

遺伝子組換えトロンボモジュリンによる同種造血幹細胞移植後免疫反応の制御機構の解明

佐竹敦志

関西医科大学 内科学第一講座

【研究の背景】

同種造血幹細胞移植は白血病や悪性リンパ腫等の血液悪性腫瘍に対する根治的治療法であるが、ドナーの免疫細胞がホストの臓器を攻撃する移植片対宿主病(GVHD)は致死的合併症の1つであり、その制御の成否は治療成績を大きく左右する。近年、移植細胞ソースの多様化や移植技術、支持療法の進歩などにより、同種造血幹細胞移植を受ける患者の高齢化や HLA 不一致移植など GVHD ハイリスクの移植症例数は増加している。これまで GVHD に関する基礎的、臨床的研究が数多く行われてきたが、未だに GVHD の完全な制御は困難であり、GVHD に対する新たな制御方法の開発が望まれている。同種造血幹細胞移植後の血栓性合併症予防目的で遺伝子組換えトロンボモジュリン(rTM)を用いる臨床研究において、移植後早期に rTM 投与を受けていた患者では急性 GVHD 発症率が少なかったことが判明している。しかし、rTM による GVHD 抑制効果やそのメカニズムについては明らかになっていない。

【目的】

GVHD は、造血器悪性腫瘍に対する根治的治療である同種造血幹細胞移植(HSCT)後の重大な合併症である。本研究では、プロテイン C の活性化作用や、炎症メディエーターである High-mobility group box 1 (HMGB1)の中和作用を有する rTM の急性 GVHD に対する予防効果とそのメカニズムを解明し、rTM による新たな急性 GVHD 予防法を開発するための基礎データを得ることを目的とする。

【方 法】

① rTM による急性 GVHD 抑制効果の解明

rTM の GVHD 抑制効果を証明するために急性 GVHD のマウスモデルを用いて、急性 GVHD を誘導したマウスに対して rTM の予防投与を行う。MHC 不一致急性 GVHD モデル(B6 →Balb/c)を用い、致死的放射線照射により前処置を行ったのちに、ドナー由来 T 細胞除去骨髄細胞と T 細胞の輸注を行う。放射線照射日(移植前日)から rTM の腹腔内投与(1 mg/kg)を移植後 28 日目まで行い、rTM の投与を行わないコントロール群と GVHD score、生存率、体重減少率などを比較検討した。

② HMGB1 の動態を調べ、rTM が GVHD に及ぼす効果との関係を明らかにする。

急性 GVHD における HMGB1 の動態を調べる。上記急性 GVHD モデルを使用し、HMGB1 の血中濃度を経時的(移植後 7 日、14 日、21 日)に測定し、同種移植群と同系移植群を比較し GVHD 発症と HMGB1 との相関性を調べた。

③ rTM が Treg 増殖と免疫抑制機能に及ぼす影響を調べる。

rTM による GVHD 抑制作作用と制御性 T 細胞(Treg)の関わりを調べるために、移植後マウスの末梢血、脾細胞を採取し Treg の比率を含むリンパ球の解析を rTM 投与群と非投与群で比較検討した。

【結 果】

急性 GVHD を誘導したマウスにおいて、rTM の予防投与によりマウスの生存率、GVHD スコア(体重、活動性、皮膚症状、毛の状態、姿勢)は軽減され、rTM によって GVHD の発症が抑制される事がわかった。末梢血、脾臓細胞のフローサイトメトリーを使用したリンパ球解析では、rTM の投与、非投与群で Treg 比率の差は見られなかった。ELISA 法による HMGB1 の経時的測定では、移植後 7 日目で最も HMGB1 濃度が上昇していることがわかった。

【考 察】

これまでの解析から、マウス急性 GVHD モデルマウスにおいて rTM の予防投与は GVHD の発症抑制効果を持つことがわかった。Treg 比率に変化が見られなかったことから、rTM の GVHD 抑制作作用は Treg の免疫抑制作作用を介したものではない可能性が高いと考える。HMGB1 の血中濃度解析の結果から、rTM の作用が HMGB1 の中和を介したものであれば、rTM の投与は移植後 2 週間程度までの短期間投与で効果が得られる可能性があると予想される。しかし、rTM による詳細な GVHD 抑制メカニズムや移植片対白血病効果に及ぼす作用については、未だ明らかにできておらず、プロテイン C 活性化や HMGB1 の中和作用や、他の免疫細胞や組織に及ぼす作用などについても、今後さらなる検討が必要である。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

従来の免疫抑制剤とは異なる rTM による GVHD 抑制方法を開発することで、免疫抑制剤との併用による GVHD 予防の強化を図ることが期待できる。ステロイドやシクロホスファミドなどの薬剤と比較し、重大な副作用や細胞毒性の少ない rTM を利用することができれば、近年増加する高齢者での移植や HLA 不一致移植などの、GVHD ハイリスク症例に対しても有効な新たな急性 GVHD 予防手段となり得るものと期待される。

【参考・引用文献】

1. Nomura S, Maeda Y, Ishii K, Katayama Y, Yagi H, Fujishima N, Ota S, Moriyama M, Ikezoe T, Miyazaki Y, Hayashi K, Fujita S, Satake A, Ito T, Kyo T, Tanimoto M: Relationship between HMGB1 and PAI-1 after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. Journal of Blood Medicine 2016; 7: 1-4.
2. Abeyama K, Stern DM, Ito Y, Kawahara K, Yoshimoto Y, Tanaka M, Uchimura T, Ida N, Yamazaki Y, Yamada S, Yamamoto Y, Yamamoto H, Iino S, Taniguchi N, Maruyama I: The N-terminal domain of thrombomodulin sequesters high-mobility group-B1 protein, a novel antiinflammatory mechanism. J Clin Invest 2005; 115:1267-1274.
3. Andersson U, Tracey KJ: HMGB1 Is a Therapeutic Target for Sterile Inflammation and Infection. Annu Rev Immunol 2011; 29:139-62.