

移植関連血栓性微小血管障害症の病態解明：新規治療標的及びバイオマーカーの探索

大河原浩

福島県立医科大学 血液内科学講座

【研究の背景】

同種造血幹細胞移植 (HSCT) は造血器腫瘍や造血障害の唯一の根治治療である。移植関連血栓性微小血管障害症 (TA-TMA) は HSCT の予後を左右する合併症であるが、有効な治療法は未だ不確立である。我々はこれまで、造血器腫瘍及び炎症性疾患の病態解明の観点から、プロテイン C 補因子でありながら受容体型チロシンキナーゼ TAM (Tyro3, Axl, Mer) のリガンドである growth arrest-specific gene 6 (Gas6) の多面的な働きとその分子機序に関する研究を行ってきた。多発性骨髄腫細胞及び骨髄間質細胞から分泌される Gas6 が骨髄腫細胞の増殖を増強させるオートライン/パラクライン機構の存在を見出し、Gas6-Mer シグナルが多発性骨髄腫の新たな治療候補となることを見出した¹⁾。我々は本研究の予備実験で、HSCT 患者の急性移植片対宿主病 (GVHD) / TA-TMA 好発時期に血清 Gas6 が有意に高発現する結果を見出していた。

【目 的】

本研究は GVHD/TA-TMA の病態機序における Gas6-Mer シグナルの役割を明らかにし、GVHD/TA-TMA の予測マーカーとして血清 Gas6 が有用であるか否かを検証する。さらに、GVHD/TA-TMA の新規治療戦略候補としての選択的 Mer 受容体阻害剤の有用性を検証する。

【方 法】

1. HSCT 症例の血清 Gas6 濃度と GVHD 及び TA-TMA の指標 (LDH、凝固/線溶関連マーカー、腎機能、尿蛋白、血小板輸血反応性) との関連を明らかにする。
2. リコンビナント Gas6、GVHD/TA-TMA 症例血清を培養血管内皮細胞に添加し、抗凝固因子トロンボモジュリン (TM) 及び内皮型一酸化窒素合成酵素 (eNOS) 発現低下、接着分子 ICAM-1 及び VCAM-1 低下発現を検討する。また、同時に MAP キナーゼ、NF- κ B 活性を検証する。さらに、それら反応に対する選択的 Mer 受容体阻害剤 (UNC2250) の効果を検証する。
3. ドナー B6.SJL-PtprcaPEP3b/BoyJ マウス、レシピエント BALB/C マウスを用いた同種移植マウスを作成する。
 - ① 移植マウスモデルの血清 Gas6 濃度を ELISA で測定する。マウスモデルの GVHD 病変 (肝臓、腸管、皮膚)、TMA 病変 (腎臓、肝臓) における Gas6 及び Mer 受容体の発現を免疫染色で検証する。
 - ② 移植マウスモデルに UNC2250 を静脈内投与し、マウスモデルの GVHD/TA-TMA 病変に対する UNC2250 の抑制効果を病理組織学的に検証する。

【結 果】

HSCT 症例の血清 Gas6 濃度は急性 GVHD や TA-TMA 発症の好発時期 3-5 週に増加した。増加した血清 Gas6 は FACS にてドナー T リンパ球及び単球由来であることが明らかとなった。GVHD 患者の腸管及び皮膚組織の免疫染色では Gas6 及び TAM 受容体 Mer が高発現していた。また、血清 Gas6 は LDH、D ダイマー及び PIC 増加と関連し、選択的 Mer

受容体阻害剤 UNC2250 は血小板凝集惹起物質 (ADP) で誘導される血小板凝集亢進を有意に抑制した。これらの結果は Gas6-Mer シグナルが GVHD/TA-TMA に認める凝固線溶異常及び血栓形成亢進に寄与する可能性を示した。培養内皮細胞を用いた in vitro 実験では、リコンビナント Gas6 及び GVHD/TA-TMA 症例の血清を内皮細胞に添加すると内皮障害 (TM 発現低下、eNOS 発現低下、ICAM-1 及び ICAM-1 発現増加) を誘導し、UNC2250 はそれら内皮障害マーカーの発現を抑制した。さらに、リコンビナント Gas6 及び GVHD/TA-TMA 血清添加は内皮細胞のアポトーシスを誘導し、UNC2250 はそのアポトーシスを抑制した。これらの結果より、UNC2250 は GVHD と TA-TMA の共通病態である内皮障害を抑制することを示している。同種移植マウス実験では、肝 GVHD 病変と肝腎 TMA 病変が UNC2250 静脈内投与で抑制された。

【考 察】

本研究は GVHD/TA-TMA 病態の一端を解明し、Gas6-Mer シグナルが GVHD/TA-TMA に対する新規治療やバイオマーカー候補となり、創薬や新規検査法の開発に貢献できる可能性を秘めていることを示した。これらの研究成果は米国科学雑誌 Blood Advances に掲載された²⁾。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

GVHD 及び TA-TMA は HSCT の生命予後を左右する重要な合併症である。しかしながら、GVHD 及び TA-TMA の病態は未だ不明な点が多く、標準治療の確立は急務である。また、従来の GVHD 及び TA-TMA の診断指標は発症予知、治療反応や予後予測には十分とはいえず、新規マーカーの同定が求められている。Gas6-Mer シグナルは GVHD 及び TA-TMA の有用なバイオマーカー及び新規治療標的となる可能性を秘めており、本研究成果は今後の血液診療の向上に貢献する。

【参考・引用文献】

1. Ohkawara H, et al. Autocrine and Paracrine Interactions between Multiple Myeloma Cells and Bone Marrow Stromal Cells by Growth Arrest-specific Gene 6 Cross-talk with Interleukin-6. J Biol Chem. 2017;292:4280-92.
2. Ohkawara H, et al. A critical role of the Gas6-Mer axis in endothelial dysfunction contributing to TA-TMA associated with GVHD. Blood Adv. 2019;3:2128-43.