

201441015A

厚生労働科学研究委託費  
難治性疾患等実用化研究事業

原発性免疫不全症に対する造血幹細胞移植法の確立

平成26年度 委託業務成果報告書

業務主任者 高田 英俊

平成27（2015）年 3月

本報告書は、厚生労働省の平成26年度厚生労働科学研究委託事業（難治性疾患等実用化研究事業（免疫アレルギー疾患等実用化研究事業 移植医療技術開発研究分野））による委託業務として、国立大学法人九州大学 総長 久保 千春 代理人 産学官連携本部長 若山 正人が実施した平成26年度「原発性免疫不全症に対する造血幹細胞移植法の確立」の成果を取りまとめたものです。

## 目 次

I. 業務主任者・担当責任者名簿	
II. 委託業務成果報告（総括）	7
原発性免疫不全症に対する造血幹細胞移植法の確立 九州大学大学院医学研究院周産期・小児医療学： 高田 英俊 （資料）原発性免疫不全症患者への造血幹細胞移植 調査表	
III. 委託業務成果報告（業務項目）	
1. 防衛医科大学校医学研究科小児科学： 野々山 恵章	25
（造血幹細胞移植に関する各施設からのデータ収集（関東地区）） CD40 ligand 欠損症および X 連鎖血小板減少症に対する移植に関する研究	
2. 京都大学大学院医学研究科小児科学： 平家 俊男	29
（造血幹細胞移植に関する各施設からのデータ収集（近畿地区）、iPS 細胞作製・解析） 造血幹細胞移植に於ける血中サイトメガロウイルス抗原モニタリングの限界	
3. 名古屋大学大学院発育・加齢医学講座小児科学： 小島 勢二	33
（造血幹細胞移植に関する各施設からのデータ収集（東海地区）、間葉系幹細胞研究、 コロニー解析） 同種造血幹細胞移植におけるウサギ ATG 血中濃度と GVHD、EBV 活性化との関連	
4. 広島大学大学院医歯薬保健学研究院小児科学： 小林 正夫	40
（造血幹細胞移植に関する各施設からのデータ収集（中四国地区）） 重症先天性好中球減少症の造血幹細胞移植の検討	
5. 北海道大学大学院医学研究科小児科学： 有賀 正	44
（造血幹細胞移植に関する各施設からのデータ収集（北海道地区）） 北海道大学病院における原発性免疫不全症に対する移植症例の検討	
6. 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科小児・周産期地域医療学： 今井 耕輔	47
造血幹細胞移植に関する各施設からのデータ収集（東北・中部地区） キメリズム解析、遺伝子治療基礎研究、新たな感染症診断法、合併症予防・治療法の開発に 関する基礎研究	
IV. 学会等発表実績	57
V. 研究成果の刊行物・別刷り	67

# I. 研究代表者・研究分担者名簿

「原発性免疫不全症に対する造血幹細胞移植法の確立」研究班

区 分	氏 名	所 属 等	職 名
業 務 責 任 者	高田 英俊	九州大学大学院医学研究院周産期・小児医療学	教 授
担 当 責 任 者	野々山恵章	防衛医科大学校医学研究科小児科学	教 授
	平家 俊男	京都大学大学院医学研究科小児科学	教 授
	小島 勢二	名古屋大学大学院発育・加齢医学講座小児科学	教 授
	小林 正夫	広島大学大学院医歯薬保健学研究院小児科学	教 授
	有賀 正	北海道大学大学院医学研究科小児科学分野	教 授
	今井 耕輔	東京医科歯科大学大学院小児・周産期地域医療学	寄付講座准教授
研 究 協 力 者	笹原 洋二	東北大学大学院医学系研究科小児病態学分野	講 師
	矢部 普正	東海大学細胞移植再生医療科	准教授
	井上 雅美	大阪府立母子保健総合医療センター血液腫瘍科	主任部長
	金兼 弘和	東京医科歯科大学発生発達病態学分野小児科学教室	准教授
事 務 局	有川 美穂	九州大学病院小児科 〒812-8582 福岡市東区馬出3丁目1-1 TEL 092-642-5421 FAX 092-642-5435 e-mail ari-miho@pediatr.med.kyushu-u.ac.jp	
経理事務担当者	藪口 剛士	〒812-8582 福岡市東区馬出3丁目1-1 TEL 092-642-6006 FAX 092-642-6022 e-mail	

## Ⅱ. 委託業務成果報告（総括）

(総括、データ解析、プロトコール管理、造血幹細胞移植に関する各施設からのデータ収集 (九州地区)、ガイドライン作成)

## 原発性免疫不全症に対する造血幹細胞移植法の確立

業務主任者： 高田 英俊 (九州大学大学院医学研究院周産期・小児医療学)

### 研究要旨

本研究は、原発性免疫不全症の患者に対して最適な造血幹細胞移植を確立し、患者の長期的な QOL を向上させることを目的とする。各専門施設での造血幹細胞移植データの収集、日本造血細胞移植学会のデータベース (TRUMP)、原発性免疫不全症患者データベース (PIDJ) を解析し、原発性免疫不全症患者における造血幹細胞移植の現状、移植成績に影響する合併症や問題点を明らかにした。特に重症複合免疫不全症では、近年、著しく移植成績が向上していることが明らかになり、移植プロトコールの設定が大きく貢献していることが示唆された。原発性免疫不全症では、合併する感染症、放射線感受性などの問題から、どのような移植前処置を選択するかが大きな問題である。重症複合免疫不全症、重症先天性好中球減少症、CD40 ligand 欠損症、X 連鎖血小板減少症、高 IgE 症候群、毛細血管拡張性失調症などの放射線感受性を示す原発性免疫不全症の移植前処置法について具体的な方針を明らかにした。同時に、移植前処置に用いるブスルファンや ATG の副反応を考慮した至適投与方法を提示した。さらに造血幹細胞移植に関連する基礎研究の展開として、臍帯血中の細胞機能に関する研究、遺伝子修復に関する研究などを推進し、成果を得た。

### A. 研究目的

原発性免疫不全症はこれまでに 300 種類以上の疾患が報告されており、極めてまれな疾患も含まれる。原発性免疫不全症では造血幹細胞移植が必要な場合があるが、移植の方法は施設間で統一されておらず、国内での移植症例数やその成績は明確にされていない。本研究では、原発性免疫不全症に対する造血幹細胞の現状を把握し、その問題点を明らかにし、原発性免疫不全症に対する至適造血幹細胞移植法を疾患ごとに確立することにより、長期的な観点を含めた患者 QOL を向上させることを目的とする。

### B. 研究方法

日本造血細胞移植学会のデータベース (移植症例登録一元管理プログラム: TRUMP) で、原発性免疫不全症患者の造血幹細胞移植に関するデータにさらに追加解析すべき内容もあったため、以下の 2 つの方法を用いて解析を行った。(1) 各地区で原発性免疫不全症に対する造血幹細胞移植を専門的な立場で行っている施設 (研究分担者所属施設) に対して、患者登録、移植

データの入力を依頼し、解析する方法

(2) TRUMP および厚生労働科学研究委託費 (原発性免疫不全症の病態解明と新規治療法開発への応用に関する研究) データベース (Primary Immunodeficiency Database in Japan : PIDJ) の 2 つのデータベースを活用し、解析する方法  
疾患ごとに、以下の評価項目などについて検討を行った。

- 1) 移植前処置
- 2) GVHD 予防
- 3) ドナーソース
- 4) 感染症コントロール
- 5) 生着およびキメリズム解析
- 6) 免疫学的再構築
- 7) 予後

(倫理面への配慮)

本研究は、九州大学臨床研究倫理審査委員会の承認を得て行った。データは匿名化して取り扱う。臨床研究、遺伝子解析、に関しては、本人ないし親権者からの同意書を得た。

平行して、各施設での原発性免疫不全症に対

する造血幹細胞移植関連のデータ解析、基礎研究を分担・協力して行った。

## C. 研究結果

### 1. 移植データの解析

(1) 平成 25 年 1 月 1 日から平成 26 年 6 月 30 日までの期間（1 年 6 か月）における専門施設での移植症例の解析

国内の原発性免疫不全症およびそれに対する造血幹細胞移植を担当する専門施設（研究代表者施設、研究分担者施設、および東北大学小児科（研究協力者 笹原洋二）、合計 8 施設を対象として調査を行った。質問紙表を参考資料 1 に示す。

平成 25 年 1 月 1 日から平成 26 年 6 月 30 日までの期間に初回の造血幹細胞移植を受けた原発性免疫不全症患者は 37 名であり、再移植を含めると移植回数は 41 回であった。このうち詳細なデータの回答があったのは 36 名 40 回の造血幹細胞移植について解析を行った。

#### ① 疾患別内訳

内訳は

慢性肉芽腫症	14 例
重症複合免疫不全症	4 例
重症先天性好中球減少症	4 例
Wiskott-Aldrich 症候群	2 例
高 IgM 症候群	2 例
家族性血球貪食性リンパ組織球症	2 例
外胚葉形成不全免疫不全症候群	2 例
慢性皮膚粘膜カンジダ症	2 例
活性化 PI3K-delta	1 例
DiGeorge 症候群	1 例
GATA2 欠損症	1 例

であった。

#### ② 移植時年齢

全体で、0 歳 3 か月から 32 歳 9 か月であり中央値は 7 歳 10 か月であった。

慢性肉芽腫症、重症複合免疫不全症、重症先天性好中球減少症の移植時年齢の中央値はそれぞれ、13 歳 8 か月、0 歳 8 か月、8 歳 3 か月であった。

#### ③ 移植前合併症（移植前 2 週間以内）

慢性肉芽腫症では、CGD 腸炎、皮膚膿瘍、肺アスペルギルス症、肝膿瘍などが見られていた。

重症複合免疫不全症では、ニューモシスティス肺炎、肺アスペルギルス症が見られており、肺アスペルギルス症はその後の死亡原因につながっていた。

Wiskott-Aldrich 症候群では、伝染性軟属腫、カテーテル感染症がみられた。

高 IgM 症候群では、肺アスペルギルス症、EB ウイルスによるリンパ球増殖性疾患が認められていた。

#### ④ ドナー

慢性肉芽腫症では非血縁骨髄ドナー 9 名、血縁骨髄ドナー 5 名であり、臍帯血移植を受けた患者はいなかった。血縁ドナーの割合が高く、移植後のキメリズムが低下した際の DLI が考慮された結果だと考えられる。

対照的に、重症複合免疫不全症では、非血縁臍帯血移植が 3 名であり、非血縁骨髄移植を受けた患者が 1 名であった。これは、緊急移植に対応するため非血縁臍帯血移植の割合が高かったものと考えられる。

#### ⑤ HLA 一致と GVHD

同胞間骨髄移植 7 例では、血清型 6 座一致が 6 名であり、そのうち 4 名が HLA8 座一致であった。HLA8 座一致同胞間移植 4 例中 3 例では GVHD は見られなかったが、1 例は Grade 4 の GVHD を発症していた。

慢性肉芽腫症患者で HLA4/6、4/8 一致の同胞間骨髄移植を受けた 1 例は、Grade 2 の GVHD を発症していた。

非血縁者間骨髄移植では Grade 1 から 2 の GVHD を発症した例が 18 例中 10 例に見られ、残り 8 例は GVHD は認めなかった。

非血縁臍帯血移植は 10 例に行われ、2 例が HLA6/6 一致で残り 8 例は 1 座不一致であった。3 例では GVHD は認められなかったが、3 例で Grade 1、3 例で Grade 2、残り 1 例で Grade 3 の GVHD が認められた。

#### ⑥ 移植前処置

慢性肉芽腫症では、Flu+Cy+MEL の移植前処置がほとんどを占めた。それ以外の移植前処置としては、Flu+MEL、Flu+Bu が 1 例ずつ施行されていた。Flu+Bu では一次性生着不全が認められた。キメリズムの低下が認められた 5 例で DLI が施行されていた。

重症複合免疫不全症では、Flu+BU が 2 例、Flu+MEL が 2 例であった。1 例が肺アスペルギルス症で死亡しており、いずれの前処置がより適切かについては現時点では結論が出せない。

重症先天性好中球化粧症では、Flu+Cy+MEL が 2 例、Flu+BU が 2 例であった。Flu+BU の 1 例は一次性生着不全で再移植の予定である。

#### ⑦ 生存者の performance status (PS)



PSはGrade 0が15名、Grade 1が4名、Grade 2が2名、Grade 4が1名であった。

#### ⑧ 死因

造血幹細胞移植後に、慢性肉芽腫症1名、重症複合免疫不全症1名、慢性皮膚粘膜カンジダ症2名が死亡していた。

死亡に至った要因として最も重要と考えられるものは、肺アスペルギルス2名、生着不全1名、CYによる心筋障害1名であった。

#### (2) TRUMP、PIDJ データベースからの解析

日本造血細胞移植学会の統合データベースであるTRUMPに登録された509例の原発性免疫不全症に対する造血幹細胞移植についての検討を行った。移植は1974年から2012年までに行われており、疾患別の内訳は、重症複合免疫不全症192例、Wiskott-Aldrich症候群112例、慢性肉芽腫症96例、CD40L欠損高IgM症候群41例、その他68例であった。

Wiskott-Aldrich症候群の亜型であるX連鎖血小板減少症(XLT)については、これまで造血幹細胞移植の有用性・安全性が明らかでなかったが、5か国、15施設からの24例のXLTに対する移植成績をまとめ、報告した。WASに比べ高齢での移植であったが(13例が6歳以上)、85.1%の長期生存率を達成していた。

CD40L欠損高IgM症候群については、1988年～2012年に診断された56症例、およびHSCTを施行された29例を対象として解析を行った。56例の長期生存率は30%であり、平均生存年数は23年であり、自然予後不良であることが改めて示された。HSCT非施行例は28.2%であり、移植例の65.9%と比較し、有意に不良であった( $p=0.0231$ )。5歳までに移植を行った14例は全例生存しており、5歳以上で移植した症例の71.8%と比較し、有意に良好であった。

#### (3) 重症複合免疫不全症の1つであるCD3delta欠損症に対する造血幹細胞移植に関する検討

重症複合免疫不全症は出来るだけ早期に、感染症の合併症のない状態で造血幹細胞移植を行う事が予後を直接的に左右する。CD3delta欠損症は、重症複合免疫不全症でもまれな疾患である。最も頻度の高い重症複合免疫不全症である共通 $\gamma$ 鎖欠損症では、胸腺内にT前駆細胞がほとんど存在せず、胸腺は著しく萎縮しているが、造血幹細胞移植後に回復する。対照的に

CD3delta欠損症では、胸腺内に未熟なT前駆細胞が存在し、胸腺の明らかな萎縮は認められないが、胸腺内でのT細胞の分化が障害され、成熟T細胞が欠損する。重症複合免疫不全症で新生児期に診断された患者に対しては、診断後できるだけ早期に移植前処置なしで造血幹細胞移植をするか、感染を予防しながら生後3か月すぎに移植前処置をして造血幹細胞移植をするか、どちらが良いのか結論がでていない。これらは主に、重症複合免疫不全症のなかでも頻度が高い共通 $\gamma$ 鎖欠損症を念頭においた議論であり、他のタイプの重症複合免疫不全症に対してどのような移植方針が最適であるかは解明されていない。

我々は、CD3delta欠損症患者2名(同一家系)について、移植前処置なしに、生後1か月前後で臍帯血移植を行い、その後の免疫学的再構築の経過を調べた。その結果、CD3delta欠損症患者では、共通 $\gamma$ 鎖欠損症患者とは対照的に、移植前処置なしで移植した場合、血清免疫グロブリン値は早期に回復した。さらに抗原特異的抗体産生能も確認され、KRECでみたB細胞新生能も正常範囲であった。NK細胞数やNK活性は正常であった。しかし、T細胞数は、長期的な観察でも正常範囲に回復しないことがわかった。また、PHAに対する反応も、著しく低下した状態から回復せず、TRECでみたT細胞新生能は検出感度以下と著しい低値であった。患者は上下肢の手指を中心に、疣贅が多発し、細胞性免疫能の低下に起因するヒトパピローマ感染症であると考えられた。T細胞およびB細胞にマイクロビーズで純化して異性間FISH法でキメリズム解析をおこなったところ、T細胞ではほぼ100%がドナー由来であり、B細胞ではほぼ100%がレシピエント由来であった。

即ち、CD3delta欠損症は重症複合免疫不全症の1つであるが、胸腺内にT前駆細胞が存在しているために移植前処置なしでの移植では、胸腺内でのキメリズムが改善できないため、細胞性免疫を十分に回復させることができないと考えられた。従って、CD3delta欠損症では、可能な限り、移植前処置後に造血幹細胞移植を行うほうが望ましいと考えられる。

#### (4) 重症先天性好中球減少症の造血幹細胞移植の検討

重症先天性好中球減少症(Severe congenital neutropenia, SCN)は、慢性好中球減少、骨髓

像での前骨髄球・骨髄球での成熟障害、生後早期からの重症細菌感染症の反復を特徴とする食細胞の数的異常による先天性骨髄不全症一つである。現在までに10種類以上の責任遺伝子が同定されているが、欧米、本邦ともに好中球エラスターゼ遺伝子(ELANE)の変異を約75%に認めている。根治療法としては造血幹細胞移植が唯一の治療法であるが、その成績、適切な移植時期についての一定の結論はない。今回、治療関連毒性軽減による移植成績の向上を目的に、MDS/AML進展前のSCN症例にFludarabineを中心とした骨髄非破壊的前処置による骨髄移植を9例、10回実施した。7例は移植後完全キメラを誘導でき、好中球減少は治癒した。1例で生着不全を認め、再移植で完全キメラを誘導できた。血縁間でのHLA一致同胞から移植症例2例で混合キメラであるが、好中球減少は認めず、易感染症はなく、良好な経過を継続している。MDS/AML進展前に骨髄非破壊的前処置による骨髄移植は有用と思われるが、前処置については問題点が残されている。今後、適切な移植時期、前処置法の選択については本邦症例を集積し、ガイドラインの作成が必要と思われる。

#### (5) CD40 ligand 欠損症に対する移植に関する検討

CD40 ligand 欠損症と X-linked thrombocytopenia に対する移植適応と移植成績を検討し、移植方法について解析した。CD40 ligand 欠損高 IgM 症候群は、T 細胞機能異常をとともなう複合型免疫不全症である。今回、CD40 ligand 欠損症 56 例について検討した。ニューモシスチス肺炎、クリプトスポリジウム持続感染、真菌感染などを起こし、長期予後は40歳で生存率が42.1%と不良であることが判明した。そこで、移植成績を検討したところ、5歳以下で移植を行った場合、全生存率は100%であり、6歳以上で移植をした群と比較して優位に良好な成績であった。

#### (6) X連鎖血小板減少症に対する造血幹細胞移植に関する検討

X連鎖血小板減少症(X-linked thrombocytopenia, XLT)は、原因遺伝子はWASPであり、Wiskott-Aldrich 症候群の中で血小板減少のみが見られる疾患である。移植を行った24例について検討した。100%で生着が得られ、全生存率は83.3%であった。一方、非移植例では、75%

の患者が脳内出血、脾摘後の全身感染症、自己免疫疾患、悪性腫瘍などを来すことが知られている。また血小板減少が続くことによる生活の質の低下もある。したがって、XLTでは移植療法は根治療法として選択肢に入る事が示された。

#### (7) 高 IgE 症候群に対する造血幹細胞移植

高 IgE 症候群は、ブドウ球菌やカンジダを中心とした易感染性、難治性湿疹、高 IgE 血症を3主徴とする原発性免疫不全症である。その原因としてこれまで、STAT3、TYK2、DOCK8 遺伝子異常が報告されている。ほとんどはSTAT3 遺伝子異常によっておこり、その場合、次第に肺嚢胞が形成され、多発・拡大し、呼吸不全を呈し、死亡の原因となる。また感染症のコントロールが困難な場合や、悪性リンパ腫が合併することもあり、治療にも関わらず、病勢が進行することも少なくない。従って、高 IgE 症候群では、これらの重大な合併症が進行しないよう治療・管理する必要がある。その選択肢として、造血幹細胞移植が考えられるが、これまで報告されている移植成績は良いとは言えない。

今回我々は、巨大肺嚢胞を形成した高 IgE 症候群(STAT3 遺伝子異常による)患者に対して、骨髄非破壊的前処置を用いて HLA 完全一致の姉より末梢血幹細胞移植を行い、免疫学的再構築について検討を行った。

姉をドナーとして、FLU (30mg/m<sup>2</sup>) + CY (25mg/kg) + ATG (1.25mg/kg) を前処置として末梢血幹細胞移植(輸注細胞数 CD34 陽性細胞 3.54x10<sup>6</sup>/kg)を行った。GVHD 予防は CyA+ short term MTX を選択した。移植後10日目に生着が確認でき、その後、白血球数は増加した。血清 IgE 値は次第に低下し、正常化した。経度の GVHD が認められたがステロイド外用で軽快した。

移植後、T 細胞のキメリズムは高い値を維持していたが次第にやや低下傾向がみられ、80%前後で維持された。NK 細胞も同様な経過であった。しかし、顆粒球はレシピエント由来であり、Split chimerism の状態であることが確認された。骨髄の CD34 陽性細胞のキメリズムを調べると、やはりレシピエント由来であることが確認された。移植後の Th17、Tfh 細胞および血清 IgE 値は回復傾向が確認された。移植後の TREC の発現量は比較的保たれていた。

本症例では、骨髄でのキメリズムが低値であ

ったが、末梢血 T 細胞や NK 細胞はほとんどがドナー由来であった。Th17 細胞数も上昇していた。患者は易感染性がなくなり、肺嚢胞も軽快し、QOL も良い状態である。このような split chimerism で状態が安定している報告はこれまでない。今後、T 細胞のキメリズムが低下してくるかどうかの問題であるが、重要な問題であると考えられ、免疫学的解析を含めて慎重に経過をみていく方針である。造血幹細胞移植は、高 IgE 症候群の治療法の 1 つとして有効であることが確認された。

#### (8) 同種造血幹細胞移植におけるウサギ ATG 血中濃度と GVHD、EBV 活性化との関連に関する検討

ウサギ抗胸腺細胞グロブリン (rATG、サイモグロブリン) は慢性肉芽腫症をはじめとした先天性免疫不全症候群に対する造血幹細胞移植において広く移植前治療として使用されており、急性・慢性 Graft-versus host disease (GVHD) の予防効果が示されている。しかしながら ATG には Epstein-Barr virus (EBV) などのウイルスの再活性化を高率に引き起こす可能性があり、移植後の ATG 血中濃度と EBV の再活性化は十分には評価されていない。今回、ATG を含む前処置を用いて同種造血幹細胞移植を実施し、移植後 4 週目に ATG 血中濃度が測定された 42 例を解析した。移植後 4 週の時点で ATG 血中濃度の低値 (<6.2 $\mu$ g/ml) とグレード II ~IV の GVHD に有意な相関が認められたが ( $p=0.003$ )、EBV の有意な再活性化は認められなかった。一定以上の ATG 血中濃度を目指すことで合併症を増やすことなく、より高い治療効果が得られる可能性が考えられた。

#### (9) 造血幹細胞移植におけるサイトメガロウイルス抗原モニタリングの問題点

CMV 感染を契機として生後 1 か月時で発症した家族性血球貪食性リンパ組織球症 3 型 (FHL3) の男児に対して非血縁臍帯血移植を行い、定期的な血中モニタリングと予防的加療を行っていたにも関わらずサイトメガロウイルス (CMV) による網膜炎を発症し、永続的な障害を残した症例を経験した。移植直前に眼底検査で異常の無い事を確認し、血中 CMV 抗原陽性化を指標として抗ウイルス薬治療を行っていたが、退院目前に行った眼底検査で網膜炎が確認され、眼房水より CMV-DNA が検出された。

治療により改善したものの網膜の癒痕化や硝子体の混濁が残り、永続的な視力低下が避けられない状態である。

本症例の経過より、血中モニタリングだけを指標にした加療による CMV 合併症予防には限界がある事が示され、乳児症例では自覚症状による網膜炎の早期発見は不可能である為、移植後早期からの定期的眼底検査が必要であると思われる。

#### (10) 原発性免疫不全症に対する造血幹細胞移植法ガイドラインの作成

これまで毛細血管拡張性小脳失調症は、神経症状が進行するため、造血幹細胞の適応とは考えられていなかった。実際、造血幹細胞移植を受けた毛細血管拡張性失調症患者は海外の報告を含めても極めて少数である。しかし、実際には、感染症のコントロールが困難で造血幹細胞移植を望む患者・家族も少なくない。これまでの報告や、ESID のガイドラインを参考に、適応を十分考慮した上で、造血幹細胞移植が必要と判断された場合、以下の 2 つの移植以前処置が現時点では妥当ではないかという結論を得た。

1. Flu 30mg/m<sup>2</sup>/day ×5 days + CPM 5mg/kg 4days
2. Flu 30mg/m<sup>2</sup>/day ×5 days + BU 0.5mg/kg×2 PO/day 2 days

この移植前処置は、他の DNA 修復障害をともなう免疫不全症にも適応可能であると考ええる。

今後、DNA 修復障害をともなう免疫不全症の移植症例があれば、その詳細を解析していく方針である。

#### 2. 造血幹細胞移植に関連する基礎研究の展開

##### (1) 臍帯血細胞の機能に関する研究

臍帯血移植では、臍帯血中の T 細胞が GVHD 発症に関連している。他方、レシピエント免疫担当細胞に対する臍帯細胞の影響に関する研究はない。今回我々は、臍帯血中の有核赤血球が、レシピエントの免疫担当細胞にどのような影響を与えるかについて検討した。臍帯血細胞から白血球を CD45 マイクロビーズで除き、その後、CD36 マイクロビーズで positive-selection することによって有核赤血球を純化することができた。成人末梢血単球を LPS で刺激する際に、臍帯血由来の有核赤血球を加えると、培養上清中の TNF-alpha や IL-6 の産生が著しく抑制されることが分かった。この際、成人末梢血単球と臍帯血由来の有核赤血球を培養することで、

IL-10 の産生が亢進することがわかった。抗 IL-10 抗体を加えると、有核赤血球の抑制作用は消失することから、臍帯血有核赤血球の成人末梢血単球機能の抑制には、IL-10 が重要な役割を果たしていることを明らかにした。

有核赤血球の T 細胞への影響については、現在解析中であるが、臍帯血中の有核赤血球が、レシピエントの免疫担当細胞の機能を抑制すれば、臍帯血移植時に有核赤血球を除かないような処理の方法が確立されれば、移植後の拒絶を抑えたり、移植にともなうレシピエントの炎症惹起に起因する副反応が軽減できる可能性がある。

## (2) 遺伝子修復研究

ヘルパー依存型アデノ・アデノ随伴ウイルスハイブリッドベクター (HD-Ad.AAD ベクター) は、造血幹細胞に感染性を示す Ad5/35 キメラベクターと、相同組み換えによる目的遺伝子座領域での **targeting** による修復をおこす AAV ベクターの両者の長所を備えている。我々は BTK 遺伝子の exon6~19 とその隣接遺伝子 TIMM8A を含むゲノム領域、および EGFP/Hygromycin (Hyg) 耐性遺伝子を搭載した HD-Ad.AAV. BTK ベクターを作製した。このベクターをヒト臍帯血由来 CD34 陽性細胞に感染させたところ、10%の細胞で一過性の GFP 発現を認めた。また、このベクターを感染させた臍帯血由来 CD34 陽性細胞から 755 個の Hyg 耐性赤芽球コロニーを得て、そのうち 4 コロニーで BTK 遺伝子座における相同組み換えを認めた。同様に感染させた CD34 陽性細胞から分化誘導した CD19 陽性細胞においても相同組み換えを検出した。本ベクターにより相同組み換えによる BTK 遺伝子の変異修復を行える可能性を示した。

## D. 考察

原発性免疫不全症に対して、造血幹細胞移植が国内で何例なされているか、どのような疾患に対してどのような治療方針で行われているのか、今回の研究で初めて明らかになった。本研究を継続することにより、各疾患に対する最適な造血幹細胞移植法を明らかにすることができると考える。原発性免疫不全症は感染症などの移植前後の問題が大きい。今回の研究でもアスペルギルス感染症は予後に大きく影響していることが明らかになった。原発性免疫不全症に対する造血幹細胞移植の問題点を明らかにし、合

併症などの問題点を解決するための研究が今後とも必要である。今回、EBMT や ESID の移植方法・治療方針について、国内の状況と照らし合わせた形で議論を行った。現状では移植前処置に用いるブスルフェンの投与方法が大変参考になるだろうという結論に達した。また原発性免疫不全症の各疾患の病態に即した治療法の開発により、患者の QOL を長期的に向上させるべく研究を継続したい。

## E. 結論

今年度の研究目的のために、いろいろな方法を用いて、いろいろな角度から研究を行うことができ、当初の目的を達成できたものとする。次年度の研究に展開していきたく。

## F. 健康危険情報

なし。

## G. 研究発表

学会

1. Takada H, Takimoto T, Ishimura M, Urata M, Morio T, Hara T: Wiskott-Aldrich syndrome in a girl caused by heterozygous WASP mutation and extremely skewed X-chromosome inactivation: an association of non-random X-chromosome inactivation and uniparental isodisomy 6. 16th Biennial Meeting of the European Society for Immunodeficiencies. Oct 29-Nov 1, 2014 Prague
2. Mitsuiki N, Yang X, Bartol S, Kosaka Y, Takada H, Imai K, Kanegane H, Mizutani S, Burg VD, Zeim MV, Ohara O, Morio T: Mutations in Bruton's tyrosine kinase impair IgA responses. 16th Biennial Meeting of the European Society for Immunodeficiencies. Oct 29-Nov 1, 2014 Prague
3. Hara T, Ishimura M, Takada H, Kusuda Y, Nakashima Y, Murata K, Kanno S, Nishio H: Association between primary immunodeficiency diseases and vasculitis syndrome. 16th Biennial Meeting of the European Society for Immunodeficiencies. Oct 29-Nov 1, 2014 Prague
4. Kanegane H, Imai K, Yamada M, Takada H, Ariga T, Hara T, Rojavin M, Hu W, Hubsch A, Nonoyama S: Safety and

- tolerability of Hizentra in patients with primary immunodeficiency in Japan, Europe, and the US. 16th Biennial Meeting of the European Society for Immunodeficiencies. Oct 29-Nov 1, 2014 Prague
5. Imai K, Kanegane H, Yamada M, Takada H, Ariga T, Kobayashi M, Rojavin M, Bexon M, Nonoyama S, Hara T, Miyawaki T: Safety, Tolerability, and Efficacy of Hizentra in Japanese Patients with Primary Immunodeficiency over 48 Weeks. American Academy of Allergy, Asthma & Immunology. February 28-March 4, 2014 San Diego
  6. Kanegane H, Imai K, Yamada M, Takada H, Ariga T, Tsutani K, Igarashi A, Bexon M, Rojavin M, Kobayashi M, Lawo JP, Zbrozek A, Nonoyama S, Hara T, Miyawaki T: Health-related quality of life of Japanese patients with primary immunodeficiency diseases receiving IgPro20, a 20% liquid subcutaneous immunoglobulin (Hizentra). American Academy of Allergy, Asthma & Immunology. February 28-March 4, 2014 San Diego
  7. Ishimura M, Mizuno Y, Takada H, Ohga S, Hara T: An Early and Non-invasive Diagnostic Method for Histiocytic Necrotizing Lymphadenitis. FISP/M. August 30, 2014 Fukuoka
- 論文
1. Takimoto T, Takada H, Ishimura M, Kirino M, Hata K, Ohara O, Morio T, Hara T: Wiskott-Aldrich syndrome in a girl caused by heterozygous WASP mutation and extremely skewed X-chromosome inactivation: A novel association with maternal uniparental isodisomy 6. *Neonatology* 2015;107(3):185-90.
  2. Kido J, Mizukami T, Ohara O, Takada H, Yanai M: Idiopathic disseminated bacillus Calmette-Guerin infection in three infants. *Pediatrics International* in press
  3. Kusuda T, Nakashima Y, Murata K, Kanno S, Nishio H, Saito M, Tanaka T, Yamamura K, Sakai Y, Takada H, Miyamoto T, Mizuno Y, Ouchi K, Waki K, Hara T: Kawasaki disease-specific molecules in the sera are linked to microbe-associated molecular patterns in the biofilms. *PLoS One*. 2014 Nov 20;9(11):e113054
  4. Yamazaki Y, Yamada M, Kawai T, Morio T, Onodera M, Ueki M, Watanabe N, Takada H, Takezaki S, Chida N, Kobayashi I, Ariga T: Two Novel Gain-of-Function Mutations of STAT1 Responsible for Chronic Mucocutaneous Candidiasis Disease: Impaired Production of IL-17A and IL-22, and the Presence of anti-IL-17F Autoantibody. *J Immunol*. 2014 Nov 15;193(10):4880-7
  5. Yamamura K, Takada H, Uike K, Nakashima Y, Hirata Y, Nagata H, Takimoto T, Ishimura M, Morihana E, Ohga S, Hara T: Early progression of atherosclerosis in children with chronic infantile neurological cutaneous and articular syndrome. *Rheumatology (Oxford)*. 2014 Oct;53(10):1783-7
  6. Kanegane H, Imai K, Yamada M, Takada H, Ariga T, Bexon M, Rojavin M, Hu W, Kobayashi M, Lawo JP, Nonoyama S, Hara T, Miyawaki T: Efficacy and safety of IgPro20, a subcutaneous immunoglobulin, in Japanese patients with primary immunodeficiency diseases. *J Clin Immunol*. 2014 Feb;34(2):204-11
  7. Koga Y, Takada H, Suminoe A, Ohga S, Hara T: Successful treatment of non-Hodgkin's lymphoma using R-CHOP in a patient with Wiskott-Aldrich syndrome followed by a reduced-intensity stem cell transplant. *Pediatr Transplant*. 2014 Sep;18(6):E208-11
- H. 知的財産権の出願・登録状況  
なし

# 資料

## 登録

PIDJ 登録番号 or イニシャル(姓・名)	
疾患名	
原因遺伝子	
遺伝子変異	
アミノ酸変異	
生年月	西暦            年        月
移植予定日	西暦            年        月        日

移植前データ

PIDJ 登録番号 or イニシャル(姓・名)	
移植日	西暦            年            月            日
前処置前 2 週間以内のデータ 最高値	WBC                            / $\mu$ L Neut                            %,                            Ly                            % CRP                            mg/dL T 細胞                        %/リンパ球中
移植前感染症予防法 (免疫不全に対する感染予防)	
移植前ガンマグロブリン補充	無            ・            有 トラフ値 目標値                            mg/dL
移植 2 週間以内から移植日 までの期間に active な感染症 以外の合併症	無 ・ 有 (                            )
移植 2 週間前から移植日 までの期間に active な感染症	無            ・            有
感染症の種類	
原因微生物	
感染症の重症度	重症            ・            中等症            ・            軽症
病原体関連抗原量	
病原体関連 DNA 量	
感染症に対する治療	



移植前後データ

PIDJ 登録番号 or イニシャル(姓・名)	
ドナー	同胞 ・ 父 ・ 母 ・ 非血縁者 ・ その他 ( )
細胞	骨髄 ・ 臍帯血 ・ 末梢血
ドナー細胞処理	無 ・ 有 ( )
投与した細胞数(MNC)	Cells/Kg(体重)
投与した CD34 陽性細胞	Cells/Kg(体重)
投与した CD3 陽性細胞	Cells/Kg(体重)
患者 HLA	A( , ), B( , ) C( , ), DR( , )
ドナーHLA	A( , ), B( , ) C( , ), DR( , )
移植前処置	TBI: 無 ・ 有 (Total Gy/ ) 薬剤名・投与量: . 薬剤名・投与量: . 薬剤名・投与量: . ATG: 無 ・ 有 (Total mg)
GVHD 予防法	MTX: ( mg/m <sup>2</sup> 、 Day )、 MTX: ( mg/m <sup>2</sup> 、 Days , , , ) タクロリムス 目標血中濃度:( ng/mL) シクロスポリン 目標血中濃度:( ng/mL) MMF: (投与量 ) CY: (投与量 ) その他: 薬剤名 投与量
移植関連感染症予防法	バンコマイシン・ ポリミキシン B ・ バルガンシクロビル・ ミカファンギン・ ポリコナゾール・ Lipo-AMPH アシクロビル ( 静、 口 )、経静脈抗生剤 (薬剤名 ) ニューモシスティス予防 無 ・ 有: 薬剤名 ( )
移植後ガンマグロブリン補充	無 ・ 有: トラフ値 目標値 mg/dL

移植後データ1

PIDJ 登録番号 or イニシャル(姓・名)	
生着 (前処置ありの場合)	連続 3 日以上 好中球数が 500/ $\mu$ L を超えた最初の日: Day
最終輸血	最終赤血球輸血 Day , 最終血小板輸血 Day
T 細胞の生着	T 細胞が 200/ $\mu$ L を超えた日: Day
	T 細胞が 500/ $\mu$ L を超えた日: Day
末梢血キメリズム解析 (移植後 1~3 か月時)	全体でのキメリズム(移植後: か月時) ドナー: % (解析方法: )
	T 細胞のキメリズム(移植後: か月時) ドナー: % (解析方法: )
	B 細胞のキメリズム(移植後: か月時) ドナー: % (解析方法: )
骨髄キメリズム解析 (移植後 1~3 か月時)	全体でのキメリズム(移植後: か月時) ドナー: % (解析方法: )
	B 細胞のキメリズム(移植後: か月時) ドナー: % (解析方法: )
	CD34 陽性細胞のキメリズム(移植後: か月時) ドナー: % (解析方法: )
	細胞のキメリズム(移植後: か月時) ドナー: % (解析方法: )
移植後の感染症	無 ・ 有
感染症の種類	
原因微生物	
感染症の重症度	重症 ・ 中等症 ・ 軽症
病原体関連抗原量	
病原体関連 DNA 量	
感染症に対する治療	
急性 GVHD	無 ・ 有 (Stage , Grade )
感染症やGVHD以外の 移植関連合併症 (VODなど)	
移植後 1~3 か月の状態	

## 移植後データ2

PIDJ 登録番号 or イニシャル(姓・名)	
末梢血キメリズム解析 (移植後 3か月～2年時) (複数回解析されていれば、移植 後 2年時に最も近い時点で)	全体でのキメリズム(移植後:      か月時) ドナー:                    % (解析方法:                    )
	T細胞のキメリズム(移植後:      か月時) ドナー:                    % (解析方法:                    )
	B細胞のキメリズム(移植後:      か月時) ドナー:                    % (解析方法:                    )
	細胞のキメリズム(移植後:      か月時) ドナー:                    % (解析方法:                    )
骨髄キメリズム解析 (移植後 3か月～2年時) (複数回解析されていれば、移植 後 2年時に最も近い時点で)	全体でのキメリズム(移植後:      か月時) ドナー:                    % (解析方法:                    )
	B細胞のキメリズム(移植後:      か月時) ドナー:                    % (解析方法:                    )
	CD34陽性細胞のキメリズム(移植後:      か月時) ドナー:                    % (解析方法:                    )
	細胞のキメリズム(移植後:      か月時) ドナー:                    % (解析方法:                    )
DLI	試行回数:      回、                    今後施行予定 (あり , なし ) 最低投与量      x 10 <sup>e</sup> /kg ,      最大投与細胞数      x 10 <sup>e</sup> /kg
拒絶	無 ・ 有
再移植	無 ・ 有 再移植の前処置
移植後 3か月～2年の状態	
予後	生存 ・ 死亡 (Day      ) (または 移植後      年      か月) 死亡の原因: 生存している場合、生存が確認できる最終日のPerformance Status※      Grade 社会生活制限なし,      自宅安静,      主に入院 社会生活(就学・就労・主婦(夫)・仕事(      )
総括・問題点	

### Ⅲ. 委託業務成果報告（業務項目）