

## ハプロ一致移植における骨髄由来培養間葉系幹細胞の有用性の検討

担当責任者 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：**当科では、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。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。27 例中 5 例でステロイド抵抗性 GVHD を発症し、全例に抗体療法が投与され、うち 2 例に MSC が投与され有効であった。難治性 CMV 感染に対しウイルス特異的 CTL を 3 例に投与し、1 例に有効、1 例に無効で、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。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、MSC 療法の併用は、より安全な移植に寄与すると考えられた。一方、一方、非寛解期急性白血病患者は 8 例中全例再発し、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ため、このような患者群においては、別のアプローチが必要と考えられた。

### 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  $2 \times 10^5/\text{kg}$  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  $1 \times 10^6$  個の MSC を静脈内に投与した。

### (倫理面への配慮)

本研究は、名大病院倫理審査委員会で審査、承認を受けている。

### 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。

#### D. 考察

ドナー由来細胞療法（ウイルス特異的 CTL、MSC）は安全に投与可能であり、一部の症例では有効であった。一方、非寛解期急性白血病患者は 8 例中全例再発し、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ため、このような患者群においては、別のアプローチが必要と考えられた。

#### E. 結論

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、MSC 療法の併用は、より安全な移植に寄与している。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Fukano R, Mori T, Kobayashi R, Mitsui T, Fujita N, Iwasaki F, Suzumiya J, Chin M, Goto H, Takahashi Y, Hara J, Park YD, Inoue M, Koga Y, Inagaki J, Sakamaki H, Adachi S, Kawa K, Kato K, Suzuki R. Haematopoietic stem cell transplantation for relapsed or refractory anaplastic large cell lymphoma: a study of children and adolescents in Japan. *Br J Haematol*. 2015 Feb;168(4):557-63.
- 2) 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*. 2015 Feb;21(2):319-25.
- 3) 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*. 2014 Aug;20(8):1145-1149.
- 4) Umeda K, Adachi S, Tanaka S, Ogawa A, Hatakeyama N, Kudo K, Sakata N, Igarashi S, Ohshima K, Hyakuna N,

Chin M, Goto H, Takahashi Y, Azuma E, Koh K, Sawada A, Kato K, Inoue M, Atsuta Y, Takami A, Murata M. Comparison of continuous and twice-daily infusions of cyclosporine A for graft-versus-host-disease prophylaxis in pediatric hematopoietic stem cell transplantation. *Pediatr Blood Cancer*. 2015;62:291-298.

- 5) Yoshida N, Kobayashi R, Yabe H, Kosaka Y, Yagasaki H, Watanabe K, Kudo K, Morimoto A, Ohga S, Muramatsu H, Takahashi Y, Kato K, Suzuki R, Ohara A, Kojima S. First-line treatment for severe aplastic anemia in children: bone marrow transplantation from a matched family donor versus immunosuppressive therapy. *Haematologica*. 2014 Dec;99 (12) : 1784 -1791.

##### 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. Apr. 9, 2014. Milano, Italia.
- 2) 高橋 義行. 造血細胞移植後にみられる感染症に対する治療の進歩. 第 117 回日本小児科学会学術集会. 2014 年 4 月 11 日. 名古屋.
- 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. 2014 年 10 月 31 日. 大阪.
- 4) 高橋 義行. KIR ligand incompatible allogeneic cord blood transplantation for high risk neuroblastoma as an KIR mismatched NK cell immunotherapy. 難治性神経芽腫に対する K I R リガンド不一致性同種臍帯血移植を用いたアロ NK 細胞免疫療法の試み. 56 回日本小児血液・がん学会学術集会 2014 年 11 月 30 日. 岡山.

**G . 知的財産権の出願・登録状況（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