

## 移植片対宿主病による不妊メカニズムの解明

加藤光次<sup>1)</sup>, 下地園子<sup>1)</sup>, 橋本大吾<sup>2)</sup>, 赤司浩一<sup>1)</sup>, 豊嶋崇徳<sup>1)</sup>

- 1) 九州大学病院 血液腫瘍内科  
2) 北海道大学病院 血液内科

### 【研究の背景】

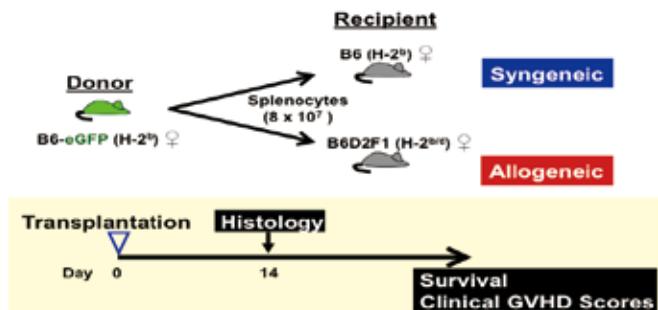
同種造血幹細胞移植は、難治性造血器腫瘍の根治治療である。一方、長期生存が得られた若年患者の同種移植後に抱える不妊の問題は、克服すべき課題である。従来、移植後不妊は、移植前処置として施行される大量化学療法や全身放射線照射の合併症として捉えられている。同種移植の合併症である移植片対宿主病(graft-versus-host disease; GVHD)は、肝臓・腸管・皮膚を標的臓器とし、卵巢はその標的臓器とは従来考えられていなかった。我々の先行研究においては、GVHD が卵巢を標的臓器とし、不妊の原因となりうる可能性が示唆された。

### 【目的】

GVHD による卵巣障害の詳細なメカニズムを明らかにし、新たな卵巣保護法を開発する。

### 【方法】

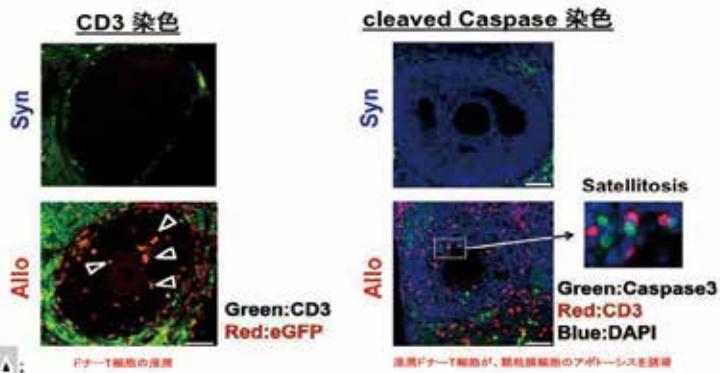
本研究では、卵巣に対する放射線障害の影響を除くため、非照射 GVHD マウスモデルである MHC major mismatch の移植(図 1)を用いる。卵巣病理、排卵数、出産仔数、内分泌機能を評価する。本研究計画では、(1) 卵巣における GVHD の標的細胞の同定、(2) GVHD 発症に関する卵巣特異的浸潤ドナー T 細胞の検討およびその治療標的的探索を行なう。先行研究においては、卵巣中の特に顆粒膜細胞が GVHD の標的細胞である可能性が強く、そのメカニズムを中心に検討を行なう。



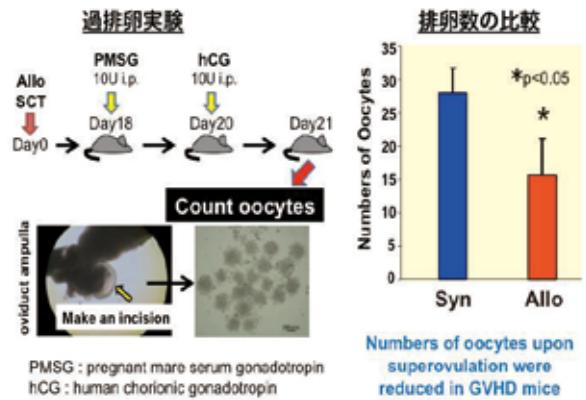
(図 1) 実験デザイン(非放射線照射マウスモデル)

### 【結果】

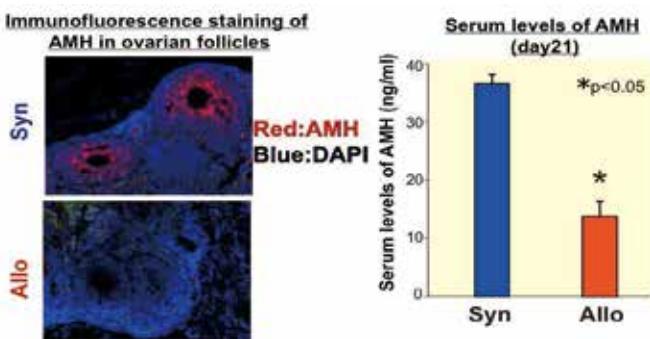
GVHD 群での、ドナー T 細胞の顆粒球膜細胞への浸潤、および顆粒膜細胞のアポトーシス(図 2)を認めた。また、排卵および交配実験など(図 3)から、GVHD による卵巣機能不全が示唆された。抗ミューラ管ホルモン(AMH)は顆粒膜細胞から產生されるホルモンである。図 1 で示された実験系において、GVHD 群では顆粒膜細胞の破壊に伴う AMH の低下を認めた(図 4)。ステロイドやサイクロスボリンなどの免疫抑制剤の使用により、顆粒膜細胞の機能は保持された。前処置の抗癌剤(マウスミニ移植系: ブスルファン 12mg/kg ip、サイクロホスファマイド 120mg/kg ip)を使用した臨床に近い移植系においても、同様の結果が得られた。卵巣に浸潤する同種ドナー T 細胞から RNA を抽出、マイクロアレイ解析を行ない、脾臓同種ドナー T 細胞と比較したところ、Ccl7 や Glis1 など 35 遺伝子で卵巣特異的に変化する遺伝子群の存在が明らかになった(図 5)。



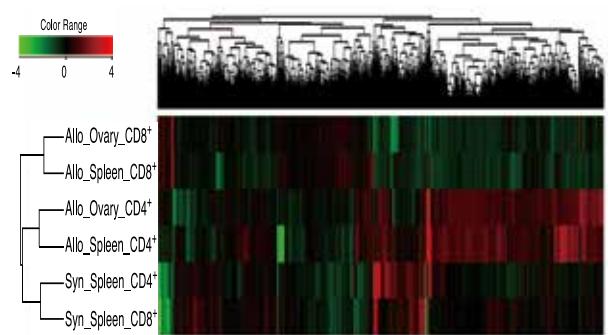
(図 2) 顆粒球膜細胞の浸潤 T 細胞によるアポトーシス



(図 3) 過排卵実験: GVHD 群での排卵数減少



(図 4) GVHD 群での、顆粒膜細胞からの AMH の産生低下



(図 5) 卵巣 GVHD でのドナー T 細胞の遺伝子発現

## 【考 察】

卵巣は GVHD の標的臓器であることが証明できた。この卵巣 GVHD の発症メカニズムとして、卵巣の顆粒膜細胞を標的として、卵巣機能不全が進行することが考えられた。遺伝子発現プロファイリングの結果から、卵巣 GVHD は他の標的臓器とは異なる何らかの特異的な発症メカニズムが存在することが示唆された。

## 【臨床的意義・臨床への貢献度】

造血幹細胞移植の成績は近年向上、長期生存患者が増加している。従来の若年女性移植後不妊の対策は、卵子保存などの移植前介入を中心であった。しかし、移植を必要とする造血器悪性腫瘍患者では、早急な治療介入の必要性から、不妊に対する移植前の対策がとりづらく、移植後妊娠性を保持する機会は多くの場合失われていた。

確かに不妊の原因となる移植前処置を減弱するミニ移植の導入により、近年妊娠性を保持しうる可能性もでてきたが、依然不十分である。一方、以前より GVHD 発症患者において不妊が高い頻度でみられるという臨床的観察があり、移植後の妊娠性保持のためには、その対策が必要とされていた。本研究は、「GVHD が不妊の原因になる」という理論的背景を明らかにし、今後の卵巣保護法開発の基盤となりうる。

さらに、免疫学的聖域であるはずの卵巣が、その聖域を越えて、いかに免疫異常の標的となり傷害を受けるかという疑問に答える可能性がある。つまり、本研究は GVHD に留まらず、免疫学的聖域である中枢神経系などでの免疫疾患発症機序の解明に示唆を与え、広く免疫学の分野に応用しうるものと期待される。

## 【論文発表】

Shimoji S et al. Graft-versus-host disease targets ovary and causes female infertility in mice. Blood. 2016 In Press.