

腸管マクロファージによる、同種造血幹細胞移植後の腸管ホメオスタシスの維持機構

橋本大吾

北海道大学病院 血液内科

【研究の背景】

同種造血幹細胞移植は血液悪性腫瘍等に対して治癒を望める治療法であるが、移植片対宿主病 (graft-versus-host disease; GVHD) はしばしば致命的となり移植の安全な適用を阻んでいる。特に腸管 GVHD は難治性となりやすく、対策が必要である。最近申請者らは、腸管マクロファージ (Mφ) が免疫反応の調節に重要な役割を果たしている事を明らかにした (参考文献 1)。申請者は、以前リンパ組織に存在する組織固有 Mφ はドナー T 細胞の貪食および増殖抑制を通して GVHD を抑制する事を示した (参考文献 2)。一方、腸管上皮系細胞は様々な抗菌ペプチドの産生を通して、腸内細菌叢をコントロールしている事が判明しているが、これらの上皮系細胞の増殖・成長因子を産生している細胞は判明していない (参考文献 3)。

【目 的】

マウスの同種骨髄移植モデルを利用して移植後の腸管 Mφ や上皮系細胞の相互ネットワークの変化を明らかにして、新たな GVHD の予防法・治療法の開発を目指す。

【方 法】

1. 同種骨髄移植後の Mφ 生着: B6D2F1 マウスに前処置として全身放射線照射 (10Gy) を行い、ドナーである B6 マウスの骨髄および脾細胞を移植して、Mφ 等の免疫細胞の生着を経時的に観察する。
2. 同種骨髄移植における上皮系細胞傷害: 上皮系細胞である、腸幹細胞、Paneth 細胞 (α -defensin 陽性)、Goblet 細胞 (Mucin-2 陽性) の移植後の傷害と回復を観察する。
3. 移植後の腸管上皮増殖因子の変化: 移植後腸管から mRNA を抽出し、腸管上皮系細胞の増殖因子 (Wnt3、R-Spondins (R-Spo1~4)、IL-22) や免疫調整因子 (IL-1 β 、TNF- α 、TGF- β 等) を経時的に Real-time PCR 法で評価する。移植後に変化が見られた分子をさらに細胞群ごとに単離して詳しく検討する。
4. 腸内細菌叢や LPS との関連: GVHD による腸管内微小環境の変化により腸内細菌叢は劇的に変化するが、これが上記の因子に及ぼす影響を調べる。移植前後に広域抗生剤の経口投与を行って、上記の因子が変化するか否かを検討する。

【結 果】

1. 同種骨髄移植後に腸管のマクロファージは速やかに生着した: 小腸および大腸のマクロファージは、フローサイトメトリーを利用して同定した。これらの細胞は、移植後 7 日程度で速やかに生着した。
2. 同種骨髄移植後の GVHD は上皮系細胞を著明に傷害する: 同種骨髄移植後、腸幹細胞、Paneth 細胞、および Goblet 細胞を経時的に定量した。GVHD を発症したマウスでは、移植後早期 (7 日程度) で、腸幹細胞および Paneth 細胞が消失している事が確認された。さらに、Goblet 細胞を Image scanner で定量したところ、小腸では軽度、大腸では著明に減少していた。これらの変化は、上皮増殖因子 X を投与する事によって防ぐ事が可能であった。

3. 上皮増殖因子 Y の発現は GVHD によって減少する:同種骨髄移植後、腸管から RNA を抽出し、上皮増殖因子 Y (上皮増殖因子 X のアイソフォームである) の mRNA の発現を real time PCR 法にて確認したところ、GVHD によって上皮増殖因子 Y の発現は有意に抑制されていた。さらに、腸管から蛋白を抽出して上皮増殖因子 Y が GVHD によって低下する事を Western blot 法にて確認した。
4. 腸管の間葉系細胞からの上皮増殖因子 Y の産生は LPS 依存性である:間葉系細胞は、上皮増殖因子 Y を比較的豊富に産生する事を real time PCR 法にて確認した。これらの発現は LPS 刺激によって上昇したが、Mφ の存在は必要としなかった。

【考 察】

我々の研究によって、GVHD は上皮系細胞やその間細胞を直接傷害するのみならず、上皮系細胞の増殖因子の産生をも阻害している事がわかった。腸管 Mφ は移植後速やかに生着する事が判明したが、上皮増殖因子の発現には特に関与しておらず、移植後の上皮系細胞の維持における Mφ の役割は未だ不明である。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

GVHD が、上皮系細胞の増殖因子の産生、もしくは産生細胞を標的とするという事実は、本研究で初めて明らかになった。これは、GVHD が難治性となる一因と考えられ、上皮増殖因子産生細胞の保護は GVHD の予防治療に重要な役割を持つと考えられる。このような概念はこれまでになく、臨床における GVHD 予防・治療法の再考を促すものである。また、上皮増殖因子産生細胞を用いた細胞療法も有効である可能性があり、今後の研究が待たれる。

【参考・引用文献】

1. Mortha A, Chudnovskiy A, Hashimoto D, Bogunovic M, Spencer SP, Belkaid Y, Merad M. Microbiota-dependent crosstalk between macrophages and ILC3 promotes intestinal homeostasis. *Science*. 343: 1249288, 2014.
2. Hashimoto D, Chow A, Greter M, Saenger Y, Kwan WH, Leboeuf M, Ginhoux F, Ochando JC, Kunisaki Y, van Rooijen N, Liu C, Teshima T, Heeger PS, Stanley ER, Frenette PS, Merad M: Pretransplant CSF-1 therapy expands recipient macrophages and ameliorates GVHD after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *J Exp Med*. 208, 1069-1082, 2011.
3. Eriguchi Y, Uryu H, Nakamura K, Shimoji S, Takashima S, Iwasaki H, Miyamoto T, Shimono N, Hashimoto D, Akashi K, Ayabe T, Teshima T. Reciprocal expression of enteric antimicrobial proteins in intestinal graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant*. 19: 1525-9, 2013.