

骨髄移植による先天性代謝異常症治療の試み

—HLA 不適合骨髄を移植して生着をみた

重症複合型免疫不全症の一例—

多田 啓也 峯岸 正好 土屋 滋

今泉 益栄 山口 佳子 後藤 洋一

大浦 敏博 今野 多助

(東北大学医学部小児科)

I. は じ め に

骨髄移植は、重症複合型免疫不全症、重症型再生不良性貧血、白血病などの難治性血液疾患の治療法としてその地位を築きつつある。さらに近年、一部の先天性代謝異常症や、ヘモグロビン異常症、大理石病などの治療においても骨髄移植がおこなわれ、成功例も報告されはじめている¹⁾。骨髄の donor は通常 HLA の一致した兄弟姉妹であるが現実的にはその獲得は困難である。今回、われわれは重症複合型免疫不全症の患児において大豆凝集素および羊赤血球によりT細胞を除去した HLA 不適合の母親の骨髄細胞の移植を試み、graft-versus-host reaction (GVH 反応) の出現をみることなく生着し、部分的な免疫能の再建に成功したので報告する。

II. 症 例

患児は男児で満期正常分娩にて出生。出生時体重は2,846 g であった。生後2ヵ月頃より皮膚カンジダ症、5ヵ月時に中耳炎に罹患。易感染性、発育遅延、無ガンマグロブリン血症を主訴に当科入院となる。家族歴では、母方の叔父2人が重症肺炎、全身カンジダ症にて3ヵ月でそれぞれ死亡している。入院時、生後6ヵ月で体重は5,750 g と著明な増加不良を示した。口腔粘膜には鵝口瘡を認めた。口蓋および咽頭扁桃は認めず、リンパ節も触知せず、肝脾もふれなかった。胸部レントゲン写真では胸腺陰影はなく、肺炎像が認められた。種々の免疫学的検索により、表層免疫グロブリン保有細胞は有するもののE-ロゼット陽性細胞の欠除、phytohemagglutinin, concanavalin A, pokeweed mitogen による芽球化反応の低下およびリンパ球混合培養における反応低下、遅延型過敏皮膚反応陰性、無ガンマグロブリン血症などを認めたため、B細胞を有する重症複合型免疫不全症と診断した(表1)。Adenosine deaminase および purine nucleoside phosphorylase 活性は正常であった。家族内には HLA 適合の donor が得られなかったため、HLA ハプロタイプ不一致の母親より骨髄血を採取することに決定し

表1 Immunological findings

1. Surface markers of peripheral lymphocytes		
WBC (/cumm)	12,400	
Lymph. (/cumm)	1,860	
E-RFC (%)	2.7 (62.8~72.2)	
EAC-RFC (%)	98.8 (23.9~41.9)	
s-Ig ⁺ cells (%)	65.8	
B1 (%)	63.0 (7.1~11.1)	
T cell subsets		
OKT 3 (%)	5.0 (57.4~79.2)	
OKT 4 (%)	1.0 (30.3~53.3)	
OKT 6 (%)	0 (0)	
OKT 8 (%)	0 (24.5~30.3)	
2. Lymphocyte proliferation with mitogens (cpm)		
	patient	control
(-)	36± 1	2,382± 237
PHA	1,585±184	70,455±3,066
Con A	1,295±260	93,244± 371
PWM	572±223	7,504±1,305
3. Skin tests for delayed-type hypersensitivity		
SK. SD	(-)	
PPD	(-)	
Candida	(-)	
4. Serum immunoglobulins		
Ig G (mg/dl)	12	
Ig A (mg/dl)	0	
Ig M (mg/dl)	0	

表2 MLC

Responder	Stimulators	³ H-incorporation (cpm)	SI*
Mother	Mother	2,907± 23	1.0
Mother	Patient	15,326±1,057	5.3
Mother	Unrelated	20,601± 656	7.1

* Stimulation index.

た。母親の患児リンパ球に対するリンパ球混合培養反応は陽性であった(表2)。患児は、Vancomycin, Tobramycin, Amphotericin-B を経口投与し、腸内細菌叢を無菌化した後、無菌室に収容し骨髄移植を行った。

Ⅲ. 方 法

骨髓血よりT細胞を除去する方法は Reisner らの方法²⁾ により行った(図1)。骨髓血採取は全身麻酔下にて手術場にて腸骨穿刺により行った。得られた約 500 ml の骨髓血はメッシュを通して骨片などを除去した後、0.66% の Hydroxyethylstarch を用いて濃厚白血球を分離し、大豆凝集素および羊赤血球によりT細胞を除去した残りの分画を1%ヒトアルブミン加生食に浮遊させ、経静脈的に移植した。この方法により 4×10^7 個/kg の骨髓細胞が移植された。分離された骨髓細胞 ($\text{SBA}^- \text{E}^- \text{E}_\text{N}^-$ fraction) は phytohemagglutinin に対して反応せず、自己増殖能に富んでおり(表3)、リンパ球混合培養においてもほとんど反応を示さない(表4)。すなわち、大部分のT細胞は除去されており、幼若な自己分裂能に富んだ細胞が大部分であると考えられた。GVH 反応の予防対策としてシアトルプロトコールにしたがい、methotrexate を使用した³⁾。

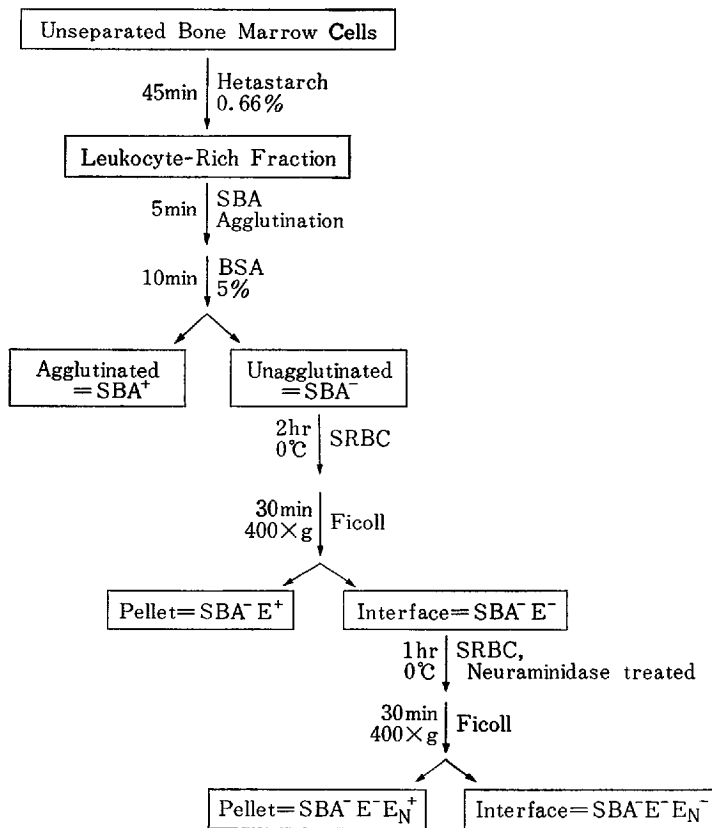


図1 Procedure for BM fractionation by SBA and SRBC

BSA=bovine serum albumin; $\text{E}^+/-$ =rosetting/non-rosetting cells; $\text{E}_\text{N}^+/-$ =rosetting/non-rosetting with neuraminidase treated SRBC. See text for explanation of other symbols.

表3 Mitogenic Response

	³ H-incorporation (cpm)		Stimulation index
	Medium	PHA-P (0.1%)	
Post-hetastarch	2,834±102	52,193±2,233	18.4
SBA ⁻ E ⁻ E _N ⁻	21,712±389	18,030±100	0.8

表4 Proliferative Response in MLC of BM Cells Fractionated by SBA and SRBC (cpm, mean±SD)

BM cells	Autologous stimulators	Allogeneic stimulators	Stimulation index
Unfractionated	2,907±23	20,601±656	7.1
SBA ⁻ E ⁻ E _N ⁻	1,170±83	2,452±110	2.1

IV. 結 果

移植後の経過を図2に示す。一過性の好酸球増多症および GOT, GPT の上昇がみられた以外は特に明確な GVH 反応の徴候も認めず経過観察していたが、移植後15週目に有意の芽球化反応を認めるようになり、23週目に染色体分析において46XX と骨髄提供者の核型であることが判明し生着を確認した。その後の HLA 検査でも donor すなわち母親の表現型であることが認められ生着が証明された(表5)。この時期には、鵝口瘡や皮膚カンジダ症は全く認められなくなった。

患児は移植1ヵ月前の生後5ヵ月時に、BCG ワクチンを接種されていたが、移植後19週頃より接種部位に局所的な皮膚の炎症症状が出現し、さらに膿瘍形成性の皮膚病変が、側頸部、前胸部、背部、下肢にも多発した。また血尿もみられるようになった。皮膚の膿汁培養により BCG 菌が検出されたため、抗結核剤を投与したところ血尿もおさまリ、皮膚病変も次第に軽快した。

移植後の免疫学的評価を(表6)に示す。E-ロゼット形成細胞は正常対照の1/3, OKT 3⁺ 細胞45%, OKT 4⁺ 細胞34%, OKT 8⁺ 細胞16%であった。マイトジェンによる芽球化反応も陽性化し、また PPD および Candida に対する遅延型過敏皮膚反応も陽転化した。血清免疫グロブリンおよび同種血球凝集素は低値のままであった。リンパ球混合培養反応も認められるようになった(表7)。

V. 考 察

骨髄移植は、重症複合型免疫不全症、重症型再生不良性貧血、白血病、先天性代謝疾患など

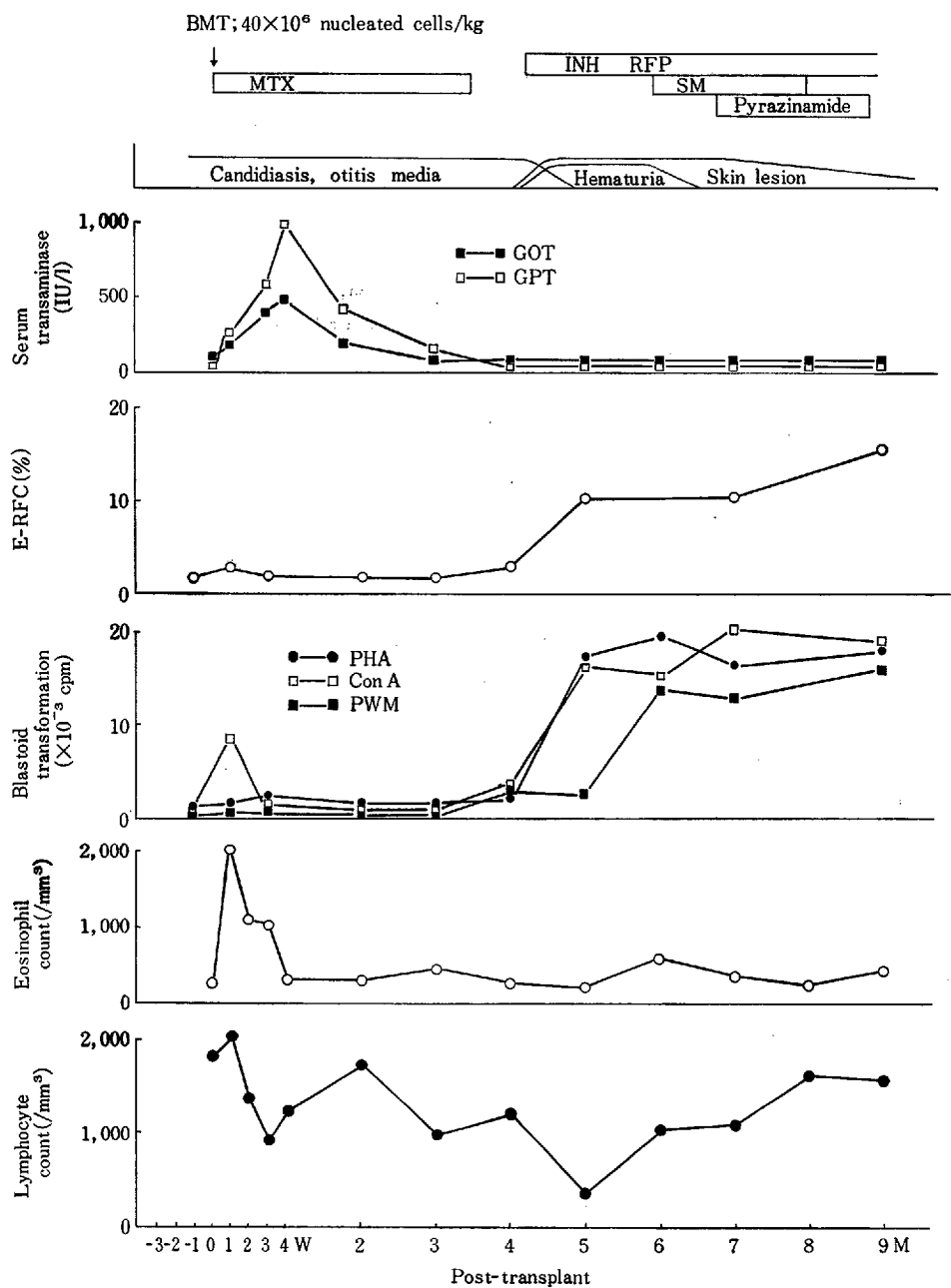


图 2

表5 Evidence of engraftment

1. HLA typing				
pre-BMT*	Aw33	B12	-	DR6
	A9 or A2	Bw52	Cw3	(DR6)
post-BMT	Aw33	B12	-	DR6
	Aw31	Bw35	Cw3	DR5
2. Chromosomal analysis of lymphocytes				
PHA-stimulated		XX		
EBV-LC**		XY		

* Bone marrow transplantation.

** Epstein-Barr virus-transformed lymphoblastoid cells.

表6 Immunologic Development after Transplantation

1. Surface markers of peripheral lymphocytes

WBC (/cumm)	4,900
Lymphocyte (/cumm)	1,500
% E ⁺ T lymphocytes	23.4 (62.8~72.2)
% sIg ⁺ lymphocytes	39.3
T cell subsets	
OKT 3 (%)	45.4 (57.4~79.2)
OKT 4 (%)	34.0 (30.3~53.3)
OKT 8 (%)	15.9 (24.5~30.3)

2. Lymphocyte transformation (cpm)

	patient	control
(-)	310 ± 6	166 ± 24
PHA	12,066 ± 627	23,284 ± 1,917
Con A	12,228 ± 988	15,396 ± 880
PWM	2,730 ± 99	6,238 ± 625

3. Skin tests for delayed-type hypersensitivity

SK-SD	(-)
PPD	(+)
Candida	(+)

4. Serum immunoglobulins

Ig G (mg/dl)	384
Ig M (mg/dl)	18
Ig A (mg/dl)	58
Ig E (U/ml)	41

5. Isohemagglutinins (Blood group : 0)

1 : 2 anti-A	
0 anti-B	

表7 MLC Posttransplantation

Responders	Stimulators	³ H-incorporation	SI*
Patient	Patient	399±110	1.0
	Mother (Donor)	935± 13	2.3
	Unrelated	5,294±979	13.3
Mother	Mother	2,774±514	1.0
	Patient (Recipient)	10,812±565	3.9
	Unrelated	15,793±995	5.7

* Stimulation index.

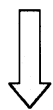
の根治療法として行われており、かなりの成績をあげるに至っている。骨髄は通常 HLA の一致した donor より採取されるが、その場合でも HLA 以外の組織適合抗原の不一致によってしばしば重篤な GVH 反応がおこる。さらに、HLA 不一致の場合は、致命的な GVH 反応は必発であり、これをどのように予防ないし治療するかが骨髄移植の成否をきめる大きな要因となっている。今回われわれは HLA 一致の提供者の得られない重症複合型免疫不全症の患児に、大豆凝集素および羊赤血球を用いて T 細胞を除去した母親の骨髄細胞を移植することにより、明らかな GVH 反応を認めることなく生着に成功し、免疫能の回復を達成できた。移植後患児の T 細胞は母親由来のリンパ球であることが確認されたが、B 細胞は患児由来のものであり、いわゆる chimerism として生着していた (表5)。

経過中、BCG 接種による全身性 BCG 感染症の発症をみたが、抗結核剤の使用により完治せしめることができたことも宿主の免疫能が再建された証明となると考えられる。

現在、HLA 一致の donor を得られないことが骨髄移植の大きな障害となっているが、本法を用いることにより HLA 不適合の骨髄細胞を移植しても GVH 反応をおこすことなく生着が可能であることがわかった。今回の成功は、HLA 一致の donor が得られない場合でも治癒を目的とした骨髄移植が行えるということであり、今後さらに重症血液疾患のみならず、他の先天性代謝疾患への適応が期待される。

文 献

- 1) Hobbs, J.R. : Bone marrow transplantation for inborn errors. Lancet, ii : 735, 1981.
- 2) Resner, Y. et al. : Transplantation for acute leukemia with HLA-A and B non-identical parental marrow cells fractionated with soybean agglutinin and sheep red blood cells. Lancet, ii : 327, 1981.
- 3) Thomas, E.D. et al. : Bone marrow transplantation. N. Eng. J. Med., 292 : 832, 895, 1975.



検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



.はじめに

骨髄移植は,重症複合型免疫不全症,重症型再生不良性貧血,白血病などの難治性血液疾患の治療法としてその地位を築きつつある。さらに近年,一部の先天性代謝異常症や,ヘモグロビン異常症,大理石病などの治療においても骨髄移植がおこなわれ,成功例も報告されはじめている。骨髄の donor は通常 HLA の一致した兄弟姉妹であるが現実的にはその獲得は困難である。今回,われわれは重症複合型免疫不全症の患児において大豆凝集素および羊赤血球により T 細胞を除去した HLA 不適合の母親の骨髄細胞の移植を試み,graft-versus-host re-action(GVH 反応)の出現をみることなく生着し,部分的な免疫能の再建に成功したので報告する。