

慢性肉芽腫症の診断基準・重症度分類および診療ガイドラインの確立に関する研究

慢性肉芽腫症患者に対する骨髄非破壊的移植法の検討

研究分担者 小野寺 雅史 国立成育医療研究センター研究所 成育遺伝研究部

研究要旨

慢性肉芽腫症（CGD）は食細胞における活性酸素産生障害にて炎症が遷延する疾患である。その根治療法は HLA 一致造血幹細胞移植であるが、適当なドナーが見つかる確率はおよそ 30%で、また、たとえ HLA 一致ドナーが見つかっていても重篤な感染症により移植関連合併症が増悪する疾患でもある。今回、当センターにおいて 6 名の CGD 患者に対し予めブスルファン（BU）の試験投与を行い、BU の AUC を測定し、その至適 BU 濃度（target-BU）下、造血幹細胞移植を行った。結果、5 名で長期にわたるドナー細胞の生着を確認した。一方、至適 BU 濃度に達しない 1 名はドナー細胞が拒絶されたことから、target-BU により造血幹細胞移植は重度の感染症を有する CGD 患者に対し有用で安全な治療法と考えられた。

A. 研究目的

慢性肉芽腫症（chronic granulomatous disease: CGD）は病原体を殺菌する際に必要となる活性酸素を産生する酵素の NADPH oxidase が欠損し、幼児期から重篤な細菌や真菌感染症を繰り返す疾患である。その多くは NADPH oxidase の構成タンパクである gp91phox をコードする CYBB 遺伝子の変異であり、我が国では全体の約 80%がこの CYBB 遺伝子変異の X 連鎖慢性肉芽腫症である。CGD の根治療法は造血幹細胞移植であり、HLA が一致したドナーからの造血幹細胞移植ではその治療成績は 80%を超える。一方、HLA の一致度が低下するに従い治療成績は悪化し、また、CGD では移植時に重度の感染症を合併している場合が多く、このような状態での移植では移植関連合併症の悪化がする。

本研究では、CGD 患者に対する安全で有効な造血幹細胞移植法の確立に向け、当センターにおいてフォロー中の 6 名の CGD 患者に対し、予めブスルファン（BU）を投与して AUC を測定し、至適 BU 血中濃度の下での造血幹細胞移植の臨床試験成績を評価した。

B. 研究方法

- (1) 対象患者：患者は gp91phox が欠損する XCGD が 5 名、p22phox が欠損する CYBA 欠損の CGD が 1 名であり、すべて男性である。移植細胞は全て非血縁由来で、3 名が HLA 一致、3 名が一座不一致（A、C、DR）である。
- (2) 前処置：BU は予め行われた試験投与の結果を基に AUC として 45~65mg/Lxh になるように投与量を決定し、それらを Day -5 から Day -2 までの 4 日間 6 時間間隔で投与した。フルダラビン（FLU）は 30mg/m²を Day -8 から Day -3 までの 5 日間、抗胸腺細胞グロブリン（ATG）は 2.5mg/kg を Day -7 から Day -6 の 2 日間、TBI として 3Gy を Day -1 に行った。GVHD 予防は FK + short term MTX である。

倫理面への配慮

本研究は、当センター倫理委員会にて承認を受けて実施し、臨床試験として UMIN に登録した（UMIN000022688）。

C. 研究結果

1) CGD 患者

本試験に登録した CGD 患者は以下の通りで、全て男性である。

	遺伝子	年齢	合併症	HLA
1	CYBA	15	肺炎、肝膿瘍	一致
2	CYBB	18	肺炎、皮下膿瘍	C
3	CYBB	8	腸炎	一致
4	CYBB	2	真菌性髄膜炎	DR
5	CYBB	11	肝膿瘍、腸間膜膿瘍	一致
6	CYBB	5	肺炎、侵襲性真菌症	A

2) BU 測定

BU の試験投与にて、投与する量を標準量の 63% (50~73%) に減少することができ、また、実際に投与した BU の AUC は 45.9mg/L x h (38.7~52.0) と 1 名を除き全て至適濃度の範囲であった。

3) 臨床結果

全ての患者において中間値で 18 日目に好中球が回復し、うち 5 例で約 1 年を超えてのドナー細胞生着を認めている。一方、一名の患者 (#6) では移植後 2 ヶ月目にドナー細胞が拒絶され、再移植が検討されている。なお、GVHD に関しては grade III (気管支炎) が 1 名 (#1)、grade I が 2 名の患者 (#3、5) で認めている。

4. 考察

CGD では食細胞における細菌、真菌の排除が不完全なことから感染が遷延し、慢性的に炎症状態であり、このため免疫系が活性化し、造血幹細胞移植では容易にドナー細胞は排除される。そのため CGD に対しては免疫系を完全に抑える骨髄破壊的前処置を行う場合が多いが、移植時に重篤な感染症に罹患している場合が多く、前処置による重篤な移植関連合併症を発症しやすい。また、造血幹細胞の生着に重要とされる前処置薬の BU の代謝も個人差が大

きく、特に小児においては至適血中濃度を維持することは困難である。このため、予め移植を受ける患者に対し少量の BU を試験的に投与し、その AUC を測定することで実際の移植時に使用する BU 量を決定する Target-BU による移植例が増加してきている。

本研究では、当センターでフォロー中の CGD 患者 6 名に対してこの Target-BU による造血幹細胞移植を行い、重度の GVHD もなく、また、6 名中 5 名において長期のドナー細胞の生着を確認した。特に、骨髄生着が認められなかった 1 名の患者では至適 BU 濃度まで達していなかったことから BU の血中濃度は骨髄生着と合併症発症に重要な要因であり、至適 BU 濃度達成を可能にする target-BU は CGD 患者の移植において極めて重要であると考えられた。

5. 結論

6 例の CGD 患者に予め BU を投与し、その至適血中濃度の下、造血幹細胞移植を行う臨床試験においてその安全性と有効性を確認した。今度はより多数の症例で検証するために、多施設共同での第 II 相臨床試験を行い詳細なデータを入手する。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Goto F, Uchiyama T, Nakazawa Y, Kawai T, Imai K, Onodera M. Persistent impairment of T cell regeneration in a patient with activated PI3K d syndrome. *J Clin Immunol* 37: 347-350, 2017.
- 2) Kawamura F, Inaki M, Katafuchi A, Abe Y, Tsuyama N, Kurosu Y, Yanagi A, Higuchi M, Muto S, Yamaura T, Suzuki H, Noji H, Suzuki S, Yoshida MA, Sasatani M, Kamiya K, Onodera M, Sakai A. Establishment of induced pluripotent stem cells from normal B cells and inducing AID expression in their differentiation into hematopoietic progenitor cells. *Sci Rep* 7:1659, 2017.
- 3) Igarashi Y, Uchiyama T, Minegishi T, Takahashi S, Watanabe N, Kawai T, Yamada M, Ariga T, Onodera M. Single cell-based vector tracing in patients with ADA-SCID

treated with stem cell gene therapy. *Mol Ther Methods Clin Dev* 6: 8-16, 2017.

- 4) Nakazawa Y, Kawai T, Arai K, Tamura E, Uchiyama T, Onodera M. Fecal Calprotectin Rise in Chronic Granulomatous Disease-Associated Colitis. *J Clin Immunol* 2017 Sep 6. doi: 10.1007/s10875-017-0441-3.
2. 学会発表
 - 1) Onodera M. Gene therapy in Japan. The 7th International Collaboration Forum of Human Gene Therapy for Genetic Disease. Tokyo. January 17.
 - 2) 小野寺雅史 ゲノム編集による遺伝子治療のさらなる展開 第39回日本造血細胞移植学会総会 松江 2017/3/3
 - 3) 小野寺雅史 我が国の造血幹細胞遺伝子治療における医師主導治験の現状と問題点 第16回日本再生医療学会総会 仙台 2017/3/9
 - 4) Onodera M. Gene therapy for primary immunodeficiency in Japan. JSH-EHA Joint Session in the 8th JSH International Symposium. Miyazaki, 2017/5/19, 20
 - 5) 小野寺雅史 遺伝性疾患に対する遺伝子細胞治療の現状と展望 第65回日本輸血・細胞治療学会 シンポジウム 千葉 2017/6/22-24
 - 6) 小野寺雅史 小児遺伝性疾患に対する遺伝子治療の現状と展望 第15回 東北・北海道代謝異常症研究会 仙台 6月
 - 7) 小野寺雅史 遺伝子治療開発 第2回 神経代謝研究会 東京 7月
 - 8) 小野寺雅史 着実に実り始めた遺伝子治療 第23回 日本遺伝子細胞治療学会学術集会 一般公開フォーラム 岡山 2017/7/20
 - 9) 小野寺雅史 当センターにおける原発性免疫不全症の診断と治療 第8回 中四国免疫不全症研究会 岡山 7月
 - 10) 小野寺雅史 遺伝性疾患に対する臨床用ベクター開発の現状とゲノム編集技術への展開 第59回 ヒューマンサイエンス・バイオインターフェース 東京 2017/9/30
 - 11) 小野寺雅史 遺伝子治療におけるカルタヘナ法の第一使用規程の考え方に関する研究 AMED 再生医療・研究交流会 東京 9月
 - 12) Masafumi ONODERA Stem cell gene therapy for primary immunodeficiencies in Japan. 第8回アジア細胞治療学会学術集会

東京 2017/10/27-29

- 13) 小野寺雅史 難治性遺伝性疾患に対する遺伝子治療の現状と展望 生命科学系学会合同年次大会 神戸 2017/12/6-9

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
2. 実用新案登録
3. その他