

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

EBV・CMV特異的T細胞治療の臨床研究

研究分担者 高橋 義行 名古屋大学大学院医学系研究科成長発達医学 准教授

研究要旨

ウイルス抗原特異的細胞傷害性 T 細胞(CTL)による臨床第 1 相試験を行った。造血細胞移植の HLA - A2 または A24 陽性ドナー末梢血よりサイトメガロウイルス(CMV)、EB ウイルス(EBV)に対する特異的 CTL を誘導した。HLA ハプロ一致移植 27 例中 3 例において、ドナー由来ウイルス特異的 T 細胞(CTL)療法を行った。投与後の発熱、発疹などの急性反応はなく、3 例中 3 例で投与後末梢血からウイルス DNA の低下、消失を認めた。リツキシマブ無効の移植後 CD20 陰性 EBV-LPD に対して EBV 特異的 CTL 療法を行い、ウイルス血症、PET/CT での腫瘍取り込みは消失した。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た。

A . 研究目的

名古屋大学小児科では、HLAハプロ一致移植において、急性GVHDや生着不全に対する間葉系幹細胞 (Mesenchymal stem cell: MSC) および難治性ウイルス感染に対するウイルス特異的T細胞(CTL)療法といったドナー由来細胞療法を併用することで合併症の克服を目指した研究をすすめている。

B . 研究方法

対象は 2004 年 5 月から 2014 年 6 月までに当科で行った HLA ハプロ一致移植 27 例を後方視的に解析した。年齢中央値は 9 歳 (0-15 歳)、疾患は AML6 例、ALL6 例、aplastic anemia7 例、JMML2 例、CMML2 例、RAEB2 例、CAEBV1 例、LCH1 例で、うち 13 例が非寛解期白血病、移植後拒絶または好中球 0 で感染を伴う再生不良性貧血といった緊急移植として行われた。骨髄および末梢血幹細胞を併用し、GVHD 予防は FK506 および short term MTX、ヒト胸腺グロブリンを計 15mg/kg 投与した。ドナーが CMV または EBV が既感染で HLA-A2 または A24 を持つ場合には、同意を得て移植前に末梢

血 50ml よりウイルス特異的 CTL を、また骨髄 30ml より牛胎児血清の代わりにヒト由来の血小板融解産物を用いて MSC を培養、凍結保存した。移植後リツキシマブ抵抗性 EBV-LPD または、抗ウイルス剤抵抗性 CMV 感染に対して、ウイルス特異的 CTL を初回量 2X10⁵/kg より投与し、GVHD Grade 以上と診断され、methylprednisolone (mPSL) 2mg/kg/day 治療開始 3 日間で病態の悪化を認めるかまたは 1 週間の時点で Grade 以上の GVHD が不変である場合に、患者体重 1kg 当たり 1×10⁶ 個の MSC を静脈内に投与した。

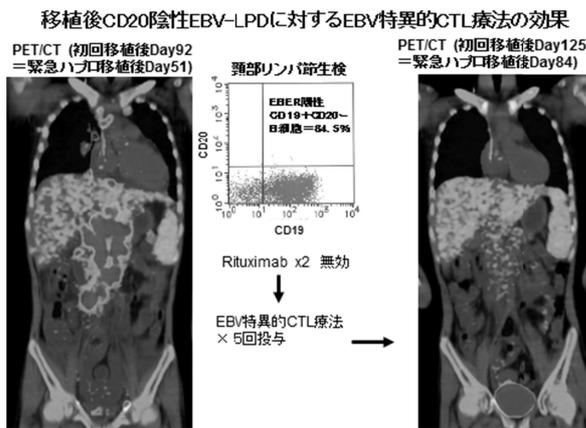
(倫理面への配慮)

本研究は名古屋大学医学部バイオ先端臨床研究審査委員会の承認後、ドナーから文書による同意を得ておこなう。

C . 研究結果

27例全例で生着が得られ(中央値20日(14-29日))、Day100における死亡率は0%であった。3年無病生存率は、再生不良性貧血で100%、寛解期急性白血病または慢性白血病で57%であったが8例の非寛解期急性白血病患者は全例再

発し、うち4例で白血病細胞表面に不一致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

例も認められた。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

- 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.
- 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.
- 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.
- 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

- 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