

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

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)

研究要旨

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 欠損症は X 連鎖高 IgM 症候群とも称されるが、56 例について検討した。T 細胞機能の異常を持ち複合型免疫不全症である。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。

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。

A. 研究目的

原発性免疫不全症の中で造血幹細胞移植が行われている CD40 ligand 欠損症 (X 連鎖高 IgM 症候群) と、Wiskott-Aldrich 症候群の軽症型とされる X 連鎖血小板減少症について解析し、移植の必要性和移植の成績について検討した。これにより、この 2 疾患について移植適応、移植成績を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

56 人の日本人の CD40 ligand 欠損症について解析した。遺伝子解析は全員で行われていた。

1998 年から 2012 年にかけて、患者の臨床症状などを検討した。また、移植が行われた 29 人について、移植時の年齢、感染症、臓器障害などの有無、移植方法、移植後の経過について検討した。

X 連鎖血小板減少症については、以前の研究で 75%の患者が頭蓋内出血、脾摘後の重症感染、自己免疫疾患、悪性腫瘍などの合併症を呈することが判明している。

そこで、移植を行った 24 名の X 連鎖血小板減少症患者について、移植方法、移植時の臨床状態、移植後経過について検討した。X 連鎖血

小板減少症は、Wiskott-Aldrich 症候群の重症度分類でスコア 1, 2 の患者とした。

(倫理面への配慮)

データは匿名化して取り扱う。臨床研究、遺伝子解析、PIDJ、自己炎症疾患データベースへの登録に関しては、本人ないし親権者からの同意書を得た。また、本研究は、小児感染症学会、防衛医大、理化学研究所、かずさ DNA 研究所で倫理委員会を通過している。

C. 研究結果

a) CD40 ligand 欠損症

56 人の日本人の CD40 ligand 欠損症の生存中央値は 23 歳であった。また、全生存率は 30 歳で 42.1%、40 歳で 31.6%であった。

56 人の中で 18 人が死亡した。非移植群 (27 人) では 14 人が死亡し、その原因は、感染症 (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) が 8 人、悪性腫瘍が 2 人、肝不全が 2 人、交通事故が 1 人、原因不明が 1 人であった。移植群 (29 人) では 4 人が死亡し、その原因は感染症が 2 人、急性 GVHD が 1 人、肝不全が 1 人であった。

移植を行った患者 29 例の全生存率は 10 歳で 100%、30 歳で 65.9%であった。移植を行っていない患者 27 例の全生存率は 10 歳で 62.5%、30 歳で 35%であった。すなわち、移植を行った患者の方が、有意に全生存率が高かった ($p=0.0231$)。

移植の血液幹細胞ソースは、血縁フルマッチ骨髄は 12 人、血縁フルマッチ末梢血幹細胞が 1 人、非血縁フルマッチ骨髄が 13 人、臍帯血は 3 人であった。16 人が骨髄破壊的前処置、10 人が骨髄非破壊的前処置を受けた。

移植群での全生存率 (Over all survival, OS)、無事象生存率 (Event free survival, EFS)、無病生存率 (Disease free survival, DFS) を、5 歳までに移植した群 (14 人) と 6 歳以上で移植

した群 (15 人) で比較したところ、OS、EFS、DFS いずれも有意に 5 歳までに移植した群が良好な結果であった。特に、5 歳までに移植した群の OS は 100%であった。

b) X 連鎖血小板減少症

X 連鎖血小板減少症 (X-linked thrombocytopenia, XLT) は、Wiskott-Aldrich 症候群 (WAS) の中で血小板減少のみが見られる疾患である。原因遺伝子は WAS と同じで WASP である。WAS 造血幹細胞移植の絶対適応であるが、XLT に関しては移植適応についてまとまった調査はない。これまで、XLT は WAS の軽症型として、移植されない症例が多かったと推察される。

そこで、移植適応の基礎データとするために、24 例の X 連鎖血小板減少症 (X-linked thrombocytopenia, XLT) の移植成績を検討した。移植前処置は全例で骨髄は快適前処置であった。幹細胞ソースは、血縁 HLA フルマッチ骨髄 5 例、血縁 HLA フルマッチ末梢血幹細胞が 1 例、非血縁骨髄が 14 例 (HLA はフルマッチが 9 例、1 座不一致が 5 例)、血縁フルマッチ臍帯血が 2 例、非血縁臍帯血が 2 例 (HLA は 2 例とも 1 座不一致) であった。その結果、24 症例全例 (100%) で生着が得られ、移植後の全生存率は 83.3%であった。死亡例 4 例の死亡原因は、移植前に脾摘をされて移植後に敗血症を起こした 2 例、重症 GVHD に伴うアスペルギルス感染が 2 例であった。

cGVH については、24 症例中 20 例は起こさないか、起こしても治療により治癒した。移植後に自己免疫疾患、悪性腫瘍を起こした例はなかった。

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、悪性腫瘍を来すことが知られている。

したがって、XLT では移植療法は、疾患を根治できる治療法として、治療の選択肢に入る事が示された。

D. 考察

今回の結果から、CD40 ligand 欠損症は長期予後が不良である事、移植適応があることが明らかになった。また、5 歳以下で移植すると移植後生存率は 100%であり、また 5 歳以下で移植した方が 6 歳以上で移植するよりも有意に、OS、EFS、DFS などの移植成績が良いことが判明した。これは、年長になるとコントロールできない感染症、臓器障害、自己免疫疾患、悪性腫瘍などが発生する事が原因であると考えられた。

X 連鎖血小板減少症では、24 例中 20 例が移植により根治したと考えられる結果であった。移植成績が良いため、非移植群での脳内出血、悪性腫瘍、自己免疫疾患などの合併症の発生および血小板が低下している事による生活の質の低下を考えると、移植により根治することも選択肢に入ると考えられた。

今後、さらに移植の方法が進歩し、晩期障害を含めた移植の危険性が低下すれば、より良い成績が得られると考えられる。こうした移植方法の進歩により CD40 ligand 欠損症で 6 歳以上であってもより安全に移植できるようになることを期待したい。X 連鎖血小板減少症でも、無病生存率を 100%近くまで向上させる事を可能にしたい。

現時点では、患者の状態、ドナーソースなどを勘案して移植が安全にできると判断した場合は、積極的に移植することを考える事が良いであろう。

E. 結論

CD40 ligand 欠損症は移植適応があり、5 歳以下で移植すると成績が良いことが判明した。

X 連鎖血小板減少症では、根治療法として移植を位置づけられると考えられた。

F. 研究危険情報

特になし。

G. 研究発表

学会発表

1. Takashima T, Tsujita Y, Yeh T.W, Mitsuiki N, Kanegane H, Kracker S, Durandy A, Nonoyama S, Morio T, Imai K. Clinical and immunological features of patients with Gain-of-Function PIK3CD mutations in Japan. 16th Biennial Meeting of the European Society of Immunodeficiencies. 2014 Oct.29-Nov.1
2. Kanegane H, Imai K, Yamada M, Takada H, Ariga T, Hara T, Rojavin M, Hu W, Hubsch A, Nonoyama S. Safty and tolerability of hizentra in patients with primary immunodeficiency in Japan, Europ, and Us. 16th Biennial Meeting of the European Society of Immunodeficiencies. 2014 Oct.29-Nov.1
3. Imai K, Tsujita Y, Mitsui K, Takashima T, Okano T, Aoki Y, Kimoto F, Inoue M, Iwasaki F, Kaneko T, Waragai T, Sano H, Kikuta A, Morio T, Nonoyama S. Hematopoietic stem cell transplantation for the patients with activated PI3K-DELTA syndrome. 16th Biennial Meeting of the European Society of Immunodeficiencies. 2014 Oct.29-Nov.1

論文

1. Mitsui-Sekinaka K, Imai K, Sato H, Tomizawa D, Kajiwarra M, Nagasawa M, Morio T, Nonoyama S. Clinical features and hematopoietic stem cell transplantations for CD40 ligand deficiency in Japan. J Allergy Clin Immunol. 2015, in press.
2. Kato T, Crestani E, Kamae C, Honma K, Yokosuka T, Ikegawa T, Nishida N, Kanegane H, Wada T, Yachie A, Ohara O, Morio T, Notarangelo L.D, Imai K, Nonoyama S. RAG1 deficiency may present clinically as selective IgA deficiency. J Clin Immunol. 2015, in press.
3. Oshima K, Imai K, Albert M.H, Bittner T.C, Strauss G, Filipovich A.H, Morio T, Kapoor N, Dalal J, Schultz K.R, Casper J.T, Notarangelo L.D, Ochs H.D,

Nonoyama S. Hematopoietic Stem Cell Transplantation for X-Linked Thrombocytopenia With Mutations in the WAS gene. *J Clin Immunol*. 2015, in press.

4. Nakatani K, Imai K, Shigeno M, Sato H, Tezuka M, Okawa T, Mitsuiki N, Isoda T, Tomizawa D, Takagi M, Nagasawa M, Kajiwara M, Yamamoto M, Arai A, Miura O, Kamae C, Nakagawa N, Honma K, Nonoyama S, Mizutani S, Morio T. Cord blood transplantation is associated with rapid B cell neogenesis compared with bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2014, 49:1155–1161.
5. Horiuchi K, Imai K, Mitsui-Sekinaka K, Yeh ZW, Ochs HD, Durandy A, Nonoyama S. Analysis of somatic hypermutation in the IgM switch region in human B cells. *J Allergy Clin Immunol*. 2014, 134:411-419.
6. Al-Herz W, Bousfiha A, Casanova JL, Chatila T, Conley ME, Cunningham-Rundles C, Etzioni A, Franco JL, Bobby Gaspar H, Holland SM, Klein C, Nonoyama S, Ochs HD, Oksenhandler E, Picard C, Puck JM,

Sullivan KE, Tang ML. Primary immunodeficiency diseases: an update on the classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee for Primary Immunodeficiency. *Front Immunol*. 2014, 5:1-33.

7. 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, 34:204-211.

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

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

担当責任者： 平家 俊男（京都大学大学院医学研究科小児科学）
施設内研究協力者： 八角 高裕（京都大学大学院医学研究科小児科学）

研究要旨

原発性免疫不全症の内、複合免疫不全症や免疫調節障害等に属する疾患の多くは乳児期早期に発症し、早期に造血幹細胞移植を行う必要がある。その特性から、感染コントロールが不良な状態での移植が必要となる場合が多く、年少児を対象とする場合が多い事もあり、合併症のリスクが高くなる傾向がある。

我々は、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瘢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。

本症例の経験より、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た。今後、特に乳児期発症の原発性免疫不全症例に対する造血幹細胞治療に於ける CMV 感染の適正なモニタリングプロトコルの確立が望まれる。

A. 研究目的

原発性免疫不全症は、免疫機構の先天性異常を原因とし、易感染性を主症状とする症候群であり、抗体補充療法や抗菌剤による感染予防のみで長期生存が期待できる患者が存在する一方、生後早期に造血幹細胞移植による免疫機構の再構築が必要である患者も存在する。スクリーニング法の開発や家族歴を有する症例に対する迅速な検査により、患者が発症以前に発見される場合も増えつつあるが、多くの患者は発症後に診断され、感染症のコントロールが不十分な状態で移植が行われる場合が多い。加えて、これ

らの患者の多くは乳幼児である為、患者の自覚症状による合併症の発見が難しい場合も多い。

Cytomegalovirus（CMV）は移植治療に於いて重大な合併症を起こしうる病原体であり、CMV 網膜炎は失明につながり得る重篤な合併症である。移植後 CMV 感染症に対しては、血中 CMV 抗原定期モニタリングと抗ウイルス剤治療による発症予防が行われるのが一般的であるが、この方法の有効性に関する評価は確立していない。

本研究では、血中 CMV-DNA 陽性状態で造血幹細胞移植を行った原発性免疫不全症乳児例の

経過を検証し、血中 CMV 抗原を指標とした抗ウイルス剤治療による発症予防の有効性と限界について検討を行った。

B. 研究方法

対象は、CMV 感染を契機に生後 1 か月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 HLA アレル 5/6 一致の非血縁臍帯血移植を行った症例。定期的な血中 CMV モニタリングを行い、血中 CMV 抗原陽性を基準に Gancyclovir (GCV) による予防的加療を行った。診療記録からその経過を検討した。

C. 研究結果

臨床経過：症例は FHL3 の男児。CMV 感染を契機に生後 1 か月で発症し、CMV 感染に対して GCV 投与、原疾患に対して dexamethasone・cyclosporin (CsA)・etoposide と methotrexate (MTX) 髄注療法を行い、寛解導入の後に骨髄非破壊的前処置 (fludarabine 140 mg/m²、melphalan 140 mg/m²、全身放射線 3 Gy) を用いて臍帯血移植を施行した。臍帯血は血液型一致、HLA は遺伝子型 GVH 方向 2 座、HVG 方向 1 座不一致で有核細胞数 10.3×10⁷ 個/kg、CD34 陽性細胞数 5.2×10⁵ 個/kg、CMV 抗体は陰性であった。GVHD 予防は CsA と短期 MTX、ウイルス感染予防として day-7 から 35 まで acyclovir 点滴と day 96 まで週 1 回の免疫グロブリン投与を行った。移植前日より全身浮腫が出現し、肺水腫の進行により day 11 に ICU に収容され人工呼吸器管理となった。高サイトカイン血症を伴う体液貯留に対して methylprednisolone (mPSL) パルス療法 (10 mg/kg/日) を行い、呼吸障害の改善を認め、day 26 に人工呼吸器を離脱した。Day 33 の骨髄検査では完全キメラを確認し、原疾患の再燃も認めなかった。Day 29 より皮疹・下痢等の急性

GVHD を示唆する症状を認め、mPSL は慎重に減量して day 100、CyA は day 129 に中止した。

CMV モニタリングは原則として週 1 回の CMV 抗原 (pp65) 測定と、適時 PCR による CMV-DNA 測定を行った。抗ウイルス剤治療開始基準は血中 CMV 抗原 1 個以上陽性とした。Day 27 と day 55 に抗原血症 (8/50000 個、7/50000 個) を認め、いずれも GCV (10 mg/kg/日) を 2-3 週間投与して抗原血症の陰性化を 2 回確認した後に中止した。CMV 感染症を疑う臨床症状はなく、以後も週 1 回モニタリングを継続したが全て陰性であった。血中 CMV-DNA は移植前の 6.3×10³ コピー/mL より徐々に増加して day 27 には 1.3×10⁶ コピー/mL となった。GCV 投与によりコピー数が減少したが、投与終了後も 10²~10³ コピー/mL が検出された。

Day 120 に施行した眼底検査で両眼に硝子体混濁・綿花様白斑・顆粒状白斑・散在する出血を認め、右眼は黄斑部まで病変を認めた。視力障害を示唆する症状は確認出来なかったが、両眼前房水から CMV-DNA が検出され (右眼：2.6×10⁵ コピー/mL、左眼：4.4×10⁵ コピー/mL)、CMV 網膜炎と診断した。同時に測定した血中 CMV 抗原は陰性で、血中 CMV-DNA は 2.5×10² コピー/mL、血清 IgG 値は 1023 mg/dL であった。診断確定後、GCV (10 mg/kg/日) を 2 週間投与したが眼底所見の改善が乏しく、前房水中 CMV-DNA 値の減少もわずかであったため、foscarnet (PFA) (180 mg/kg/日) に変更した。PFA 3 週間投与後の眼底検査では両眼とも眼底出血と炎症所見の消失を認めた。PFA (120 mg/kg/日) を 3 週間追加投与後、valganciclovir (VGCV) (15 mg/kg/日) 内服に変更した。前房水 CMV-DNA 値の低下を確認し、VGCV 内服は 3 か月で中止した。その後は網膜炎の再燃なく、現時点で臨床症状は認めていないが、永続する視力低下が避けられない状態である。

D. 考察

同種移植後の CMV 網膜炎の発症率は報告により様々であるが、前方視的に眼底検査を施行した検討では、血中 CMV-DNA 陽性患者の 5.6% に発症すると報告されている。CMV 網膜炎のリスク因子としては、ウイルス血症の既往歴、HLA 不一致移植、非血縁ドナー、ドナーとレシピエントの CMV 抗体の有無、生着遅延、ステロイド投与、ATG 使用、ウイルス量及びウイルス血症の期間、慢性 GVHD 等が報告されている。本例はこれらリスク因子を多数有し、特に移植直前のウイルス血症の既往と長期間のステロイド投与が発症の主要因と考えられた。

CMV 網膜炎は通常片側性に網膜周辺部から発症し、その後両側性となり網膜中心部に病変が及ぶため、本例は診断時既に発症から時間が経過していた可能性が高い。血中 CMV 抗原は保険適応のある移植後モニタリング法として広く用いられているが、血球数が少ない場合は感度が低いという欠点がある。特に CMV 胃腸炎や網膜炎では抗原血症の検出感度が低いことが報告されており、本例の様に CMV 感染モニタリングや治療開始基準として血中抗原測定のみでは不十分な症例が存在する。一方、PCR による CMV-DNA の検出は CMV 抗原と比べて感度が高く、本例の様な症例では有用と考えられるが、測定機器により感度が異なり、治療介入するカットオフ値が定まっていない事や、保険適応外であること等の問題がある。加えて、CMV-DNA 陰性の網膜炎発症例も報告されており、眼底検査を併行して診断を進めることが望ましい。

CMV 網膜炎診断までの期間は一般的に移植後 9~12 か月とされているが、抗原血症を認めた患者に定期的に眼底検査を施行した検討では診断までの平均期間は 18.7 週と報告されており、自覚症状が出現した時点で既に病状が進行している症例が多数存在する可能性がある。本例の様に、乳幼児など自覚症状の訴えが乏しい症例、

特に CMV 抗原または CMV-DNA が陽性となった症例に対しては、血中モニタリングに加え、定期的な眼底検査を併用する事が必要と考えられた。

E. 結論

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、特に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た。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

学会発表

1. 当科における FHL (家族性血球貪食性リンパ組織球症) スクリーニングの現状 堀雅之、八角高裕、西小森隆太、平家俊男 第 117 回日本小児科学会学術集会
2. 特徴的な臨床症状から NFkB2 遺伝子変異を同定しえた早発型 CVID の一例 本田吉孝、下寺佐栄子、大音泰介、田中孝之、河合朋樹、八角高裕、西小森隆太、平家俊男 第 8 回日本免疫不全症研究会学術集会

論文

1. BCG vaccination in patients with severe combined immunodeficiency: complications, risks, and vaccination policies. Marciano BE, Huang CY, Joshi G, Rezaei N, Carvalho BC, Allwood Z, Ikinciogullari A, Reda SM, Gennery A, Thon V, Espinosa-Rosales F, Al-Herz W, Porras O, Shcherbina A, Szaflarska A, Kiliç Ş, Franco JL, Gómez Raccio AC, Roxo P Jr, Esteves I, Galal N, Grumach

AS, Al-Tamemi S, Yildiran A, Orellana JC, Yamada M, Morio T, Liberatore D, Ohtsuka Y, Lau YL, Nishikomori R, Torres-Lozano C, Mazzucchelli JT, Vilela MM, Tavares FS, Cunha L, Pinto JA, Espinosa-Padilla SE, Hernandez-Nieto L, Elfeky RA, Ariga T, Toshio H, Dogu F, Cipe F, Formankova R, Nuñez-Nuñez ME, Bezrodnik L, Marques JG, Pereira MI, Listello V, Slatter MA, Nademi Z, Kowalczyk D, Fleisher TA, Davies G,

Neven B, Rosenzweig SD. *J Allergy Clin Immunol.* 133:1134-41.2014

2. Munc13-4 deficiency with CD5 downregulation on activated CD8+ T cells. Wada T, Yasumi T, Toma T, Hori M, Maeda S, Umeda K, Heike T, Adachi S, Usami I, Yachie A. *Pediatr Int.* 56:605-8.2014

H. 知的財産権の出願・登録状況
無し

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

担当責任者： 小島 勢二（名古屋大学大学院医学系研究科小児科学）

施設内研究協力者： 村松 秀城（名古屋大学大学院医学系研究科小児科学）

研究要旨

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も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（ $<6.2\mu\text{g/ml}$ ）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。

A. 研究の目的

ウサギ抗胸腺細胞グロブリン（rATG、サイモグロブリン）の急性および慢性 GVHD 予防効果は、多くの報告で確認されている。

一方で、過度の免疫抑制による EB ウイルスを中心とする重症ウイルス感染症の増加が報告されており、至適投与量は未だ確立されていない。欧米では、 $7.5\sim 10\text{mg/kg}$ を至適投与量としているが、欧米と比較して急性 GVHD の発症頻度が低いわが国においては、より低用量による検討が行われている。

B. 研究方法

1999 年より 2011 年に ATG を含む前処置を用いて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 例を対象とした。

生着、急性・慢性 GVHD、ウイルス感染症、合併症、予後について後方視的に解析した。全例で週に 1 回リアルタイム PCR 法による EBV-DNA 量を測定し、ATG の血中濃度測定方法には ELISA 法を用いた。

（倫理面への配慮）

本研究は名古屋大学医学部倫理委員会の審査、承認後に実施した。

C. 研究結果

1. ATG 血中濃度

移植後2週、4週時点でのATG血中濃度の中央値はそれぞれ45.9 $\mu\text{g/ml}$ と15.4 $\mu\text{g/ml}$ であった。それぞれの投与量で、患者間にATG血中濃度に大きなばらつきを認めた(図1)。

2. 急性 GVHD

全体で急性GVHDグレードI、II、III、IVはそれぞれ6(14%)、3(7%)、7(17%)、0(0%)症例で発症し、26症例ではGVHDは発症しなかった。慢性GVHDは限局型、全身型それぞれ9(21%)、3(7%)症例で発症した。グレードIIからIVのGVHDを発症した患者の移植後4週時点でのATG血中濃度は有意に高値であった($p=0.013$)(図2a)。一方、グレードIIからIVのGVHD有無での移植後2週時点でのATG血中濃度に有意差を認めなかった($p=0.865$)。

3. EBV再活性化

EBV-DNA量は週に1回リアルタイムPCR法により測定された。EBV再活性化は、末梢血単核球中のウイルス遺伝子量が $>1 \times 10^{2.5}$ copies/ μg DNA または全血中のウイルス遺伝子量が $>20,000$ copies/mlと定義した。EBV再活性化は18症例(43%)で確認され、そのうち16症例でrituximab(375 mg/ m^2 : 症状が消失するまで週1回)が投与された。2症例でEBV関連性のリンパ増殖性疾患を発症したが、免疫抑制剤の減量、ドナーリンパ球輸注、放射線療法の併用により治癒した。

移植後100日でのEBVの累計再活性化率は42.9%であった。EBV再活性化の有無は、移植後2週($p=0.807$)と4週($p=0.416$)でのATG血中濃度との間に有意差を認めなかった(図2b)。

4. 全生存率

推定5年生存率(95%信頼区間)は71.4%(57.6-89.3%)であった。再発で9例、1例敗

血症、頭蓋内出血、肺炎、閉塞性気管支炎でそれぞれ1例が死亡した。全生存率と移植後2週($p=0.81$)と4週($p=0.072$)でのATG血中濃度に有意差を認めなかった(図2c)。

図1. 移植後のATG血中濃度

(a) 10 mg/kg (b) 15 mg/kg

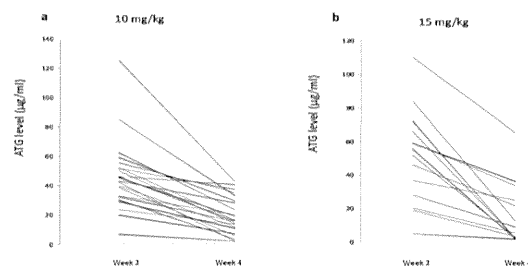


図2. 移植後4週時点でのATG濃度と(a) 急性GVHD II-IV、(b) EBV再活性化、(c) 全生存との関連

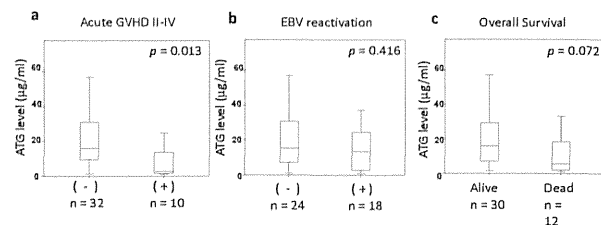
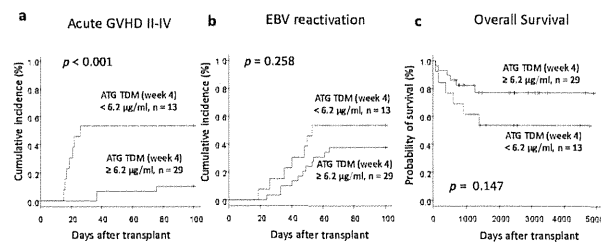


図3. 移植後4週時点でのATG血中濃度値(6.2 $\mu\text{g/ml}$ 以上、未満)による(a) 急性GVHD II-IV、(b) EBV再活性化、(c) 全生存の累計率



D. 考察

ウサギ ATG は造血幹細胞移植の前処置として、患者とドナーの T 細胞を除去する目的で広く使用されてきた。本研究では、同種造血幹細胞移植を受けた患者の 2 週間後と 4 週間後の血清 ATG 値を測定した。ATG 値の低値が、重度の急性 GVHD のリスクであることが確認された。

造血幹細胞移植後の EBV 再活性化とそれに続く EBV 関連性のリンパ増殖性疾患は広く報告されている。今回の研究では、EBV の再活性化と血中 ATG 値に有意な関連は認められなかった。さらにほとんどの EBV 再活性化した症例は rituximab の投与によりコントロールすることが可能であった。2 例のみ EBV 関連性のリンパ増殖性疾患を発症したが、集約的な治療することができた。

E. 結論

ウサギ ATG 血中濃度を高値にすることで EBV 再活性化のリスクを上昇させることなく、重症 GVHD の発症を予防する効果があり、造血幹細胞移植後の ATG 血中濃度のモニタリングと ATG 濃度が低値の患者に対する ATG の追加投与が患者の利益につながると考えられた。

F. 研究危険情報:なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Fujita A, Ochi N, Fujimaki H, Muramatsu H, Takahashi Y, Natsume J, Kojima S, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saito H, Matsumoto N, Miyake N. A novel WTX mutation in a female patient with osteopathia striata with cranial sclerosis and hepatoblastoma. *Am J Med Genet A*. 2014 Apr;164A(4):998-1002.

2. Hanada I, Terui K, Ikeda F, Toki T, Kanazaki R, Sato T, Kamio T, Kudo K, Sasaki S, Takahashi Y, Hayashi Y, Inukai T, Kojima S, Koike K, Kosaka Y, Kobayashi M, Imaizumi M, Mitsui T, Hori H, Hara J, Horibe K, Nagai J, Goto H, Ito E. Gene alterations involving the CRLF2-JAK pathway and recurrent gene deletions in Down syndrome-associated acute lymphoblastic leukemia in Japan. *Genes Chromosomes Cancer*. 2014 Nov;53(11):902-910.
3. Hasegawa D, Chen X, Hirabayashi S, Ishida Y, Watanabe S, Zaike Y, Tsuchida M, Masunaga A, Yoshimi A, Hama A, Kojima S, Ito M, Nakahata T, Manabe A. Clinical characteristics and treatment outcome in 65 cases with refractory cytopenia of childhood defined according to the WHO 2008 classification. *Br J Haematol*. 2014 Sep;166(5):758-766.
4. Hasegawa S, Imai K, Yoshida K, Okuno Y, Muramatsu H, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Kojima S, Ogawa S, Morio T, Mizutani S, Takagi M. Whole-exome sequence analysis of ataxia telangiectasia-like phenotype. *J Neurol Sci*. 2014 May 15;340(1-2):86-90.
5. Honda Y, Tsuchida M, Zaike Y, Masunaga A, Yoshimi A, Kojima S, Ito M, Kikuchi A, Nakahata T, Manabe A. Clinical characteristics of 15 children with juvenile myelomonocytic leukaemia who developed blast crisis: MDS Committee of Japanese Society of Paediatric Haematology/Oncology. *Br J Haematol*. 2014 Jun;165(5):682-687.

6. Hyakuna N, Muramatsu H, Higa T, Chinen Y, Wang X, Kojima S. Germline mutation of CBL is associated with moyamoya disease in a child with juvenile myelomonocytic leukemia and Noonan syndrome-like disorder. *Pediatr Blood Cancer*. 2014 Oct 4. doi: 10.1002/pbc.25271. [Epub ahead of print]
7. Ismael O, Shimada A, Elmahdi S, Elshazley M, Muramatsu H, Hama A, Takahashi Y, Yamada M, Yamashita Y, Horide K, Kojima S. RUNX1 mutation associated with clonal evolution in relapsed pediatric acute myeloid leukemia with t(16;21)(p11;q22). *Int J Hematol*. 2014 Feb;99(2):169-174.
8. Jeong DC, Chung NG, Cho B, Zou Y, Ruan M, Takahashi Y, Muramatsu H, Ohara A, Kosaka Y, Yang W, Kim HK, Zhu X, Kojima S. Long-term outcome after immunosuppressive therapy with horse or rabbit antithymocyte globulin and cyclosporine for severe aplastic anemia in children. *Haematologica*. 2014 Apr;99(4):664-671.
9. Kato M, Imamura T, Manabe A, Hashii Y, Koh K, Sato A, Takahashi H, Hori H, Taki T, Inoue M, Hayashi Y, Horibe K, Tsuchida M, Kojima S, Oda M, Ohara A. Prognostic impact of gained chromosomes in high-hyperdiploid childhood acute lymphoblastic leukaemia: a collaborative retrospective study of the Tokyo Children's Cancer Study Group and Japan Association of Childhood Leukaemia Study. *Br J Haematol*. 2014 Jul;166(2):295-298.
10. 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*. 2014 Oct 23. pii: S1083-8791(14)00657-0. doi: 10.1016/j.bbmt.2014.10.018. [Epub ahead of print]
11. Kawashima N, Narita A, Wang X, Xu Y, Sakaguchi H, Doisaki S, Muramatsu H, Hama A, Nakanishi K, Takahashi Y, Kojima S. Aldehyde dehydrogenase-2 polymorphism contributes to the progression of bone marrow failure in children with idiopathic aplastic anaemia. *Br J Haematol*. 2014 Sep 11.
12. 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.
13. Mizoguchi Y, Tsumura M, Okada S, Hirata O, Minegishi S, Imai K, Hyakuna N, Muramatsu H, Kojima S, Ozaki Y, Imai T, Takeda S, Okazaki T, Ito T, Yasunaga S, Takihara Y, Bryant VL, Kong XF, Cypowyj S, Boisson-Dupuis S, Puel A, Casanova JL, Morio T, Kobayashi M. Simple diagnosis of STAT1 gain-of-function alleles in patients with chronic mucocutaneous candidiasis. *J Leukoc Biol*. 2014 Apr;95(4):667-676.

14. 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*. 2014 4:4559.
 15. Sakaguchi H, Nishio N, Hama A, Kawashima N, Wang X, Narita A, Doisaki S, Xu Y, Muramatsu H, Yoshida N, Takahashi Y, Kudo K, Moritake H, Nakamura K, Kobayashi R, Ito E, Yabe H, Ohga S, Ohara A, Kojima S, Japan Childhood Aplastic Anemia Study G. Peripheral blood lymphocyte telomere length as a predictor of response to immunosuppressive therapy in childhood aplastic anemia. *Haematologica*. 2014 Aug;99(8):1312-1316.
 16. 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*. 2014 Jan;36(1):e65-68.
 17. Ueda S, Sakata N, Muramatsu H, Sakaguchi H, Wang X, Xu Y, Kojima S, Yamaguchi T, Higa T, Takemura T. Clinical course of juvenile myelomonocytic leukemia in the blast crisis phase treated by acute myeloid leukemia-oriented chemotherapy and allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Int J Hematol*. 2014 Jul 22.
 18. Wang R, Yoshida K, Toki T, Sawada T, Uechi T, Okuno Y, Sato-Otsubo A, Kudo K, Kamimaki I, Kanezaki R, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Terui K, Sato T, Iribe Y, Ohga S, Kuramitsu M, Hamaguchi I, Ohara A, Hara J, Goi K, Matsubara K, Koike K, Ishiguro A, Okamoto Y, Watanabe K, Kanno H, Kojima S, Miyano S, Kenmochi N, Ogawa S, Ito E. Loss of function mutations in RPL27 and RPS27 identified by whole-exome sequencing in Diamond-Blackfan anaemia. *Br J Haematol*. 2014 Nov 25. doi: 10.1111/bjh.13229. [Epub ahead of print]
 19. Yagasaki H, Shichino H, Ohara A, Kobayashi R, Yabe H, Ohga S, Hamamoto K, Ohtsuka Y, Shimada H, Inoue M, Muramatsu H, Takahashi Y, Kojima S. Immunosuppressive therapy with horse anti-thymocyte globulin and cyclosporine as treatment for fulminant aplastic anemia in children. *Ann Hematol*. 2014 May;93(5):747-752.
 20. Yoshida N, Kobayashi R, Yabe H, Kosaka Y, Yagasaki H, Watanabe KI, 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 vs. immunosuppressive therapy. *Haematologica*. 2014 Sep 5.
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. Hama A. Central Review of morphology in childhood aplastic anemia and myelodysplastic syndrome in Japan-summary of 1,000 cases. 25th Annual Meeting of the International BFM Study Group. Clarion Congress Hotel Apr. 26, 2014. Czech, Praha.
 3. Kojima S. Role of rATG in treatment of AA. Educational Meeting : Role of Immunosuppressive therapy in treatment of Aplastic Anemia. Parkroyal on Pickering, Singapore. Apr. 26, 2014. Singapore.
 4. Takahashi Y. KIR ligand incompatible allogeneic cord blood transplantation for high riskneuroblastoma as a salvage treatment of KIR mismatched NK cell immunotherapy. ANR COLOGNE 2014. May.13, 2014. Cologne, Germany.
 5. Kojima S. Expert Meeting at Wuhan Union Hospital Jul.15, 2014. Wuhan, China.
 6. Kojima S. Expert Meeting at Wharton International Hotel. Jul.16, 2014. Wharton, China.
 7. Kojima S. Hematology Expert Meeting Jul.18, 2014. Guangzhou, China.
 8. Kojima S. South China Hematology Summit Jul.19, 2014. Guangzhou, China.
 9. Kojima S. Aplastic Anemia : Therapeutic updated in HSCT. 2013 International Forum on Bone Marrow Failure. Aug.16, 2013. Tianjin, China.
 10. 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-tasnsplant Lymphoproliferative Disease. The 19th congress of APBMT. Oct.16, 2014. Hangzhou, China.
 11. Yamaguchi H.,Sakaguchi H, Yoshida K, Yabe M, Yabe H, Okuno Y, Muramatsu H, Yui S, Inokuchi, K, Ito E, Ogawa S, Kojima S. The Clinical and Genetic Features of Dyskeratosis Congenita, Cryptic Dyskeratosis Congenita, and Hoyeraal-Hreidarsson Syndrome in Japan. 56th ASH Annual Meeting. Dec.6 2014. San Francisco, USA.
 12. Hasegawa D, Hirabayashi S, Watanabe S, Zaike Y, Tsuchida M, Masunaga A, Yoshimi A, Hama A, Kojima S, Ito M, Manabe A. Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Patients with Refractory Cytopenia of Childhood. 56th ASH Annual Meeting. Dec.6 2014. San Francisco, USA.
 13. Hama A, Atsushi M, Hasegawa D, Nozawa K, Okuno Y, Irie, M, Muramatsu H, Takahashi Y, Watanabe K, Ohara A, Ito M, Kojima S. Central Morphology Review of Childhood Bone Marrow Failure in Japan. 56th ASH Annual Meeting. Dec.6 2014. San Francisco, USA
 14. Patel B, Huang D, Thota S, Przychodzen P, Sakaguchi H, Kojima S, Ogawa S, Sekeres M A, Makishima H, Jaroslaw P. Maciejewski. Chronic Myelomonocytic Leukemia (CMML) Can be Categorized

- By Ancestral Mutational Events. 56th ASH Annual Meeting. Dec.6 2014. San Francisco, USA
15. Utsugisawa T, Uchiyama T, Ogura H, Aoki T, Isao Hamaguchi I, Ishiguro A, Ohara A, Kojima S, Ohga S, Ito E, Kanno H. Elevated Red Cell Reduced Glutathione Is a Novel Biomarker of Diamond-Blackfan Anemia. 56th ASH Annual Meeting. Dec.6 2014. San Francisco, USA.
 16. Yoshida N, Yabe H, Kudo K, Kobayashi R, Yabe M, Inoue M, Miki M, Sakamaki H, Kato K, Kawa K, Suzuki R, Watanabe K, Kojima S. Outcomes of Stem Cell Transplantation with Fludarabine and Melphalan Conditioning for Children with Acquired Bone Marrow Failure: A Nationwide Retrospective Study. 56th ASH Annual Meeting. Dec.7 2014. San Francisco, USA.
 17. Okuno U, Atsushi N, Muramatsu H, Yoshida K, Hama A, , Wang X, Xu Y, Kawashima N, Sakaguchi H, Doisaki S, Takahashi Y, Shiraishi, Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Ogawa S, Kojima S. Whole-Exome Sequencing Reveals a Paucity of Somatic Gene Mutations in Aplastic Anemia and Refractory Cytopenia of Childhood. 56th ASH Annual Meeting. Dec.8 2014. San Francisco, USA.
 18. Narita A, Sekiya Y, Sakaguchi H, Nishio N, Muramatsu H, Okuno Y, Yoshida N, Wang X, Xu Y, Kawashima N, Doisaki S, MD1*, Kamei M, Irie M, Hama A, Takahashi Y, Kojima S. Predicting Response to Immunosuppressive Therapy By the Combination of Minor Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria Clones and Lymphocyte Telomere Length in Children with Aplastic Anemia. 56th ASH Annual Meeting. Dec.8 2014. San Francisco, USA.
 19. Muramatsu H, Okuno Y, Yoshida K, Doisaki S, Hama A, Wang X, Narita A, Kawashima N, Xu Y, Sakaguchi H, Takahashi Y, Sanada M, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Ogawa S, Kojima S. Diagnostic Efficacy of Whole-Exome Sequencing in 250 Patients with Congenital Bone Marrow Failure. 56th ASH Annual Meeting. Dec.8 2014. San Francisco, USA.
 20. Kawshima N, Okuno Y, Sekiya Y, Wang X, Xu Y, Narita, Doisaki S, Kamei M, Muramatsu H, Irie M, Hama A, Takahashi Y, Kojima S. Generation of Cell Lines Harboring SETBP1 Mutations By the Crispr/Cas9 System. 56th ASH Annual Meeting. Dec.8 2014. San Francisco, USA.

H. 知的財産権の出願・登録状況：

なし

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

担当責任者： 小林 正夫（広島大学大学院医歯薬保健学研究院小児科学）

研究要旨

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髓不全症一つである。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トラーゼ遺伝子（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、われわれは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を中心とした骨髓非破壊的前処置による骨髓移植を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進展前に骨髓非破壊的前処置による骨髓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。

A. 研究目的

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、生後早期よりの重症細菌感染症の反復を特徴とする難治性遺伝性疾患である。2011年の原発性免疫不全症の最新分類では、食細胞異常症の中に好中球減少症としてSCN1からSCN5まで、責任遺伝子によって分類されている。G-CSF製剤の投与により感染症に対する生命予後は劇的に改善されたが、長期のG-CSF投与により骨髓異形成症候群（MDS）や急性骨髄性白血病（AML）への進展が報告されており、近年では根治療法として造血幹細胞移植が行われている。しかし、造血幹細胞移植における前処置法、移植時期等についての見解は一定していない。本研究では

SCNにおいてMDS/AML移行前にfludarabineを中心とした骨髓非破壊的前処置（RIC）による造血幹細胞移植（SCT）をおこない、その有効性や治療関連毒性を評価する。

B. 研究方法

2007年8月から2014年12月までに造血幹細胞移植を施行したSCNの9例を対象とした。年齢は1歳から17歳であり、男児6例、女児3例であった。原因遺伝子は8例でELA2の変異が確認された。1例はELA2、HAX1、GFI-1、G6PC3を解析したが変異を認められなかった。全例MDS/AMLを発症しておらず、G-CSFを使用しているにもかかわらず感染症が繰り返されており移植適応となった。4症例が最初の造

血幹細胞移植で拒絶となり、再移植を当院で行った。

移植細胞源はすべて骨髄細胞であり、HLA 一致血縁同胞が 4 例、HLA 一致非血縁が 2 例、HLA 一座不一致非血縁が 3 例であった。

前処置は全例 Fludarabine (Flu) 125 mg/m²、Cyclophosphamide (CY) 100-160 mg/kg、Melphalan (L-PAM) 70-90 mg/m²、TBI 3 Gy、ATG を使用した。GVHD 予防には全例 Tacrolimus (FK) + short Methotrexate (MTX) を使用した。

(倫理面への配慮)

本研究での遺伝子解析は、広島大学ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会での承認を得た。

C. 研究結果

1 例のみ早期生着不全となり再移植を施行した。再移植は ATG を増量した以外は同じ全処置を行い、生着を誘導できた。血縁同胞からの 2 例が混合キメラとなり、DLI を数回施行したが、混合キメラを維持し、軽度の好中球減少はあるものの、易感染性はなく経過している。その他の症例はすべて移植後 1 年以上経過しているが、完全キメラを維持している。一部の症例で皮膚の GVHD を認めたが、重篤な移植関連合併症なく、通常の日常生活を送っている。

D. 考察

MDS/AML に進展した SCN 症例では造血幹細胞移植が唯一の根治療法となる。SCN 症例の国際的な登録組織である Severe Congenital Neutropenia International Registry (SCNIR) の解析では、1994 年から 2000 年の期間に登録された 348 例の SCN 症例のうち 35 例が MDS/AML へ進展している。このうち 24 例に造血幹細胞移植が実施され、17 例が治療関連毒

性などのために死亡しているように、治療成績は悪いと思われる。遺伝性造血器疾患から進展した MDS/AML は予後不良であることに加え、化学療法、移植前処置による治療関連毒性が予後不良の原因と推定される。SCN 症例の予後を改善するため、最近では G-CSF への反応不良例では MDS/AML に進展する前に造血幹細胞移植が試みられている。MDS/AML 進展前の造血幹細胞移植により治療成績、予後の改善は認められているが、骨髄破壊的前処置による治療関連毒性が課題となっている。最近、他の先天性免疫不全疾患において RIC による造血幹細胞移植が試みられるようになり、治療関連毒性の軽減、晩期障害の軽減が期待されている。しかし SCN 症例では反復感染に伴うリンパ球機能の活性化のため拒絶の可能性が高い。1989 年から 2005 年の日本における 18 例の SCN 移植症例の解析では、12 例に骨髄破壊的前処置が、6 例に RIC がおこなわれた。死亡は 2 例であり重篤な移植関連合併症も 2 例と少なかったが、5 例に生着不全が認められた。RIC の症例が比較的增加したことが一因と考えられるが、興味深いことにこの報告では ATG を前処置に加えることで良好な生着をもたらしていると考えられた。今回の検討からも、SCN の移植 9 例においても、ATG を使用しなかった血縁同胞ドナーの 2 例のうち 1 例が混合キメラとなり、ATG を使用した非血縁ドナー 3 例のうち、少量の ATG が使用された症例で生着不全が認められた。症例数が少ないため詳細は言及できないが、十分な ATG 投与によるリンパ球抑制が SCN の移植には必要である可能性が考えられた。

移植後の観察期間が短いため今後もひきつづき妊孕性を含めた長期合併症については定期的なフォロー、評価が必要である。今後、本邦における移植症例を集積し、本症における造血幹細胞移植の移植時期や前処置に関するガイドライン作成を予定している。

E. 結論

MDS/AML 進展前にフルダラビンを用いた中等度骨髄破壊的前処置による造血幹細胞移植を行い、比較的安全に実施でき、8 例中 6 例で完全キメラの誘導、全例で臨床症状の改善が認められた。今後、本邦における移植症例を集積し、本症における造血幹細胞移植の移植時期や前処置に関するガイドライン作成が必要と思われる。

F. 研究発表

学会発表

1. Akari N. Utsunomiya, Miyuki Tsumura, Norioki Ohno, Mizuka Miki, Hiroshi Kawaguchi, Kazuhiro Nakamura and Masao Kobayashi: Excessive Nitric Oxide production of CGD neutrophils induces the down-regulation of *NOS3* and *EDN1* expression in human endothelial cells. The 56th American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition, San Francisco, CA, Dec 6 - 9, 2014
2. Yoko Mizoguchi, Satoshi Okada, Miyuki Tsumura, Osamu Hirata, Shizuko Minegishi, Jean-Laurent Casanova, Tomohiro Morio, Masao Kobayashi: *STAT1* gain-of-function in patients with chronic mucocutaneous candidiasis can be detected by the excessive phosphorylation of STAT1 in peripheral blood monocytes. The 56th American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition, San Francisco, CA, Dec 6 - 9, 2014
3. Seiich Hayakawa, Seiko Maeno, Norioki Ohno, Satoshi Okada, Yutaka Nishimura, Michiko Hayashidani, Masao Kobayashi:

Significant augmentation of regulatory T cells in early neonatal period. 16th Biennial Meeting of the European Society for Immunodeficiencies, Prague, Czech, Oct 29 to Nov 1, 2014.

4. Yoko Mizoguchi, Aya Furue, Ikue Chijimatsu, Mizuka Miki, Keita Tomioka, Nakao Konishi, Atsushi Ono, Hiroshi Kawaguchi, Kazuhiro Nakamura and Masao Kobayashi: Early elimination of Factor VIII inhibitor by ITI with high dose immunoglobulin in hemophilia A children. WORLD FEDERATION OF HEMOPHILIA, 2014 World Congress, Melbourne, May 11-15, 2014.

論文

1. Morishima T, Watanabe K, Niwa A, Hirai H, Saida S, Tanaka T, Kato I, Umeda K, Hiramatsu H, Saito MK, Matsubara K, Adachi S, Kobayashi M, Nakahata T, Heike T: Genetic correction of HAX1 in induced pluripotent stem cells from a patient with severe congenital neutropenia improves defective granulopoiesis. *Haematologica* 99: 19-27, 2014.
2. Fujii Y, Ishikawa N, Kobayashi Y, Kobayashi M, Kato M: Compound heterozygosity in GPR56 with bilateral frontoparietal polymicrogyria. *Brain & Development* 36: 528-31, 2014.
3. Ishikawa N, Kobayashi Y, Fujii Y, Tajima G, Kobayashi M: Ictal electroencephalography and electromyography features in symptomatic infantile epileptic

- encephalopathy with late-onset spasms. *Neuropediatrics* 45: 36-41, 2014.
4. Kobayashi Y, Ishikawa N, Fujii Y, Nakamura K, Kobayashi M: A case of trisomy 18 with exacerbation of seizures triggered by administration of valproic acid. *Am J Med Genet A* 164A: 285-6, 2014.
 5. Mizoguchi Y, Tsumura M, Okada S, Hirata O, Minegishi S, Imai K, Hyakuna N, Muramatsu H, Kojima S, Ozaki Y, Imai T, Takeda S, Okazaki T, Ito T, Yasunaga S, Takihara Y, Bryant VL, Kong XF, Cypowyj S, Boisson-Dupuis S, Puel A, Casanova JL, Morio T, Kobayashi M: Simple diagnosis of STAT1 gain-of-function alleles in patients with chronic mucocutaneous candidiasis. *Journal of Leukocyte Biology* 95: 667-676, 2014.
 6. Joichi Y, Chijimatsu I, Yarita K, Kamei K, Miki M, Onodera M, Harada M, Yokozaki M, Kobayashi M, Ohge H: Detection of *Mucor velutinosus* in a blood culture after autologous peripheral blood stem cell transplantation: a pediatric case report. *Medical Mycology Journal* 55: E43-48, 2014.
 7. Yasumura J, Wago M, Okada S, Nishikomori R, Takei S, Kobayashi M: A 2-year-old Japanese girl with TNF receptor-associated periodic syndrome: A case report of the youngest diagnosed proband in Japan. *Modern Rheumatology* 2014.
 8. Ishikawa N, Kobayashi Y, Fujii Y, Samukawa M, Kusunoki S, Kobayashi M: A pediatric case of peripheral polyneuropathy with IgM anti-GM1 antibody associated with a group a beta-hemolytic streptococcus infection. *Pediatric Neurology* 51: 441-3, 2014. Doi: 10.1016/j.pediatrneurol.2014.03.019. Epub 2014 Mar 27.
 9. Ishikawa N, Kobayashi Y, Fujii Y, Kobayashi M: Increased interleukin-6 high-sensitivity C-reactive protein levels in pediatric epilepsy patients with frequent, refractory generalized motor seizures. *Seizure* 2014. 10.007. (Epub ahead of print)
 10. 小林正夫, 川口浩史: 自己免疫性好中球減少症 日本内科学会雑誌 103: 1639-1644, 2014.
 11. 溝口洋子, 小林正夫: 重症先天性好中球減少症の病態解析研究の進歩 血液内科 68: 676-81, 2014.
 12. 土居岳彦, 小林正夫: 小児血液疾患 よくわかる最新知見 好中球異常症の概要と診断の進め方 小児科 55: 1577-1583, 2014.
 13. 岡田 賢, 小林正夫: IL-21 シグナルはナイーブB細胞をIL-2感受性にして形質細胞に分化させる 血液内科 69: 405-409, 2014.
 14. 川口晃司, 内田佳子, 齋藤敦郎, 宮田憲二, 長谷川大一郎, 小坂嘉之, 岩田あや, 仁紙宏之, 小林正夫: 同種骨髄移植が奏功した新規 ELANE 遺伝子変異を有する重症先天性好中球減少症 臨床血液 55:2294-2299, 2014.
- F. 知的財産権の出願・登録状況
特になし

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

担当責任者： 有賀 正 （北海道大学医学部医学研究科小児科学）

研究要旨

原発性免疫不全症（PID）における至適な造血幹細胞移植法を確立するため、本邦の PID に対する造血幹細胞移植の現状を確認し、その問題点を明らかとすることを目的として北海道大学病院における PID に対する移植症例の検討を行った。

1995 年 7 月から 2014 年 12 月までの間に北海道大学病院小児科で造血幹細胞移植を行った延べ 27 移植（25 症例）を対象に検討を行なった。全移植の EFS は $85.2 \pm 6.8\%$ 、OS $92.6 \pm 5.0\%$ であり、全体の移植成績としては比較的良好な結果であったが、CGD 症例および RIC での拒絶および混合キメラが課題である。

また生着を担保しつつ可能な限り移植前処置を軽減するため、各疾患各症例に応じた至適な移植前処置、移植ソースの選定、GVHD 対策およびウイルス感染対策について今後より多数例での検討が必要である。

A. 研究目的

原発性免疫不全症（PID）における至適な造血幹細胞移植法を確立するため、本邦の PID に対する造血幹細胞移植の現状を確認し、その問題点を明らかとする。そのための分担研究として北海道大学病院における PID に対する移植症例の検討を行う。

B. 研究方法

北海道大学病院における PID に対する造血幹細胞移植症例について後方視的に検討した。

対象は 1995 年 7 月から 2014 年 12 月までの間に北海道大学病院小児科で造血幹細胞移植を行った延べ 27 移植（25 症例）、男/女=22/3、年齢中央値 2 歳（0-31 歳）を対象とした。疾患は、WAS7 例、X-CGD7 例、SCN3 例、XSCID3 例、高 IgM2 例、その他 2 例で、移植ソース別では、骨髄 13 移植（血縁/非血縁=4/9）、臍帯血 11 移植（全て非血縁）であった。移植前処置は骨髄

破壊的前処置（MAC）14 移植、骨髄非破壊的前処置（RIC）13 移植で、GVHD 予防は CsA あるいは FK+mPSL が 12 移植、CsA あるいは FK+MTX が 15 移植であった。

C. 研究結果

全 27 移植のうち 24 移植で生着が確認された。1 例は生着前に CY による心筋障害で死亡した。拒絶された 2 移植は再移植にて生着が確認された。拒絶された 2 移植はいずれも CGD 症例で RIC での移植であった。生着が得られた 24 移植のうち完全キメラは 18 移植、混合キメラ 6 移植であり、混合キメラとなった 6 移植は全て RIC での移植であった。移植前に何らかの感染症が完全には制御されない状態で移植前処置に入った移植は 15 移植でそのうちその感染が移植経過中に増悪したのは 6 移植であったが好中球減少時の感染症で死亡した症例はなかった。ウイルス再活性化は 11 移植に生じた。