

同種造血幹細胞移植後の急性移植片対宿主病における早期発見及び

治療反応性予測を目的とした microRNA の評価

諫田 淳也

京都大学医学部附属病院 血液内科

【研究の背景】

急性移植片対宿主病 (graft-versus-host disease, GVHD) は、同種造血幹細胞移植後に、患者の臓器に対するドナー細胞の免疫反応により発症する。消化管や肝臓、皮膚の臓器障害を来し、移植関連死亡の主な原因の一つとなる。急性 GVHD の発症リスクとして、HLA 不適合、全身放射線照射や骨髄破壊の前処置の使用など様々なものが報告されているが、近年、60 歳以上の高齢患者に対する移植など移植関連合併症リスクの高い移植件数が増加しており、急性 GVHD の予防・治療法の改善が急務である。急性 GVHD の診断はウイルス感染との鑑別が必要であることから、組織生検などによる確定診断を治療介入の目安とすることが多い。そのため、全身状態が不安定な患者における侵襲的な検査が必要となる。また、確定診断に至るまでに時間を要することから治療介入の遅延が大きな問題である。さらに急性 GVHD の治療にはステロイドや免疫抑制剤が使用されるが、それらの使用は感染症のリスクを高める。そのため、非侵襲的かつ鋭敏なバイオマーカーの検索および早期治療介入は移植成績の向上に貢献すると考えられる。microRNA は転写後の標的遺伝子に結合することでタンパク質への翻訳、発現を調節することが知られている。細胞増殖やアポトーシス誘導、代謝など多岐に渡る分野における調節因子であり、非侵襲的かつ安定した生体内変化の評価が可能なることから、急性 GVHD の様な全身性免疫症候群では移植後早期においても高感度での変化検出が期待できる。

【目 的】

第一に、当院の同種移植における、患者背景や移植方法が急性 GVHD 発症に及ぼす影響を明らかとする。次に、急性 GVHD の発症及び重症度予測、治療反応性が予測可能な血清 microRNA のバイオマーカーを探索的に検討する。

【方 法】

患者背景や移植方法が、急性 GVHD 発症に及ぼす影響を検討するため、1990 年から 2018 年の間に京都大学医学部附属病院で初回の同種移植を受けた 575 名の患者を対象として、グレード II-IV の急性 GVHD 発症および死亡のリスク因子に関して、Fine&Gray 回帰分析および Cox 回帰分析による単変量解析、多変量解析を行った。

また、同種造血幹細胞移植前から 1 ヶ月後まで、1 週間毎に血清の凍結保存を行った。この中から、移植前、移植後 1 週、2 週、3 週、4 週の血清が連続的に凍結保存され、かつこの期間、再発を認めていない患者を抽出した。

NucleoSpin miRNA plasma を用いて、健常者および患者の血清から microRNA の抽出を行った。

なお、本研究は、京都大学医学部附属病院医の倫理会で承認を得た。

【結 果】

初回同種移植 575 例のうち、臍帯血移植は 109 例、血縁者間移植は 229 例、非血縁者間移植は 237 例であった。また、GVHD 予防法はカルシニューリン阻害剤に加えて、メトレキセートが用いられている症例が 399 例、MMF あるいは MMF とメトレキセートが併用されている症例が 123 例、その他(カルシニューリン阻害剤のみ)は 53 例であった。また、抗胸腺細胞免疫グロブリンは 16 例に使用されていた。患者・ドナー間の HLA 不適合は 174 例で認められた。多変量解析において、カルシニューリン阻害剤のみの GVHD 予防、抗胸腺細胞免疫グロブリン不使用、および HLA 不適合の存在がグレード II-IV 急性 GVHD 発症と関連していた。一方、ドナーソース自体は発症に影響していなかった。生存に関しては、臍帯血移植は、2011 年以降の再発高リスク群に限定すると、2 年再発率は臍帯血移植が 23%である一方、血縁者間移植は 58%、非血縁者間移植は 54%と臍帯血移植において有意に再発リスクが低下していた。すなわち、急性 GVHD の発症頻度は増加しなくとも、移植片対腫瘍効果が発揮されていると考えられた。

また、血清が保存されている患者 109 例中、急性 GVHD 発症なしが 48 例(疾患:AML 20, MDS 8, ALL/LBL 15, その他 5)、グレード I が 21 例(AML 5, MDS 5, ALL/LBL 9, その他 2)、グレード II が 28 名(AML 8, MDS 4, ALL/LBL 9, その他 7)、グレード III-IV が 12 名(AML 4, MDS 1, ALL/LBL 4, その他 3)であった。末梢血幹細胞移植は 10 例、骨髄移植は 57 例、臍帯血移植は 42 例。また HLA 不適合数は、適合が 53 例、1 抗原不適合が 25 例、2-3 抗原不適合が 26 例であった。まず、健常人の血清を用いて microRNA が十分量、回収できていることを確認した。次に、患者血清を用いて microRNA の抽出を行ったところ、移植後 1-2 週の血清からは回収不良であったが、移植後 3-4 週の血清からは十分量の microRNA が回収できた。現在、回収した microRNA の一部を用いて、網羅的解析を行っている。

【考 察】

当科の症例において、急性 GVHD 発症リスク因子として、カルシニューリン阻害剤のみ、抗胸腺細胞免疫グロブリン不使用、および HLA 不適合の存在が抽出された。このことを考慮し、microRNA と急性 GVHD 発症の関係を考察する必要がある。また、臍帯血移植は急性 GVHD 発症リスクとはならない一方で、再発高リスク群における再発率低下と有意に関連していた。このことは急性 GVHD と移植片対腫瘍効果は必ずしも相関しないこと、移植ソースによって異なることを示している。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

同種造血幹細胞移植後の急性 GVHD には、一般的には組織学的診断を要するが、組織学的診断は、侵襲が大きい場合や診断及び治療開始の遅延につながる事が多く、必ずしも有用ではない。本研究により、血清 microRNA という非侵襲的測定が可能なバイオマーカーの急性 GVHD 早期診断における有用性を検討し、臨床における発症予測及び治療開始へ応用できる可能性を模索している。有用なマーカーが得られた場合は、重篤な臓器障害が完成する前の免疫学的治療開始が可能となり、治療期間短縮及び治療反応性の改善を含めた予後改善への寄与が期待される。