

**厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患等克服研究事業**

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25年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 野々山 恵章

平成26(2014)年3月

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患等克服研究事業

原発性免疫不全症に対する造血幹細胞移植法の確立

目 次

・ 総括研究報告

原発性免疫不全症に対する造血幹細胞移植法の確立 ----- 1
野々山恵章（防衛医科大学校小児科学講座）

・ 分担研究報告

1. X連鎖リンパ増殖症候群に対する造血幹細胞移植法の確立に関する研究----- 13
川口裕之（防衛医科大学校小児科学講座）

2. 原発性免疫不全症に対する造血幹細胞移植法の確立に関する研究 ----- 21
今井 耕輔（東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科小児・周産期地域医療学講座）

3. 多能性幹細胞を用いた新規血球分化系の構築に関する研究 ----- 30
中畑 龍俊（京都大学iPS細胞研究所臨床応用研究部門疾患再現研究分野）

4. 原発性免疫不全症に対する造血幹細胞移植法の確立に関する研究 ----- 35
小原 収（公益財団法人かずさDNA研究所）

5. 原発性免疫不全症の造血幹細胞移植における骨髄由来間葉系幹細胞（MSC）を
用いたGVHD治療法の開発 ----- 40
小島 勢二（名古屋大学大学院医学系研究科小児科学）

6. 重症複合免疫不全症に対する造血幹細胞移植 ----- 44
原 寿郎（九州大学大学院医学研究院成長発達医学）

7. 食細胞異常症における効果的造血幹細胞移植 ----- 49
小林 正夫（広島大学大学院医歯薬保健学研究院小児科学）

8. WASに対する造血幹細胞移植法の確立に関する研究 ----- 53
有賀 正（北海道大学小児科学分野）

9. 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 ----- 57
森尾 友宏（東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科発生発達病態学分野）

. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	60
. 研究成果の刊行に関する別冊	-----	65

厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患等克服研究事業)

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 25 年度 総括研究報告書

研究代表者 野々山 恵章 (防衛医科大学校 小児科学講座 教授)

研究要旨

原発性免疫不全症に対する至適造血幹細胞移植法を確立する目的で、以下の研究を行った。

まず、これまでに蓄積されたデータとして、免疫不全症班会議の全数調査、造血幹細胞移植学会登録 (TRUMP)、PIDJ (Primary Immunodeficiency Database Japan) の3つのデータベースから、原発性免疫不全症に対する移植データを収集した。対象疾患は、重症複合型免疫不全症、X連鎖高IgM症候群、Wiskott-Aldrich症候群、先天性好中球減少症、X連鎖リンパ増殖症候群、慢性肉芽腫症とした。

重症複合免疫不全症(SCID) では、140例153回の造血幹細胞移植に関するデータが収集できた。骨髄破壊的前処置は必要ではなく骨髄非破壊的前処置で生着して免疫系の再構築が起きる事、海外の成績に比較し本邦では非血縁臍帯血移植の成績が、感染がない場合、91.3%の無病生存と良好である事が判明した。また移植時の感染症の有無で生存率が異なり、感染症があると生存率が50%と有意に低下することが示された。

X連鎖高IgM症候群では、国内症例56例49家系を解析できた。非移植例の27例は40歳での生存率は28%と不良であるが、移植を行った例29例では30年生存率は65.9%と良好であり、本疾患は造血幹細胞移植の適応であると考えられた。5歳未満の移植例13例では移植後10年の無イベント生存率76.2%と5歳以上での移植例16例の10年生存率50%と比べ良好な傾向にあった。

Wiskott-Aldrich症候群(WAS)に対する日本の全造血細胞移植について、日本造血細胞移植学会のTRUMPデータ全データを取得した。Wiskott-Aldrich症候群では移植後自己免疫疾患を発症する例が多く、特に前処置に骨髄非破壊的処置を用いた場合に多いことが判明した。また、移植後にドナーとレシピエントの混合キメラになる事が他疾患に比較して多いこと、拒絶される症例も多いことが判明した。

先天性好中球減少症では46症例のデータを全国から収集できた。16例で造血幹細胞移植が行われ、15例が無病生存していた。骨髄異形成症候群(MDS)/急性骨髄性白血病(AML)に移行した4例では、1例がGVHDで死亡したが、3例は無病生存し

ている。悪性転化前の早期の移植が、本邦での低いMDS/AML発症率につながっていると考えられた。

X連鎖リンパ増殖症候群(X-linked lymphoproliferative syndrome; XLP)の造血幹細胞移植では、XLP1は12例中11例が生存していること、XLP2は現時点で国内では1例であったが国際的な共同研究の結果19例の移植例のうち7例が生存していることが明らかになった。前処置は骨髄非破壊的前処置(RIC)を行なうのが望ましいと考えられた。また早期診断によるEBウイルスの管理が重要であった。

また施設間で前処置法が様々であること、免疫系の再構築が不十分のままであるためウイルスなどの感染症が持続している例が存在すること、移植前の潜伏感染の把握が不完全であったため移植後に感染が顕在化するという問題も明らかになった。そこで、感染症のコントロール、前処置の方法、移植後の免疫抑制剤使用法、ドナーソース感染管理などについて、暫定案を作成し原発性免疫不全症の至適な造血幹細胞移植法を確立することとした。なお、前処置で用いるbusulfanの血中濃度測定系を確立した。骨髄由来間葉系幹細胞(MSC)が持つ強力な免疫抑制作用を利用し、MSCを用いたGVHD治療法を開発し、原発性免疫不全症における造血幹細胞移植で応用した。疾患由来iPS細胞を作製し、病態解析、遺伝子治療の基礎データを出し、新規移植法の開発への応用をめざした。移植患者登録データベースとしてより有効に活用できるようにPIDJのバージョンアップを行った。

研究分担者

川口 裕之

防衛医科大学小児科学講座、准教授

今井 耕輔

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科小児・周産期地域医療学講座、准教授

中畑 龍俊

京都大学iPS細胞研究所、臨床応用研究部門・疾患再現研究分野、副所長

小原 収

公益財団法人かずさDNA研究所、ヒトゲノム研究部、副所長

理化学研究所、免疫・アレルギー科学総合研究センター、免疫ゲノミクス研究グループ、グループディレクター

小島 勇二

名古屋大学大学院医学系研究科小児科、教授

原 寿郎

九州大学大学院医学研究院成長発達医学分野小児科、教授

小林 正夫

広島大学大学院医歯薬学総合研究科小児科、教授

有賀 正

北海道大学大学院医学研究科小児科学分野

森尾 友宏

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科発生発達病態学分野、准教授

減少症、慢性好中球減少症、慢性肉芽腫症、X連鎖リンパ増殖症候群、家族性血球貪食症候群は、造血幹細胞移植が必須であり、移植しない場合生命予後が不良であり絶対適応である。造血幹細胞移植が、遺伝子治療以外の唯一の根治療法であり、至適な移植法を確立することが必須である。

一方、原発性免疫不全症に対する移植は、感染症を抱えたままの移植であるため移植中の感染症をコントロールし、かつ免疫抑制剤を過剰に使わないでGVHDも起こさないという、極めて困難な移植であり、至適移植法の確立が必須である。

ヨーロッパ移植学会(EBMT)・ヨーロッパ免疫不全症研究会(ESID)合同で、2011年6月にこれまでの造血幹細胞移植法を全面的に改定し、新たに骨髄非破壊的処置による前処置、感染管理法、移植後のキメリズム解析などを導入した。

日本の状況は、限定された疾患でパイロットスタディが開始されている。すなわち、重症複合型免疫不全症、慢性肉芽腫症、高IgM症候群では、造血幹細胞移植指針を提案し、全国でパイロットスタディが行われデータが蓄積している。また、これまでに原発性免疫不全症調査研究班により全数調査が行われ、造血細胞移植学会による登録事業 TRUMP, インターネットを活用した中央診断登録システムである(Primary Immunodeficiency Database in Japan,PIDJ)の3つがデータベースとなっている。

以上を踏まえ、最適な造血幹細胞移植法の確立とガイドライン作成など、原発

A. 研究の目的

原発性免疫不全症の中で、重症複合型免疫不全症、高IgM症候群、Wiskott-Aldrich症候群、X連鎖血小板

性免疫不全症の至適造血幹細胞移植法を確立し、根治を目指すことを目的とした。

B. 研究方法

1) これまでの移植データ収集

これまでに行われた原発性免疫不全症患者移植例を、1)免疫不全症班会議の全数調査データ、2)造血幹細胞移植学会のデータ(TRUMP)、3)PIDJ に登録されたデータの3つのデータベースから情報を収集した。各疾患ごとにデータ収集を行い、その問題点、改善点を明らかにした。

2) 原発性免疫不全症の造血幹細胞移植の問題点の解明

1) で収集したデータから、原発性免疫不全症における造血幹細胞移植の問題点を明らかにした。

3) 免疫系再構築およびキメリズム解析

原発性免疫不全症においては、免疫系の再構築、混合キメラ化が問題となる。そこで免疫系再構築と混合キメラ状態の把握を行った。

2週に一度、免疫系の再構築は、12パラメータによるFACS解析、TREC/KREC測定で行った。キメリズム解析は、患者末梢血細胞を骨髓系、リンパ系に分け、HLA タイピング、STR解析などで行った。生着のマーカーとしても利用する。この結果を、ドナーソース、前処置、免疫抑制剤などとの相関、自己免疫疾患の発症の有無も検討した。

4) データ解析

疾患ごとの患者データを整理し、移植

前処置の効果、副反応などを、統計学的に詳細に検討解析した。

5) ガイドライン作成

以上を集計し、前処置法、GVHD 予防法、感染症発症、キメリズム、生着、移植後合併症などについて解析し、原発性免疫不全症の至適造血幹細胞移植法を確立するため、疾患ごとにガイドラインを作成した。

6) 骨髓由来間葉系幹細胞(MSC)輸注によるGVHD 治療法の確立

骨髓由来間葉系幹細胞(MSC)が持つ強力な免疫抑制作用を利用し、MSC を用いた GVHD 治療法を開発し、原発性免疫不全症における造血幹細胞移植で応用した。

7) 遺伝子治療法の基盤整備

自家末梢血幹細胞移植の経験を生かし、iPS 細胞、造血幹細胞への原因遺伝子導入と、細胞分化実験を行った。

(倫理面への配慮)

原発性免疫不全症の早期診断法の確立に関する研究(実施責任者: 野々山恵章、防衛医科大学校倫理委員会、平成21年7月27日承認)

先天性免疫不全症の遺伝子解析研究(実施責任者: 野々山恵章、防衛医科大学校倫理委員会、平成21年12月11日承認)

先天性免疫不全症に対する造血幹細胞移植に関する検討(実施責任者: 野々山恵章、防衛医科大学校倫理委員会、平成23

年7月1日承認)

原発性免疫不全症の遺伝子解析(実施責任者: 今井耕輔、東京医科歯科大学倫理委員会、平成20年6月24日承認)

小児期発症疾患の遺伝子素因解明に関する研究(実施責任者: 今井耕輔、東京医科歯科大学倫理委員会、平成24年11月5日承認)

“ヒトゲノム・遺伝子解析研究”(実施責任者: 中畑龍俊、京都大学医の倫理委員会、当初承認日:平成20年6月4日、変更・追加承認日:平成24年7月19日)

ヒト疾患特異的iPS細胞の作製とそれを用いた疾患解析に関する研究(実施責任者: 中畑龍俊、京都大学医の倫理委員会、当初承認日:平成20年6月4日、変更・追加承認日:平成24年7月19日)

網羅的な全エクソンシーケンシング研究(実施責任者: 小原收、かずさDNA研究所倫理委員会、平成20年2月5日承認)

RNAシーケンシングを発現プロファイル解析および塩基配列解析研究(実施責任者: 小原收、かずさDNA研究所倫理委員会、平成24年10月16日承認)

稀少小児遺伝性血液疾患における原因遺伝子の探索研究、(実施責任者: 小島勢二、名古屋大学医学部倫理委員会、平成24年2月10日承認)

原発性免疫不全症の遺伝子解析研究(実施責任者:原寿郎、九州大学ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理委審査委員会、平成20年6月3日承認)

Wiskott-Aldrich症候群およびX連鎖血小板減少症に対する造血細胞移植に関する研究(実施責任者:有賀正、北海道大学医学部倫理委員会、平成24年10月10日承認)

造血細胞移植後のリンパ球新生能解析法の確立に関する研究(実施責任者:野々山恵章、防衛医科大学校倫理委員会、平成25年1月9日承認、実施責任者:今井耕輔、東京医科歯科大学医学部倫理委員会、平成24年11月12日承認)

C. 研究結果

1. 移植データ収集と問題点の解析

これまでに行われた原発性免疫不全症に対する移植データを、原発性免疫不全症班会議による全数調査、日本造血細胞移植学会登録事業である TRUMP、原発性免疫不全症の中央診断登録システム PIDJ の3つのデータベースを用いて収集した。原発性免疫不全症として、重症複合型免疫不全症、X連鎖リンパ増殖症候群、高IgM 症候群、先天性好中球減少症、Wiskott-Aldrich 症候群、慢性肉芽腫症を対象とした。収集したデータから、以下の項目を検討した。原病、診断時年令、移植時年令、前処置の種類、ドナーソース、免疫抑制剤の種類、Digital PCR による移植時感染症の有無と感染のモニタリング、免疫系の再構築(リンパ球サブセット、血清 IgG,

IgA, IgM 値、特異抗体の産生、TREC/KREC のコピー数)、移植後の感染発症の有無、感染症がある場合、その種類と治療反応性、拒絶および生着状況、ドナータイプとレシピエントタイプのキメラ状態 (T細胞、B細胞、好中球で分けて解析)、GVHD の発症頻度と重症度、移植後血球貪食症候群の発症頻度、VOD の発症頻度、自己免疫疾患の発症頻度、現時点での生命予後、無病生存率であり、各疾患で検討した。

その結果、移植後長期にわたり患者細胞と造血幹細胞供血者細胞のキメラ状態になり、免疫血液系の再構築が不完全である症例が多い事が判明した。T細胞は生着したが、B細胞は患者由来であり抗体を産生できないため、グロブリン補充を続けなければならない例、T細胞一部のみが生着したため免疫調節異常が起こり自己免疫疾患を発症している例などが多くあった。

前処置に関しては、感染症を抱えていること、多くが乳幼児であることから、骨髄非破壊的処置を選択している施設が多かったが、前処置の実際の方法については、施設間で大きく異なっているという実態も明らかになった。

こうした前処置方法の改善の一環として、原発性免疫不全症に対する安全な同種造血幹細胞移植法を開発するため、前処置に用いるブスルファン血中濃度測定系を確立した。

造血細胞移植後のウイルス感染のモニタリングと治療法についても、厚生労働科学研究費補助金 (免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業)「臓器移植・造血

細胞移植後日和見感染症に対する有効かつ安全な多ウイルス特異的T細胞療法の開発と導入に関する研究」と連携して検討を行った。

また、造血幹細胞移植後患者について、その免疫学的再構築能を、申請者らが確立したT細胞新生能のマーカーであるT細胞受容体遺伝子再構成断片 (TREC)、B細胞新生能のマーカーである免疫グロブリン鎖遺伝子再構成断片 (KREC) を用いて、検討を行った。臍帯血移植では骨髄移植に比較してTREC/KRECの上昇が有意に遅れる事が明らかになった。このことから、臍帯血移植と骨髄移植では、感染予防、免疫抑制剤の使用法、ドナーリンパ球輸注の必要性などが異なる事が示唆された。さらに、免疫系の再構築が不十分のままであるためウイルスなどの感染症が持続している例も多く存在した。こうしたウイルス感染症に対するウイルス特異的T細胞の増幅に成功し、その輸注による効果が期待される。また移植前の潜伏感染の把握が不完全であったため、移植後に感染が顕在化するという問題も明らかになった。

また、移植後経過をよりの確に解析するため、原発性免疫不全症データベースであるPIDJ (Primary Immunodeficiency Database in Japan)について、遺伝子解析データの自動入力、移植方法、移植後感染症、GVHD、キメラ状態などのデータ入力が容易に行われるようこと、患者情報がPIDJに統一的に入力されるようにすることを目指しバージョンアップした。

2. 各疾患ごとの移植データ収集と解析および移植推奨案

i) 重症複合型免疫不全症

重症複合免疫不全症(SCID) 140例、153回の造血幹細胞移植に関するデータを収集した。その結果、骨髄破壊的前処置は必要ではなく、骨髄非破壊的前処置で生着し、免疫系の再構築が起きる事、海外の成績に比較し、本邦では非血縁臍帯血移植の成績が感染を起こす前の早期に移植した場合 91.3%の無病生存と良好である事が判明した。また移植時の感染症の有無で生存率が異なり、感染症がないと91.3%と良いが、感染症があると生存率が50%と有意に低下することが示された。SCIDに対する移植は諸外国と遜色のない数を行っており、また成績も悪くはないことが明らかになった。今後は米国で導入されている新生児マススクリーニングを日本にも導入し、また英米仏伊で行われている遺伝子治療の導入により、さらなる予後の向上を図ることが望ましいと考えられた。

具体的な前処置としては、限られた症例数であるが、パイロットスタディで骨髄非破壊的前処置の中でも、Flu/L-PAMよりFlu/BU(8mg/kg)による前処置がドナー細胞の生着が良好であることが判明し、Flu/BU(8mg/kg)を推奨することとした。さらに共通鎖欠損症についてはFlu+BUで、ADA欠損症については、Flu+BU+ATGを推奨した。

)CD40L 遺伝子異常を伴う伴性劣性高IgM症候群

CD40L 遺伝子異常を伴う伴性劣性高IgM症候群の国内症例56例49家系を解析した。移植していない27例は10歳までの生存率が68%、40歳での生存率が28%と長期予後が不良であり、造血幹細胞移植の適応であると考えられた。一方、移植を行った例29例では30年生存率は65.9%と良好であった。さらに、5歳未満の移植例13例は100%の生存率であり、5歳以上での移植例の全生存率71.8%と比較して有意に成績が良好であった($p=0.037$)。また移植後10年の無イベント生存率は78.6%と5歳以上での移植例16例の移植後10年の無イベント生存率40%と比べ統計学的に有意に良好であった($p=0.0263$)。これは、5歳以上で臓器障害、特に肝障害、肺障害が進行すること、持続感染が起きることがその原因であると考えられた。この結果から5歳未満での移植が推奨された。

また、BU+CYでの前処置例18例中15例が生着しており、骨髄非破壊的前処置(RIC)の7例中4例に比べ良好な生着率であった。ただし、5歳未満のRICでは3例中3例で生着しており、今後状態の良い患者でのRICでの前処置の可能性について検討が必要である。

現時点での推奨案としては、臓器障害がない場合はBU+CY、臓器障害がある場合はFlu+LPAM+TBI(2Gy)とした。

また、T細胞免疫不全により起きる、クリプトスポリジウム感染、ニューモシスチス感染、真菌感染、ウイルス感染が高頻度に起こること、これらの感染対策が移植成績を決める事を明らか

にし、その予防法を明記した。

)慢性肉芽腫症(CGD)に対する造血幹細胞移植

慢性肉芽腫症 (CGD)では拒絶およびアスペルギルス感染が大きな問題となっていた。移植時期についても施設間でまちまちであった。そこで、至適移植時期、移植までの管理法などについての指針を作成した。造血幹細胞移植の前処置としては、BU+CYによる骨髄破壊的処置の成績が不良であったため、成功率の高い骨髄非破壊的処置である Flu + LPAM + CY + low dose TBI を推奨した。

ドナーは臍帯血では拒絶が多いというデータがあり骨髄血が選択されていた。24例の骨髄移植が施行されていた。年齢は3歳から40歳まで男児でgp91phox 遺伝子異常が23例、gp47欠損が1例であった。活動性感染症を有した状況での移植が18例、消化管病変有した症例が5例、臨床的には活動性感染症を認めない症例が6例であった。全例が生着した。1例で生着遅延(移植後43日目)を認めたが、あとの症例はすべて24日以内にドナー細胞の生着を確認した。そのまま安定した完全キメラを維持した症例が16例、徐々に混合キメラ状態に移行した症例が7例ありDLIを追加した。DLI施行症例はすべて完全キメラに復したが、2例は重度のGVHDを合併し、それぞれ移植後1年半、2年で死亡した。生着遅延の1例は移植後20日に肺炎から呼吸不全となり移植後50日、生着後1週間で死亡した。移

植後8か月で重症感染症からDICとなり頭蓋内出血で死亡。25例中4例が死亡したが、死亡例はすべて成人例であった(18歳, 33歳, 35歳, 40歳)。残りの20例はすべてKarnofsky performance status 90%以上で生存し、社会生活に復帰している。全体の生存率は84%、16歳未満(11例)は100%、16歳以上(13例)が74%であった。

CGDの移植時期においては、若年者が臓器障害の少ないこと、移植関連合併症が少ない点から安全性の面では望ましいと思われる。現行の前処置による晩期障害、特に妊孕性等の問題についての長期フォローアップが必要である。この点が解決されれば、今後の方向性を示すことが可能となるであろう。

)Wiskott-Aldrich 症候群(WAS)およびX連鎖血小板減少症に対する造血幹細胞移植

Wiskott-Aldrich 症候群(WAS)に対する日本の全造血細胞移植について、日本造血細胞移植学会のTRUMPデータ全データを取得した。Wiskott-Aldrich 症候群では移植後自己免疫疾患を発症する例が多く、特に前処置に骨髄非破壊的処置を用いた場合に多いことが判明した。また、移植後にドナーとレシピエントの混合キメラになる事が他疾患に比較して多いこと、拒絶される症例も多いことが判明した。

これらの問題点を解決すべく、移植方法について骨髄破壊的前処置、ドナーリンパ球の使用、免疫抑制剤の使用法などについての暫定的なガイドライ

ンを作成した。

Wiskott-Aldrich syndrome (WAS) 遺伝子に変異を持ち、臨床的に血小板減少があるが、湿疹は存在しないか軽度で、軽度から中等度の感染歴のみである X 連鎖性血小板減少症の患者を対象に、造血幹細胞移植成績の後方視的解析を行った。X 連鎖血小板減少症(XLT)に関しては、海外症例も含めて造血幹細胞移植を受けた 23 例を集積できた。全生存率は約 80%であり、23 例中 22 例で移植前に認めた本疾患の合併症が移植後には全て改善していたということが判明した。骨髄破壊的前処置が本疾患には妥当な可能性が示唆された。すなわち、骨髄破壊的前処置を用いることで、ほとんどの症例で本疾患の合併症が改善すること、生存率および移植関連合併症は許容できるものであった。

)慢性好中球減少症に対する造血幹細胞移植

慢性好中球減少症 46 症例のデータを全国から収集した。76%が ELANE 変異、12%が HAX1 変異であった。G-CSF 投与の定期投与は 56%、感染時のみの投与は 22%であった。

16 例で造血幹細胞移植が行われ、15 例が無病生存している。ドナーは臍帯血では拒絶が多いというデータがあり、骨髄血をドナーソースとしている症例が多数であった。

骨髄異形成症候群(MDS)/急性骨髄性白血病(AML)に移行した 4 例では、1 例が GVHD で死亡したが、3 例は無病生存している。悪性転化前の早期の移植が、

欧米と比較し低い MDS/AML 発症率につながっている可能性が示された。G-CSF 非投与群でも MDS/AML を発症していることが判明し、内因性の G-CSF が高いためであると考えられた。そこで、早期の移植を推奨した。

前処置は骨髄破壊的前処置である BU+CY が拒絶が少なかったが、非腫瘍性疾患であることから最小限の晩期障害、特に妊孕性の保持は重要である。これらの点を考慮して前処置として fludarabine, cyclophosphamide, melpharan, ATG, TBI (3 Gy)を用いた RIC が選択された症例もあった。骨髄非破壊的前処置の症例が少ないため、症例をさらに蓄積して、推奨案を策定中である。

)X 連鎖リンパ増殖症候群 (X-linked lymphoproliferative syndrome; XLP) に対する造血幹細胞移植

XLP には原因遺伝子の異なる XLP1 と XLP2 がある。これらに対して造血幹細胞移植が行なわれた例についての調査を行った。XLP1 について本邦で行なわれた造血幹細胞移植において 12 例中 11 例が生存していることが判明した。また、XLP2 については、本邦で造血幹細胞移植が行なわれたのは現時点で 1 例のみであったが、国際的な共同研究の結果 19 例に移植が行なわれ、そのうち 7 例が生存していることが明らかになった。XLP1 の移植においては、骨髄破壊的前処置 (MAC) と骨髄非破壊的前処置 (RIC) で治療成績に差がなかったが、XLP2 の移植においては骨髄破壊

的前処置 (MAC) の毒性が強い例が多かった。XLP1 と XLP2 の何れに対しても、治療による毒性の少ない骨髄非破壊的前処置 (RIC) を行なうのが望ましいと考えられた。移植ガイドラインを策定中である。また早期診断による EB ウイルスの管理が重要であった。

) 家族性血球貪食症候群に対する造血幹細胞移植

移植成績が極めて不良であるが、骨髄非破壊的前処置による造血幹細胞移植の成功例を受け、推奨案を策定中である。

) 毛細血管拡張製小脳失調症 (Ataxia telangiectasia)

DNA 損傷修復異常が原因であるため、前処置により DNA 損傷が起きて致死的になるため、現段階で推奨できる造血幹細胞移植法は世界的にも存在しない。骨髄非破壊的造血幹細胞が行われているが、極めて予後不良である。推奨できる造血幹細胞移植法が得られないが、重要な免疫不全症であるため、対症療法のガイドラインを作成した。

ix) その他の疾患

STAT1 異常症、NEMO 異常症、complete DiGeorge 症候群などに対しても造血幹細胞移植が行われていた。これらの予後不良な原発性免疫不全症に対する造血幹細胞移植のガイドライン作成も必要である。今後の症例の蓄積が必要である。

3. 骨髄由来間葉系幹細胞 (MSC) 輸注による GVHD 治療法の確立

ドナーの血液から濃厚血小板採取後、血小板融解産物 (Platelet lysate) を調製した。続いて、移植ドナーから MSC 培養用の骨髄液 30ml を採取し、骨髄単核球を Platelet lysate を添加した培養液を用いて、十分量の MSC を調製した。

3例のステロイド抵抗性の重症 GVHD (腸管 GVHD1 例、肝 GVHD1 例) に対する間葉系幹細胞輸注療法を実施した。全例で著効し、長期生存が得られている。1例は慢性肉芽腫症であり、腫瘍性疾患と異なり GVHD がでる必要が無い原発性免疫不全症の造血幹細胞移植において、積極的に活用すべき治療法と考えられた。

4. iPS 細胞からの分化系を用いた移植方法改善の試み

移植成績の向上のためには各疾患の病態解明が必須と考えられている。今回、正常あるいは患者の皮膚、末梢血から iPS 細胞を作成し、この細胞から免疫担当細胞を含む各種血球系に分化させる系の構築を目指した。

iPS 細胞からの血球分化系として、従来法である OP9 フィーダーを用いた血球誘導法や胚葉体 (Embryoid body: EB) 形成による血球誘導法その他、フィーダー・血清を使用せずに平面培養で 3 系統 (赤血球・白血球・血小板) を誘導する方法を開発した。本法は分化過程での細胞のソート等を要しない簡便な方法で、成熟血球を誘導することが可能であり、また成熟血球は浮遊細胞となって細胞上清から回収できるため、細胞純化が容

易となった。回収した細胞の表面抗原により細胞を分取する技術も確立した。さらに、血球の分化過程を追跡可能であることから、血球分化異常が背景にある疾患の解析も可能となった。また、この方法を改変し、重要な自然免疫担当細胞である単球、樹状細胞、マクロファージをステップワイズに成熟・回収する系も確立した。この系では、浮遊細胞の 80-90% が単球となり、純化が容易である他、培地交換ごとに回収可能であるため、多数の細胞を繰り返し得ることができる。さらに、OP9-DL1 をフィーダー細胞として用いて T リンパ球の分化誘導法についても検討した。上記の細胞分化系を用いて、原発性免疫不全症の疾患特異的な表現型の解析を開始した。

D. 考察

原発性免疫不全症は、先天的に免疫系細胞の分化、機能発現に重要な分子の異常があり、致死的な感染症などを起こす疾患である。原因遺伝子は 180 程度が知られている。その中の多くの疾患は、造血幹細胞移植が適応である。重症複合型免疫不全症は移植をしない場合、1 歳までに 90% が死亡するが、移植により根治できる。また、単一遺伝子の異常による疾患であり、造血幹細胞移植により遺伝子の正常化がなされれば根治できる。

しかし、移植時に感染症を併発している事が多く、感染症を抱えたままの移植になることが多い。DNA 修復障害が基礎にある疾患では、前処置の強度を最低限にしなければならない。また HLA 不一致の移植を行わざるを得ないことも多く、

GVHD も起こしやすい。このように、造血幹細胞移植の中で解決すべき問題点が多い疾患である。

原発性免疫不全症は免疫不全症候群班会議による全数調査のデータ、PIDJ という WEB ベースのデータベース、造血細胞移植学会による登録事業 (TRUMP) のデータが存在する。そのデータには、重症複合型免疫不全症、Wiskott-Aldrich 症候群、高 IgM 症候群、慢性肉芽腫症の造血幹細胞移植データが含まれている。

そこで、原発性免疫不全症の至適な造血幹細胞移植法を確立するため、感染症のコントロール、前処置の方法、移植後の免疫抑制剤使用法、ドナーソースなどについて、これまでに蓄積されたデータの収集を行い、解析を行った。具体的には、前処置法、ドナーソース、免疫抑制剤、感染管理法についてデータを収集・解析した。この結果をもとに、疾患ごとの造血幹細胞移植のガイドラインを作成した。なお、本研究には、造血幹細胞移植の技術を遺伝子治療に将来的に活用する事も含めた。

本研究で作成した造血幹細胞移植推奨案により、移植による原発性免疫不全症の根治を目指すことができる。また、他疾患の造血幹細胞移植、さらに移植治療全体に応用できるため意義深い。

原発性免疫不全症に対する造血幹細胞移植法には様々な問題点があり、施設間で統一されておらず、確立されていない。本研究で、原発性免疫不全症候群に対する至適造血幹細胞移植法を確立し、安全でかつ治癒を目的とした治療法を確立できたことは、難病治療を確立し行政政策

へ活用できた。

E. 結論

免疫不全症班会議の全数調査、造血幹細胞移植学会登録事業 (TRUMP)、PIDJの3つのデータベースから原発性免疫不全症に対する移植データを収集した。その結果、前処置法によっては、移植後長期にわたり患者細胞と造血幹細胞供血者細胞のキメラ状態になり、免疫血液系の再構築が不完全である症例が多い事が判明した。T細胞は生着したが、B細胞は患者由来であり抗体を産生できないため、グロブリン補充を続けなければならない例、T細胞一部のみが生着したため免疫調節異常が起こり自己免疫疾患を発症している例などがあった。また、臍帯血移植では骨髄移植よりT細胞・B細胞新生能のマーカーであるTREC/KRECの正常化が有意に遅れることも見出した。さらに、免疫系の再構築が不十分のままであるためウイルスなどの感染症が持続している例も多く存在した。また移植前の潜伏感染の把握が不完全であったため、移植後に感染が顕在化するという問題も明らかになった。

疾患ごとの現時点での造血幹細胞移植推奨案も作成できた。

MSCによるGVHDの治療法は、原発性免疫不全症の造血幹細胞移植において重要な治療法になりうる事が示された。

また、iPS細胞の利用、遺伝子治療の基礎データを出すことができ、新規移植法の開発に応用できると考えられた。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

巻末別紙参照。

2. 学会発表

巻末別紙参照。

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

X連鎖リンパ増殖症候群に対する造血幹細胞移植法の確立に関する研究

研究分担者

川口 裕之 防衛医科大学小児科学講座 准教授
小林 正夫 広島大学大学院医歯薬学総合研究科小児科 教授
原 寿郎 九州大学大学院医学研究院成長発達医学分野小児科 教授

研究協力者

金兼 弘和 富山大学附属病院小児科 准教授

研究要旨

X連鎖リンパ増殖症候群 (X-linked lymphoproliferative syndrome; XLP) は造血幹細胞移植以外の方法では治癒をもたらすことのできない重篤かつ稀な原発性免疫不全症であり、原因遺伝子の異なる XLP1 と XLP2 が存在する。これらはいずれも稀少疾患であり散発的な研究が複数報告されているが、従来統計学的に有意な所見の得られる症例数の多いコホートで治療法の評価を行なった研究は限られていた。今回の研究班では XLP1 (国内) と XLP2 (国内・国外) の臨床症例の調査を造血幹細胞移植に焦点を当てて行ない、最適な移植の方法についての情報を得ることを目標として研究を行なった。この結果、XLP1 については (a) 低年齢・低ガンマグロブリン血症が重症化の傾向があり早期の移植が適応となる (b) 移植のドナー・前処置による差は少なく、各施設の実情により最適な方法を選択することが許容されることが考えられること、XLP2 については (a) 低年齢・低ガンマグロブリン血症が重症化の傾向があり早期の移植が適応となる (b) 移植のドナー・前処置による差は少なく、各施設の実情により最適な方法を選択することが許容されることが考えられること、積極的に本邦で行なわれた造血幹細胞移植において 12 例中 11 例が生存していることが判明した。また、XLP2 については、(a) 移植時年齢 2 歳以上 (b) 移植細胞の HLA6 座以上一致 (c) 骨髄非破壊的前処置 (d) 移植時活動性の血球貪食症候群に罹患していないこと が望ましい移植の条件であることが示唆された。XLP1 と XLP2 の何れに対しても、今後前方視的な臨床研究によって症例の集積をはかるとともに、病態生理についての基礎的研究を推進することも重要と考えられた。

A. 研究目的

X連鎖リンパ増殖症候群 (X-linked lympho-proliferative syndrome; XLP) には、

SAP/SH2D1A の異常に起因する XLP1 と、BIRC4 の異常に起因する XLP2 (XIAP 異常症) の二種類があり、何れも希少な原発

性免疫不全症である。造血幹細胞移植はこれらの疾患の根治的治療と考えられるが、症例数の制約によりエビデンスに基づく最適な移植の方法についての情報は乏しかった。

上記の事情により、XLP に対して造血幹細胞移植を行なった症例を精査し、今後の治療・医療資源の最適な配置の指針となる情報を医師・厚生労働行政に提供することを目的として、今回の研究を計画した。

B. 研究方法

1) XLP1 の移植例についての検討の方法

XLP1 については、一般的な文献検索の方法により本邦において症例報告のあった症例を抽出した。各症例について、本人もしくは保護者からの書面による同意を得た後、これらの症例について遺伝子型と細胞学的分析、臨床情報の収集を行い、臨床経過と患者の特性、造血幹細胞移植の施行の有無と予後の関連等について質問票により後方視的に分析した。また、比較の為の対照として Booth 等による国際共同研究のコホートの情報 (Blood, 2100, 117 巻 1 号, 53-62 頁) を参照した。

生存分析の群間比較においては、log rank 試験と Gehan-Breslow-Wilcoxon 試験を用い、hazard ration の算出を含む統計学的分析には GraphPad Prism vvesion 5.00 を使用した。

2) XLP2 の移植例についての検討の方法

XLP2 については、国内症例のみでは総数が少なく検討に堪えないことが予想された為、国際共同研究を行った。文献による報告、国際組織球症研究グループへの報

告等から XLP2 に対して造血幹細胞移植を行なった症例を抽出した。研究代表者の所属する医療機関 (シンシナチ小児病院) の倫理委員会の承認を得た後、これらの症例について担当医に質問用紙を送付し、遺伝子型と細胞学的分析の結果、臨床情報の収集を行い、臨床経過と患者の特性、造血幹細胞移植内容と予後の関連等について後方視的に分析した。生存分析については XLP1 で採用した方法に準じた。

(倫理面への配慮)

患者に対する倫理的面での配慮として、すべての調査研究はヘルシンキ宣言 (1964 年世界医師会において策定、2000 年改訂) を遵守して行われた。すなわち、新たに検体を採取する必要のある被験者には、研究の目的・危険性・研究に伴う利益と不利益を説明した上で、書面で同意を得、同意の撤回が可能であることについても説明した。死亡例を含む後方視的な検討においては、各施設から匿名化された情報のみを収集し、各研究分担者は症例の個人情報把握できないようにした。上記の処置により、研究対象者に対する不利益は発生しなかったと考えられた。また、研究方法の特性上、研究による危険性は存在しない。

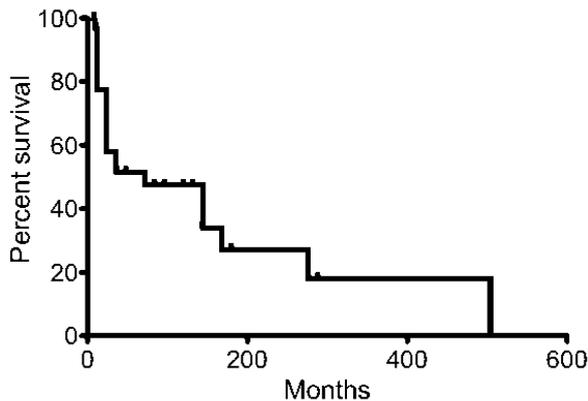
C. 研究結果

1) XLP1 についての研究結果

(i) XLP1 の自然歴

XLP1 について国内での調査の結果、前年報告書に記載した通り 21 家系の 33 症例を見いだした。この 33 例について移植を

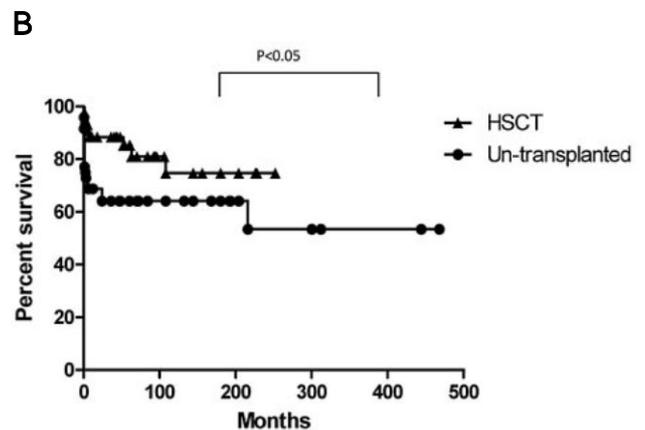
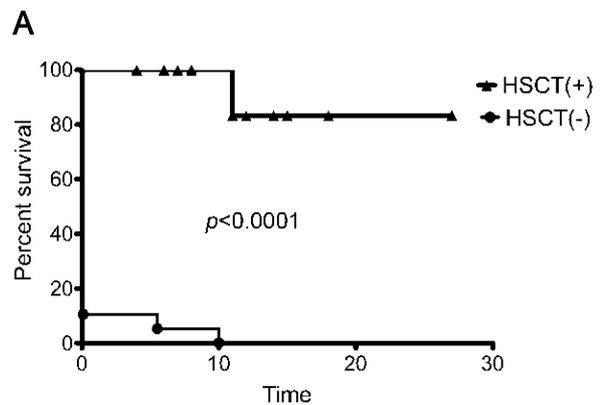
censored (観察打ち切り) として生存分析を行なったところ、図 1 の生存曲線を得た。生存期間の中央値は 72 か月であった。すなわち、XLP1 の症例は移植を行なわなければ生存期間の中央値は 3 歳前後であることが判明した。これは Booth らの先行研究とほぼ合致する所見であると考えられた。



【図 1】 XLP1 全症例の全生存率の Kaplan-Meyer 曲線

横軸は年齢であり、造血幹細胞移植を受けた症例は censored (観察打ち切り) とした。

次に 33 例中移植が行なわれた 12 例 (年齢中央値 7.0 歳) について移植群と非移植群の二群について生存分析を行なった。生存期間中央値は移植群 undefined、非移植群 1 か月未満 (図 2) であった。すなわち、移植を行なわない場合の予後は著しく不良であったが、これは同様の検討を行なった国際共同研究の結果よりも明瞭な違いであり、XLP1 の臨床像において人種差が存在する可能性を示唆する所見と考えられた。



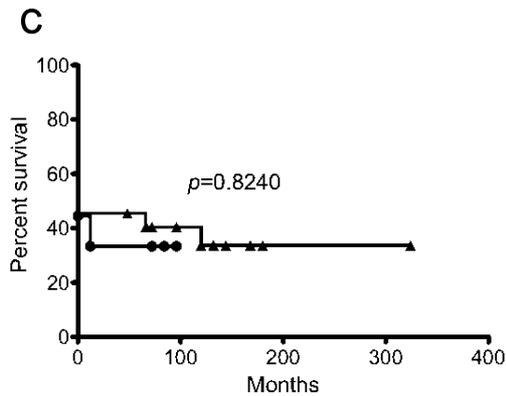
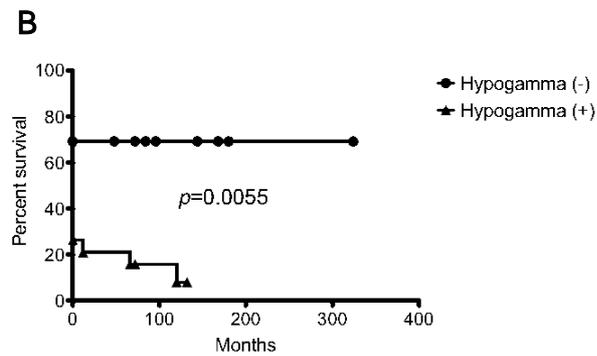
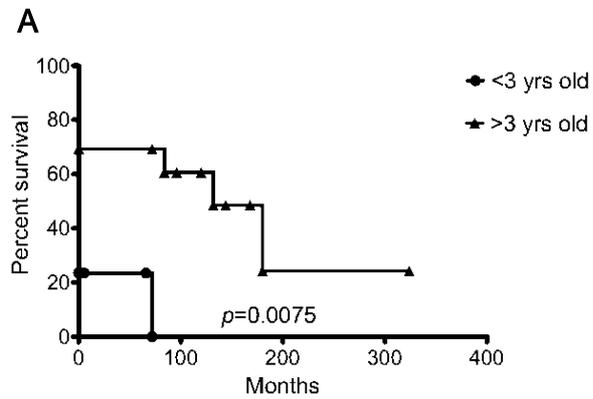
【図 2】 造血幹細胞移植 (HSCT) を行なった群と行なわなかった群の生存分析

A: HSCT を行なった群と行なわなかった群の全生存率の Kaplan-Meyer 曲線
B: 同様の検討を行なった Booth 等のデータ。横軸は発症してからの期間

(ii) 患者背景と予後

患者の条件による予後因子を検討した。

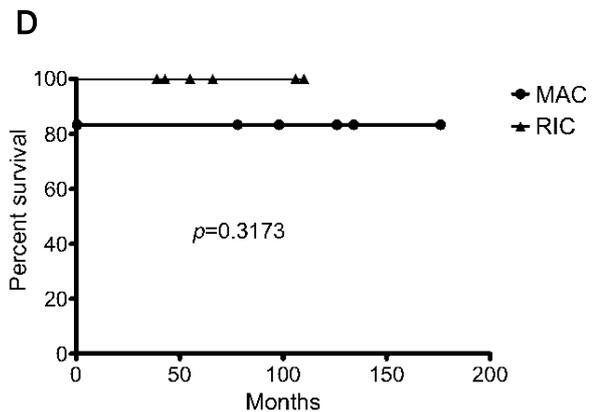
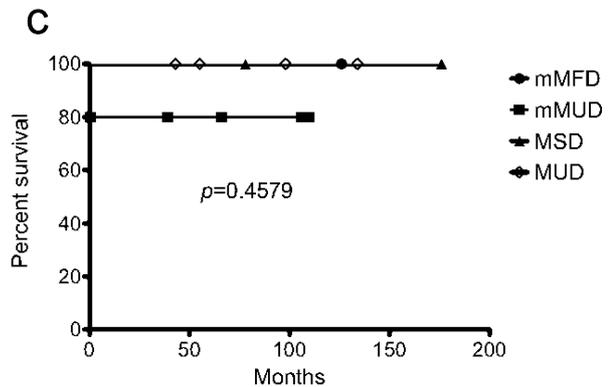
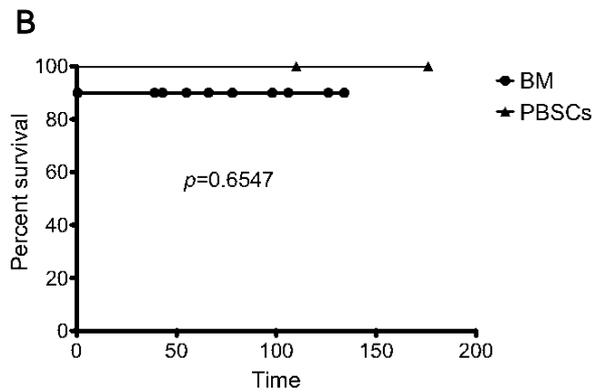
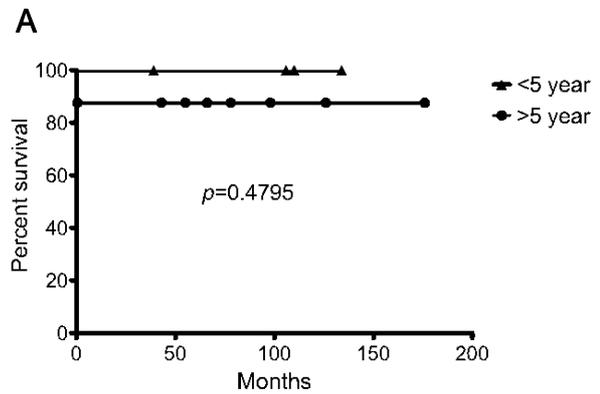
(i) 発症時 3 歳以下の場合 (ii) 低ガンマグロブリン血症がある症例はきわめて短い経過で不幸の転帰をとり (図 3A, B)、家族歴の有無によっては生存率に有意な差は観察されなかった(図 3C)。



【図 3】 A: 発症時年齢 (3 歳未満対 3 歳以上)、B: 低ガンマグロブリン (Hypogamma) 血症の有無、C: 家族歴 (FH) の有無 による群間の比較

(iii) 移植の条件による予後

移植の条件として、移植時年齢 (図 4A)、移植に用いた造血幹細胞のソース (図 4B)、造血幹細胞のドナー (図 4C)、移植前処置 (図 4D) による移植後生存率の比較を行なったが、症例数が少なく群間に統計学的に有意な差があるかどうかの検討は困難と考えられた。

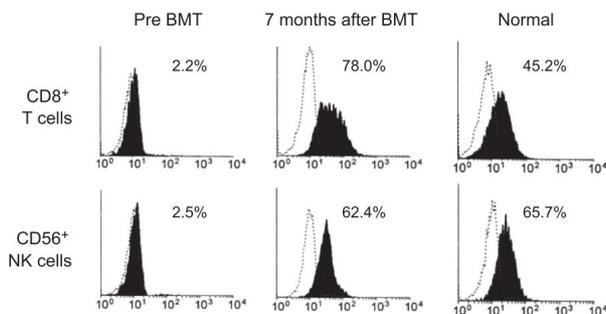


【図 4】 A: 移植時年齢 (5 歳未満対 5 歳以上)、B: 造血幹細胞のソース、C: 造血幹細胞のドナー、D: 移植前処置 による群間の比較

BM: 骨髄血、PBSC: 末梢血幹細胞、MSD: HLA 適合同胞ドナー、MUD: HLA 適合非血縁ドナー、mMFD: HLA 非適合家族内ドナー、mMUD: HLA 非適合非血縁ドナー、MAC: 骨髄破壊的前処置、RIC: 骨髄非破壊的前処置

() 移植合併症

移植を受けた 12 例中、1 例が生着前に緑膿菌による感染症により死亡した。残り 11 例はドナーキメラリズムを保って生存している (観察期間中央値 7 年 9 か月)。6 例 (55%) に急性 GVHD (移植片対宿主病) が発症し、5 例 (45%) に慢性 GVHD が発症した。フローサイトメトリーによる免疫細胞数の評価ができた症例では、CD8 陽性 T 細胞と NK 細胞における SAP 蛋白の発現は正常化していた (図 5)。



【図 5】 移植前後での CD8 陽性 T 細胞と NK 細胞における SAP 蛋白の発現の変化

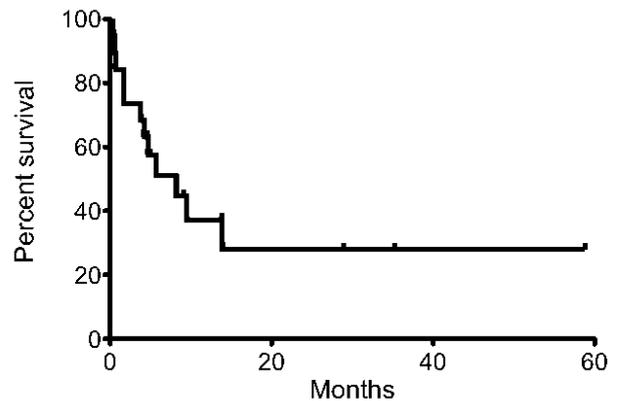
代表的な症例での CD8 陽性 T 細胞と NK 細胞における SAP 蛋白の発現の変化を示した。それぞれのリンパ球において、移植前にはほとんど発現のなかった SAP 蛋白が移植後 7 か月で正常対照と同等の発現を認めるようになっている。

2) XLP2 についての研究結果

(i) XLP2 の移植後生存率

XLP2 の症例に対して造血幹細胞移植を行った症例について国際調査を行い、19

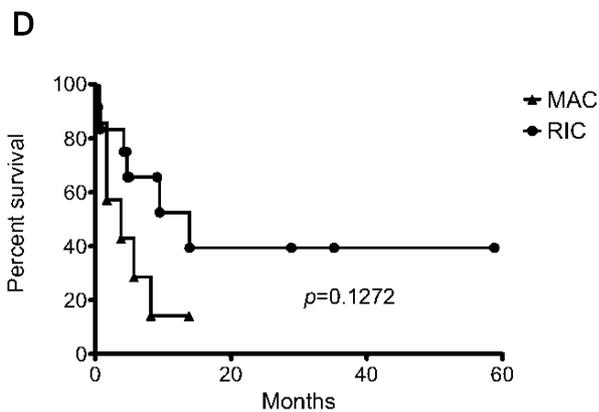
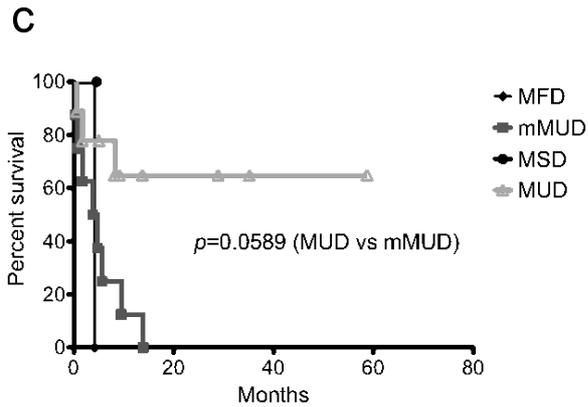
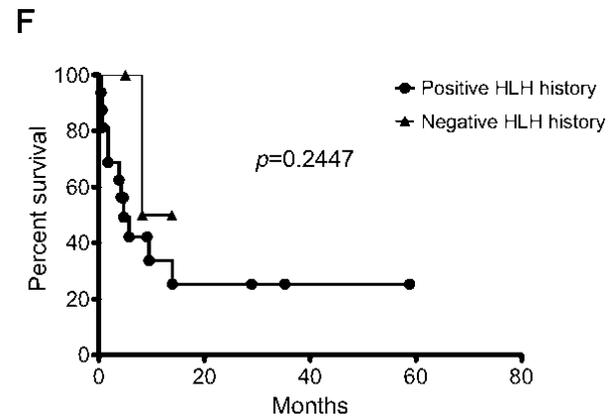
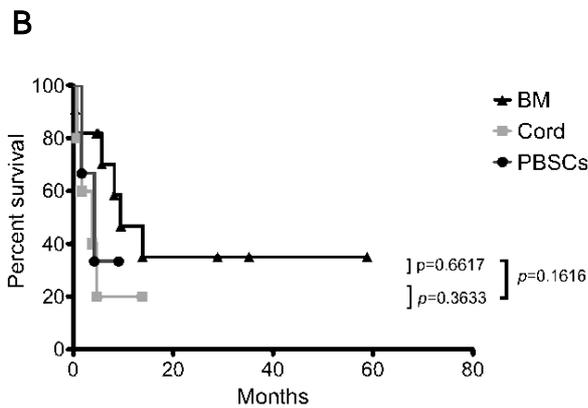
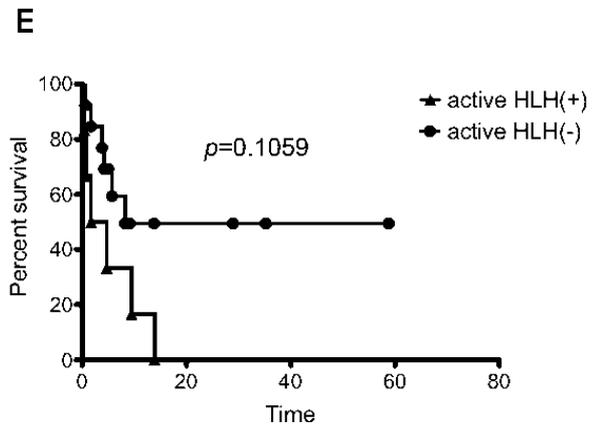
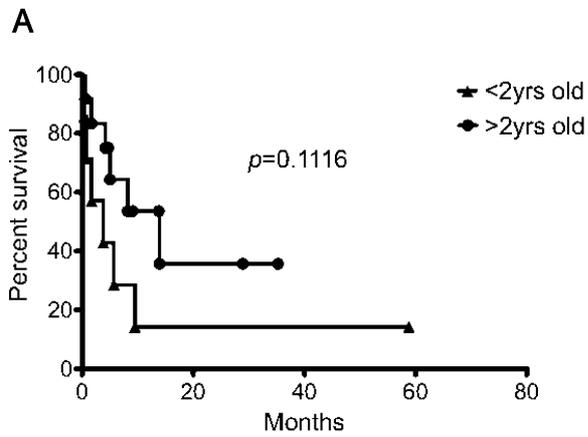
症例を見いだした。このうち移植後現在まで生存しているのは 7 例 (36.8%) であった。図 6 にこれらの症例についての生存曲線を示した。生存期間中央値は 8.2 か月であった。



【図 6】 XLP2 移植症例の全生存率

(ii) 移植の条件による予後

移植の条件として、移植時年齢 (2 歳未満対 2 歳以上) (図 7A)、移植に用いた造血幹細胞のソース (図 7B)、造血幹細胞のドナー (図 7C)、移植前処置 (図 7D)、移植時活動性血球貪食症候群の有無 (図 7E)、移植前血球貪食症候群既往の有無 (図 7F) による移植後生存率の比較を行なった。症例数が少なく群間に統計学的に有意な差を指摘することはできなかったが、移植時年齢 2 歳以上、移植細胞の HLA6 座以上一致、骨髄非破壊的前処置、移植時活動性の血球貪食症候群に罹患していないこと、の条件が満たされた場合に移植後の経過が相対的に良好となる傾向が示された。



【図 7】 移植の条件による予後の違い (A: 移植時年齢, B: 造血幹細胞のソース, C: 造血幹細胞のドナー, D: 移植前処置による群間の比較, E: 移植時の活動性血球貪食性リンパ組織球症 [HLH] の有無, F: HLH の既往の有無)

BM: 骨髄血, PBSC: 末梢血幹細胞, Cord: 臍帯血, MSD: HLA 適合同胞ドナー, MUD: HLA 適合非血縁ドナー, mMUD: HLA 非適合家族内ドナー, mMUD: HLA 非適合非血縁ドナー, MAC: 骨髄破壊的前処置, RIC: 骨髄非破壊的前処置, HLH: 組織球性リンパ増殖症候群 (血球貪食症候群)

D. 考察

昨年の報告でも指摘した通り、XLP1・XLP2 の症例では移植を行なわなかった場合の予後は極めて不良であり、条件が整えば移植を行なうことが強く推奨される。今回の検討によって、XLP1 については 3 歳未満の症例と低ガンマグロブリン血症のある症例の予後は不良であり、これらの条件を

満たした場合の造血幹細胞移植は早期に行なう必要が示唆された。今回のコホートでの症例数の制約により望ましい移植の条件については統計学的に意味のあるデータが十分得られなかったが、海外での報告によれば (i) HLA 一致同胞からの (ii) 活動性の HLH のない時期の移植が望ましいが、前処置 (骨髄破壊的前処置か骨髄非破壊的前処置か) による差は見られていなかった。以上については、今後前方視的臨床研究により日本人についても同じ所見が得られるかどうかについて検証することが課題であると考えられる。

XLP2 では XLP1 の場合と比較して移植に伴う合併症が多く観察されているが、(i) 移植時年齢 2 歳以上 (ii) 移植細胞の HLA6 座以上一致 (iii) 骨髄非破壊的前処置 (iii) 移植時活動性の血球貪食症候群に罹患していないこと、が移植後の経過について良好な条件となる可能性が示唆された。この知見が XIAP の欠失による生物学的現象かどうかについては、今後の基礎的研究の進展を待つ必要がある。

以上により、XLP1・XLP2 の治療において造血幹細胞移植は欠くことのできない位置を占めることが確認されるとともに望ましい移植の変数として複数の要素が抽出されたが、移植の為の最適の条件を同定するための前方視的臨床試験と病態生理についての基礎的研究が今後の課題となると考えられる。

E. 結論

(1) XLP1 については、適当なドナーが存在する場合は、造血幹細胞移植を積極的に行うべきである。現時点では各

施設の条件を勘案してドナー選定・前処置についての判断を行なっても許容される。

- (2) XLP2 については、現時点では骨髄非破壊的前処置による移植が推奨される。
- (3) いずれの疾患の移植についても、日本人について造血幹細胞移植を行った例についての臨床情報の蓄積が十分ではない為、今後行われる移植について調査の継続が必要である。
- (4) XLP1, XLP2 の病態生理についての基礎的研究に、積極的に援助を行なう必要がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Marsh RA, Rao K, Satwani P, Lehmsberg K, Müller I, Li D, Kim MO, Fischer A, Latour S, Sedlacek P, Barlogis V, Hamamoto K, Kanegane H, Milanovich S, Margolis DA, Dimmock D, Casper J, Douglas DN, Amrolia PJ, Veys P, Kumar AR, Jordan MB, Bleesing JJ, Filipovich AH. Allogeneic hematopoietic cell transplantation for XIAP deficiency: an international survey reveals poor outcomes. *Blood*, 121;877–83, 2013.
- 2) Wada T, Kanegane H, Ohta K, Katoh F, Imamura T, Nakazawa Y, Miyashita R, Hara J, Hamamoto K, Yang X, Filipovich AH, Marsh RA, Yachie A. Sustained elevation of serum interleukin-18 and its association with hemophagocytic lymphohistiocytosis in XIAP deficiency. *Cytokine*, 65;74–8, 2014.

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

原発性免疫不全症に対する造血幹細胞移植法の確立に関する研究

研究分担者 今井耕輔

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科

小児・周産期地域医療学講座 准教授

研究協力者 水谷修紀、森尾友宏、高木正稔、富澤大輔、青木由貴、
小林千佳、宮脇零士

東京医科歯科大学小児科

梶原道子

東京医科歯科大学医学部附属病院輸血部

研究要旨

本年度は、2例の ELA2 異常症、1例の STAT1 異常症、1例の NEMO 異常症に対して、造血幹細胞移植を行った。STAT1 異常症の1例は致死性のマクロファージ活性化症候群により、3回の移植と集中治療の甲斐なく不幸な転帰となった。2例の ELA2 異常症に対する臍帯血移植では、1例は拒絶後血縁者間半合致移植で救命が可能であり、1例は重症 GVHD を来したが、現在免疫抑制剤にてコントロール中である。NEMO 異常症についても、骨髄非破壊的前処置により、重度の感染症を来すことなく、生着が得られた。今後、昨年までの移植例とともに晩期障害についての検討が必要である。

重症複合免疫不全症患者に対する造血幹細胞移植のデータ解析を行い、日本における臍帯血移植の有効性、安全性について検討した。140例の移植が行われており、特に移植前の遺伝子診断と前処置法、キメリズム解析法の標準化と前向き観察試験が必要であると考えられた。

A. 研究目的

当科では、原発性免疫不全症の中で自然経過が不良である病型、特に細胞性免疫不全症患者に対して、その根治療法として、造血幹細胞移植(骨髄移植、臍帯血移植)を行っており、これまでの総数は62例で生存例は40例である(64.5%)。内訳は、重症複合免疫不全症(SCID)18例、Wiskott-Aldrich症候群15例、CD40L欠損

症9例、慢性活動性EBV感染症5例、その他15例である。

本年度は、ELA2異常症2例、STAT1異常症1例、NEMO異常症1例に対して、造血幹細胞移植を行った。

また、造血細胞移植学会を母体とした統合データベース TRUMP のデータ解析により、国内における重症複合免疫不全症の成績について解析した。

B. 研究方法

ELA2 遺伝子異常を持つ 2 例の患者、STAT1 異常をもつ 1 例の患者、NEMO 異常を持つ 1 例の患者について、HLA1 座不一致臍帯血、HLA 一致非血縁者骨髄を用い、欧州骨髄移植学会プロトコール B(フルダラビン 180mg/sqm、ブスルファン 16mg/kg、抗胸腺グロブリン：ATG 5-10mg/kg)を前処置として移植を行った(図 1:25 ページ参照)。生着不全の場合、代替ドナーとして、HLA0-1 座不一致臍帯血あるいは血縁 HLA 半合致骨髄を用いて移植を行った。

TRUMP データについては、一元化委員会の許可の元、SCID についての成績を解析した。

(倫理面への配慮)

本研究は、東京医科歯科大学、および防衛医科大学校倫理審査委員会で承認を得られた研究計画に基づいて行われた。

C. 研究結果

ELA2 欠損症については、1 例(3 歳、男児)は重症 GVHD を呈し、1 例(2 歳、男児)は拒絶後重症 GVHD を呈したが、どちらの症例もタクロリムス、プレドニン、ミコフェノール酸、リツキサソ、シクロフォスファミド、を組み合わせるによりコントロールが可能になり、生着し、安定した好中球数を保つことが可能となった。

B 細胞欠損、パルボウイルス感染症後赤芽球癆、頻回血球貪食症候群を呈した STAT1 異常症患者(9 歳、男児)に対して、HLA 一致非血縁者間骨髄移植を行ったが、移植後血球貪食症候群を呈して拒絶され

た。緊急で、前処置後非血縁臍帯血移植を行ったが、血球回復時に再度血球貪食症候群となり拒絶された。その後、重症アデノウイルス感染症に罹患し、救済として、父からの HLA 半合致移植を行ったが、血球回復時に重症の毛細血管漏出症候群(CLS)を呈し、多臓器不全にて亡くなった。アデノウイルス感染症に対して、学内の倫理委員会の承認後、家族への説明・同意の後、未承認薬であるシドフォビルとの投与を行ったが、白血球減少、CLS 状態であったためか、十分な効果は得られず、腎不全となり、腹膜透析を余儀なくされた。

播種性 BCG 感染症、重症 MAC 感染症を既往とする NEMO 異常症の 1 例(12 歳、男児)に対して、HLA 一致非血縁者間骨髄移植を行った。前処置後に何度か CRP 上昇を伴う発熱も見られた。白血球減少時のものは、細菌感染症だった可能性もあるが、有意な培養結果は得られず、抗生物質投与で軽快した。抗結核薬併用を行っており、抗酸菌感染症は見られなかった。

TRUMP データベースを用いて、1974 年から 2010 年までの SCID に対する造血幹細胞移植について検討した。140 例に対して移植が行われ、72 例が初回移植後生存しており、58 例が死亡していた。2 回以上の移植を 10 例に施行しており、5 例が生存していた。C 鎖をコードする IL2RG 遺伝子異常による X 連鎖性 SCID が約 50% を占めることもあり、75% が男児であった。ドナーとしては、1/3 が血縁一致、1/3 が血縁不一致で、1/3 が臍帯血であった。年代があがるにつれ、臍帯血移植の割合が増え、血縁不一致移植の割合が減っていた。5 年生存率は 56.6% であり、諸外国での検討と同程

度であった。特に1年以内の生存率は年代を追う毎に改善しており(49.3% 84.6%)移植技術の向上が窺われた。3ヶ月未満の乳児期の移植は100%の成功率であり、今後、新生児マススクリーニングの導入により、重症感染症前の発見を行うことで、予後の飛躍的上昇が見込めると考えられた。

D. 考察

ELA2 異常症に対する非血縁者間臍帯血移植は、国内で4例に対して施行されており、3例で生着が得られていたため、HLA一致骨髄ドナーの得られない2症例で臍帯血移植を行った。GVHD予防、拒絶予防に有効とされるATGではあるが、今回は重症GVHD、拒絶ともに見られており、臍帯血移植での本剤の使用の問題点が明らかになった。今後の臍帯血移植症例に対しては、ATG非使用により施行したい。

STAT1 異常症に対する骨髄移植では、類似症例が国内、海外で報告されており、本疾患に対する移植の困難さ、治療法の開発が急務であると考えられた。また、今回は効果不十分であったが、アデノウイルス感染症に対する唯一の治療薬である、シドフォビルの投与を行った。本治療薬については、各学会から承認の要望が出ているが改めてその必要性を感じた。

NEMO 異常症に対する造血幹細胞移植は、世界調査にて22例が施行されていることが明らかとなっている(Picard, et al.未発表データ)。その中では、骨髄破壊的に近いブスルファンを用いた例での成功が見られた。このため、EBMT プロトコール B を用いたところ、粘膜障害も軽微であり、生着も

速やかに得られた。今後、NEMO 異常患者に対して症例を重ねて行きたい。

SCID に対する移植は諸外国と遜色のない数を行っており、また成績も悪くはないことが明らかになった。今後は米国で導入されている新生児マススクリーニングを日本にも導入し、また英米仏伊で行われている遺伝子治療の導入により、さらなる予後の向上を図ることが望ましいと考えられた。

E. 結論

原発性免疫不全症に対する移植法については、前処置法、GVHD 予防法、感染症に対する予防および治療法、移植後マクロファージ活性化症候群のコントロール、晩期合併症の対策など、改善の余地は多々ある。国内未承認薬の問題も大きく、継続して、研究を重ね、患者の予後改善に寄与するべきと考えられる。

国内 SCID 患者に対する造血幹細胞移植のデータ解析からは、日本における臍帯血移植の有効性、安全性について明らかになった。しかし、混合キメラになった例や、遺伝子型によっては不幸な転帰を取っている例もあり、前処置法の検討、キメリズム解析法の標準化と前向き観察試験が必要であると考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kanegane H, Taneichi H, Nomura K, Wada T, Yachie A, Imai K, Ariga T, Santisteban I, Hershfield MS, Miyawaki T. Successful bone marrow transplantation with

reduced intensity conditioning in a patient with delayed-onset adenosine deaminase deficiency. *Pediatr Transplant.* (2013).17.E29-E32.

2. 学会発表

(海外)

- 1) Imai K. SCT for SCID—Japanese experience. ESID/EBMT Inborn Errors Working Party Conference. Leiden, Netherlands .15th Sep .2013. 学会発表資料添付 (P26-29)

(国内)

- 1) 小林千佳、宮脇零士、青木由貴、富澤大輔、高木正稔、今井耕輔、梶原道子、森尾友宏、水谷修紀. 重症先天性好中球減少症(ELANE変異)に対する非血縁者間同種臍帯血移植. 第19回小児HSCT研究,2013年10月25日,東京.
- 2) 渡辺恵理,渡辺信和,森尾友宏,今井耕輔,阿部泰子,工藤寿子,糸洲倫江,原寿郎,中内啓光. 原発性免疫不全症に対する臍帯血ミニ移植後の混合キメリズムの解明と治療法の開発. 医科研共同研究成果報告会.2013年3月11日,東京.
- 3) 関中佳奈子,今井耕輔,梶原道子,富澤大輔,長澤正之,森尾友宏,水谷修紀,野々山恵章.CD40リガンド異常による高IgM症候群に対する造血細胞移植療法についての後方視的検討. 第35回日本造血細胞移植学会総会.2013年3月9日,金沢.
- 4) 今井耕輔, 国内SCID140症例の造血幹細胞移植成績について. 第6回日本免疫不全症研究会(一般口演). 2013年1月26日,品川.
- 5) 大川哲平,小林千佳,手束真理,満生紀子,磯田健志,富澤大輔,今井耕輔,高木正稔,梶原道子,長澤正之,森尾友宏,水谷修紀. 多彩な皮膚粘膜症と血球減少、複合型免疫不全を呈し、非血縁臍帯血移植に至ったSTAT1異常症の1例.第35回日本造血細胞移植学会総会.2013年3月9日,金沢.

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

Reduced Intensity Conditioning

PROTOCOL	CHEMOTHERAPY	SEROTHERAPY	GVHD PROPHYLAXIS
B	Busulfan (iv) (AUC dosing) ² Fludarabine 180 mg/m ²	†Campath 1H (TD 0.6-1mg/kg) OR ‡ATG (TD 7.5-10mg/kg)	CyA or CyA + MMF or MTX (as 2 nd agent)
C	Fludarabine 150 mg/m ² Melphalan 140 mg/m ²	Campath 1H (TD 0.6-1mg/kg)	CyA or CyA/MMF
D	Treosulphan 42 g/m ² Fludarabine 150 mg/m ²	None or Campath 1H(0.6-1mg/kg)	CyA or CyA/MMF

²AUC dosing for iv Bu = 60+/- 5 mg*h/L. (see appendix for specific protocols for different donor sources and dosing)
 Avoid Melphalan 140mg/m² < 1 year of age unless HLH
 Treosulphan 36g/m² < 1 year of age (see appendix for specific protocols)
 If using ATG with protocols C or D – be aware of increased incidence of EBV-PTLD
 For these protocols if using matched UD or MFD – PBSCs are stem cell source of choice
 If using BM consider decrease in Campath 1H dose to 0.6mg/kg esp if condition requires full donor chimaerism as in WAS or MHC class II deficiency

図1：欧州骨髓移植学会先天性疾患作業グループ推奨骨髓非破壊的前処置法

多能性幹細胞を用いた新規血球分化系の構築に関する研究

研究分担者 中畑 龍俊 京都大学 iPS 細胞研究所 副所長・教授

研究要旨

造血幹細胞移植は多くの原発性免疫不全症に対する根治的治療法であるが、疾患により前処置の方法、移植後合併症、GVHD の制御などが異なり、移植成績の向上のためには各疾患の病態解明が必須と考えられている。我々は、健常人あるいは患者の皮膚、末梢血から iPS 細胞を作成し、この細胞から免疫担当細胞を含む各種血球系に分化させる系の構築を行い、複数の免疫不全症の疾患解析を開始している。さらに、将来的に移植のソースとして多能性幹細胞由来血球細胞を用いることを目標に、血球分化系の改善に取り組んでいる。

本年度は、血球分化系の改善として、従来より開発している二次元の無血清、フィーダー細胞を用いない血球分化法を拡張し、新たなスキャフォールドを用いた 3 次元培養法を確立した。PET 線維で補強したコラーゲンスポンジを基材として用いることにより、従来の血球系と異なり、細胞クラスターでなく単一細胞を播種して血球分化を開始することが可能となった。また、この系には、長期間の培養が可能になり、電子顕微鏡による解析では、ニッシェ細胞と血球細胞が 3 次元スキャフォールド上でつつしえを構築していることが明らかになった。この系を応用することにより、ニッシェ細胞と血球細胞のマウスへの同時移植や、血球系細胞の大量培養が可能になると期待される。

A. 研究目的

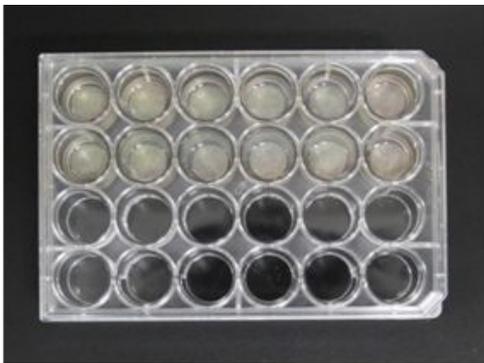
造血幹細胞移植は多くの原発性免疫不全症に対する根治的治療法であるが、疾患により前処置の方法、移植後合併症、GVHD の制御などが異なり、移植成績の向上のためには各疾患の病態解明が必須と考えられている。我々の研究は、健常人あるいは患者の皮膚、末梢血から iPS 細胞を作成し、この細胞から免疫担当細胞を含む各種血球系に分化させる系の構築を行い、複数の免疫不全症の疾患解析を行うことにより、移植医療の最適化に資することのできる病態解析データを蓄積することを目的

としている。また、将来的に移植のソースとして多能性幹細胞由来血球細胞を用いることを目標に、血球分化系の改善に取り組んでいる。

これらの目的のためには、iPS 細胞より多くの血球系細胞を安定して確保することが必要であるが、従来の方法では限界があった。そこで、本年度は、既存の二次元培養法を拡張し、3 次元のコラーゲンスポンジ中で血球分化を行い、擬似的にスキャフォールド内でニッシェを構築する系を確立することを試みた。

B. 研究方法

ヒト ES/iPS 細胞コロニーをコラゲナーゼで解離し、非接着培養用に処理した培養皿で浮遊培養を行う。基礎培地としては主に臍帯血の ex vivo 増幅に用いられる無血清培地を用いる。サイトカインは主に ES/iPS 細胞の中胚葉分化に VEGF、造血分化に SCF, TPO, FL, IL3, EPO を用い、それらの濃度と投与期間を変えて検討した。3 次元スキャフォールドとして、PET 繊維補強コラーゲンスポンジ (PETcol-24W) を MedGEL CO., LTD から購入して使用した。



24穴プレートで培養中のCS

(倫理面への配慮)

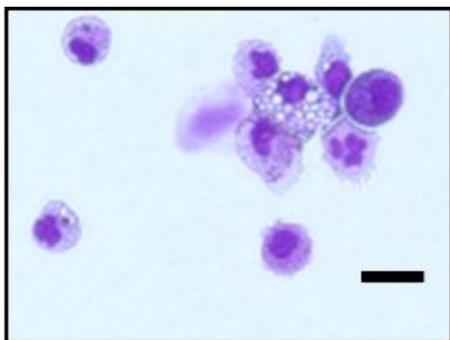
尚、iPS 細胞に関する本研究における患児の遺伝子情報の取り扱いに際しては、“ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針”及び文部科学省研究振興局長通知に定める細則に沿って、京都大学医の倫理委員会の審査承認を受けている(実施責任者:中畑龍俊、当初承認日:平成 20 年 6 月 4 日、変更・追加承認日:平成 24 年 7 月 19 日)が、人権及び利益の保護について、十分配慮しながら実験を行った。患者からの疾患関連 iPS 細胞作製にあたり、「ヒト疾

患特異的 iPS 細胞の作製とそれを用いた疾患解析に関する研究」について、京都大学医の倫理委員会の承認を頂いている(実施責任者:中畑龍俊、当初承認日:平成 20 年 6 月 4 日、変更・追加承認日:平成 24 年 7 月 19 日)。

C. 研究結果

最初に、我々が以前に開発した二次元・マトリゲル上の血球分化系(以下 2D-MG 系)を応用して、CS 上の血球分化を行えるかを検討した。すると、従来の方法と同様に、Day 6 の flow cytometry では、KDR+CD34+の中胚葉系の血球前駆細胞と考えられる分画が生じていた。その割合は、クローン毎に様々であったが、2D-MG 法と同程度であった。

次に、上述の造血前駆細胞分画から各種血球細胞を得るために幾つかのサイトカインの組み合わせを用いて血球分化を行った。概ね day 20 頃からスポンジから浮遊細胞の出現が顕著になり、well の底に溜まっていく。これらの細胞は、スポンジを取り出して残りの培養上清を遠心することにより簡単かつ繰り返し回収することができる。得られた血球細胞の細胞表面マーカーと形態を観察すると、サイトカインカクテルの組み合わせにより、好中球系細胞、単球系細胞あるいは赤芽球系細胞を作り分けることが可能であった。



好中球様細胞(上)と
単球様細胞(下)

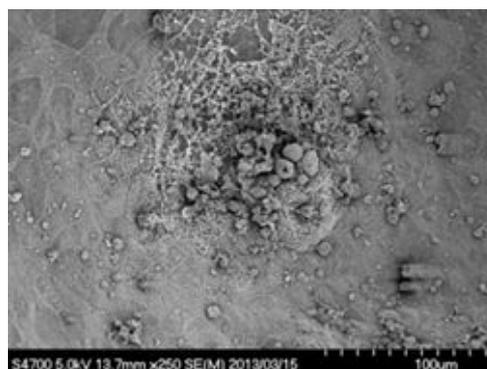
中胚葉・血球分化系は共培養や胚様体形成が必要で、Single-cell にばらした状態からフィーダーフリーで血球分化させるのは困難である。しかし、分化能の定量化や手技の簡略化のためには、Single cell にしたPSCから分化が行えることが望ましい。そこで、接着しているiPS細胞を単一細胞に解離してCSに撒いて分化が可能かを検討した。この場合も、Day 6のflow cytometryでは、KDR low ~ + CD34+の分画が出現していた。さらに、Day 20頃からCSから浮遊細胞が遊離しており、これらはCD43+CD45+の血球系細胞であることが確認された。CSの内部構造を確認するため、走査電顕でCSを観察したところ、一部で、円柱あるいは扁平上皮が細胞集簇して平面を形成し、その一部から球形の細胞が敷石状に萌出している部分を認めた。また、

PET 繊維に円形の細胞が集団を形成している部分を認めた。

D. 考察

このような3次元スカフォールドを用いた多能性幹細胞からの血球分化系は過去に報告がない。この系では、ニッチェを構成する基質と細胞が一塊となって形成され、血球分化を支持しているように見える。この分化系は、従来の2D-MG系などに比べて長期間維持が可能であることや、ニッチェと血球系前駆細胞を一塊として可搬性のある基材上で誘導できることから、複数のCSを浮遊培養に持ち込むことにより大量の血球細胞を継続的に得ることが可能になるかもしれない。また、ニッチェと血球系前駆細胞を一塊として免疫不全マウスに移植するという応用も考えられる。

もちろん現時点ではニッチェの機能は不十分ではあるものの、今後改善を重ねて、系を改良することにより、より有用な系が開発できるものと期待される。



ニッチェ細胞上の
血球様細胞

E. 結論

免疫不全疾患の解析や移植実験に有用な、新たな多能性幹細胞からの分化誘導系を開発することができた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Morishima T, Watanabe KI, 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*. 2013 Aug;23:98: doi 10.3324/haematol.2013.083873.
- 2) Saida S, Watanabe KI, Sato-Otsubo A, Terui K, Yoshida K, Okuno Y, Toki T, Wang R, Shiraishi Y, Miyano S, Kato I, Morishima T, Fujino H, Umeda K, Hiramatsu H, Adachi S, Ito E, Ogawa S, Ito M, Nakahata T, Heike T.: Clonal selection in xenografted TAM recapitulates the evolutionary process of myeloid leukemia in Down syndrome. *Blood*, 121:4377-87, 2013.
- 3) Yanagimachi MD, Niwa A, Tanaka T, Ozaki F, Nishimoto S, Murata Y, Yasumi T, Ito J, Tomida S, Oshima K, Asaka I, Goto H, Heike T, Nakahata T, Saito MK: Robust and highly-efficient differentiation of functional monocytic cells from human pluripotent stem cells under serum- and feeder cell-free conditions. *PLoS ONE*. 4/3/2013; 8(4): e59243. doi:10.1371/journal.pone.0059243.
- 4) Tomizawa D., Akio Tawa A., MD/PhD, Watanabe T., Saito A.M., Kudo K., Taga T., Iwamoto S., Shimada A., Terui K., Moritake H., Kinoshita A., Takahashi H., Nakayama H., Koh K., Kigasawa H., Kosaka Y., Miyachi H., Horibe K., Nakahata T., Adachi S.: Excess reduction of anthracyclines results in inferior event-free survival in core binding factor acute myeloid leukemia in children; a report from the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group (JPLSG). *Leukemia* doi:10.1038/leu.2013.153.
- 5) Nakazawa Y., Saito S., Yanagisawa R., Suzuki T., Toshiro Ito T., Ishida F., Muramatsu H., Matsumoto K., Kato K., Ishida H., Umeda K., Souichi Adachi S., Nakahata T., Koike K.: Recipient seropositivity for adenovirus type 11 is a highly predictive factor for the development of AdV11-induced hemorrhagic cystitis after allogeneic hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant*. 48:737-739, 2013.
- 6) Kodaera Y, Yamamoto K, Harada M, Morishima Y, Dohy H, Asano S, Ikeda Y, Nakahata T, Imamura M, Kawa K, Kato S, Tanimoto M, Kanda Y, Tanosaki R, Shiobara S, Kim SW, Nagafuji K, Hino M, Miyamura K, Suzuki R, Hamajima N, Fukushima M, Tamakoshi A; for the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation, Halter J, Schmitz N, Niederwieser D, Gratwohl A.: PBSC collection from family donors in Japan: a prospective survey. *Bone Marrow Transplant*. 2013 Sep 30. doi: 10.1038/bmt.2013.147. [Epub ahead of print].
- 7) 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 leukemia who

developed blast crisis: MDS Committee of Japanese Society of Pediatric Hematology/Oncology (JSPHO). Brit. J. Haematol. 2013 In press.

- 8) 斎藤潤、中畑龍俊：疾患特異的iPS細胞。再生医療12(1):19-29,2013.

2. 学会発表

(海外)

- 1) Suzuki N., Hira A., Niwa A., Matsuo K., Takata M., Yabe M., Nakahata T., Saito M.: Mesodermal development from reprogrammed Fanconi anemia cells is affected by ALDH2 enzymatic activity. 11th Annual Meeting of international Society for Stem Cell Research (ISSCR). 7/12-7/15, Boston, MA, USA.

(国内)

- 1) 中畑龍俊：特別講演、iPS細胞研究が切り開く未来の医療。日本学術会議公開学術講演会「未来社会を築く生命科学と医療のフロンティア」2013年8月3日 京都大学薬学部記念講堂。
- 2) 中畑龍俊：特別講演、さい帯血造血幹細胞発見秘話とiPS細胞ストックの臍帯血活用の未来像。さい帯血移植1万例突破記念事業「さらなる飛躍へのステップ」記念講演会 2013年9月28日 TKP田町カンファレンスセンター。
- 3) 中畑龍俊：特別講演、iPS細胞の小児医療への応用。第38回東日本小児科学会 2013年11月23日 大宮ソニックシティ(さいたま市)。
- 4) 中畑龍俊：教育講演、iPS細胞の臨床応用。第55回日本小児血液・がん学会学術集会。2013年11月29日-12月1日(30日) ヒルトン福岡シーホーク。
- 5) 中畑龍俊：基調講演、iPS細胞を用いた今後の医療の可能性。日本製薬医学会第4回年次大会 2013年7月19日 エーザイ株式会社本社5階ホール(塩野義製薬)。

- 6) 中畑龍俊：基調講演、iPS細胞を活用した医療の可能性と倫理。第10回STSフォーラム「科学技術が拓く人間の未来」公開シンポジウム 2013年10月5日 京都商工会議所ビル講堂。

- 7) 横山宏司、西小森隆太、池谷真、那須輝、田中孝之、齋藤潤、梅田雄嗣、中畑龍俊、戸口田淳也、平家俊男：罹患患者由来iPS細胞を用いたCINCA症候群における関節病態の分子機構の解明。第34回日本炎症・再生医学会 2013年7月2-3日(ポスター) 国立京都国際会館。

- 8) Hasegawa D., Hama A., Nozawa K., Salaguchi H., Yabe M., Ito E., Ito M., Kojima S., Nakahata T., Manabe A.: Hematological and morphological characteristics of inherited bone marrow failure syndromes(IBMFS). The 75th Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology 2013年10月11 - 13日(12日) さっぽろ芸文館。

- 9) Honda Y., Tsuchida M., Masunaga A., Yoshimi A., Kojima S., Ito M., Kikuchi A., Nakahata T., Manabe A.: Clinical characteristics of 17 children with JMML who developed blast crisis. The 75th Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology(第75回日本血液学会学術集会) 2013年10月11 - 13日(12日) 札幌市教育分化学会館

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

原発性免疫不全症に対する造血幹細胞移植法の確立

研究分担者 小原 収 (公財)かずさ DNA 研究所 副所長

研究要旨

感染症のコントロール、前処置の方法、移植後の免疫抑制剤使用法、ドナーソースなどこれまでに蓄積されたデータをもとに前向き研究を行い、原発性免疫不全症の至適な造血幹細胞移植法を確立するために、本分担研究では臨床情報アーカイブである PIDJ の維持・改良と、必要に応じてそれぞれの症例の遺伝子検査結果を対応付けながら閲覧できるような情報基盤に向けた改良を進めた。特に今年度は、こうした遺伝子検査への次世代シーケンサーの導入にも対応できるように 専門臨床医のみにアクセス制限した遺伝子検査情報プラットフォームの改良と運用を開始した。さらに、今後の遺伝子検体数増に対応できるように、遺伝子検査の標準手順書の整備とその下での遺伝子解析データの蓄積を進めた。

A. 研究目的

原発性免疫不全症では、移植時に感染症を併発する事が多く、感染症を抱えたままの移植になるケースがあるだけでなく、DNA 修復障害が基礎にある疾患では、前処置の強度を最低限にしなければならないなどの注意が必要である。また HLA 不一致の移植を行わざるを得ないことも多く、GVHD も起こしやすい。このように、造血幹細胞移植の中で解決すべき問題点が多い疾患である。

そこで、感染症のコントロール、前処置の方法、移植後の免疫抑制剤使用法、ドナーソースなどこれまでに蓄積されたデータをもとに前向き研究を行い、原発性免疫不全症の至適な造血幹細胞移植法を確立することを最終的な目的とする。本分担研究では、原発性免疫不全症の症例の遺伝子検査データの蓄積とその症例と解析結果の情報基盤整備を通じて、目的達成に貢献する。

B. 研究方法

- ・ 原発性免疫不全症候群に関する調査研究班と連携し、臨床アーカイブである PIDJ (<http://pidj.rcai.riken.jp/index.html>)への登録推進を行うとともに、理化学研究所の PIDJ 運用グループと連携しながら、今回の前向き研究も視野に入れた PIDJ の維持・改修を進める。
- ・ 移植プロトコルの確立を視野に入れた患者登録のための臨床アーカイブとしての PIDJ 更新に呼応して、個々の症例の遺伝的な背景の情報を対応付けられるように、PIDJ の臨床アーカイブ情報とかずさ DNA 研究所で得られた遺伝子解析結果情報をリンクできるようにかずさ DNA 研究所側での情報統合のための基盤整備を進める。
- ・ 蓄積された臨床情報と各疾患の遺伝的な原因の対応をつけるべく、各症例の

既知疾患候補遺伝子の構造解析を進め、そのデータ蓄積を推進する。その作業が適切に行えるように、標準手順書を作成し、それに従ったデータ蓄積を進めた。

(倫理面への配慮)

当分担研究のために、かずさDNA研究所の倫理審査委員会において、既知遺伝子の遺伝子検査だけでなく、全エクソンシーケンシングとRNAシーケンシングによる免疫不全症遺伝的原因探索についても審査を受け、承認を得た。なお、本分担研究で実際に扱う情報はすべて匿名化されているかずさDNA研究所では連結不可能な情報ではあるが、その取扱いにおいては関係者のみがアクセスできるようにセキュリティー管理を施した情報システム内で運用した。

C. 研究結果

既存の原発性免疫不全症臨床アーカイブのPIDJに検査項目の追加、患者情報の一括更新、情報登録時の担当医師への通知機能、感染歴・検査歴の更新などの機能強化をデザインし、理化学研究所のPIDJ運用チームとともにそれらの改修し、実際の運用を開始した。更に、遺伝子解析を担っているかずさDNA研究所側の遺伝子解析結果データベースで、PIDJでのID番号とリンクした形で遺伝子検査結果テーブルを生成するシステムの実際の運用を継続し、更に担当施設がその結果を閲覧して確定診断に至ったかどうかの判定結果を付与するシステムを運用した。この間に、PIDJに付随するデータベースのセキュリティー上の

脆弱性を解消するために、各ソフトウェアやOSのアップデートを行い、高いセキュリティーを維持した。今年度は、PIDJへの登録件数は年間で500件を突破し、登録数の堅実な増加が続いている。

本研究班の共同研究者からの依頼に基づいて既知遺伝子の変異解析を継続的に行い、本研究班が取り扱う対象血液疾患の臨床像と原因遺伝子変異との間の関係性についての知見を集積した。特に、今年度は卓上型次世代シーケンサーによる疾患別のパネル診断も導入し、その結果閲覧も可能なようにデータダウンロードシステムを構築・運用した。

D. 考察

1) PIDJの登録は、遺伝子検査と連結させることで症例登録を推進するシステムとなっている。そのため、一旦登録されて遺伝子検査が終わってしまうと、臨床情報のアップデートが滞ってしまう傾向が見られた。これらの問題も、臨床専門医、主治医の皆さんへの呼びかけで大きく改善できた。それによって、当初の目的であった造血幹細胞移植法評価の基礎となる臨床アーカイブ構築という当初の課題をほぼ達成した。

2) これまで、かずさDNA研究所で行われていた遺伝子解析の結果は、1症例当たり1-5遺伝子に対するものであった。しかし、次世代シーケンサーによる確定検査システムの導入により、10遺伝子前後のパネル診断を導入できたことは、今後の原因遺伝子の同定効率の上昇につながるものと期待する。さらに、より

網羅性の大きなパネルの実現により、コストと効率の最適化を図っていくことが必要であろう。

E. 結論

- 1) 理化学研究所の PIDJ 運用チームと連携し、免疫不全症臨床アーカイブ PIDJ を改良、維持することにより、着実に原発性免疫不全症における造血幹細胞移植法評価を行うために基礎データの蓄積が達成できた。
- 2) 次世代シーケンシングによる網羅的な解析だけでなく、ターゲット分析によるパネル遺伝子解析の導入に対応する遺伝子解析結果閲覧システムを構築できたので、今後より高効率で遺伝的な原因を調べつつ最適な移植法を選択していく見通しがたった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Rawat A, Singh S, Suri D, Gupta A, Saikia B, Minz RW, Sehgal S, Vaiphei K, Kamae C, Honma K, Nakagawa N, Imai K, Nonoyama S, Oshima K, Mitsui N, Ohara O, Chan KW, Lau YL. Chronic Granulomatous Disease: Two Decades of Experience From a Tertiary Care Centre in North West India. *J Clin Immunol*. 2013 N [Epub ahead of print]
- 2) Higuchi Y, Shimizu J, Hatanaka M, Kitano E, Kitamura H, Takada H, Ishimura M, Hara T, Ohara O, Asagoe K, Kubo T. The identification of a novel splicing mutation in C1qB in a Japanese family with C1q deficiency: a case report. *Pediatr Rheumatol Online J*. 2013 Oct 28;11(1):41.
- 3) Wada T, Sakakibara Y, Nishimura R, Toma T, Ueno Y, Horita S, Tanaka T, Nishi M, Kato K, Yasumi T, Ohara O, Yachie A. Down-regulation of CD5 expression on activated CD8(+) T cells in familial hemophagocytic lymphohistiocytosis with perforin gene mutations. *Hum Immunol*. 2013 Dec;74(12):1579-85.
- 4) Lee YW, Yang EA, Kang HJ, Yang X, Mitsui N, Ohara O, Miyawaki T, Kanegane H, Lee JH. Novel mutation of IL2RG gene in a Korean boy with X-linked severe combined immunodeficiency. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2013;23(1):65-7.
- 5) Suzuki J, Kuwahara M, Tofukuji S, Imamura M, Kato F, Nakayama T, Ohara O, Yamashita M. A novel small compound SH-2251 suppresses Th2 cell-dependent airway inflammation through selective modulation of chromatin status at the Il5 gene locus. *PLoS One*. 2013 Apr 16;8(4):e61785.
- 6) Wada T, Muraoka M, Toma T, Imai T, Shigemura T, Agematsu K, Haraguchi K, Moriuchi H, Oh-Ishi T, Kitoh T, Ohara O, Morio T, Yachie A. Rapid detection of intracellular p47phox and p67phox by flow cytometry; useful screening tests for chronic granulomatous disease. *J Clin Immunol*. 2013 May;33(4):857-64.
- 7) Kamae C, Nakagawa N, Sato H, Honma K, Mitsui N, Ohara O, Kanegane H, Pasic S, Pan-Hammarström Q, van Zelm MC, Morio T, Imai K, Nonoyama S. Common variable immunodeficiency classification by quantifying T-cell receptor and immunoglobulin-deleting recombination excision circles. *J*

Allergy Clin Immunol. 2013
May;131(5):1437-40.e5.

クス解析の将来展望」 小原 収 千葉
2013年6月

2. 学会発表

(海外)

- 1) 15th International Congress of Immunology 2013 “Common variable immunodeficiency classification by quantifying T-cell receptor and immunoglobulin κ -deleting recombination excision circles” C. Kamae, N. Nakagawa, H. Sato, K. Honma, N. Mitsuiki, O. Ohara, H. Kanegane, T. Morio, K. Imai and S. Nonoyama, Milan, Italy, Aug, 2013.
- 2) 3rd Sardinian Summer School “Post-GWAS animal models” Ohara O. Pula, Italy, September, 2013.

(国内)

- 3) 第七回日本免疫不全症研究会 「食道潰瘍を反復した1型高IgE症候群の1例」 山本崇裕、大西秀典、寺本貴秀、桑原秀次、久保田一生、大塚博樹、川本典生、加藤善一郎、深尾敏幸、谷内江昭宏、小原 収 福岡 2014年1月25日
- 4) 第七回日本免疫不全症研究会 「複合型免疫不全を呈したsLC46A1新規変異による先天性葉酸吸収不全症」 千田奈津子、山田雅文、有賀正、岸本健治、小林良二、小林邦彦、小原 収 福岡 2014年1月25日
- 5) かずさDNA研究所/産総研生命情報工学研究センター共催ワークショップ バイオインフォマティクスとゲノム医療 - その課題と将来展望 - 「クリニカルゲノミクスの現状と課題」 小原 収 東京 2013年11月
- 6) The 5th LJI & IMS-RCAI Workshop “Post-GWAS genomic analyses: Mind and bridge the gaps” Ohara O. Yokohama, October, 2013
- 7) 第40回日本毒性学会学術年会 シンポジウム 毒性オミクス「生体システムダイナミクス理解のための統合ゲノミ

- 8) 第116回日本小児科学会学術集会 “「ゲノミクスを基礎とした新しい病因探索法」分野別シンポジウム「原発性免疫不全症：新しい疾患、トピックス」” 小原 収 広島 2013年4月
- 9) 第58回日本人類遺伝学会「次世代シーケンシング技術とゲノミクス解析」シンポジウム：次世代シーケンサーを用いた遺伝性疾患解析の現状と課題 小原 収 仙台 2013年11月
- 10) 第4回関東甲越免疫不全症研究会 “IgA単独欠損症として紹介され、TREC/KRECの結果からRAG1異常と同等しえた1例” 加藤環、釜江智佳子、本間健一、池川健、横須賀とも子、和田泰三、谷内江昭宏、西田直徳、金兼弘和、満生紀子、小原 収、今井耕輔、森尾友宏、野々山恵章 2013年9月
- 11) 第41回日本臨床免疫学会総会 「本邦におけるICF (Immunodeficiency with Centromeric instability and Facial anomalies) 症候群5例の検討」 藤環、釜江智佳子、満生紀子、小原明、林正俊、野口恵美子、久保田健夫、本間健一、小原 収、今井耕輔、野々山恵章 下関 2013年11月
- 12) 日本人類遺伝学会第58回大会 「次世代シーケンサーを用いてICF (Immunodeficiency with centromeric instability and facial anomalies) 症候群と診断した2例」 釜江智佳子、満生紀子、小原明、林正俊、野口恵美子、本間健一、小原 収、今井耕輔、久保田健夫、野々山恵章 仙台 2013年11月
- 13) 第41回日本臨床免疫学会総会 「BTK変異をみとめたIgA単独欠損の解析 (IgA deficiency caused by the missense mutation in the BTK gene)」満生紀子、今井耕輔、Xi YANG、金兼弘和、小阪嘉之、高田英俊、水谷修紀、小原 収、森尾友宏 下関 2013年11月
- 14) 第34回日本炎症・再生医学会 “CINCA症

候群/NOMID患者単球における、IL-1 β 分泌能の1細胞解析” 中川権史、志村七子、白崎善隆、山岸舞、井澤和司、西小森隆太、河合朋樹、八角高裕、平家俊男、小原收 京都、2013年7月

- 15) 第41回日本臨床免疫学会
「Muckle-Wells症候群におけるNLRP3体細胞モザイク変異の検討」 中川権史、西小森隆太、井澤和司、河合朋樹、八角高裕、河合利尚、梅林宏明、武井修治、小林法元、小原收、Eva Gonzalez-Roca、Juan I. Arostegui、平家俊男 下関2013年11月27日

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

原発性免疫不全症の造血幹細胞移植における骨髄由来 間葉系幹細胞 (MSC) を用いた GVHD 治療法の開発

研究分担者 小島勢二 名古屋大学大学院医学系研究科小児科学 教授
研究協力者 村松秀城 名古屋大学医学部附属病院小児科 助教

研究要旨

近年、骨髄由来間葉系幹細胞 (MSC) が強力な免疫抑制作用を有することが判明し、欧米では、ステロイド抵抗性 GVHD 患者に投与し、良好な成績が報告されている。今回、我々は、血縁者間同種骨髄移植後、ドナー由来のキメリズム低下に対し、ドナーリンパ球輸注療法を施行後、ステロイド抵抗性 GVHD を来とし、骨髄由来 MSC 輸注療法を施行した慢性肉芽腫症の1例を報告する。本症例を含め、ステロイド抵抗性の重症 GVHD (腸管 GVHD2 例、肝 GVHD1 例) に対する間葉系幹細胞輸注療法を3例に実施し、その安全性と有効性を確認した。

A. 研究目的

同種造血幹細胞移植後の重症 GVHD (Graft versus host disease) に対する標準治療はステロイド療法であるが、ステロイド不応性の症例に対する標準治療は確立されておらず、その生命予後は非常に不良である。また、重症 GVHD の発症を完全に予測することはできず、安全な同種移植を確立する上で重症 GVHD に対する有効な治療法確立は大きな問題である。近年、強力な免疫抑制機能を有する間葉系幹細胞 (MSC; mesenchymal stem cell) 輸注療法の難治性 GVHD に対する有効性が報告されている。悪性疾患ではない原発性免疫不全症に対する同種造血幹細胞移植の安全性を向上させるために、間葉系幹細胞輸注療法の開発を行った。

B. 研究方法

慢性肉芽腫症 1 例を含む、ステロイドが無効であった重症 GVHD3 例 (腸管

GVHD2 例・肝 GVHD1 例) に対して、院内のセルプロセッシングセンターで調製した骨髄由来間葉系幹細胞輸注を行った。

(倫理面への配慮)

名古屋大学医学部倫理委員会の承認のもと、患者および患者保護者の同意を取得して治療を行った。

C. 研究結果

1) MSC の調製:

ドナーの血液から血液成分分離装置を用いて濃厚血小板(PC)10 単位(約 200ml) を採取した。採取後、直ちに -80 で凍結した。翌日、凍結した濃厚血小板を解凍して培養に用いる血小板融解産物(Platelet lysate)を調製した。続いて、移植ドナーから MSC 培養用の骨髄液 30ml を採取し、単核球を分離した。骨髄単核球を Platelet lysate を添加した培養液を用いて GMP 基準に準拠した名古屋大学医学部セルプロ

セッシングセンターにて3週間培養することにより、十分量の MSC を調製した(図 1、2)。

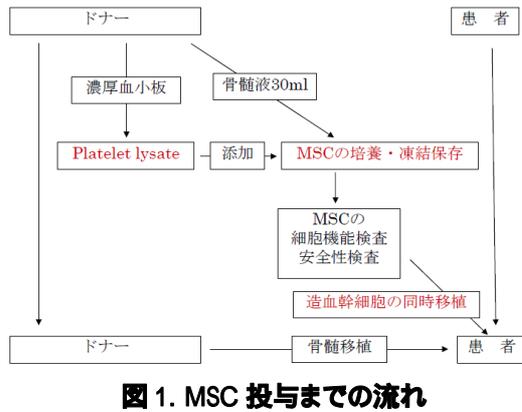


図 1. MSC 投与までの流れ

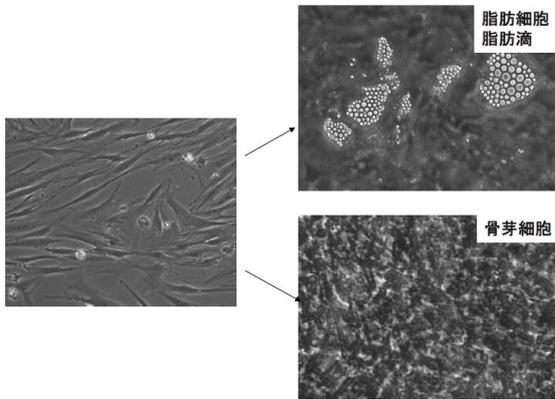


図 2. 培養 MSC の分化能の確認

2) 慢性肉芽腫症の 1 例

25 歳男性。乳児期に肺炎を反復したため A 大学病院にて慢性肉芽腫症と診断され、後日、CYBB 遺伝子変異 (p.His209Arg) が確認された。成長につれて重症感染症は減少したが、2001 年にアスペルギルス肺炎で長期入院、2012 年 12 月には多発肝膿瘍で入院治療を要した。今回 HLA 一致の姉からの造血幹細胞移植目的に当院紹介となった。移植後、混合キメラ状態となったため、ドナーリンパ球輸注を施行したところキメリズム

の回復とともに GVHD 症状が出現した。大量の下痢症状を伴い、メチルプレドニゾンおよび抗 TNF 抗体は無効であった。抗 CD25 抗体投与後下痢量の減少傾向を認め、骨髄由来間葉系幹細胞の輸注後さらに下痢量の改善を認めた(図 3)。

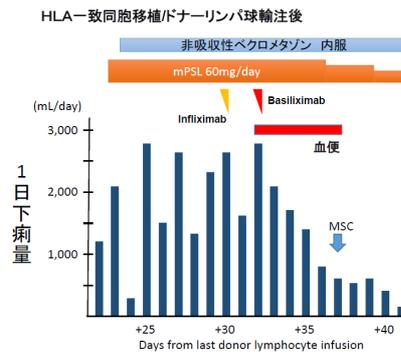


図 3. 慢性肉芽腫症症例の GVHD 経過

本症例に加えて 2 例のステロイド抵抗性の重症 GVHD (腸管 GVHD1 例、肝 GVHD1 例) に対する間葉系幹細胞輸注療法を実施した。全例で著効し、長期生存が得られている。

D. 考察

難治性 GVHD に対するヒト由来血小板融解産物を用いた骨髄由来 MSC 輸注療法は安全かつ有効である。悪性疾患ではない原発性免疫不全症に対する同種造血幹細胞移植の安全性を向上させるために、MSC 輸注療法は必須の治療法であると考えられる。

E. 結論

慢性肉芽腫症症例を含んだ、ステロイド抵抗性の重症 GVHD (腸管 GVHD2 例、肝 GVHD1 例) に対する間葉系幹細胞輸注療

法を3例に実施し、その安全性と有効性を確認した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Hira A, Yabe H, Yoshida K, Okuno Y, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Nakamura J, Kojima S, Ogawa S, Matsuo K, Takata M, Yabe M. Variant ALDH2 is associated with accelerated progression of bone marrow failure in Japanese Fanconi anemia patients. *Blood*. 2013 Oct 31;122(18):3206-3209.
- 2) Kunishima S, Okuno Y, Yoshida K, Shiraishi Y, Sanada M, Muramatsu H, Chiba K, Tanaka H, Miyazaki K, Sakai M, Ohtake M, Kobayashi R, Iguchi A, Niimi G, Otsu M, Takahashi Y, Miyano S, Saito H, Kojima S, Ogawa S. ACTN1 mutations cause congenital macrothrombocytopenia. *Am J Hum Genet*. 2013 Mar 7;92(3):431-438.
- 3) Makishima H, Yoshida K, Nguyen N, Przychodzen B, Sanada M, Okuno Y, Ng KP, Gudmundsson KO, Vishwakarma BA, Jerez A, Gomez-Segui I, Takahashi M, Shiraishi Y, Nagata Y, Guinta K, Mori H, Sekeres MA, Chiba K, Tanaka H, Muramatsu H, Sakaguchi H, Paquette RL, McDevitt MA, Kojima S, Sauntharajah Y, Miyano S, Shih LY, Du Y, Ogawa S, Maciejewski JP. Somatic SETBP1 mutations in myeloid malignancies. *Nat Genet*. 2013 Aug;45(8):942-946.
- 4) Nomura K, Hoshino A, Miyawaki T, Hama A, Kojima S, Kanegane H. Neutropenia and myeloid dysplasia in a patient with delayed-onset adenosine deaminase deficiency. *Pediatr Blood Cancer*. 2013 May;60(5):885-886.
- 5) Okuno Y, Murakoshi A, Negita M, Akane K, Kojima S, Suzuki H. CD8+ CD122+ regulatory T cells contain clonally expanded cells with identical CDR3 sequences of the T-cell receptor beta-chain. *Immunology*. 2013 Jul;139(3):309-317.
- 6) Sakaguchi H, Okuno Y, Muramatsu H, Yoshida K, Shiraishi Y, Takahashi M, Kon A, Sanada M, Chiba K, Tanaka H, Makishima H, Wang X, Xu Y, Doisaki S, Hama A, Nakanishi K, Takahashi Y, Yoshida N, Maciejewski JP, Miyano S, Ogawa S, Kojima S. Exome sequencing identifies secondary mutations of SETBP1 and JAK3 in juvenile myelomonocytic leukemia. *Nat Genet*. 2013 Aug;45(8):937-941.
- 7) Takahashi Y, Muramatsu H, Sakata N, Hyakuna N, Hamamoto K, Kobayashi R, Ito E, Yagasaki H, Ohara A, Kikuchi A, Morimoto A, Yabe H, Kudo K, Watanabe K, Ohga S, Kojima S, Japan Childhood Aplastic Anemia Study G. Rabbit antithymocyte globulin and cyclosporine as first-line therapy for children with acquired aplastic anemia. *Blood*. 2013 Jan 31;121(5):862-863.
- 8) Yoshida K, Toki T, Okuno Y, Kanezaki R, Shiraishi Y, Sato-Otsubo A, Sanada M, Park MJ, Terui K, Suzuki H, Kon A, Nagata Y, Sato Y, Wang R, Shiba N, Chiba K, Tanaka H, Hama A, Muramatsu H, Hasegawa D, Nakamura K, Kanegane H, Tsukamoto K, Adachi S, Kawakami K, Kato K, Nishimura R, Izraeli S, Hayashi Y, Miyano S, Kojima S, Ito E, Ogawa S. The landscape of somatic mutations in Down syndrome-related myeloid disorders. *Nat Genet*. 2013 Nov;45(11):1293-1299.

- 9) Yoshimi A, Kamachi Y, Imai K, Watanabe N, Nakadate H, Kanazawa T, Ozono S, Kobayashi R, Yoshida M, Kobayashi C, Hama A, Muramatsu H, Sasahara Y, Jakob M, Morio T, Ehl S, Manabe A, Niemeyer C, Kojima S. Wiskott-Aldrich syndrome presenting with a clinical picture mimicking juvenile myelomonocytic leukaemia. *Pediatr Blood Cancer*. 2013 May;60(5):836-841.

2. 学会発表

(海外)

- 1) Kojima S. Aplastic Anemia : Therapeutic updated in HSCT. 2013 International Forum on Bone Marrow Failure. Aug.16, 2013. Tianjin, China.
- 2) Kojima S. Clonal Evolution from Aplastic Anemia to Myelodysplastic Syndrome with Monosomy7. 7th International Congress on Shwachman-Diamond Syndrome. Nov. 3-6, 2013. Toronto, Canada.

(国内)

- 1) 小島 勢二. 先天性血液疾患の病態研究に関する最近の進歩. 第116回日本小児科学会学術集会. 2013年4月19日. 広島.
- 2) 坂口 大俊、西尾 信博、川島 希、王 希楠、成田 敦、土居崎 小夜子、村松 秀城、濱 麻人、中西 康詞、高橋 義行、土田 昌宏、小林 良二、伊藤 悦朗、矢部 普正、大賀 正一、小原 明、長谷川 大輔、真部 淳、伊藤 雅文、小島 勢二. Telomere length as a predictor for the immunosuppressive therapy in acquired aplastic anemia. 第75回日本血液学会学術集会. 2013年10月12日. 札幌.
- 3) 王 希楠、村松 秀城、坂口 大俊、徐 銀燕、川島 希、成田 敦、土井崎 小夜子、Olfat Ismael、中西 康詞、濱 麻人、高橋 義行、小島 勢二 . GATA2 shows association with familial MDS, but not

AA and JMML in Japanese children. 第75回日本血液学会学術集会. 2013年10月12日. 札幌.

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

重症複合免疫不全症に対する造血幹細胞移植

研究分担者 原 寿郎 九州大学大学院医学研究院成長発達医学 教授

研究要旨

当科で、出生当日に診断し移植前処置なしで臍帯血移植を行った CD3 欠損症の同胞 2 名に対して、移植後の免疫学的再構築の長期的経過を調べた。移植は大きな移植合併症もなく、T 細胞が増加も認められた。共通 鎖欠損症の場合と異なり、CD3 欠損症患者では、前処置なしでの造血幹細胞移植でも免疫グロブリン値は正常を保ち、抗体産生能も認められた。他方、長期的には、T 細胞数や PHA に対するリンパ球幼若化反応は正常よりもやや低値を推移し、TREC も低値であった。現在それぞれ 9 歳、5 歳で生存しており、QOL も良い。

A. 研究目的

重症複合免疫不全症は、乳児期に感染症でほとんどの患者が死亡する重症の原発性免疫不全症候群であり、造血幹細胞移植や遺伝子治療による免疫学的再構築を緊急に行う必要がある。しかし、患者が診断された時点で既に重症感染症を起こしている場合も多く、また病型によって最適な移植方法も異なると考えられ、病型や病像に応じた最適な移植方法が確立されていない。

CD3 欠損症は、胸腺内での T 細胞分化が障害されるタイプの重症複合免疫不全症であり、重症複合免疫不全症の中で最も頻度が高い共通 鎖欠損症と異なり、胸腺の大きさが保たれ、胸腺内には未熟な T 細胞が存在していることが特徴である。また B 細胞や NK 細胞自体には機能的には異常を認めない。これらの特徴から、CD3 鎖欠損症に対する至適な造血幹細胞移植法は、共通 鎖欠損症とは異なる可能性が高いと考えられる。今回我々は、

家族歴から出生当日に CD3 欠損症と診断し、前処置なしで造血幹細胞移植を行った兄弟の、免疫学的再構築の長期的な経過を調べた。

B. 研究方法

造血幹細胞移植後、定期的に、末梢血リンパ球サブセット解析、リンパ球機能解析、ワクチン接種後の特異抗体産生能を行った。B 細胞の純化には、末梢血 MNC から B Cell Isolation Kit II (Miltenyi Biotech) を用いた。

(倫理面への配慮)

遺伝子解析に関しては、九州大学ヒトゲノム遺伝子解析研究倫理委審査委員会の承認を得て行った。

C. 研究結果

患者の臨床像、経過は以下の通りである。

患者1: 両親に血族結婚なし。姉が乳児期早期に重症複合免疫不全症と診断され、造血幹細胞移植を受けたが、サイトメガロウイルスによる肺炎、脳炎にて死亡した。その後の遺伝子解析から、CD3 欠損症と診断された。

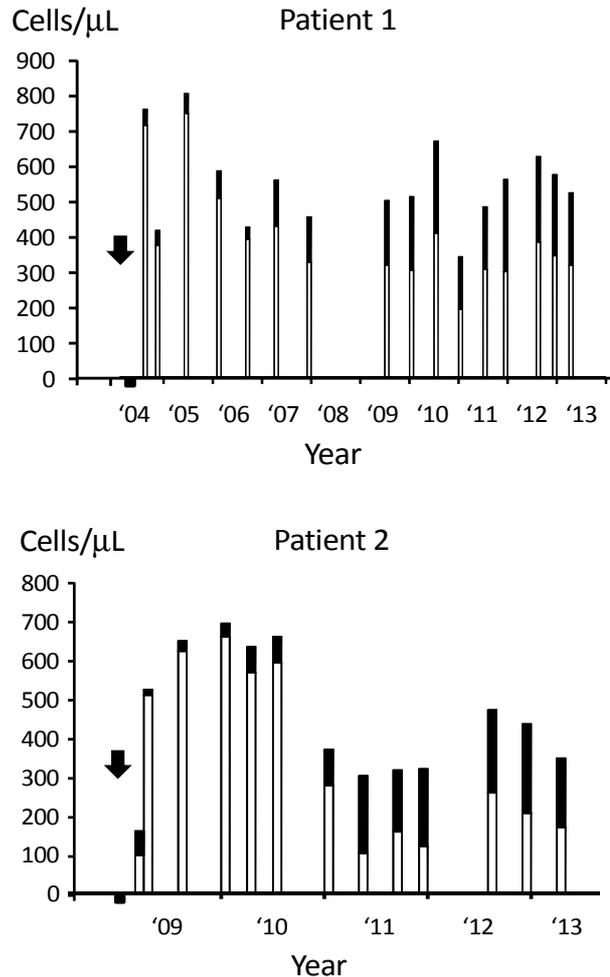
患児は0 生日時に、末梢血 T 細胞が欠損していたため重症複合免疫不全症と診断され、遺伝子検査にて CD3 欠損症であることが判明した。可能な限り無菌的に管理し、30 生日時に、HLA 一致非血縁者間臍帯血移植を行った。前処置は施行しなかった。

患者2: 患者1 の弟。同様に0 生日時に、末梢血 T 細胞が欠損していたため重症複合免疫不全症と診断され、遺伝子検査にて CD3 欠損症であることが判明した。可能な限り無菌的に管理し、25 生日時に、HLA 一致非血縁者間臍帯血移植を行った。前処置は施行しなかった。

1. 末梢血 T 細胞数の数値

図 1 に示すように、T 細胞の回復は、いずれの患者においても移植後早期に認められ、移植後早期は CD4 陽性 T 細胞が優位を占めていたが、数年の経過により CD8 陽性 T 細胞の割合が増加した。T 細胞数が増加してきた以降、易感染性は認められなかった。しかし、全体的には、いずれの時点においても、T 細胞は健常者よりも定値で推移していた。

図 1. 臍帯血移植後の T 細胞数の推移

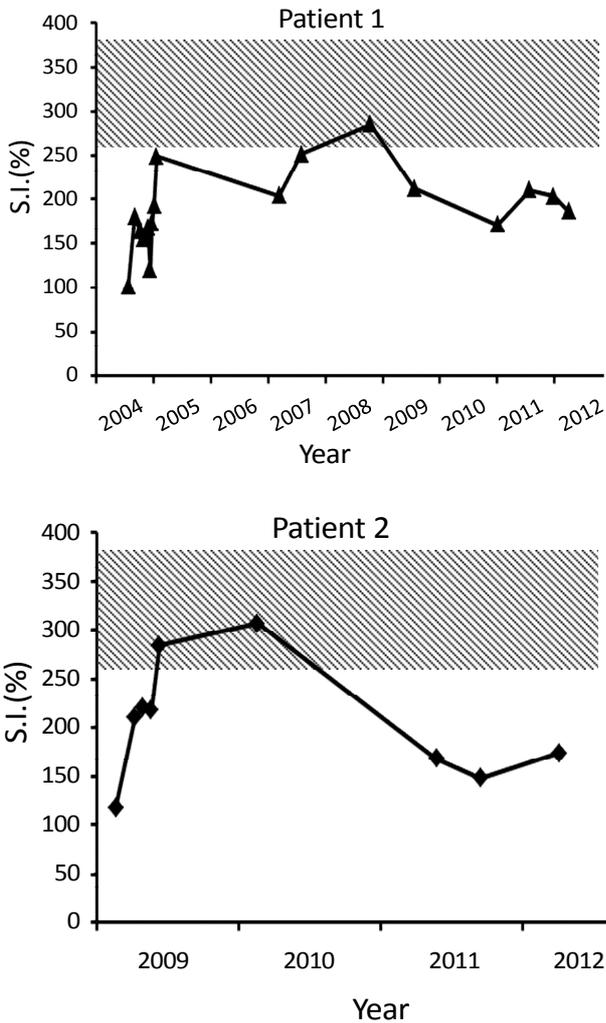


CD3 欠損症患者 2 名の、臍帯血移植後の T 細胞数の経過。矢印は臍帯血移植施行を示す。Open bar は CD4 陽性 T 細胞を、closed bar は CD8 陽性 T 細胞を示す。

2. 臍帯血移植後の T 細胞機能の推移

末梢血 T 細胞の機能を評価するために、末梢血単核球 (MNC) の phytohemagglutinin (PHA) に対する増殖能を継時的に調べたところ、造血幹細胞移植後、一時的に正常化することもあったが、その後、定値をとった。(図 2)。

図2. 臍帯血移植後のPHAに対する反応性の推移



CD3 欠損症患者 2 名の、臍帯血移植後の末梢血 MNC の PHA に対する増殖能の推移。Shaded area は正常値を示す。

3. 血清免疫グロブリン値の推移

臍帯血移植後、IgA、IgM の産生が認められるようになり(図 3)、いずれの患者においても、ガンマグロブリンの補充は不要となった(図 4)。

4. 特異抗体産生能の推移

臍帯血移植後、インフルエンザワクチン接種を行い、特異抗体産生能を評価した

結果、いずれの患者においても、特異抗体産生能が認められるようになった。(図 5)。

図3. 血清 IgA と IgM の推移

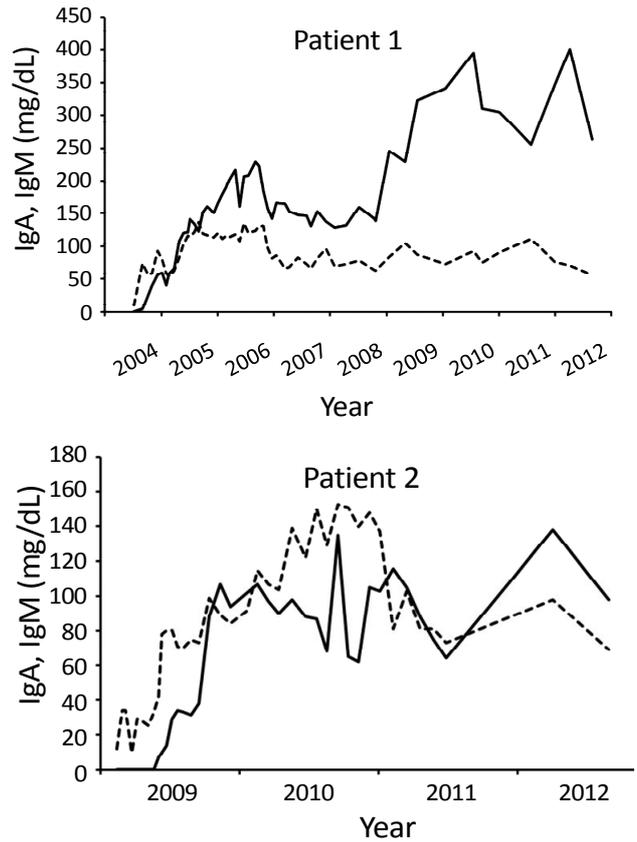
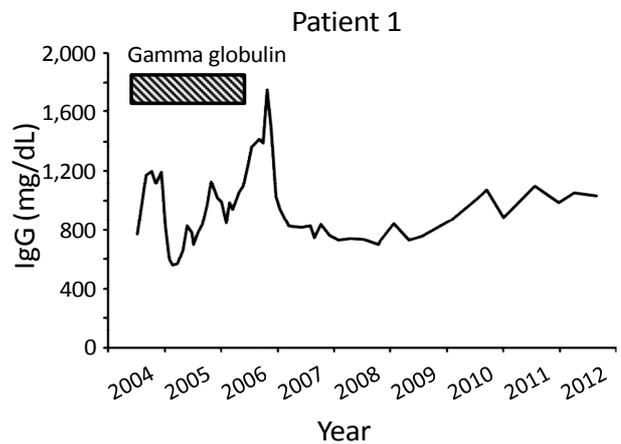
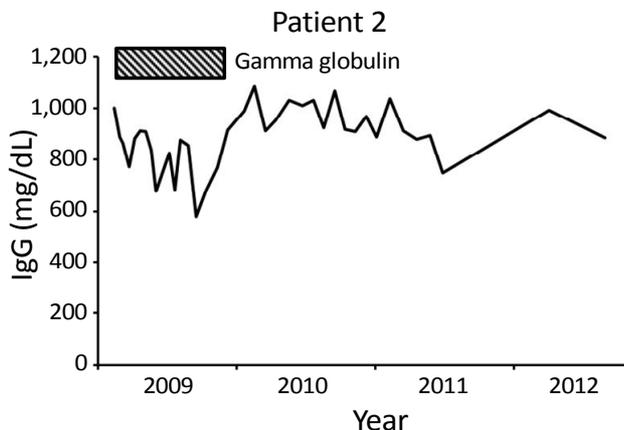


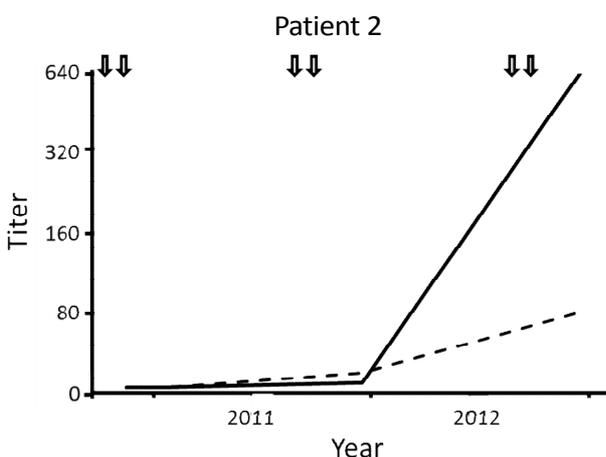
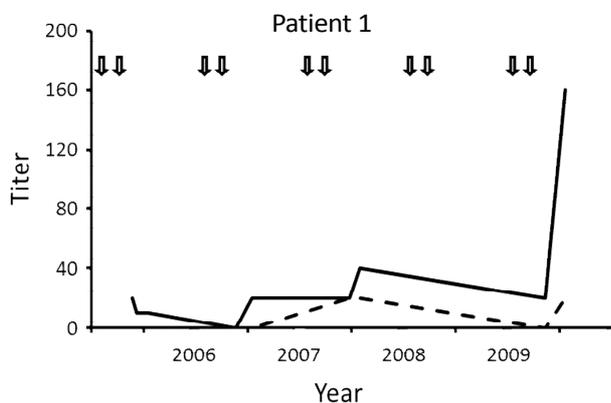
図4. 血清 IgG の推移





Shaded bar は、gamma globulin を補充していた期間を示す。

図 5. 特異抗体産生能



矢印はインフルエンザワクチン接種を示す。

D. 考察

2名のCD3欠損症患者において、前処置なしで、HLA一致非血縁者間造血幹細胞移植を行い、その長期的な免疫能について評価を行った。造血幹細胞移植後易感染性はなかった。T細胞の回復が見られたが、T細胞数およびT細胞機能上も、正常範囲以下で推移していた。この原因としては、CD3欠損症の場合、胸腺においてレシピエントの未熟T細胞が残存しており、ドナーT細胞の分化が制限されてしまうことが考えられた。胸腺でのT細胞診性能を示すT-cell receptor excision circles DNA量を測定した結果、二名の患者ではいずれも検出感度以下であり、これを支持するものと考えられる(Data not shown)。

血清免疫グロブリン濃度および特異抗体産生能は、臍帯血移植後に正常に認められることが確認された。前処置なしの移植では、B細胞はレシピエント由来であると推測されるが、症例2でその点を確認するため、マイクロビーズを用いてB細胞を純化し(99%以上)、異性間FISH法で解析した結果、B細胞は100%レシピエント由来であることを確認した。CD3欠損症で前処置なしで移植した場合、ドナーT細胞とレシピエントB細胞の相互作用によって抗体産生能が回復することが確認された。

E. 結論

CD3欠損症患者2名において、前処置なしでのHLA一致臍帯血移植を行い、現在まで易感染性はなく、QOLも良い状態である。前処置内でも抗体産生能を回復させることができた。細胞性免疫能を正常

化させるためには、移植前処置が必要かもしれない。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kumaki S, Sasahara Y, Kamachi Y, Muramatsu H, Morio T, Goi K, Sugita K, Urabe T, Takada H, Kojima S, Tsuchiya S, Hara T: B cell function after unrelated umbilical cord blood transplantation using minimal-intensity conditioning regimen in patients with X-SCID. Int J Hematol. 98: 355-60, 2013.
- 2) Higuchi Y, Shimizu J, Hatanaka M, Kitano E, Kitamura H, Takada H, Ishimura M, Hara T, Ohara O, Asagoe K, Kubo T: The identification of a novel splicing mutation in C1qB in a Japanese family with C1q deficiency: a case report. Pediatr Rheumatol Online J. 11(1): 41, 2013.

2. 学会発表

(海外)

- 1) Hara T, Ishimura M, Tahada H: Autoimmune diseases in patients with primary immunodeficiency diseases. The 2nd International Congress on Controversies in Rheumatology and Autoimmunity, Apr 4-6, 2013, Budapest, Hungary.
- 2) Yamamura K, Uike K, Nakashima Y, Hirata Y, Nagata H, Takimoto T, Ishimura M, Takada H, Ohga S, Hara T: Early progression of atherosclerosis in children with cryopyrin-associated periodic syndrome. May 9-12, 2013, Sarawak, Malaysia.

(国内)

- 1) Takimoto T, Ishimura M, Takada H, Morio T, Ohga S, Hara T: A Japanese female case of Wiskott-Aldrich syndrome with skewed X-chromosome inactivation. The 4th JSH International Symposium, May 24-25, 2013, Ehime, Japan.

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

食細胞異常症における効果的造血幹細胞移植

研究分担者

小林 正夫 広島大学大学院医歯薬保健学研究院小児科 教授

研究協力者

溝口洋子, 唐川修平, 岡田賢, 三木瑞香, 川口浩史

広島大学大学院医歯薬保健学研究院小児科

研究要旨

慢性肉芽腫症 (chronic granulomatous disease, CGD), 重症先天性好中球減少症 (severe congenital neutropenia, SCN) は代表的食細胞異常であり, 難治性細菌, 真菌感染症を反復する予後不良の疾患である。現段階での根治療法は造血幹細胞移植である。広島大学病院小児科では 2002 年から CGD: 24 症例, SCN: 8 症例の造血幹細胞移植 (全て骨髄移植) を施行した。前処置の基本は fludarabine, cyclophosphamide, melpharan, ATG, TBI (3 Gy) を用いた骨髄非破壊的前処置であるが, 個々の症例の臓器障害や感染症の有無, 全身状態等で投与薬剤とその量を適宜調整した。CGD では全例生着したが, 混合キメラ症例は DLI を適宜追加した。生存 20 例は Karnofsky performance status 90% 以上で通学, 社会復帰している。死亡 4 例は 18 歳, 30 代 2 名, 40 代で, 死亡原因は DLI 後の GVHD で 2 例, 生着遅延で 1 例, 移植後の感染症であった。16 歳未満の 11 例は全例移植関連合併症等なく生存していることから, 低年齢での移植が有利と考えられた。SCN は 1 例で拒絶を認めたが, 再移植で根治。血縁者間移植の 2 例が混合キメラではあるが, 全例が Karnofsky performance status 90% 以上で生存している。晩期障害の低減を含めた移植適応と移植時期について, さらなる症例の集積と長期フォローアップの検討が必要である。

A. 研究目的

慢性肉芽腫症 (chronic granulomatous disease, CGD), 重症先天性好中球減少症 (severe congenital neutropenia, SCN) は代表的食細胞異常症であり, 難治性細菌, 真菌感染症を反復する予後不良の疾患である。両疾患ともに根治療法は造血幹細胞移植と遺伝子治療であるが, 後者についての

治療法は十分には確立されていない。造血幹細胞移植に関しても, 造血細胞源, 移植適応とその時期, 適切な前処置等解決すべき多くの問題点が残されている。本研究では, 両疾患に対して広島大学病院小児科で施行した骨髄移植症例について検討を行った。

B. 研究方法

【CGD】2002年から2013年までに当科で24例の骨髄移植を施行した。年齢は3歳から40歳まで男児でgp91phox遺伝子異常が23例, gp47欠損が1例であった。活動性感染症を有した状況での移植が18例, 消化管病変有した症例が5例, 臨床的には活動性感染症を認めない症例が6例であった。

【SCN】2004年から2013年までに当科で8例の骨髄移植を施行した。2歳から17歳で, 男児5例, 女児3例であった。第一回目の移植で拒絶された3症例の再移植が含まれている。遺伝子検査では未同定の1例を除き, 7例が好中球エラスターゼ遺伝子ELANE変異例であった。

【造血細胞源と移植前処置】臍帯血移植では両疾患ともに拒絶の頻度が高いため, すべての症例で骨髄を造血細胞源とした。両疾患ともに, 反復性の感染症既往から持続的な臓器障害や移植時の感染症合併の有無, 骨髄非破壊的前処置(RIC)での生着不全の可能性と, 一方で, 非腫瘍性疾患であることから最小限の晩期障害, 特に妊孕性の保持は重要である。これらの点を考慮して前処置の基本はfludarabine, cyclophosphamide, melpharan, ATG, TBI(3 Gy)を用いたRIC選択したが, 個々の症例の臓器障害や感染症の有無, 全身状態等で投与薬剤とその量を適宜調整した。

(倫理面への配慮)

本研究は, 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. 研究結果と考察

CGDでは全例が生着した。1例で生着遅延(移植後43日目)を認めたが, あとの症例はすべて24日以内にドナー細胞の生着を確認した。そのまま安定した完全キメラを維持した症例が1例, 徐々に混合キメラ状態に移行した症例が7例ありDLIを追加した。DLI施行症例はすべて完全キメラに復したが, 2例は重度のGVHDを合併し, それぞれ移植後1年半, 2年で死亡した。生着遅延の1例は移植後20日に肺炎から呼吸不全となり移植後50日, 生着後1週間で死亡した。移植後8か月で重症感染症からDICとなり頭蓋内出血で死亡。25例中4例が死亡したが, 死亡例はすべて成人例であった(18歳, 33歳, 35歳, 40歳)。残りの20例はすべてKarnofsky performance status 90%以上で生存し, 社会生活に復帰している。全体の生存率は84%, 16歳未満(11例)は100%, 16歳以上(13例)が74%であった。

CGDの移植時期においては, 若年者が臓器障害の少ないこと, 移植関連合併症が少ない点から安全性の面では望ましいと思われる。現行の前処置による晩期障害, 特に妊孕性等の問題についての長期フォローアップが必要である。この点が解決されれば, 今後の方向性を示すことが可能となるであろう。

SCNは8例中1例で拒絶があったが再移植で完全キメラとなった。その他の7例はすべて生着, 血縁者間の2例が安定混合キメラ, 6例は完全キメラで生存している。DLI施行例は2例で, 1例がGrade ⅢのGVHDとなったが, 免疫抑制剤で軽快した。生存率は100%であり, 全ての症例が

Karnofsky performance status 90%以上で社会生活をおくっている。

SCN においては再移植症例 3 例を含め、現行の前処置でほぼ完全キメラを誘導できる点から今後の症例集積と、長期フォローアップでの晩期障害(妊孕性等)の検討が重要である。

D. 結論

代表的食細胞異常症である CGD25 例、SCN8 例に対する広島大学病院での骨髄移植成績を示した。CGD においては低年齢(16 歳未満)での移植成績は 100%、SCN も 100%であった。晩期障害の低減を含めた移植適応と移植時期について、さらなる症例の集積と長期フォローアップの検討が必要である。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 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, Yasunaga S, Takihara Y, Bryant V, Kong X, Crypwy S, Dupuis S, Casanova JL, Morio T, Kobayashi M: Simple diagnosis of STAT1 gain-of-function alleles in patients with chronic mucocutaneous candidiasis. *Journal of Leukocyte Biology*, 2013 (in press).
- 2) Kobayashi Y, Matsui H, Kanai A, Tsumura M, Okada S, Miki M, Nakamura K, Kunishima S, Inaba T, Kobayashi M: Identification of the integrin $\beta 3$ L718P mutation in a pedigree with autosomal dominant

thrombocytopenia with anisocytosis. *British Journal of Haematology* 160: 521-9, 2013.

- 3) Hiramoto T, Ebihara Y, Mizoguchi Y, Nakamura K, Yamaguchi K, Ueno K, Mochizuki S, Yamamoto S, Nagasaki M, Furukawa Y, Tani K, Nakauchi H, Kobayashi M, Tsuji K: Wnt3a stimulates maturation of impaired neutrophils developed from severe congenital neutropenia-derived pluripotent stem cells with heterozygous ELANE mutation. *Proc Natl Acad Sci USA* 110: 3023-8, 2013.
- 4) Hirata O, Okada S, Tsumura M, Kagawa R, Miki M, Kawaguchi H, Nakamura K, Boisson-Dupuis S, Casanova JL, Takihara Y, Kobayashi M: Heterozygosity for the Y701C STAT1 mutation in a multiplex kindred with multifocal osteomyelitis. *Haematologica* 98:1641-9, 2013.
- 5) Deenick EK, Avery DT, Chan A, Berglund LJ, Ives ML, Bustamante J, Boisson-Dupuis S, Tsumura M, Kobayashi M, Arkwright PD, Averbuch D, Engelhard D, Roesler J, Peake J, Wong M, Adelstein S, Choo S, Smart JM, French MA, Fulcher DA, Cook MC, Picard C, Durandy A, Klein C, Holland SM, Uzel G, Casanova JL, Ma CS, Tangye SG: Naïve and memory human B cells have distinct requirements for STAT3 activation to differentiate into antibody-secreting plasma cells. *Journal of Experimental Medicine* 210: 2739-53, 2013.
- 6) Ives ML, Ma CS, Palendira U, Chan A, Bustamante J, Boisson-Dupuis S, Arkwright PD, Engelhard D, Averbuch D, Magdorf K, Roesler J, Peake J, Wong M, Adelstein S, Choo S, Smart JM, French MA, Fulcher DA, Cook MC, Picard C, Durandy A, Tsumura M, Kobayashi M, Uzel G,

Casanova JL, Tangye SG, Deenick EK: Signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) mutations underlying autosomal dominant hyper-IgE syndrome impair human CD8(+) T-cell memory formation and function. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 132: 400-11, 2013.

- 7) Berglund LJ, Ma CS, Avery DT, Moens L, Deenick EK, Bustamante J, Boisson-Dupuis S, Wong M, Adelstein S, Arkwright PD, Fulcher DA, Ziegler JB, Smart JM, Kobayashi M, Casanova JL, Cook MC, Uzel G, Tangye SG: IL-21 signalling via STAT3 primes human naïve B cells to respond to IL-2 to enhance their differentiation into plasmablasts. Blood 122: 3940-50, 2013.
- 8) Morishima T, Watanabe K, Niwa A, Hirai H, Saida S, Tanaka T, Kato I, Umeda K, Hiramatsu H, Saito M, 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, Epub ahead of print Aug 23, 2013.

2. 学会発表

(海外)

- 1) Masao Kobayashi, Yoko Mizoguchi, Shuhei Karakawa, Satoshi Okada, Hiroshi Kawaguchi, Kazuhiro Nakamura: Genetic characteristic of patients with severe congenital neutropenia in Japan. 27th International Congress of Pediatrics, August 24-29, 2013, Melbourne, Australia.

G. 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

WAS に対する造血幹細胞移植法の確立に関する研究

研究分担者 有賀 正 北海道大学医学部医学研究科小児科学分野 教授

研究分担者 山田 雅文 北海道大学病院 講師

井口 晶裕 北海道大学病院 助教

研究要旨

Wiskott-Aldrich 症候群および X 連鎖血小板減少症の日本での移植全例調査を行い今後のより適切な移植治療法を確立することを目的とし、両疾患に対する日本造血細胞移植学会の TRUMP データを取得するとともに TRUMP には存在しないデータの二次調査を行うこととした。二次調査項目は、キメリズム、血小板数、自己免疫疾患と慢性 GVHD の有無、現段階でのガンマグロブリン補充の有無、および移植前と移植後の IgE 値などであり二次調査案を策定し日本造血細胞移植学会の遺伝性疾患 WG による研究として学会に申請した。移植調査と併行し、治療関連毒性の軽減と完全キメラを誘導するために、Wiskott-Aldrich 症候群を含む原発性免疫不全症(PID)の移植に独自の取り組みを開始している。

A. 研究目的

日本造血細胞移植学会の遺伝性疾患 working group による研究と協力して、Wiskott-Aldrich 症候群および X 連鎖血小板減少症における日本で実施された移植状況の全例調査・把握を行い、今後のより適切な移植治療を確立することを目的とする。

このため、移植調査と併行して治療関連毒性の軽減を目指しながらも完全なドナー型のキメリズムを誘導するために、Wiskott-Aldrich 症候群を含む原発性免疫不全症(PID)の移植において独自の取り組みを行う。症例を蓄積し多数例で検討を行う。

B. 研究方法

(1) 研究の種類・デザイン

全例調査:後向き観察研究

独自研究:前向き介入研究

(2) 研究・調査項目

全例調査:対象患者について、以下の項目の調査を行う。

患者情報(年齢、性別、診断、治療内容、検査結果、画像診断結果、遺伝子解析結果、感染症、HLA)

前処置と移植片対宿主病(GVHD) 予防法

移植ソースとその HLA

移植合併症

晩期障害と予後(自己免疫疾患、慢性 GVHD の有無、ガンマグロブリン補充の有無、キメリズムなどの二次調査項目を含む)

対象患者:以下の WAS の移植約 100 症例
日本人患者
日本人ドナーから造血幹細胞移植を行った患者
日本の施設で造血幹細胞移植を行った患者

独自研究:対象患者について以下の取り組みを行う。

多分割の全身放射線照射(TBI)
性腺遮蔽を用いた TBI
アルキル化剤はメルファランの積極的投与
MTX や CY などによる移植直後の免疫抑制の強化
移植ソースは骨髄を第一選択とする

対象患者

日本人患者
北海道大学病院小児科で造血幹細胞移植を行う患者

(倫理面への配慮)

Wiskott-Aldrich 症候群および X 連鎖血小板減少症に対する造血細胞移植に関する研究」について、東京医科歯科大学の IRB および北海道大学病院自主臨床研究審査委員会の承認を得ている。(承認は H26 年 1 月 15 日)。

C. 研究結果

(1)Wiskott-Aldrich 症候群および X 連鎖血小板減少症に対する日本の全造血細胞移植について、日本造血細胞移植学会の TRUMP データ取得申請しデータを取得した。今後不足のデータを二次調査

のうえ取得し移植データの解析を行う予定である。

(2)上記(1)の目的を達成するため、キメリズム、血小板数、自己免疫疾患と慢性 GVHD の有無、現段階でのガンマグロブリン補充の有無、および移植前と移植後の IgE 値などについて各移植施設に二次調査を行う予定で二次調査案を策定し学会に調査を申請した。

以下は北海道大学病院小児科での造血幹細胞植での取り組みの成果。

(3)は 1 回 1.5Gy と 1 回の放射線量を減じた多分割 TBI を用いた骨髄非破壊的前処置(RIC)での造血幹細胞移植を慢性肉芽腫症の 1 歳男児に行い、完全キメラを達成した。

(4)北海道大学病院小児科では移植直後の免疫抑制を 7 日目からのステロイドから 1,3 日目の MTX に変更した臍帯血移植を行っているが、MTX に変更後は全例生着を得ている。

(5)北海道大学病院小児科では PID 患者の造血幹細胞移植の移植前処置に積極的にメルファランを導入している。

(6)北海道大学病院小児科では PID 患者の造血幹細胞移植では全例骨髄を移植ソースとしている。

D. 考察

Wiskott-Aldrich 症候群および X 連鎖血小板減少症は、難治性湿疹、血小板減少、

および免疫不全を主症状とする難治性疾患である。

現在は造血幹細胞移植が唯一の根治的治療法であるが、移植後に混合キメラ状態となることが自己免疫疾患のハイリスクと考えられており、これまで多くの症例で、アルキル化剤による大量化学療法や全身放射線照射などの骨髄破壊的前処置による移植が行われてきた。しかし骨髄破壊的前処置は成長障害、性腺機能障害、および二次ガンなどの晩期障害が問題となっており、悪性疾患でない本疾患においては、治療関連毒性をより軽減した安全で有効な移植前処置および移植ソースを確立することが重要な課題と考えられる。海外と日本の移植を比較しても、HLA (Human Leukocyte Antigen; ヒト白血球抗原) の一致度や移植ソースなどと移植片対宿主病(GVHD)の発症頻度など合併症の発症については必ずしも同一の結果が得られていない。

このため日本でのこれまでの本疾患に対する移植の全例把握を行い、今後のより適切な移植治療の確立を目指すことは極めて意義深く、本疾患における造血幹細胞移植の成績向上に寄与するものと考えられる。

また我々は治療関連毒性の軽減を目指しながらも完全ドナー型のキメリズムを誘導するために、Wiskott-Aldrich 症候群を含む原発性免疫不全症の移植において独自の取り組みを行っている。

RIC ではあるが多分割照射や性腺遮蔽を用いた全身放射線照射の併用、より性腺障害の少ないアルキル化剤への変更、移

植直後の免疫抑制の強化、骨髄を移植ソースの第一選択とすることなどの取り組みであり、一定の成果を挙げているが、今後症例を蓄積し多数例で検討を行う予定である。

E. 結論

本研究による全例調査で、Wiskott-Aldrich 症候群および X 連鎖血小板減少症に対する造血細胞移植において、完全キメラが得られしかも晩期障害がより少ない移植方法の確立が期待される。

治療関連毒性を軽減し、しかも完全キメラを目指す取り組みを推進し、Wiskott-Aldrich 症候群を含む PID の移植のより安全で有効な移植方法を今後症例を蓄積し多数例で検討し確立することが期待される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kanegane H, Taneichi T, Nomura K, Wada T, Yachie A, Imai K, Ariga T, Santisteban I, Hershfield MS, Miyawaki T. Successful bone marrow transplantation with reduced intensity conditioning in a patient with delayed-onset adenosine deaminase deficiency. *Pediatr Transplant.* 17, E29-E32, 2013.
- 2) Ichikawa M, Arai Y, Haruta M, Furukawa S, Ariga T, Kajii T, Kaneko Y. Meiosis error and subsequent genetic and epigenetic alterations invoke the malignant transformation of germ cell tumor. *Gene,*

Chromosome & Cancer 52:274-286,
2013.

- 3) Horino S, Sasahara Y, Sato M, Niizuma H, Kumaki S, Abukawa D, Sato A, Imaizumi M, Kanegane H, Kamachi Y, Sasaki S, Terui K, Ito E, Kobayashi I, Ariga T, Tsuchiya S, Kure S. Selective expansion of donor-derived regulatory T cells after allogeneic bone marrow transplantation in a patient with IPEX syndrome. *Pediatr Transplant.* 18, E25-E30,2013.

2. 学会発表

(海外)

- 1) Iguchi A, Sugiyama A, Terashita Y, Ohshima J, Sato ZT, Cho Y, Ariga T. Neurological complications in stem cell transplantation of childhood. 39th Annual Meeting of the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT), 8 April, 2013 (London, UK).

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

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

研究分担者 森尾友宏

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科発生発達病態学分野 准教授

研究要旨

日本造血細胞移植学会遺伝性疾患 WG と連動して、根治的治療を必要とする原発性免疫不全症に対する移植成績を検討した。当該施設においては特に SCID を中心として Flu/BU (8mg/kg)による前処置に移行し、データを蓄積しつつある。

Wiskott-Aldrich 症候群については、同 WG の中において 110 症例近くの移植成績が蓄積した。今後の移植成績の向上と、長期的予後の改善に向けて、現時点での免疫学的再構築や GVHD、自己免疫疾患の有無についての二次調査を行う予定である。

A. 研究目的

我が国における原発性免疫不全症に対する造血幹細胞移植のデータを収集し解析することを目的とする。特に分担者の診療機関が位置する関東地区における造血細胞移植データを統括すると共に、実際の診療にあたり、診断、治療、移植前処置及び移植後有害事象等に対する相談に応じ、造血細胞移植の把握及び有害事象の対応にあたる。

B. 研究方法

1. 特に重症複合型免疫不全症(SCID)や Wiskott-Aldrich 症候群について診断および治療に当たった。具体的には PIDJ を通じて相談を受け、基本的免疫学的解析(12 parameter FAC, KRECs, TRECs)に加え、候補遺伝子解析(理化学研究所統合生命医科学研究所)を行った。自施設においても実際に造血細胞移植を含む診療にあたった。

2. 日本造血細胞移植学会遺伝性疾患 WG と連動して、また同 WG 原発性免疫不全症代表者として、根治的治療を必要とする原発性免疫不全症に対する移植成績を検討した。SCID に関しては今までの成績のとりまとめにつき、WAS に関しては移植後の免疫学的再構築や合併症に関するアンケート調査につき、JSHCT 一元化委員会に申請を提出した。

(倫理面への配慮)

本研究では患者情報を扱うことに加えて、遺伝子診断においては遺伝子解析が必要になる。このため、各種指針やガイドラインに従い、十分な説明と同意の元に検討を行う。なお、遺伝子診断についてについて、患者登録(PIDJ)について、WAS の二次調査について東京医科歯科大学医学部倫理審査委員会(及び遺伝子解析に関する倫理審査委員会)の承認を得ている。

C. 研究結果

SCIDやWASにおいては、前者では C 欠損症、Artemis 欠損症の診断と、移植に当たってのデータ把握を行った。実際には後者では BU (8mg/kg)/Flu のレジメンを選択した。WAS においてもドナー選択や治療方針の相談にあたった。骨髄バンクや臍帯血バンクに HLA 適合者がいないあるいはきわめて少ないものがある。WAS では2座以上の不一致で GVHD などの合併症が多くなることが知られており(Morio T, et al. Br. J. Haematol. 2011)、今後本条件で造血細胞移植を行う際の移植プロトコルの最適化が必要である。

WAS の移植後二次調査については、別添のアンケート案を作成し、委員会承認を得られ次第実施の予定である。

D. 考察

SCID や WAS において造血細胞移植のデータを蓄積した。前者では Flu/L-PAM, Flu/BU の選択肢となっているが、本施設においては近年は後者を用いており良好な成績の印象を得ている。稀少疾患に対する治療成績の解析においてはしかし、症例数の蓄積が必要であることは論をまたない。一方 SCID においても放射線高感受性 SCID がある。Artemis 欠損症や LIG4 欠損症がそれに当たるが、それぞれに対して EBMT 推奨の前処置案を参照しながら、しかしこの疾患に対する最適化が必要と思われる。これらの疾患に対して生命的に救済が可能になっている現在、長期予後への配慮が必須であり、これらは現在進行中のアンケート調査などからも、フィードバックが得られることが期待できる。

E. 結論

SCID や WAS など造血細胞移植を必要とする重症な免疫不全症に対して、診断及び診療(あるいはその相談)から治療方針の決定までに関与した。日本造血細胞移植学会データベースセンターと連動して、移植成績を蓄積し、また同学会遺伝性疾患 WG の中でデータ解析についての提言と実施を行った。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kumaki S, Sasahara Y, Kamachi Y, Muramatsu H, Morio T, Goi K, Sugita K, Urabe T, Takada H, Kojima S, Tsuchiya S, Hara T. B-cell function after unrelated umbilical cord blood transplantation using a minimal-intensity conditioning regimen in patients with X-SCID. *Int J Hematol.* 98:355-60, 2013.
- 2) Isoda T, Mitsuiki N, Ohkawa T, Kaneko S, Endo A, Ono T, Aoki Y, Tomizawa D, Kajiwarra M, Araki S, Nagasawa M, Morio T, Takagi M, Mizutani S. Irreversible Leukoencephalopathy After Reduced-intensity Stem Cell Transplantation in a Dyskeratosis Congenita Patient With TINF2 Mutation. *J Pediatr Hematol Oncol.* 35:e178-82, 2013.
- 3) Yoshimi A, Kamachi Y, Imai K, Watanabe N, Nakadate H, Kanazawa T, Ozono S, Kobayashi R, Yoshida M, Kobayashi C, Hama A, Muramatsu H, Sasahara Y, Jakob M, Morio T, Ehl S, Manabe A, Niemeyer C, Kojima S. Wiskott–Aldrich syndrome presenting with a clinical picture mimicking

juvenile myelomonocytic leukaemia. *Pediatr Blood Cancer*. 60:836-41, 2013.

- 4) Kawasaki Y, Toyoda H, Otsuki S, Iwasa T, Iwamoto S, Azuma E, Itoh-Habe N, Wada H, Fujimura Y, Morio T, Imai K, Mitsuiki N, Ohara O, Komada Y. A novel Wiskott-Aldrich syndrome protein mutation in an infant with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Eur J Haematol*. 290:164-8, 2013.
- 5) 渡辺恵理、阿部素子、工藤寿子、浜田聡、系洲倫江、中内啓光、森尾友宏、渡辺信和：重症複合免疫不全症に対する臍帯血ミニ移植後の混合キメリズムの遷延。CYTOMETRY RESEARCH 23:41-49, 2013.

2. 学会発表

(海外)

- 1) Morio T. Cord blood transplantation for primary immunodeficiency in Japan. AsiaCORD2013. Kobe, Japan. April 2013.

(国内)

- 1) 森尾友宏：免疫不全症候群から学ぶ human immunology、第41回日本臨床免疫学会総会、山口、2013年11月27日 29日
- 2) 森尾友宏：造血細胞移植後のウイルス感染症、第43回東海小児造血細胞移植研究会(招待講演)、名古屋、2013年11月12日
- 3) 森尾友宏：免疫細胞培養ガイドライン(免疫治療関連6学会合同策定)について：医療機関・研究施設に求められる基準、第5回造血器腫瘍免疫療法研究会学術集会、名古屋、2013年8月24日

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

雑誌(英文)

発表者名	論文タイトル名	発表雑誌	巻号	ページ	出版年
Kamae C, Nakagawa N, Sato H, Honma K, Mitsui N, Ohara O, Kanegane H, Pasic S, Pan-Hammarström Q, van Zelm MC, Morio T, Imai K, Nonoyama S.	Common variable immunodeficiency classification by quantifying T-cell receptor and immunoglobulin κ-deleting recombination excision circles.	J Allergy Clin Immunol.	131	1437-1440	2013
Kakiuchi S, Nonoyama S, Wakamatsu H, Kogawa K, Wang L, Kinoshita-Yamaguchi H, Takayama-Ito M, Lim CK, Inoue N, Mizuguchi M, Igarashi T, Saijo M.	Neonatal herpes encephalitis caused by a virologically confirmed acyclovir resistant herpes simplex virus type 1.	J. Clin. Microbiol.	51	356-359	2013
Wakabayashi M, Mori T, Isobe K, Sohara E, Susa K, Araki Y, Chiga M, Kikuchi E, Nomura N, Mori Y, Matsuo H, Murata T, Nomura S, Asano T, Kawaguchi H, Nonoyama S, Rai T, Sasaki S, Uchida S.	Impaired KLHL3-Mediated Ubiquitination of WNK4 Causes Human Hypertension.	Cell Reports.	3	858-868	2013
Bousfiha A, Jeddane L, Ailal F, Al-Herz, Conley M.E, Cunningham-Rundles C, Etzioni A, Fischer A, Franco J.L, Geha R.S, Hammarström L, Nonoyama S, Ochs H.D, Roifman C, Seger R, Tang M.L.K, Puck J.M, Chapel H, Notarangelo L.D, Casanova J.L.	A Phenotypic Approach for IUIS PID Classification and Diagnosis: Guidelines for Clinicians at the Bedside.	J Clin Immunol.	33	1078-1087	2013
Osawa M, Ogura Y, Isobe K, Uchida S, Nonoyama S and Kawaguchi H.	CUL3 gene analysis enables early intervention for pediatric pseudohypaldosteronism type II in infancy.	Pediatr Nephrol.	28	1881-1884	2013
Kumaki S, Sasahara Y, Kamachi Y, Muramatsu H, Morio T, Goi K, Sugita K, Urabe T, Takada H, Kojima S, Tsuchiya S, Hara T.	B cell function after unrelated umbilical cord blood transplantation using minimal-intensity conditioning regimen in patients with X-SCID.	Int J Hematol	98	355-60	2013
Ishimura M, Yamamoto H, Mizuno Y, Takada H, Goto M, Doi T, Hoshina T, Ohga S, Ohshima K, Hara T.	A non-invasive diagnosis of histiocytic necrotizing lymphadenitis by means of gene expression profile analysis of peripheral blood mononuclear cells.	J Clin Immunol.	33(5)	1018-26	2013
Imagawa T, Nishikomori R, Takada H, Takeshita S, Patel N, Kim D, Lheritier K, Heike T, Hara T, Yokota S.	Safety and efficacy of canakinumab in Japanese patients with phenotypes of cryopyrin-associated periodic syndrome as established in the first open-label, phase-3 pivotal study (24-week results).	Clin Exp Rheumatol.	31	302-9	2013
Yokota S, Nishikomori R, Takada H, Kikuchi M, Nozawa T, Kanetaka T, Kizawa T, Miyamae T, Mori M, Heike T, Hara T, Imagawa T.	Guidance on the use of canakinumab in patients with cryopyrin-associated periodic syndrome in Japan.	Mod Rheumatol	23	425-9	2013
Ninomiya T, Takada H, Nagatomo Y, Nanishi E, Nagata H, Yamamura K, Doi T, Ikeda I, Hara T.	Development of Kawasaki disease in a patient with PFAPA.	Pediatrics International	55(6)	801-2	2013
Fukazawa M, Hoshina T, Nanishi E, Nishio H, Doi T, Ohga S, Hara T.	Neonatal hemophagocytic lymphohistiocytosis associated with a vertical transmission of coxsackievirus B1.	J Infect Chemother	19(6)	1210-3	2013
Higuchi Y, Shimizu J, Hatanaka M, Kitano E, Kitamura H, Takada H, Ishimura M, Hara T, Ohara O, Asagoe K, Kubo T.	The identification of a novel splicing mutation in C1qB in a Japanese family with C1q deficiency: a case report.	Pediatr Rheumatol Online J.	11(1)	41	2013
Obinata K, Lee T, Niizuma T, Kinoshita K, Shimizu T, Hoshina T, Sasaki Y, Hara T.	Two cases of partial dominant interferon-γ receptor 1 deficiency that presented with different clinical courses of bacille Calmette-Guérin multiple osteomyelitis.	J Infect Chemother.	19	757-60	2013
Kanegane H, Taneichi H, Nomura K, Wada T, Yachie A, Imai K, Ariga T, Santisteban I, Hershfield MS, Miyawaki T.	Successful bone marrow transplantation with reduced intensity conditioning in a patient with delayed-onset adenosine deaminase deficiency.	Pediatr Transplant.	17	E29-E32	2013

雑誌(英文)

発表者名	論文タイトル名	発表雑誌	巻号	ページ	出版年
Rawat A, Singh S, Suri D, Gupta A, Saikia B, Minz RW, Sehgal S, Vaiphei K, Kamae C, Honma K, Nakagawa N, Imai K, Nonoyama S, Oshima K, Mitsuiki N, Ohara O, Chan KW, Lau YL.	Chronic Granulomatous Disease: Two Decades of Experience From a Tertiary Care Centre in North West India.	J Clin Immunol.	33(4)	857-864	2013
Wada T, Sakakibara Y, Nishimura R, Toma T, Ueno Y, Horita S, Tanaka T, Nishi M, Kato K, Yasumi T, Ohara O, Yachie A.	Down-regulation of CD5 expression on activated CD8(+) T cells in familial hemophagocytic lymphohistiocytosis with perforin gene mutations.	Hum Immunol.	74:12	1579-1585	2013
Lee YW, Yang EA, Kang HJ, Yang X, Mitsuiki N, Ohara O, Miyawaki T, Kanegane H, Lee JH.	Novel mutation of IL2RG gene in a Korean boy with X-linked severe combined immunodeficiency.	J Investig Allergol Clin Immunol.	23:1	65-67	2013
Suzuki J, Kuwahara M, Tofukuji S, Imamura M, Kato F, Nakayama T, Ohara O, Yamashita M.	A novel small compound SH-2251 suppresses Th2 cell-dependent airway inflammation through selective modulation of chromatin status at the Il5 gene locus.	PLoS One.	16:8	e61785	2013
Wada T, Muraoka M, Toma T, Imai T, Shigemura T, Agematsu K, Haraguchi K, Moriuchi H, Oh-Ishi T, Kitoh T, Ohara O, Morio T, Yachie A.	Rapid detection of intracellular p47phox and p67phox by flow cytometry; useful screening tests for chronic granulomatous disease.	J Clin Immunol.	33:4	857-864	2013
Sakaguchi H, Okuno Y, Muramatsu H, Yoshida K, Shiraishi Y, Takahashi M, Kon A, Sanada M, Chiba K, Tanaka H, Makishima H, Wang X, Xu Y, Doisaki S, Hama A, Nakanishi K, Takahashi Y, Yoshida N, Maciejewski JP, Miyano S, Ogawa S, Kojima S.	Exome sequencing identifies secondary mutations of SETBP1 and JAK3 in juvenile myelomonocytic leukemia.	Nat Genet	45(8)	937-41	2013
Takahashi Y, Muramatsu H, Sakata N, Hyakuna N, Hamamoto K, Kobayashi R, Ito E, Yagasaki H, Ohara A, Kikuchi A, Morimoto A, Yabe H, Kudo K, Watanabe K, Ohga S, Kojima S, Japan Childhood Aplastic Anemia Study G.	Rabbit antithymocyte globulin and cyclosporine as first-line therapy for children with acquired aplastic anemia.	Blood	121(5)	862-3	2013
Yoshimi A, Kamachi Y, Imai K, Watanabe N, Nakadate H, Kanazawa T, Ozono S, Kobayashi R, Yoshida M, Kobayashi C, Hama A, Muramatsu H, Sasahara Y, Jakob M, Morio T, Ehl S, Manabe A, Niemeyer C, Kojima S.	Wiskott-Aldrich syndrome presenting with a clinical picture mimicking juvenile myelomonocytic leukaemia.	Pediatr Blood Cancer	60(5)	836-41	2013
Morishima T, Watanabe K, Niwa A, Hirai H, Saida S, Tanaka T, Kato I, Umeda K, Hiramatsu H, Saito M, 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
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, Yasunaga S, Takihara Y, Bryant V, Kong X, Crypwy S, Dupuis S, CasanovaJL, Morio T, Kobayashi M.	Simple diagnosis of <i>STAT1</i> gain-of-function alleles in patients with chronic mucocutaneous candidiasis.	J Leukoc Biol.		Epub ahead of print	2013
Deenick EK, Avery DT, Chan A, Berglund LJ, Ives ML, Bustamante J, Boisson-Dupuis S, Tsumura M, Kobayashi M, Arkwright PD, Averbuch D, Engelhard D, Roesler J, Peake J, Wong M, Adelstein S, Choo S, Smart JM, French MA, Fulcher DA, Cook MC, Picard C, Durandy A, Klein C, Holland SM, Uzel G, Casanova JL, Ma CS, Tangye SG.	Naïve and memory human B cells have distinct requirements for STAT3 activation to differentiate into antibody-secreting plasma cells.	J Exp Med.	210	2739-53	2013

雑誌(英文)

発表者名	論文タイトル名	発表雑誌	巻号	ページ	出版年
Berglund LJ, Ma CS, Avery DT, Moens L, Deenick EK, Bustamante J, Boisson-Dupuis S, Wong M, Adelstein S, Arkwright PD, Fulcher DA, Ziegler JB, Smart JM, Kobayashi M, Casanova JL, Cook MC, Uzel G, Tangye SG.	IL-21 signalling via STAT3 primes human naive B cells to respond to IL-2 to enhance their differentiation into plasmablasts.	Blood	122	3940-50	2013
Shiba N, Funato M, Ohki K, Park MJ, Mizushima Y, Adachi S, Kobayashi M, Kinoshita A, Sotomatsu M, Arakawa H, Tawa A, Horibe K, Tsukimoto I, Hayashi Y.	Mutations of the GATA2 and CEBPA genes in paediatric acute myeloid leukaemia.	Br J Haematol.		Epub ahead of print	2013
Ives ML, Ma CS, Palendira U, Chan A, Bustamante J, Boisson-Dupuis S, Arkwright PD, Engelhard D, Averbuch D, Magdorf K, Roesler J, Peake J, Wong M, Adelstein S, Choo S, Smart JM, Frnch MA, Fulcher DA, Cook MC, Picard C, Durandy A, Tsumura M, Kobayashi M, Uzel G, Casanova JL, Tangye SG, Deenick EK.	Signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) mutations underlying autosomal dominant hyper-IgE syndrome impair human CD8(+) T-cell memory formation and function.	J Allergy Clin Immunol.	132	400-11	2013
Hirata O, Okada S, Tsumura M, Kagawa R, Miki M, Kawaguchi H, Nakamura K, Boisson-Dupuis S, Casanova JL, Takihara Y, Kobayashi M.	Heterozygosity for the Y701C <i>STAT1</i> mutation in a multiplex kindred with multifocal osteomyelitis.	Haematologica	98	1641-9	2013
Hiramoto T, Ebihara Y, Mizoguchi Y, Nakamura K, Yamaguchi K, Ueno K, Mochizuki S, Yamamoto S, Nagasaki M, Furukawa Y, Tani K, Nakauchi H, Kobayashi M, Tsuji K.	Wnt3a stimulates maturation of impaired neutrophils developed from severe congenital neutropenia-derived pluri-potent stem cells with heterozygous <i>ELANE</i> mutation.	Proc Natl Acad Sci USA	110	3023-8	2013
Kobayashi Y, Matsui H, Kanai A, Tsumura M, Okada S, Miki M, Nakamura K, Kunishima S, Inaba T, Kobayashi M.	Identification of the integrin $\beta 3$ L718P mutation in a pedigree with autosomal dominant thrombocytopenia with anisocytosis.	Br J Haematol.	160	521-9	2013
Kumaki S, Sasahara Y, Kamachi Y, Muramatsu H, Morio T, Goi K, Sugita K, Urabe T, Takada H, Kojima S, Tsuchiya S, Hara T.	B-cell function after unrelated umbilical cord blood transplantation using a minimal-intensity conditioning regimen in patients with X-SCID.	Int J Hematol.	98	355-360	2013
Isoda T, Mitsuiki N, Ohkawa T, Kaneko S, Endo A, Ono T, Aoki Y, Tomizawa D, Kajiwara M, Araki S, Nagasawa M, Morio T, Takagi M, Mizutani S.	Irreversible Leukoencephalopathy After Reduced-intensity Stem Cell Transplantation in a Dyskeratosis Congenita Patient With TINF2 Mutation.	J Pediatr Hematol Oncol.	35	e178-182	2013
Kawasaki Y, Toyoda H, Otsuki S, Iwasa T, Iwamoto S, Azuma E, Itoh-Habe N, Wada H, Fujimura Y, Morio T, Imai K, Mitsuiki N, Ohara O, Komada Y.	A novel Wiskott-Aldrich syndrome protein mutation in an infant with thrombotic thrombocytopenic purpura.	Eur J Haematol.	290	164-168	2013
Rebecca Marsh, Kanchan Rao,Prakash Satwani, Kai Lehmborg, Ingo Müller, Dandan Li, Mi-Ok Kim, Alain Fischer, Sylvain Latour, Petr Sedlacek, Vincent Barlogis, Kazuko Hamamoto, Hirokazu Kanegane, Sam Milanovich, David Margolis, David Dimmock, James Casper, Dorothea N Douglas, Persis J Amrolia, Paul Veys, Ashish R Kumar, Michael B Jordan, Jack J Blessing, Filipovich, Alexandra H.	Allogeneic hematopoietic cell transplantation for XIAP deficiency: an international survey reveals poor outcomes.	Blood	121:6	877-83	2013
Tomizawa D, Tawa A, Watanabe T, Saito A.M, Kudo K, Taga T, Iwamoto S, Shimada A, Terui K, Moritake H, Kinoshita A, Takahashi H, Nakayama H, Kiyokawa N, Isoyama K, Mizutani S, Hara J, Horibe K, Nakahata T, Souichi Adachi S.	Excess reduction of anthracyclines results in inferior event-free survival in core binding factor acute myeloid leukemia in children: a report from the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group (JPLSG).	Leukemia		in press	

雑誌(英文)

発表者名	論文タイトル名	発表雑誌	巻号	ページ	出版年
Kodera Y, Yamamoto K, Harada M, Morishima Y, Dohy H, Asano S, Ikeda Y, Nakahata T, Imamura M, Kawa K, Kato S, Tanimoto M, Kanda Y, Tanosaki R, Shiobara S, Kim SW, Nagafuji K, Hino M, Miyamura K, Suzuki R, Hamajima N, Fukushima M, Tamakoshi A; for the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation, Halter J, Schmitz N, Niederwieser D, Gratwohl A.	PBSC collection from family donors in Japan: a prospective survey.	Bone Marrow Transplant.		in press	
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 leukemia who developed blast crisis: MDS Committee of Japanese Society of Pediatric Hematology/Oncology (JSPHO).	Brit. J. Haematol.		in press	
Saida S, Watanabe KI, Sato-Otsubo A, Terui K, Yoshida K, Okuno Y, Toki T, Wang R, Shiraishi Y, Miyano S, Kato I, Morishima T, Fujino H, Umeda K, Hiramatsu H, Adachi S, Ito E, Ogawa S, Ito M, Nakahata T, Heike T.	Clonal selection in xenografted TAM recapitulates the evolutionary process of myeloid leukemia in Down syndrome.	Blood.	121(21)	4377-87	2013
Yanagimachi MD, Niwa A, Tanaka T, Ozaki F, Nishimoto S, Murata Y, Yasumi T, Ito J, Tomida S, Oshima K, Asaka I, Goto H, Heike T, Nakahata T, Saito MK.	Robust and highly-efficient differentiation of functional monocytic cells from human pluripotent stem cells under serum- and feeder cell- free conditions.	PLoS ONE.	8(4)	e59243	2013
Nakazawa Y, Saito S, Yanagisawa R, Suzuki T, Toshiro Ito T, Ishida F, Muramatsu H, Matsumoto K, Kato K, Ishida H, Umeda K, Souichi Adachi S, Nakahata T, Koike K.	Recipient seropositivity for adenovirus type 11 is a highly predictive factor for the development of AdV11-induced hemorrhagic cystitis after allogeneic hematopoietic SCT.	Bone Marrow Transplant.	48	737-739	2013
Ichikawa M, Arai Y, Haruta M, Furukawa S, Ariga T, Kajii T, Kaneko Y.	Meiosis error and subsequent genetic and epigenetic alterations invoke the malignant transformation of germ cell tumor.	Gene, Chromosome & Cancer	52	274-286	2013
Horino S, Sasahara Y, Sato M, Niizuma H, Kumaki S, Abukawa D, Sato A, Imaizumi M, Kanegane H, Kamachi Y, Sasaki S, Terui K, Ito E, Kobayashi I, Ariga T, Tsuchiya S, Kure S.	Selective expansion of donor-derived regulatory T cells after allogeneic bone marrow transplantation in a patient with IPEX syndrome.	Pediatr Transplant	18	E25-E30	2013

雑誌(和文)

発表者名	論文タイトル名	発表雑誌	巻号	ページ	出版年
原 寿郎	2. 幹細胞異常と内科系疾患、現状と展望 1) 造血幹細胞の異常：先天性免疫不全症	日本内科学会雑誌	102 (9)	2255-61	2013
原 寿郎	小児感染・免疫疾患の発症におけるヒト - 環境相互作用	小児感染免疫	25 (1)	41-53	2013
原 寿郎	シリーズ小児医療第 6 回 原発性免疫不全 症研究：最新の進歩	あいみっく	34 (3)	50-5	2013
原 寿郎	こどもの発熱の原因とその対処法	ふたば	77	18-24	2013
中村和洋, 小林正夫	新生児同種免疫性好中球減少症	臨床免疫・アレルギー 科	60	78-82	2013
波多野 修一, 駒澤 克孝, 西村 真一郎, 藤江 篤志, 大野 令央義, 川口 浩史, 小林 正夫, 高尾 信一	マイコプラズマ感染症検査法の検討 マイ コプラズマ抗原迅速診断キットの有用性に ついて	小児科臨床	66	2105-21 15	2013
下村 麻衣子, 千々松 郁枝, 浅野 孝基, 古江 綾, 三木 瑞香, 川口 浩史, 中村 和洋, 小林 正夫	慢性肉芽腫症における消化管病変	広島医学	66	473-474	2013
高坂 卓馬, 秀 道広, 小林 正夫	Omenn 症候群の 1 例	西日本皮膚科	75	269	2013
唐川 修平, 中村 和洋, 小林 正夫	【クローズアップ 新しい子どもの病気】 血液腫瘍疾患 新しい診断技術で診断可能 となった疾患 好中球減少症 遺伝子変異 と抗好中球抗体.	小児内科	45	1131-11 33	2013
三木 瑞香, 小林 正夫	【クローズアップ 負荷試験の実際 2013】 血液系機能検査 好中球減少症の負荷試験	小児内科	45	989-991	2013
平田 修, 小林 正夫	【血液症候群(第2版)-その他の血液疾患を 含めて-】 リンパ球の異常 リンパ球機能 異常と類縁疾患 原発性免疫不全症候群 単独 IgG サブクラス欠損症	日本臨床別冊血液症 候群 第 2 版 Ⅱ		250-253	2013
早川 誠一, 小林 正夫	【血液症候群(第2版)-その他の血液疾患を 含めて-】 リンパ球の異常 リンパ球機能 異常と類縁疾患 原発性免疫不全症候群 IgM 単独(選択的)欠損症	日本臨床別冊血液症 候群 第 2 版 Ⅱ		246-249	2013
平田 修, 小林 正夫	【血液症候群(第2版)-その他の血液疾患を 含めて-】 リンパ球の異常 リンパ球機能 異常と類縁疾患 原発性免疫不全症候群 選択的 IgA 欠損症	日本臨床別冊血液症 候群 第 2 版 Ⅱ		242-245	2013
平田 修, 中村 和洋, 小林 正夫	【血液症候群(第2版)-その他の血液疾患を 含めて-】 白血球(顆粒球)の異常(悪性腫瘍 を除く) 好中球の異常 好中球減少症 周期性好中球減少症	日本臨床別冊血液症 候群 第 2 版 Ⅱ		57-60	2013
唐川 修平, 中村 和洋, 小林 正夫	【血液症候群(第2版)-その他の血液疾患を 含めて-】 白血球(顆粒球)の異常(悪性腫瘍 を除く) 好中球の異常 好中球減少症 自己免疫性好中球減少症	日本臨床別冊血液症 候群 第 2 版 Ⅱ		54-56	2013
溝口 洋子, 中村 和洋, 小林 正夫	【血液症候群(第2版)-その他の血液疾患を 含めて-】 白血球(顆粒球)の異常(悪性腫瘍 を除く) 好中球の異常 好中球減少症 同種免疫性好中球減少症.	日本臨床別冊血液症 候群 第 2 版 Ⅱ		50-53	2013

雑誌(和文)

発表者名	論文タイトル名	発表雑誌	巻号	ページ	出版年
唐川 修平, 小林 正夫	【知っておきたい最新の免疫不全症分類-診断から治療まで】治療 原発性免疫不全症に対する造血幹細胞移植	小児科診療	76	476-480	2013
宮地 隆史, 丸山 博文, 小林 正夫, 松本 昌泰	【クローズアップ 呼吸管理】<在宅呼吸ケア> 在宅人工呼吸器装着者の災害時対策	小児内科	45	116-120	2013
斎藤潤、中畑龍俊	疾患特異的 iPS 細胞	再生医療	12(1)	19-29	2013
川口裕之	Virus-associated hemophagocytic syndrome	日本臨床	別冊 No.23	466-9	2013
戸田尚子、原 寿郎	2. 疾患と栄養 先天性免疫不全症と低栄養	臨床栄養		印刷中	2014

書籍

著者氏名	論文タイトル	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
原 寿郎	第1章：血液系疾患の医療ニーズ 第3節 原発性免疫不全症候群		希少疾患 / 難病の診断・治療と製品開発	(株)技術情報協会	東京	2013	593-610
原 寿郎	免疫疾患	原 寿郎/高橋孝雄/ 細井 創	標準小児科学 第8版	医学書院	東京	2014	258-79
原 寿郎	原発性免疫不全症候群 Primary immunodeficiency syndrome	福井次矢/高木 誠/ 小室一成	今日の治療指針 2014年版 - 私はこう治療している	医学書院	東京	2014	1270-1