

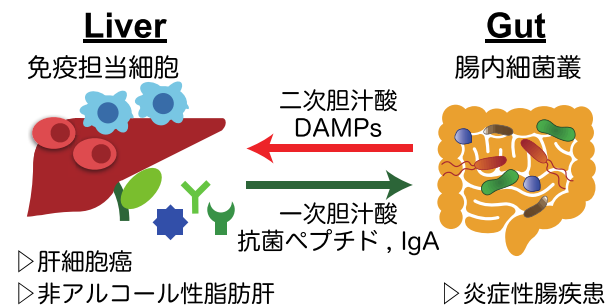
## 肝臓 GVHD の病態形成における腸内細菌叢の及ぼす影響についての解明

荒 隆英

北海道大学病院 血液内科

### 【研究の背景】

移植片対宿主病 (graft-versus-host disease; GVHD) は同種造血幹細胞移植における致命的合併症であり、腸管・肝臓は主たる標的臓器である。GVHD の病態生理には種々の免疫細胞が関与しており、その予防・治療として免疫抑制剤が用いられるが、過度な免疫抑制は感染症や原病再発につながるため、免疫抑制とは異なる新たな GVHD 予防・治療の創出が望まれる。肝臓 GVHD については、その侵襲性の高さから臨床検体が得難く、病態生理に不明な点が多い一方、腸管に関しては腸内細菌叢の乱れが GVHD の病態形成に密接に関わっていることが基礎研究および臨床研究から明らかとなっている。近年、肝臓は腸管と門脈・胆管を介して双方向に連携して生体防御に関わっていることが明らかとなり、腸内細菌叢が種々の肝疾患の発症に関与することが知られている。



### 【目 的】

肝臓 GVHD の病態生理を明らかにし、腸内細菌叢や腸管 GVHD との関係性について検討する。

### 【方 法】

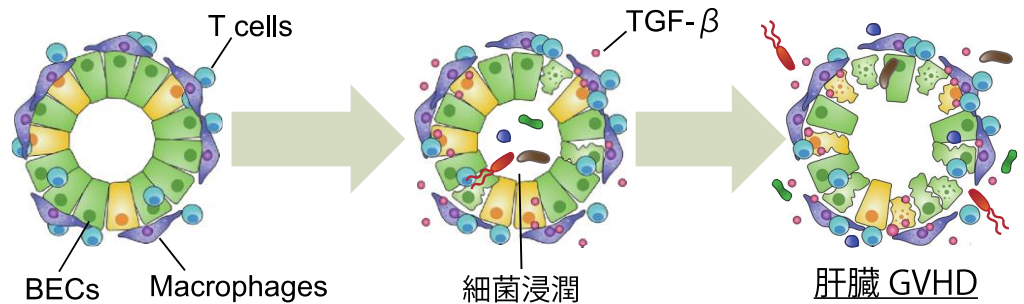
11Gy の全身放射線照射を行った B6D2F1 マウス (H-2<sup>b/d</sup>) に対して主要組織適合遺伝子複合体半合致の C57BL/6 マウス (H-2<sup>b</sup>) からの同種移植 (Allogeneic 群: Allo 群) もしくは、同系移植 (Syngeneic 群: Syn 群) を行った。移植片として、ドナーの脾臓細胞  $5 \times 10^6$  個と骨髄細胞  $5 \times 10^6$  個を輸注した。移植後の肝臓を採取し、Hematoxylin & Eosin 染色や蛍光免疫染色による組織学的検討やフローサイトメトリー (FCM)・Cytokine qPCR を用いて Syn 群と Allo 群を比較した。肝臓への細菌浸潤については EUB338 probe を用いた蛍光 in situ hybridization を用いて評価した。

### 【結 果】

Allo 群では Syn 群に比べ、胆管周囲へ炎症細胞が浸潤しており、有意に GVHD の病理スコアが上昇した。また、これらの浸潤している炎症細胞はドナー由来であり、移植早期には T 細胞が、その後マクロファージが門脈域へ浸潤することが明らかとなった。炎症細胞は IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、TGF- $\beta$  といった炎症性サイトカインを産生しており、特に TGF- $\beta$  については炎症性マクロファージが産生していた。これらの結果として、胆管上皮細胞 (Biliary Epithelial Cell; BEC) がアポトーシスに陥り、胆管傷害マーカーである MMP7 の発現上昇や、血漿ビリルビンの上昇を認め、肝臓 GVHD の病態が形成されることが示された。さらに EUB338 probe を用いた蛍光 in situ hybridization では、本来無菌状態にある肝臓において、病態形成期に Allo 群においてのみ門脈域に局限した細菌浸潤を認めており、肝臓 GVHD の病態形成への関与が示唆された。

## 【考 察】

肝臓 GVHD では T 細胞の浸潤に続いてマクロファージが浸潤し、炎症性サイトカインの産生などを介して BEC の傷害を引き起こしていることが明らかになった。同時期に本来無菌状態である肝臓



に細菌浸潤が生じており、肝臓 GVHD の病態形成に関与している可能性が示唆される。今後は肝臓 GVHD において浸潤している細菌の定量化およびメタゲノム解析を行うことで、その病態関与について詳細な解析を計画している。近年では腸管 GVHD に対する糞便移植治療といった腸内細菌を調整することによる GVHD 治療が考案されており、肝臓 GVHD においても、抗生剤内服による腸内殺菌の有効性等も検討していきたい。

## 【臨床的意義・臨床への貢献度】

肝臓 GVHD については、その侵襲性の高さから臨床検体が得難く、病態生理については不明な点が多かったが、本検討によって肝臓 GVHD と腸管 GVHD との相違点が明らかになった。具体的には、肝臓 GVHD では炎症性マクロファージが胆管周囲に浸潤して、TGF- $\beta$  を産生することが病態形成に重要な役割を果たしていることが特徴である。この事実から TGF- $\beta$  阻害は新たな肝臓 GVHD 予防・治療の手段になりうると言える。また、本検討では本来無菌である肝臓において GVHD 発症時には胆管周囲に細菌浸潤が認められており、これらも炎症を惹起する契機となっている可能性がある。今後は浸潤している細菌叢の肝臓 GVHD に及ぼす影響を検討し、腸管 GVHD 同様に腸内細菌叢を変化させることで肝臓 GVHD が制御できうるかを検討していく。腸内細菌叢の操作による GVHD 治療は免疫抑制に依存しない新たな GVHD 治療法の一つとして非常に有望といえる。

## 【参考・引用文献】

Yuta Hasegawa, Daigo Hashimoto, Ryo Kikuchi, Zixuan Zhang, Hajime Senjo, Tomoko Sekiguchi, Eiko Hayase, Takahiro Tateno, Emi Yokoyama, Shuichiro Takahashi, Xuanzhong Chen, Kazuki Yoneda, Hiroyuki Ohigashi, Takahide Ara, Takanori Teshima; Gvhd Targets Organoid-Forming Biliary Epithelial Stem Cells Via a TGF- $\beta$  -Dependent Manner. *Blood* 2021; 138 (Supplement 1): 90.