

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

（分担）研究報告書

ライソゾーム病、ムコ多糖症の病態解析と治療に関する調査研究

研究分担者 矢部 普正 東海大学医学部再生医療科学教授

研究要旨：同種造血幹細胞移植は一部のムコ多糖症に対して有効であることが知られているが、移植後の酵素活性や治療効果を示す尿中ウロン酸の低下などの客観的指標による有効性のデータはほとんど無い。われわれは13例のムコ多糖症I型、およびII型に対して同種造血幹細胞移植を施行し、移植後の -L-イズロニダーゼあるいはイズロネート-2-スルファターゼ活性および尿中ウロン酸定量を測定し、同種造血幹細胞移植が生化学的にも極めて有効であることを示した。

研究分担者氏名・所属研究機関名及び所属研究機関における職名

（分担研究報告書の場合は、省略）

A．研究目的

ムコ多糖症I型およびII型に対する治療として、同種造血幹細胞移植が知られており、酵素補充療法と異なり中枢神経系や骨格への臨床的な有効性が明らかになってきた。しかし、造血幹細胞移植後の酵素活性や尿中ウロン酸を定量したデータはほとんどない。本研究では、同種造血幹細胞移植後のムコ多糖症I型およびII型症例の -L-イズロニダーゼあるいはイズロネート-2-スルファターゼ活性および尿中ウロン酸定量を測定し、生化学的な有効性を明らかにする。

B．研究方法

東海大学医学部付属病院において同種造血幹細胞移植を受け、6ヶ月以上生存しているムコ多糖症I型およびII型を対象に末梢血7mlと尿50mlを採取し、-L-イズロニダーゼあるいはイズロネート-2-スルファターゼ活性の測定および尿中ウロン酸定量を行う。測定は株式会社エス・アール・エルに外注する。

（倫理面への配慮）

「ヘルシンキ宣言」「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」を遵守し、説明、同意は文書をもって保護者より得た。

C．研究結果

対象は16例で、ムコ多糖症I型が3例、II型が13例、男性が14例、女性が2例であった。移植時年齢は中央値で4歳（範囲；0.67～21歳）、評価時年齢は中央値で8.7歳（範囲；2.2～26.5歳）であった。

ドナーと移植細胞ソースは、HLA一致同胞骨髄が6例、非血縁骨髄が6例、非

血縁臍帯血が2例であった。移植前処置は移植細胞ソースが骨髄の場合はBusulfan + Cyclophosphamide + Anti-thymocyte globulin、臍帯血の場合はThoracoabdominal irradiation (4 Gy) + FludarabineにMelphalanあるいはTresulfanの組み合わせで行った。

キメリズム解析はshort-tandem repeat (STR)法により解析し、全例でドナー細胞の生着を確認した。

移植前の酵素活性はムコ多糖症I型の1例で4.04 nmol/mg Pr/hr、ムコ多糖症II型の1例で1.4 nmol/mg Pr/4hrで、他の10例は測定感度以下であったが、移植後の15例で82.6±33.0（平均±標準偏差）nmol/mg Pr/hr or 4hrと著明に上昇していた。一方、尿中ウロン酸は移植前の302.6±130.4 mg/g Crより23.2±13.3 mg/g Crと著しく低下した。

D．考察

酵素補充療法においては投与直後に血中濃度がピークとなり、以後は経時的に低下するが、造血幹細胞移植においては持続的な造血により酵素が補充される。即ちワンポイントの採血で、中枢神経を除く全身組織への酵素補充効果を評価することができる。今回の検討で、造血幹細胞移植後の -L-イズロニダーゼあるいはイズロネート-2-スルファターゼ活性は全例で著明に上昇しており、ドナー細胞の生着を得て欠損酵素の産生が行われていることが確認された。これは抗酵素抗体の産生も生じていないためであり、酵素補充療法においては特に重症例で抗酵素抗体産生の頻度が高いことと比べ、

造血幹細胞移植の優位性を示している。その結果として、尿中ウロン酸は著しく低下し、体内に蓄積したグリコサミノグリカンの減少を意味している。

E . 結論

ムコ多糖症I型/II型に対する同種造血幹細胞移植では、生着後に -L-イズロニダーゼあるいはイズロネート-2-スルファターゼ活性の著明な上昇と尿中ウロン酸の低下が得られ、生化学的にも極めて有効であることが示された。

F . 健康危険情報

特になし。

G . 研究発表

1. 論文発表

Mori M, Hira A, Yoshida K, Muramatsu H, Okuno Y, Shiraiishi Y, Anmae M, Yasuda J, Tadaka S, Kinoshita K, Osumi T, Noguchi Y, Adachi S, Kobayashi R, Kawabata H, Imai K, Morio T, Tamura K, Takaori-Kondo A, Yamamoto M, Miyano S, Kojima S, Ito E, Ogawa S, Matsuo K, Yabe H, Yabe M, Takata M. Pathogenic mutations identified by a multimodality approach in 117 Japanese Fanconi anemia patients. *Haematologica*. 2019 Feb 21. pii: haematol.2018.207241. doi: 10.3324/haematol.2018.207241. [Epub ahead of print]

Taylor M, Khan S, Stapleton M, Wang J, Chen J, Wynn R, Yabe H, Chinen Y, Boelens JJ, Mason RW, Kubaski F, Horovitz DDG, Barth AL, Serafini M, Bernardo ME, Kobayashi H, Orii KE, Suzuki Y, Orii T, Tomatsu S. Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Mucopolysaccharidoses: Past, Present, and Future. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2019 Feb 14. pii: S1083-8791(19)30137-5.

doi: 10.1016/j.bbmt.2019.02.012. [Epub ahead of print] Review.

Ono R, Watanabe T, Kawakami E, Iwasaki M, Tomizawa-Murasawa M, Matsuda M, Najima Y, Takagi S, Fujiki S, Sato R, Mochizuki Y, Yoshida H, Sato K, Yabe H, Kato S, Saito Y, Taniguchi S, Shultz LD, Ohara O, Amagai M, Koseki H, Ishikawa F. Co-activation of macrophages and T cells contribute to chronic GVHD in human IL-6 transgenic humanised mouse model. *EBioMedicine*. 2019 Mar;41:584-596. doi: 10.1016/j.ebiom.2019.02.001. Epub 2019 Feb 13.

Yamazaki N, Kosuga M, Kida K, Takei G, Fukuhara Y, Matsumoto H, Senda M, Honda A, Ishiguro A, Koike T, Yabe H, Okuyama T. Early enzyme replacement therapy enables a successful hematopoietic stem cell transplantation in mucopolysaccharidosis type IH: Divergent clinical outcomes in two Japanese siblings. *Brain Dev*. 2019 Feb 9. pii: S0387-7604(18)30541-2. doi: 10.1016/j.braindev.2019.01.008. [Epub ahead of print]

Miyamura K, Yamashita T, Atsuta Y, Ichinohe T, Kato K, Uchida N, Fukuda T, Ohashi K, Ogawa H, Eto T, Inoue M, Takahashi S, Mori T, Kanamori H, Yabe H, Hama A, Okamoto S, Inamoto Y. High probability of follow-up termination among AYA survivors after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Blood Adv*. 2019 Feb 12;3(3):397-405. doi: Okamoto Y, Kudo K, Tabuchi K, Tomizawa D, Taga T, Goto H, Yabe H, Nakazawa Y, Koh K, Ikegame K, Yoshida N, Uchida N, Watanabe K, Koga Y, Inoue M, Kato K,

Atsuta Y, Ishida H. Hematopoietic stem-cell transplantation in children with refractory acute myeloid leukemia. *Bone Marrow Transplant.* 2019 Feb 4. doi:

10.1038/s41409-019-0461-0. [Epub ahead of print]

Kawashima N, Iida M, Suzuki R, Fukuda T, Atsuta Y, Hashii Y, Inoue M, Kobayashi M, Yabe H, Okada K, Adachi S, Yuza Y, Kawa K, Kato K. Prophylaxis and treatment with mycophenolate mofetil in children with graft-versus-host disease undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a nationwide survey in Japan. *Int J Hematol.* 2019 Jan 29. doi: 10.1007/s12185-019-02601-5. [Epub ahead of print]

Umeda K, Yabe H, Kato K, Imai K, Kobayashi M, Takahashi Y, Yoshida N, Sato M, Sasahara Y, Kato K, Adachi S, Koga Y, Okada K, Inoue M, Hashii Y, Atsuta Y, Morio T; Inherited Disease Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell

Transplantation. Impact of low-dose irradiation and in vivo T-cell depletion on hematopoietic stem cell transplantation for non-malignant diseases using fludarabine-based reduced-intensity conditioning. *Bone Marrow Transplant.* 2018 Dec 7. doi:

10.1038/s41409-018-0418-8. [Epub ahead of print]

Yabe M, Koike T, Ohtsubo K, Imai E, Morimoto T, Takakura H, Koh K, Yoshida K, Ogawa S, Ito E, Okuno Y, Muramatsu H, Kojima S, Matsuo K, Mori M, Hira A, Takata M, Yabe H. Associations of complementation

group, ALDH2 genotype, and clonal abnormalities with hematological outcome in Japanese patients with Fanconi anemia. *Ann Hematol.* 2018 Oct 27. doi:

10.1007/s00277-018-3517-0. [Epub ahead of print]

Yakushijin K, Ikezoe T, Ohwada C, Kudo K, Okamura H, Goto H, Yabe H, Yasumoto A, Kuwabara H, Fujii S, Kagawa K, Ogata M, Onishi Y, Kohno A, Watamoto K, Uoshima N, Nakamura D, Ota S, Ueda Y, Oyake T, Koike K, Mizuno I, Iida H, Katayama Y, Ago H, Kato K, Okamura A, Kikuta A, Fukuda T. Clinical effects of recombinant thrombomodulin and defibrotide on sinusoidal obstruction syndrome after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2018 Aug 20. doi: 10.1038/s41409-018-0304-4. [Epub ahead of print]

Inamoto Y, Matsuda T, Tabuchi K, Kurosawa S, Nakasone H, Nishimori H, Yamasaki S, Doki N, Iwato K, Mori T, Takahashi S, Yabe H, Kohno A, Nakamae H, Sakura T, Hashimoto H, Sugita J, Ago H, Fukuda T, Ichinohe T, Atsuta Y, Yamashita T; Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation Late Effects and Quality of Life Working Group. Outcomes of patients who developed subsequent solid cancer after hematopoietic cell transplantation. *Blood Adv.* 2018

Aug 14;2(15):1901-1913. doi: 10.1182/bloodadvances.2018020966. Nakasone H, Tabuchi K, Uchida N, Ohno Y, Matsuhashi Y, Takahashi S, Onishi Y, Onizuka M, Kobayashi H, Fukuda T, Ichinohe T, Takanashi M, Kato K, Atsuta Y, Yabe H, Kanda Y. Which is more important for the selection of cord blood units for haematopoietic cell transplantation: the number of CD34-positive cells or total nucleated cells? *Br J Haematol*. 2018 May 29. doi: 10.1111/bjh.15418. [Epub ahead of print] Takahashi H, Kajiwara R, Kato M, Hasegawa D, Tomizawa D, Noguchi Y, Koike K, Toyama D, Yabe H, Kajiwara M, Fujimura J, Sotomatsu M, Ota S, Maeda M, Goto H, Kato Y, Mori T, Inukai T, Shimada H, Fukushima K, Ogawa C, Makimoto A, Fukushima T, Ohki K, Koh K, Kiyokawa N, Manabe A, Ohara A. Treatment outcome of children with acute lymphoblastic leukemia: the Tokyo Children's Cancer Study Group (TCCSG) Study L04-16. *Int J Hematol*. 2018 Jul;108(1):98-108. doi: 10.1007/s12185-018-2440-4. Epub 2018 Mar 27. Oshima K, Saiki N, Tanaka M, Imamura H, Niwa A, Tanimura A, Nagahashi A, Hirayama A, Okita K, Hotta A, Kitayama S, Osawa M, Kaneko S, Watanabe A, Asaka I, Fujibuchi W, Imai K, Yabe H, Kamachi Y, Hara J, Kojima S, Tomita M, Soga T, Noma T, Nonoyama S, Nakahata T, Saito MK. Human AK2 links intracellular bioenergetic

redistribution to the fate of hematopoietic progenitors. *Biochem Biophys Res Commun*. 2018 Mar 4;497(2):719-725. doi: 10.1016/j.bbrc.2018.02.139. Epub 2018 Feb 17. Horikoshi Y, Umeda K, Imai K, Yabe H, Sasahara Y, Watanabe K, Ozawa Y, Hashii Y, Kurosawa H, Nonoyama S, Morio T. Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Leukocyte Adhesion Deficiency. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2018 Jan 10. doi: 10.1097/MPH.0000000000001028. [Epub ahead of print] Morishima Y, Azuma F, Kashiwase K, Matsumoto K, Orihara T, Yabe H, Kato S, Kato K, Kai S, Mori T, Nakajima K, Morishima S, Satake M, Takanashi M, Yabe T; Japanese Cord Blood Transplantation Histocompatibility Research Group. Risk of HLA Homozygous Cord Blood Transplantation: Implications for Induced Pluripotent Stem Cell Banking and Transplantation. *Stem Cells Transl Med*. 2018 Feb;7(2):173-179. doi: 10.1002/sctm.17-0169. Epub 2017 Dec 23.

総説

今井枝里、矢部普正 シドフォビル：移植後ウイルス感染症 *小児内科* 2018; 50(10): 1715-1718.

小池隆志、矢部普正 ライソゾーム病に対する造血幹細胞移植—ムコ多糖症に対する移植成績の現状と有効性の評価 *医学のあゆみ* 2018; 264: 779-784.

2. 学会発表

国際学会

1. H Yabe, E Imai, A Sugimoto, K Otsubo, T Morimoto, H Mochizuki, T Koike, S Kato and M Yabe. Full-dose busulfan-based conditioning regimen for pediatric non-malignant disease. 44th Annual Meeting of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. March 2018, Lisbon, Portugal.
2. R Tsumanuma, E Omoto, H Kumagai, Y Katayama, K Iwato, G Aoki, Y Sato, Y Tsutsumi, K Miyazaki , N Tsukada, M Iino, A Shinagawa, Y Atsuta, Y Koderu , S Okamoto, H Yabe. Efficacy and

Safety of Biosimilar Filgrastim in Peripheral Hematopoietic Stem Cell Mobilization Procedures for Related Allogeneic Transplantation. 44th Annual Meeting of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. March 2018, Lisbon, Portugal.

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

H . 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

1. 特許取得
無し
2. 実用新案登録
無し
3. その他
無し

作成上の留意事項

1. 「A. 研究目的」について

- ・厚生労働行政の課題との関連性を含めて記入すること。

2. 「B. 研究方法」について

- (1) 実施経過が分かるように具体的に記入すること。

- (2) 「(倫理面への配慮)」には、研究対象者に対する人権擁護上の配慮、研究方法による研究対象者に対する不利益、危険性の排除や説明と同意(インフォームド・コンセント)に関わる状況、実験に動物対する動物愛護上の配慮など、当該研究を行った際に実施した倫理面への配慮の内容及び方法について、具体的に記入すること。倫理面の問題がないと判断した場合には、その旨を記入するとともに必ず理由を明記すること。

なお、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針(平成25年文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第1号)、人を対象とする医学系研究に関する倫理指針(平成26年文部科学省・厚生労働省告示第3号)、遺伝子治療等臨床研究に関する指針(平成27年厚生労働省告示第344号)、厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針(平成18年6月1日付厚生労働省大臣官房厚生科学課長通知)及び申請者が所属する研究機関で定めた倫理規定等を遵守するとともに、あらかじめ当該研究機関の長等の承認、届出、確認等が必要な研究については、研究開始前に所定の手続を行うこと。

3. 「C. 研究結果」について

- ・当該年度の研究成果が明らかになるように具体的に記入すること。

4. 「F. 健康危険情報」について

- ・研究分担者や研究協力者の把握した情報・意見等についても研究代表者がとりまとめて総括研究報告書に記入すること。

5. その他

- (1) 日本工業規格A列4番の用紙を用いること。

- (2) 文字の大きさは、10～12ポイント程度とする。