 1well 設定し、96 穴プレート 1 枚にて IFN- γ ELISpot assay を行い (Matrix-ELISpot)、候補 OLP を決定した。その後、各候補 OLP を用いて ELISpot assay を行い (Deconvolution - ELISpot)、反応性 OLP を決定した。

(倫理面への配慮)

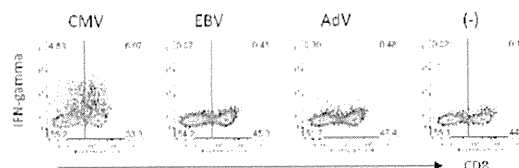
研究対象者には研究目的や不利益、危険性など必要事項に関して文書を用いて説明し、書面でインフォームドコンセントを得た。本研究内容は、東京大学医科学研究所および東京医科歯科大学の倫理審査委員会により承認済みである。

C. 研究結果

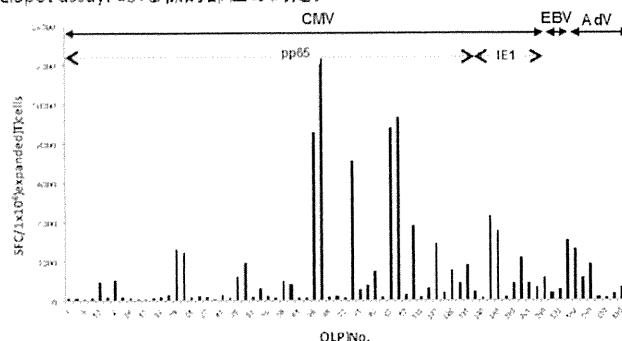
日本人健常成人 1 名の PBMC を用いて、3 ウイルス 7 抗原をカバーする OLP を抗原として T 細胞の刺激培養を行った。まず、フローサイトメトリーにより各ウイルス特異的 T 細胞の頻度を、IFN- γ 産生解析の結果、CMV 特異的 T 細胞が最も多く存在しており、T 細胞中の 6.97% が CMV 特異的 CD8 陽性 T 細胞、4.53% が CMV 特異的 CD4 陽性 T 細胞であった (図)。低頻度ではあったが、EBV, AdV 特異的 T 細胞も検出された。続いて、同一の細胞を用いて、Matrix-ELISpot を行い、198 種類の候補 OLP を決定し、さらに各 OLP を抗原として ELISpot assay を行い、反応の見られた OLP を決定した。多くの場合、隣り合う 2 種類の OLP に反応が見られているが、10 アミノ酸ずつ重複する OLP を使用しているため、同一エピトープに対する反応と考えられるため、1 領域とカウントすることとした。その結果、34 領域で Background 以上の IFN- γ 産生細胞が検出された (図)。強い反応 (1000 SFC/1x10⁶ cells) の見られた部位だけでも、17 領域存在しており、CMV-pp65 で 11 領域、CMV-IE1 で 3 領域、EBV-LMP2 で 1 領域、AdV-Penton で 2 領域存在していた。本結果は、CMV に対する T 細胞が高頻度に検出されたフローサイトメトリー解析結果と合致するものであった。

同様の方法で、計 5 名の健常人ドナーの PBMC を用いて標的部位の同定を行った結果、CMV に対する反応が全く検出されなかった 1 名を除いて、CMV に対する T 細胞が最も高頻度に存在しており、標的部位の数も最も多かった。

<フローサイトメトリーによるウイルス特異的 T 細胞の検出>



<ELISpot assayによる標的部位の同定>



D. 考察

OLP マトリックスを用いた ELISpot assay を構築し、増幅培養されたウイルス特異的 T 細胞中に存在する各エピトープ特異的 T 細胞の頻度を正確に検出することに成功した。本法を用いれば、細胞製剤としてのウイルス特異的 T 細胞の品質管理上重要な情報を得ることが可能となる。さらに、ウイルス特異的 T 細胞を CD4、CD8 陽性 T 細胞に分画後、本法により標的部位を同定することで、HLA class I 拘束性に作用する CD8+T 細胞応答と、HLA class II 拘束性に作用する CD4+T 細胞応答をそれぞれ評価することも可能となる。

ウイルス特異的 T 細胞は HLA 拘束性に機能を発揮するため、レシピエントと適合する HLA に提示されるエピトープ特異的 T 細胞のみが効果を発揮する。そのため、増幅したウイルス特異的 T 細胞中の、真に抗ウイルス効果を発揮する T 細胞、すなわちレシピエントと T 細胞ドナー間で共有する HLA に拘束性のエピトープ特異的 T 細胞の頻度を明らかにすることは、細胞製剤としての品質評価として重要である。今後、HLA 遺伝子型の明らかとなっている対象者についてエピトープマッピングを行い、各 T 細胞応答の HLA 拘束性を明らかにする。

E. 結論

3ウイルス6タンパク質におけるウイルス特異的T細胞の標的部同定のためのエピトープマッピング法の確立に成功した。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Nakayama-Hosoya K, Ishida T, Youngblood B, Nakamura H, Hosoya N, Koga M, Koibuchi T, Iwamoto A, **Kawana-Tachikawa A**. Epigenetic repression of interleukin-2 expression in senescent CD4+ T cells during chronic human immunodeficiency virus type-1 infection. *J Infect Dis.* **211**:28-39, 2015.

2. Gu L, **Kawana-Tachikawa A**, Shiino T, Nakamura H, Koga M, Kikuchi T, Adachi E, Koibuchi T, Ishida T, Gao GF, Matsushita M, Sugiura W, Iwamoto A, Hosoya N. Development and Customization of a Color-Coded Microbeads-Based Assay for Drug Resistance in HIV-1 Reverse Transcriptase. *PLoS One.* **9**:e109823, 2014.

3. Han C, **Kawana-Tachikawa A**, Shimizu A, Zhu D, Nakamura H, Adachi E, Kikuchi T, Koga M, Koibuchi T, Gao GF, Sat Y, Yamagata A, Martin E, Fukai S, Brumme ZL, Iwamoto A. Switching and emergence of CTL epitopes in HIV-1 infection. *Retrovirology.* **11**:38, 2014.

4. **Kawana-Tachikawa A**, Llibre JM, Bravo I, Escrig R, Mothe B, Puig J, Puertas MC, Martinez-Picado J, Blanco J, Manzardo C, Miro JM, Iwamoto A, Pozniak AL, Gatell JM, Clotet B, Brander C; MARAVIBOOST investigators. Effect of Maraviroc Intensification on HIV-1-Specific T Cell Immunity in Recently HIV-1-Infected Individuals. *PLoS One.* **9**:e87334, 2014.

2. 学会発表

1. **Kawana-Tachikawa A**. Disruption of T cell immunity during chronic HIV-1 infection. *The 21st East Asia Joint Symposium on Biomedical Research.* Seoul, Korea. Jul 2014.

2. Hirao M, Suzuki K, **Kawana-Tachikawa A**, Nakauchi H, Cooper DA, Kelleher AD, Kaneko S. Proposal of new immune cell source for HIV-1 infection study based on iPSCs and evaluation of impact of viral replication in iPSCs-derived macrophage expressing shRNAs targeting HIV-1 promoter. **20th International AIDS Conference.** Melbourne, Australia. Jul 2014.

3. Kamori D, 村上知行, Hasan Z, Meribe S, Carlson J, Siarot L, 三浦聡之, 立川(川名)愛, 岩本愛吉, 瀧永博之, 岡慎一, 間陽子, 上野貴将 : Effects of natural variability of an immunodominant Vpr region on immunological footprints, clinical outcome and protein functions. 第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014 年 11 月

4. 細谷(中山)香, 石田尚臣, 中村仁美, 細谷紀彰, 古賀道子, 鯉淵智彦, 岩本愛吉, 立川(川名)愛 : HIV-1 感染における CD4 陽性 T 細胞の IL2 遺伝子発現低下分子メカニズムの解明、第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014 年 11 月

5. Gu L, Han Y, Guan S, Yang F, Zhu T, 合田仁, Cao Y, 立川(川名)愛, 細谷紀彰, Gao FG, 岩本愛吉, Li T, 石田尚臣 : 中国 HIV-1 感染者の未治療検体における副受容体指向性の検査、第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014 年 11 月

6. 佐藤秀憲, 細谷(中山)香, 菊地正, 安達英輔, 古賀道子, 中村仁美, 鯉淵智彦, 岩本愛吉, 立川(川名)愛 : HIV 感染者の CD8 陽性 T 細胞における補助刺激分子 OX40 の検討、第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014 年 11 月

7. 石坂彩, 佐藤秀憲, 立川(川名)愛, 中村仁美, 古賀道子, 細谷紀彰, 鯉淵智彦, 野本明男, 岩本愛吉, 水谷壮利 : HIV-1 残存感染細胞の活性と免疫活性化の相関、第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014 年 11 月

8. 藤田由利子, 小野敏明, 落合央, 立川(川名)愛, Leen AM, Heslop HE, 森尾友宏, 高橋聡 :

実臨床応用に向けたウイルス特異的 T 細胞療法
の開発、第 6 回血液疾患免疫療法研究会学
術集会、京都、2014 年 9 月

9. 小野敏明、藤田由利子、立川 (川名) 愛、高
橋聡、森尾友宏：臨床応用に向けた多ウイル
ス特異的 T 細胞培養法の確立とその特性解析、
第 42 回日本臨床免疫学会総会、東京、2014
年 9 月

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

国内特許出願（申請中）

出願人：公益財団法人微生物化学研究会、発
明者：水谷壮利、石坂彩、立川愛 「免疫状
態

の判定方法、CD4+T 細胞数の増加予測方法、
及び CD4+T 細胞数の減少予測方法、並びに
それらのためのキット」特願 2014-128028、
出願日：2014 年 6 月 23 日

2. 実用新案登録
特記事項なし

3. その他
特記事項なし

分担研究報告書

小児腎移植患者の移植後ウイルス感染プロファイル：
高感度多項目迅速微生物検査法を用いた検討

研究分担者	服部 元史	東京女子医科大学 腎臓小児科	教授
研究協力者	多田 憲正	東京女子医科大学 腎臓小児科	助教
研究協力者	清水 則夫	東京医科歯科大学難治疾患研究所	准教授

研究要旨

腎移植後日和見ウイルス感染症は、腎移植患者の生命予後のみならず移植腎機能予後を左右する重大な合併症である。とくに小児腎移植患者は移植後日和見ウイルス感染症を合併するリスクが高いため、有用なモニタリング方法の確立が望まれてきた。そこで、12種類のウイルス(HSV1/2、VZV、EBV、CMV、HHV6/7/8、ADV、BKV、JCV、parvovirus B19)を同時に測定する高感度多項目迅速微生物検査法を用いて小児腎移植患者の腎移植後感染プロファイルを検討した。対象は、2014年4月から2015年1月までの期間中に自施設で腎移植を行った9名の小児患者で、これら患者の血液と尿検体における腎移植後の経時的なウイルスプロファイルを検討した。その結果、血液では、5名でHHV7を、4名でCMVを、3名でHHV6を、そして2名でBKVを検出し、6名では同時期に複数のウイルスが検出された。また、尿では、7名でBKVを、6名でJCVを、3名でCMVを検出し、5名では同時期に複数のウイルスが検出された。また、従来のCMVアンチゲネミア法よりも早期にCMV感染症を診断することが可能であった。さらに、BKV感染症のスクリーニングとして使用される尿中封入体細胞よりも鋭敏にBKV感染を把握することが可能であった。12種類のウイルスを同時に測定する高感度多項目迅速微生物検査法は、小児腎移植患者のウイルス感染プロファイルを検討するうえで有用な方法と考えられた。

キーワード：小児／腎移植／日和見ウイルス感染症/高感度多項目迅速微生物検査法

A. 研究目的

腎移植後日和見ウイルス感染症は、患者の生命予後のみならず移植腎機能予後を左右する重大な合併症である。とくに小児腎移植患者は移植後日和見ウイルス感染症を合併するリスクが高いため、有用なモニタリング方法の確立とその臨床応用が望まれてきた。

ウイルス感染症の診断は、サイトメガロウイルス(CMV)アンチゲネミア法や Epstein-Barr ウイルス(EBV)など個々のウイルスに対するPCR法で検査されているが、複数のウイルス

を同時に検査することは困難であった。

高感度多項目迅速微生物検査法(以下多項目PCR法)は少量の検体で一度に12種類のウイルスを高感度かつ定量的に評価することができる測定系で、造血幹細胞移植では既に臨床的に検討され、その有用性が示されている。

今回、上記の多項目PCR法を用いて、小児腎移植患者の腎移植後感染プロファイルを検討した。

B. 研究方法

自施設で腎移植を行った 9 名の小児患者を対象として、これら患者の血液と尿検体における腎移植後の経時的なウイルスプロファイルを検討した。

検討したウイルスは、単純ヘルペスウイルス 1/2 型(HSV1/2)、水痘・帯状疱疹ウイルス(VZV)、EBV、CMV、ヒトヘルペスウイルス 6/7/8 型(HHV6/7/8)、アデノウイルス(ADV)、ポリオマウイルス(BKV、JCV)、パルボウイルス B19(parvovirus B19)で、これら 12 種類のウイルスについて多項目 PCR 法を用いて同時に測定した。なお、本検査は東京医科歯科大学にて実施された。

基本的な免疫抑制プロトコールは、シクロスポリン(CYA)またはタクロリムス(FK)+ミコフェノール酸モフェチル(MMF)+ステロイド+バシリキシマブの 4 剤併用療法で、術後 4~6 か月の時点における CYA と FK の目標トラフ濃度は、それぞれ 100~120 ng/ml、6~8 ng/ml とした。なお、ABO 血液型不適合腎移植では、術前 3 週前にリツキシマブを単回投与し、血液型抗体の除去を目的として血漿交換療法を術前に 1~4 回実施した。

(倫理面の配慮)

本研究は「ヘルシンキ宣言」および「疫学研究に関する倫理指針」に従って実施した。

C. 研究結果

1. 血中ウイルスの検出

小児腎移植患者 9 名のうち、5 名で HHV7 を、4 名で CMV を、3 名で HHV6 を、そして 2 名で BKV を検出した。6 名では、同時期に複数のウイルスが検出された。

2. 尿中ウイルスの検出

尿では、7 名で BKV を、6 名で JCV を、3 名で CMV を検出した。5 名では、同時期に複数のウイルスが検出された。

3. CMV アンチゲネミア法との比較

血中 CMV を検出した 4 名のうち 1 名は CMV アンチゲネミア法では検出されなかった。また、別の 1 名は CMV アンチゲネミア法よりも早期に CMV ウイルス血症が検出された。

4. BKV 血症と尿中封入体細胞との関係

2014 年 4 月から 2015 年 1 月までの期間中に 4 名で尿中封入体細胞が認められたが、BKV 血症を認めたのは 2 名で、そのうち 1 名では BKV 腎症が疑われた。

D. 考察

小児腎移植患者では、CMV 感染症、EBV 関連移植後リンパ増殖性疾患(PTLD)、水痘、ADV による出血性膀胱炎、BKV 腎症などの腎移植後日和見ウイルス感染症が大きな問題となる。

CMV 感染症に関しては、CMV アンチゲネミア法を用いたモニタリングにより、preemptive な抗ウイルス薬の投与や免疫抑制薬の減量などにより、以前と比べて重症例は減少している。しかし、CMV 感染に伴う拒絶反応の合併など、CMV アンチゲネミア法よりも鋭敏な CMV 感染モニタリング方法を必要とする症例が少なからず存在する。EBV の場合には、ウイルス量のモニタリングのみでは限界があることが知られており、また有効な抗ウイルス薬がないことが問題である。BKV に関しては、BKV 腎症を合併した場合に移植腎機能予後は明らかに不良(約 50%の症例が 5 年以内に移植腎を喪失する)なことが知られている。

このように、腎移植後日和見ウイルス感染症は、患者の生命予後のみならず移植腎機能予後を左右する重大な合併症である。小児の場合には、CMV、EBV、BKV も含め各種ウイルスがドナー陽性(D+)/レシピエント陰性(R-)の組み合わせが多いため、小児腎移植患は移植後日和見ウイルス感染症を合併するリスクが高い。そのため、腎移植後ウイルス感染症に対する有用なモニタリング方法の確立とその臨床応用が望まれていた。

今回、12 種類のウイルス(HSV1/2、VZV、EBV、CMV、HHV6/7/8、ADV、BKV、JCV、parvovirus B19)を同時に測定する高感度多項目迅速微生物検査法(多項目 PCR 法)を用いて小児腎移植患者の腎移植後感染プロファイルを検討した。

本法は 1 回の検査での必要血液量が 0.5mL と患者の負担が少ないことが小児にとって有用と考えられた。また、従来の CMV アンチゲネミア法よりも早期に CMV 感染症を診断する

ことが可能であった。さらに、BKV 感染症のスクリーニングとして使用される尿中封入体細胞よりも鋭敏に BKV 感染を把握することが可能であった。

これまで腎移植患者において 4 種類以上のウイルスを同時にスクリーニングした報告はない。今回の検討では、半数以上の症例で、血中・尿中ともに、同時期に複数のウイルスが検出された。現時点での検討症例数は 9 例と少ないため、今後さらに症例を重ね、腎移植後ウイルス感染プロファイルを検討する意義は高いものと思われる。

E. 結論

小児腎移植患者の移植後日和見ウイルス感染症は、患者の生命予後のみならず移植腎機能予後を左右する重大な合併症であり、有用なモニタリング方法の確立が望まれてきた。今回、12 種類のウイルスを同時に測定する高感度多項目迅速微生物検査法を用いて小児腎移植患者の腎移植後感染プロファイルを検討したが、本法は、小児腎移植患者のウイルス感染プロファイルを検討するうえで有用な方法と考えられた。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. **Hattori M**, Sako M, Kaneko T, Ashida A, Matsunaga A, Igarashi T, Itami N, Ohta T, Gotoh Y, Satomura K, Honda M, Igarashi T. End-stage renal disease in Japanese children: a nationwide survey during 2006-2011. *Clinical and Experimental Nephrology*. 2015. [Epub ahead of print]
2. Hisano M, Ashida A, Nakano E, Suehiro M, Yoshida Y, Matsumoto M, Miyata T, Fujimura Y, **Hattori M**. Autoimmune-type HUS treated with eculizumab as first-line therapy. *Pediatric International*. (in press)
3. Muso E, Mune M, Hirano T, **Hattori M**, Kimura K, Watanabe T, Yokoyama H, Sato H, Uchida S, Wada T, Shoji T, Yuzawa Y, Takemura T, Sugiyama S, Nishizawa Y,

Ogahara S, Yorioka N, Sakai S, Ogura Y, Yukawa S, Inno Y, Imai E, Matsuno S, Saito T. Immediate therapeutic efficacy of low-density lipoprotein apheresis for drug-resistant nephrotic syndrome: evidence from the short-term results from the POLARIS Study. *Clinical and Experimental Nephrology*. 2014. [Epub ahead of print]

4. Uemura O, **Hattori M**, Hataya H, Ito S, Ito N, Akizawa T. Pharmacokinetics of darbepoetin alfa after single, intravenous or subcutaneous administration in Japanese pediatric patients with chronic kidney disease. *Clinical and Experimental Nephrology*. 18:932-8, 2014.
5. Yamagata K, Yagisawa T, Nakayama M, Imai E, **Hattori M**, Iseki K, Takashi A. Prevalence and incidence of chronic kidney disease stage G5 in Japan. *Clinical and Experimental Nephrology*. 2014. [Epub ahead of print]
6. Miyazaki Y, Kawamura T, Joh K, Okonogi H, Koike K, Utsunomiya Y, Ogura M, Matsushima M, Yoshimura M, Horikoshi S, Suzuki Y, Furusu A, Yasuda T, Shirai S, Shibata T, Endoh M, **Hattori M**, Akioka Y, Katafuti R, Hashiguchi A, Kimura K, Matsuo S, Tomino Y. Overestimation of the risk of progression to end-stage renal disease in the poor prognosis' group according to the 2002 Japanese histological classification for immunoglobulin A nephropathy. *Clinical and Experimental Nephrology*. 18:475-80, 2014.
7. Harita Y, Ishizuka K, Tanego A, Sugawara N, Chikamoto H, Akioka Y, Tsurumi H, Miura K, Gotoh Y, Tsujita M, Yamamoto T, Horiike K, Takeda A, Oka A, Igarashi T, **Hattori M**. Decreased glomerular filtration as the primary factor of elevated circulating suPAR levels in focal segmental glomerulosclerosis. *Pediatric Nephrology*. 29:1553-60, 2014.
8. Tsurumi H, Harita Y, Kurihara H, Kosako H, Hayashi K, Mastunaga A, Kajiho Y, Kanda S, Miura K, Sekine T, Oka A, Ishiduka K, Horita S, **Hattori M**, Hattori S, Igarashi T : Epithelial protein lost in neoplasm modulates

- platelet-derived growth factor-mediated adhesion and motility of mesangial cells. *Kidney International*. **86**:548-57, 2014.
9. **Hattori M**, Uemura O, Hataya H, Ito S, Ohta T, Fujinaga S, Gotoh Y, Kise T, Hisano M, Matsunaga A, Ito N, Akizawa T. Efficacy and safety of darbepoetin alfa for anemia in children with chronic kidney disease: a multicenter prospective study in Japan. *Clinical and Experimental Nephrology*. **18**:634-41, 2014.
 10. Hamatani R, Otsu M, Chikamoto H, Akioka Y, **Hattori M**. Plasma homocysteine and folate levels and dietary folate intake in adolescents and young adults who underwent kidney transplantation during childhood. *Clinical and Experimental Nephrology*. **18**:151-6, 2014.
 11. Fujii H, Chikamoto H, Akioka Y, **Hattori M**. Final adult height in kidney recipients who underwent highly successful transplantation as children: a single-center experience. *Clinical and Experimental Nephrology*. **18**:515-20, 2014.
 12. Isojima T, Harita Y, Furuyama M, Sugawara N, Ishizuka K, Horita S, Kajihō Y, Miura K, Igarashi T, **Hattori M**, Kitanaka S. LMX1B mutation with residual transcriptional activity as a cause of isolated glomerulopathy. *Nephrology Dialysis Transplantation*. **29**:81-8, 2014.
 13. Sawai T, Nangaku M, Ashida A, Fujimaru R, Hataya H, Hidaka Y, Kaname S, Okada H, Sato W, Yasuda T, Yoshida Y, Fujimura Y, **Hattori M**, Kagami S. Diagnostic criteria for atypical hemolytic uremic syndrome proposed by the Joint Committee of the Japanese Society of Nephrology and the Japan Pediatric Society. *Pediatrics International*. **56**:1-5, 2014.
 14. Ishikura K, Uemura O, Hamasaki Y, Ito S, Wada N, **Hattori M**, Ohashi Y, Tanaka R, Nakanishi K, Kaneko T, Honda M and on behalf of the Pediatric CKD Study Group in Japan in conjunction with the Committee of Measures for Pediatric CKD of the Japanese Society of Pediatric Nephrology. Progression to end-stage kidney disease in Japanese children with chronic kidney disease: results of a nationwide prospective cohort study. *Nephrology Dialysis Transplantation*. **29**:878-84, 2014.
 15. 石塚喜世伸、浅野達雄、西山慶、宮井貴之、神田祥一郎、菅原典子、近本裕子、秋岡祐子、堀田茂、小池淳樹、本田一穂、**服部元史**：BK ウイルス腎症の診断と治療に苦慮した小児腎移植の1例。日本臨床腎移植学会雑誌 **2**:225-229, 2014.
 16. **服部元史**：HUS・aHUS の病態と臨床像。日本腎臓学会誌 **56**:1052-1057, 2014.
 17. **服部元史**：小児腎疾患と脂質異常。腎と透析 **77**:343-347, 2014.
 18. **服部元史**：腎臓移植。小児科 **55**:1269-1274, 2014.
 19. **服部元史**：わが国の小児腎移植の現況と治療管理上の要点。小児科診療 **77**:95-99, 2014.
 20. **服部元史**：小児腎移植の現況。移植 **49**:209-214, 2014.
 21. **服部元史**：小児巣状分節性糸球体硬化症。腎と透析 **76**:897-900, 2014.
 22. **服部元史**：腎疾患（特に微小変化型ネフローゼ症候群）。思春期学 **32**:228-231, 2014.
 23. **服部元史**：巣状分節性糸球体硬化症の腎移植後再発。腎と透析 **76**:639-641, 2014.
 24. **服部元史**：腎小児末期腎不全患者の腎代替療法：選択と導入と透析。腎と透析 **76**:75-79, 2014.
 25. **服部元史**、相馬 泉：小児患者に対する急性血液浄化。救急・集中治療 **26**:432-442, 2014.
 26. **服部元史**：非典型溶血性尿毒症症候群（aHUS）。医学のあゆみ **249**:859-863, 2014.
 27. **服部元史**：小児の維持血液透析導入。腎と透析 **76**:676-681, 2014.

28. 服部元史、佐古まゆみ、金子徹治、松永明、芦田明、五十嵐徹、伊丹儀友、上田善彦、大田敏之、後藤芳充、里村憲一、平松美佐子、伊藤秀一、上村治、佐々木聡、波多江健、幡谷浩史、藤枝幹也、吉村仁志、秋岡祐子、石倉健司、濱崎祐子、大橋靖雄、本田雅敬：本邦小児末期腎不全患者の疫学調査報告：とくに透析療法に関して。日本透析医学会雑誌 47:167-174, 2014.
2. 著書
1. 服部元史：急性腎障害、NICU マニュアル（新生児医療連絡会編）、p347-350、金原出版株式会社、2014年
 2. 服部元史、芦田明：小児患者の腎性貧血治療ガイドラインの改訂に向けて、透析医学（平方秀樹監修、鶴屋和彦、満生浩司、升谷耕介、谷口正智編）、p406-409、医薬ジャーナル社、2014年
 3. 服部元史：紫斑病性腎炎、小児、腎疾患・透析最新の治療（槇野博、秋澤忠雄、山縣邦弘編集）、p47-148、南江堂、2014年
 4. 服部元史：小児患者に対する透析、血液浄化療法ハンドブック[2014]（透析療法合同専門委員会企画・編集）、p255-274、共同医書出版社、2014年
3. 学会発表
1. Hattori M. Pediatric end-stage kidney disease (ESKD) patients in Japan. **The 14th Asian Pacific Congress of Nephrology, Symposium 9 Renal replacement therapy.** 2014.
 2. 服部元史：小児末期腎不全診療の現況とこれから、第48回広島血液浄化カンファレンス 特別講演、2014
 3. 服部元史：本邦における非典型溶血性尿毒症症候群の診断基準及びエクリズマブの適正使用について、首都圏 **Atypical HUS** 講演会、2014
 4. 服部元史：小児腎臓病診療の進歩、第80回東京女子医科大学学会総会シンポジウム、2014
 5. 服部元史：腎移植患児の Life Stage に応じた免疫抑制剤の選択、小児腎移植 **Meet the Expert**（特別講演）、2014
 6. 服部元史：小児腎不全の治療、平成26年度透析療法従事職員研修、2014
 7. 服部元史：TTP/HUS、第57回日本腎臓学会総会 特別企画 よくわかるシリーズ 21、2014
 8. 服部元史：小児腎泌尿器疾患：移行（transition）の現状と課題、第26回栃木腎フォーラム、2014
 9. 服部元史、芦田明：腎性貧血治療ガイドラインの改訂：小児、第59回日本透析医学会学術集会・総会 学会・委員会企画7、2014
 10. 服部元史、佐古まゆみ、本田雅敬：小児末期腎不全、第59回日本透析医学会学術集会・総会 学会・委員会企画5、2014
 11. 服部元史：難治性ネフローゼ症候群（とくにFSGS）に対するLDL吸着療法と血漿交換療法、日本医工学治療学会第30回学術大会 シンポジウム4 LDLアフェレシスの新たな作用機序と臨床応用、2014
 12. 服部元史：小児腎不全の現況、第7回神戸腎疾患研究会 特別講演、2014
 13. 服部元史：腸管出血性大腸菌による溶血性尿毒症症候群の臨床—腎臓専門医の立場から、第10回日本小児消化管感染症研究会 特別講演、2014
- H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得
特記事項なし
 2. 実用新案登録
特記事項なし
 3. その他
特記事項なし

分担研究報告書

小児肝移植患者の移植後日和見感染症の実態に関する検討

研究分担者 水田 耕一 自治医科大学 移植外科 准教授

研究要旨

肝移植患者は、術前は肝不全による免疫低下状態にあり、術後は免疫抑制薬の使用による二次性の免疫抑制状態となるため、ウイルス感染症のハイリスク状態にある。小児肝移植患者の免疫能と日和見感染症の関係を把握するため、平成 26 年度に当施設で実施した小児肝移植患者における術前免疫能と術後のウイルス感染症の発症状況を前向きに検討した。その結果、CMV 感染 57%、CMV 感染症 36%、EBV 感染 14%、その他のウイルス感染症 29%を認めた。CMV 感染は術前 CD56 低値群に多く発症し、発症抑制に NK 細胞の重要性が示唆された。EBV 感染症は、術前 CD8 低値かつ IgG 低値群に有意に発症した。術前から細胞性免疫と液性免疫がともに低下している症例は、肝移植後 EBV 感染のハイリスクであり、ウイルス特異的 T 細胞療法を優先すべき患者群と考えられた。CMV 感染は術後 1~2 ヶ月、EBV 感染は術後 5 ヶ月が好発時期であった。小児肝移植患者においては、術後 6 ヶ月間は日和見感染症の好発時期であり、細胞療法の適切な時期を検討する必要がある。

キーワード：小児／生体肝移植／移植後日和見感染症

A. 研究目的

肝移植患者は、術前は肝不全による免疫低下状態にあり、術後は免疫抑制薬の使用による二次性の免疫抑制状態となるため、ウイルス感染症のハイリスク状態にある。

本年度は、小児生体肝移植患者の術前の免疫状態と術後のウイルス感染症の発症状況を前向きに検討した。

B. 研究方法

2014 年 5 月から 2015 年 2 月までの期間中に自施設で生体肝移植を施行した 14 例を対象とした。肝移植時の平均年齢は 2.5 ± 3.9 歳であった。疾患は胆道閉鎖症 8 例、メープルシロップ尿症 2 例、アラジール症候群 1 例、原発性硬化性胆管炎 1 例、肝硬変 1 例、新生児ヘモクロマトーシス 1 例であった。移植後の免疫抑制薬は、タクロリムス (FK) +メチルプレドニゾロン (MP) の 2 剤を基本とした。FK の目標トラフ

濃度は、術後 2 週間は 15~20ng/ml、術後 1 か月時は 10ng/ml、術後 6 か月時は 6ng/ml、術後 1 年時は 3~5ng/ml とした。

術前の免疫能評価として、対象におけるリンパ球表面マーカー検査、T 細胞サブセット、免疫グロブリン (IgG)、術前サイトメガロウイルス (CMV)、EB ウイルス (EBV) の抗体価を測定し、術後のウイルス感染症の発症状況と比較検討した。

(倫理面への配慮)

本研究は「ヘルシンキ宣言」および「疫学研究に関する倫理指針」に従って実施した。

C. 研究結果

1. 術前免疫能評価

対象 14 例における術前の免疫能評価では、CD3 が $64.4 \pm 10.6\%$ (正常値 66-83) と低値、CD19 が $28.9 \pm 15.6\%$ (正常値 10-19) と高値であり、T 細胞の低下、B 細胞の増加を認めた。

CD4/CD8比は、 1.9 ± 0.8 （正常値 1.0-2.2）と正常であったが、CD4異常値が33%（低値2例、高値2例、未検査2例）、CD8異常値が75%（低値6例、高値3例、未検査2例）に認めた。CD56は、 8.4 ± 4.2 （正常値 9-43）であり、術前のNK細胞は低下していた。

また、術前IgGは、 $1023 \pm 832 \text{mg/dl}$ （正常値 870-1700mg/dl）と正常範囲内であったが、64%に異常値（低値9例、高値1例）を認めていた。

2. 肝移植後ウイルス感染症

1) CMV感染症

対象において、肝移植後CMV感染（CMVアンチゲネミア陽性）を57%に、感染症36%に認めた。発症日は術後 50 ± 47 日であった。術前状態との検討では、CD3低値群（発症率50%）、CD56低値群（発症率70%）にCMV感染が多い傾向があった。治療はガンシクロビル、バルガンシクロビル、ホスカルネットによる治療を行い、CMVが原因のグラフト喪失や患者死亡は認めなかった。

2) EBV感染症

対象において、EBV感染（EBV-DNA ≥ 5000 ）を14%に認めた。発症日は術後 153 ± 35 日であった。EBV関連移植後リンパ増殖性疾患（PTLD）の症例は認めなかった。術前状態との検討では、CD8低値群（発症率33%）、術前IgG低値群（発症率25%）にEBV感染が多い傾向があり、CD8低値かつ術前IgG低値群では発症が67%と有意に高値だった。治療は免疫抑制薬の減量、 γ グロブリン製剤による対症療法を中心に行い、EBVが原因のグラフト喪失や患者死亡は認めなかった。

3) その他ウイルス感染症

対象において、RSV2例、インフルエンザウイルス1例、ノロウイルス1例によるウイルス感染症を認めた。発症日は、それぞれ、術後 179 ± 7 日、術後170日、術後181日であった。

いずれも抗ウイルス薬、 γ グロブリン製剤による対症療法で軽快し重症化は認めなかった。

D. 考察

本研究では、小児肝移植患者の免疫能と日和見感染症の関係を把握する目的で、平成26年度に当施設で実施した小児肝移植患者における

術前免疫能と術後のウイルス感染症の発症状況を前向きに検討した。

その結果、CMV感染57%、CMV感染症36%、EBV感染14%、その他のウイルス感染症29%のウイルス感染・感染症を認めた。CMV感染では術前CD56低値群が最も発症率が高かった。NK細胞はCMVの感染防御に重要との報告があり、本研究はそれを示唆する結果であった。これはCMVにおける特異的T細胞療法の開発・導入においても、自然免疫の重症性を一考させる結果であった。

EBV感染症では、術前CD8低値かつ術前IgG低値群で発症率に有意差を認めた。CD8の低下は細胞障害性T細胞の低下を意味する。術前から細胞性免疫と液性免疫がともに低下している症例においては、肝移植後EBV感染のハイリスクであり、T細胞療法を優先すべき患者群と考えられた。

ウイルス感染症の発症は、CMVでは術後1～2ヶ月、EBVは術後5ヶ月、RSV、インフルエンザウイルス、ノロウイルス感染症は、術後6ヶ月頃に集中していた。小児肝移植患者においては、術後6ヶ月間は日和見感染症、流行性ウイルス感染症の好発時期であり、細胞療法の適切な時期を検討する必要がある。

E. 結論

小児肝移植患者のCMV、EBVなどの日和見感染症は依然として頻度は高く、その対応は重要である。重症例においては、患者の生命予後に直結する合併症であるため、治療困難例におけるウイルス特異的T細胞療法などの新たな治療法の開発が必要である。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Yamada N, Sanada Y, Hirata Y, Okada N, Wakiya T, Ihara Y, Miki A, Kaneda Y, Sasanuma H, Urahashi T, Sakuma Y, Yasuda Y, **Mizuta K**. Selection of living donor liver grafts for patients weighing less than 6kg. *Liver Transpl.* 21:233-8, 2015.
2. Kawano Y, **Mizuta K**, Sanada Y, Urahashi T, Ihara Y, Okada N, Yamada N, Sasanuma H,

- Sakuma Y, Taniai N, Yoshida H, Kawarasaki H, Yasuda Y, Uchida E. Risk factors of cytomegalovirus infection after pediatric liver transplantation. *Transplant Proc.* **46**:3543-7, 2014.
3. Mori M, Morio T, Ito S, Morimoto A, Ota S, **Mizuta K**, Iwata T, Hara T, Saji T. Risks and prevention of severe RS virus infection among children with immunodeficiency and Down's syndrome. *J Infect Chemother.* **20**:455-9, 2014.
 4. Sanada Y, Urahashi T, Ihara Y, Wakiya T, Okada N, Yamada N, Hirata Y, **Mizuta K**. Impact of 3-D glucan during liver transplantation. *Hepatogastroenterology.* **61**:1368-73, 2014.
 5. Sanada Y, Matsumoto K, Urahashi T, Ihara Y, Wakiya T, Okada N, Yamada N, Hirata Y, **Mizuta K**. Protocol liver biopsy is the only examination that can detect mid-term graft fibrosis after pediatric liver transplantation. *World J Gastroenterol.* **20**:6638-50, 2014.
 6. Shimizu T, Urahashi T, Ihara Y, Kaneda Y, Miki A, Sanada Y, Wakiya T, Okada N, Yamada N, **Mizuta K**. Successful treatment of severe anastomotic stricture of a choledochojejunostomy after living donor liver transplantation with transhepatic cholangioscopy-guided balloon dilatation. *Transplant Proc.* **46**:999-1000, 2014.
 7. Wakiya T, Sanada Y, Urahashi T, Ihara Y, Yamada N, Okada N, Toyoki Y, Hakamada K, **Mizuta K**. Iron overload after pediatric liver transplantation: a case report. *Transplant Proc.* **46**:973-6, 2014.
 8. Sanada Y, Urahashi T, Ihara Y, Okada N, Yamada N, Hirata Y, **Mizuta K**. Pretransplant Levels of Endotoxin Can Predict the Risk of Bacterial Infections and Graft Liver Function after Liver Transplantation. *Eur J Pediatr Surg.* 2014 [Epub ahead of print]
 9. Sanada Y, Kawano Y, Miki A, Aida J, Nakamura K, Shimomura N, Ishikawa N, Arai T, Hirata Y, Yamada N, Okada N, Wakiya T, Ihara Y, Urahashi T, Yasuda Y, Takubo K, **Mizuta K**. Maternal grafts protect daughter recipients from acute cellular rejection after pediatric living donor liver transplantation for biliary atresia. *Transpl Int.* **27**:383-90, 2014.
 10. Urahashi T, **Mizuta K**, Ihara Y, Sanada Y, Wakiya T, Yamada N, Okada N. Impact of post-transplant flow cytometric panel-reactive antibodies on late-onset hepatic venous outflow obstruction following pediatric living donor liver transplantation. *Transpl Int.* **27**:322-9, 2014.
2. 学会発表
1. 水田耕一、他：胆道閉鎖症における生体肝移植レシピエント手術—当科の標準術式から葛西手術へのフィードバック—、第41回日本胆道閉鎖症研究会、熊本、2014年11月15日
 2. 水田耕一、他：小児肝移植後CMV感染症の治療戦略、第50回日本移植学会総会、東京、2014年9月12日
- H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得
特記事項なし
 2. 実用新案登録
特記事項なし
 3. その他
特記事項なし

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業
(免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業 移植医療研究分野)

分担研究報告書

ウイルス特異的 T 細胞治療の規制に関する研究

研究分担者 長村 文孝 東京大学医科学研究所先端医療開発推進分野 教授

研究要旨

再生医療等の安全性の確保等に関する法律が平成 26 年 11 月に施行され、従来は治験以外の臨床試験は「臨床研究に関する倫理指針」で実施されていたが、同法律および省令等の関連法規で実施されることとなった。これに伴い、臨床試験の審査は特定認定再生医療等委員会もしくは認定再生医療等委員会で実施されることになり、いずれも厚生労働大臣に報告される事となったが、他家の細胞を用いる場合には第一種再生医療等技術に分類され、厚生科学審議会でも審議されることとなった。このような大きな変革期にあたり、事業を円滑かつ適切に進めるために規制について検討を行った。

A. 研究目的

本事業が臨床展開をするうえで今後規定されるのは再生医療等の安全性の確保等の法律であり、治験で実施される場合には、「医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律（薬機法）」であるが、前者は平成26年度より、後者は製造および品質管理に係わるGCTP省令（再生医療等製品の製造管理及び品質管理の基準に関する省令）が同じく平成26年度に発出された。このように大きく変わる法制度において、本事業を円滑にすすめるための対応方法を本研究では検討する。

B. 研究方法

再生医療等の安全性の確保等に関する法律およびその関連法規、薬機法およびその関連法規を収集し、内容を対比検討する。また、厚生労働省と医薬品医療機器総合機構より発出されているガイドライン、情報等を収集し、上記法規と合わせて内容を検討する。

(倫理面への配慮)

法規等の公開情報のみを取り扱うため該当せず。

C. 研究結果

再生医療等の安全性の確保等に関する法律は、「法律」、「法律施行令」、医政局長通知である「再生医療等の安全性の確保等に関する法律の施行等について」、「再生医療等の安全性の確保等に関する法律施行規則（厚生労働省令第110号）」、『「再生医療等の安全性の確保等に関する法律」、「再生医療等の安全性の確保等に関する法律施行令」及び「再生医療等の安全性の確保等に関する法律施行規則」の取扱いについて（平成26年10月31日医政研発1031第1号厚生労働省医政局研究開発振興課長通知）』等から成り立ち、それぞれの相互関係を把握することは容易ではない。この法律下では、再生医療等は「特定認定再生医療等委員会」もしくは「認定再生医療等委員会」で審議され、各地区の厚生局に申請し、許可後に活動が可能となる。

被験者の人権を守り、科学的妥当性を保証するためにこれら法規は制定されたが、実際の運用となると幾つか問題点が存在する。従来へのヒト幹細胞臨床研究に関する指針では「用語の定義等」と記載され、「ヒト幹細胞臨床研究の実施、継続又は変更の適否その他ヒト幹細胞臨床研究に必要な事項について、倫理的及び科学的

観点から審議するため」と定義されていた。しかし、関連法規では倫理面の審査が明記されておらず、法律的な観点からの方への適合と、倫理的規範であるヘルシンキ宣言における倫理面の保証との整合性をどのようにとるのかは明らかにされていない。特に特定認定再生医療等委員会は、設置に困難をきたしている機関が多く、構成あるいは成立要件を満たすための委員の確保、特に当該の研究に係わらない細胞培養加工に関する識見を有する者、生命倫理に関する識見を有する者、生物統計その他の臨床研究に関する識見を有する者、についての委員の任命と、手数料の算定が大きな障壁となっている実態があった。また、実施計画書は、科学的妥当性の担保のために必須であり、薬機法下では医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令（GCP）等によって詳細に規定されているが、再生医療等の安全性の確保等に関する法律では省令に「研究計画書等には「提供する再生医療等の詳細」が含まれている」と記載されているのみで厚生局への申請の際の記載要項に「研究計画書に含まれる項目」として7項目が挙げられているのみである。これは研究の種類あるいはリスク等に応じて必要項目が大きく違うであろうことによると考えられるが、これら項目の必要性について研究者が判断する必要がある。

薬機法では、従来の薬事法が医薬品と医療機器が対象であったが、「再生医療等製品」が独立したカテゴリーになり、個々の製剤によって医薬品か医療機器かに分類されていた状況とは一変した。この薬事法の改正に伴い、GCPは「再生医療等製品の臨床試験の実施の基準に関する省令」として、「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令（GLP）」は「再生医療等製品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令」として、それぞれ再生医療等製品に特化した省令が発出された。両者共に対象とした製品を規定する文言が異なる程度で大きな差はなかった。一方、「医薬品及び医薬部外品の製造管理及び品質管理の基準（GMP）」は、化合物等の製造と細胞等の調製の違いを反映して、「再生医療等製品の製造管理及び品質管理の基準に関する省令（GCTP）」として発出された。GCTPは承

認後の製造販売にかかる省令であり、治験段階は規定していない。再生医療等の安全性の確保等に関する法律では細胞調製については省令第110号と法律施行規則に主として規定されているが、当然製造販売は念頭に置かれていない。アカデミアでの細胞調製施設は後者に準拠し、前者に可及的に準拠することとなる。両法規は、構成が著しく異なっているが、各条項を内容に合わせて対比すると違いはそれほど大きくないことがわかる。治験薬であっても承認後と連続性を持たせるためには可能な限りGCTPに沿うことが必要と考えられ、多くのアカデミアの細胞調製施設では、体制や手順書の整備について適合させることが必要となっている。

D. 考察

本事業では、臨床試験を実施する施設は複数存在しており、特定の施設での問題点や対応を目的とはせず、全体としての問題点あるいは対応を検討すべく、法規等を取りまとめた。その結果、審査面、あるいは製造施設、実施の資料の作成等について、必ずしも見解が一致する項目だけではなく、解釈が分かれたり、研究者が自立的に判断すべき項目が存在することが判明した。今回、対照表や体系的な取り纏めの資料作成を本研究では主として行ったが、これらの資料は今後の臨床試験準備、あるいは研究者の理解促進のためには有益な情報であると考えられる。今後、特定認定再生医療等委員会への申請準備に際してはより詳細な資料の作成が必要と考えられるが、この研究を通じて円滑な事業遂行を目指すことが必要と考えられた。

E. 結論

再生医療等の科学性と倫理性に配慮した臨床試験の実施は、法律の制定・整備により平成26年度は大きな転換期となった。実際の施行にはまだ法律論として、あるいは実務面での解釈として完全には定まったとは言えず円滑な実施には多くの施設で至っていない。今回の研究では対比表あるいは法の体系的まとめ等の資料を作成し、検討してきており、これらを活用し本事業での臨床試験の遂行を速やかに実

施できる検討を行った。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Ohashi K, Nagamura-Inoue T, **Nagamura F**, Tojo A, Miyamura K, Mori T, Kurokawa M, Taniguchi S, Ishikawa J, Morishima Y, Atsuta Y, Sakamaki H. Effect of graft sources on allogeneic hematopoietic stem cell transplantation outcome in adults with chronic myeloid leukemia in the era of tyrosine kinase inhibitors: a Japanese Society of Hematopoietic Cell Transplantation retrospective analysis. *Int J Hematol.* **100**:296-306, 2014.
2. 長村文孝: トランスレーショナルリサーチの重要性. 病院 **73**:540-544, 2014.

2. 著書

1. 長村文孝: 米国 FDA における抗がん剤の審査. 医薬品/医療機器の承認申請書の上手な書き方・まとめ方, p216-219, 技術情報協会, 2014年6月30日

3. 学会発表

1. Noriko Fujiwara, **Fumitaka Nagamura**, Kazufumi Matsumoto, Naohide Yamashita, Yukie Takemura, Kiyoko Kamibeppu. Nursing Education Program on Translational Research as a Master's Course. **International Association of Clinical Research Nurses.** 2014

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
特記事項なし
2. 実用新案登録
特記事項なし
3. その他
特記事項なし

IV 研究事業報告

「臓器移植・造血幹細胞移植後の日和見感染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」

(H25-難治等(免)-一般-105:研究代表者 森尾 友宏)

「適応拡大に向けた臍帯血移植の先進化による成績向上と普及に関する研究」

(H24-難治等(免)-一般-008:研究代表者 高橋 聡)

平成 26 年度 第 1 回合同研究者間会議

日時: 2014 年 7 月 2 日(水) 17 時 ~ 20 時 30 分

場所: 東大医科研 1 号館 2 階会議室

<http://www.ims.u-tokyo.ac.jp/imsut/jp/access/access/>

<http://www.ims.u-tokyo.ac.jp/imsut/jp/access/campus/>

17:00~17:15	進捗状況と今年度の目標	高橋 聡(医科研)
17:15~17:30	ウイルス特異的 T 細胞療法の審査に向けて	長村 文孝(医科研)
17:30~17:45	凝固・線溶系を介した造血回復促進法の開発	安藤 潔(東海大) 宮田 敏男(東北大)
17:45~18:00	新規造血幹細胞増幅法の開発	岩間 厚志(千葉大)
18:00~18:15	改良型複数臍帯血移植法の開発	大津 真・石田 隆(医科研)
18:15~18:30	GVHD に対する新規分子標的療法とその白血病抑制作用	服部 浩一(順天堂大/医科研)
18:30~18:45	臍帯血バンク運営における問題整理	高梨 美乃子(日赤)
18:45~19:00	寛解導入不応骨髄性白血病に対する臍帯血移植の治療成績	山本 久史(虎の門病院)
19:00~19:15	cord colitis syndrome の遺伝子解析(中間報告) (仮)	大田 泰徳(医科研)
19:15~19:30	非ウイルスベクターを用いたキメラ抗原受容体遺伝子導入 T 細胞療法の開発	高橋 義行・小島 勢二(名古屋大)
19:30~19:45	複数ウイルス特異的細胞性免疫療法の開発	藤田 由利子(医科研)
19:45~20:00	多ウイルス特異的 T 細胞の機能評価	小野 敏明(医科歯科大)
20:00~20:15	ウイルス特異的 T 細胞のエピトープマッピングと HLA 拘束性の特定に関する研究	立川 愛(医科研)
20:15~20:30	多ウイルス特異的 T 細胞の臨床応用に向けて	森尾 友宏(医科歯科大)

「臓器移植・造血幹細胞移植後の日和見感染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」

(H25-難治等(免)-一般-105:研究代表者 森尾 友宏)

「適応拡大に向けた臍帯血移植の先進化による成績向上と普及に関する研究」

(H24-難治等(免)-一般-008:研究代表者 高橋 聡)

平成 26 年度 第 2 回合同研究者間会議

日時: 2014 年 12 月 25 日(木) 17 時 ~ 20 時 30 分

場所: 東大医科研 1 号館 2 階会議室

<http://www.ims.u-tokyo.ac.jp/imsut/jp/access/access/>

<http://www.ims.u-tokyo.ac.jp/imsut/jp/access/campus/>

17:00~17:20	本研究班最終年度におけるまとめ	高橋 聡 (医科研)
17:20~17:30	臍帯血移植・臨床研究	寺倉 精太郎(名古屋大) ・小沼 貴晶(医科研)・高橋 聡
17:30~17:45	同種臍帯血移植における至適免疫抑制療法に関する後方視的検討	山口 拓洋 (東北大)
17:45~18:00	同種移植後再発白血病に対する臍帯血移植の可能性	山本 久史 (虎の門病院)
18:00~18:15	TNF- α 関連移植後合併症に対する新規分子標的療法の基礎研究	服部 浩一 (順天堂大 /医科研)
18:15~18:30	複数臍帯血ユニットを活用した新規造血細胞移植法の確立	大津 真・石田 隆(医科研)
18:30~18:45	低分子化合物による臍帯血造血幹・前駆細胞増幅	岩間 厚志 (千葉大)
18:45~19:00	PAI-1 阻害薬の第 II 相試験に向けて	安藤 潔(東海大)・宮田 敏男(東北大)
19:15~19:30	長期に凍結保存されたウイルス特異的CTLの安定性に関する検討	高橋 義行・西尾 信博・小島 勢二 (名古屋大)
19:30~19:45	多ウイルス特異的 T 細胞における epitope mapping の検討	小野 敏明(医科歯科大)・立川 愛(医科研)
19:45~20:00	再生医療等の安全性の確保等に関する法律への施設対応	長村 文孝 (医科研)
20:10~20:20	多ウイルス特異的 T 細胞療法の臨床応用	森尾 友宏 (医科歯科大)
20:20~20:30	総合討論 ・ 事務連絡	