

Title	Influence of the intensity of conditioning on donor T cell migration to GVHD-target organs : a mechanism of less severe GVHD with reduced-intensity conditioning regimen
Author(s)	吉原, 哲
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/47438
DOI	
rights	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/repo/ouka/all/>

氏名	吉原 哲
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 20940 号
学位授与年月日	平成 19 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科分子病態医学専攻
学位論文名	Influence of the intensity of conditioning on donor T cell migration to GVHD-target organs : a mechanism of less severe GVHD with reduced-intensity conditioning regimen (ドナーTリンパ球のGVHD標的臓器への遊走における、前処理強度の影響：前処理を弱めた移植により、GVHDが軽減するメカニズム)
論文審査委員	(主査) 教授 川瀬 一郎 (副査) 教授 青笹 克之 教授 金倉 譲

論文内容の要旨

[目 的]

同種造血幹細胞移植は、化学療法のみでは治癒に至らない造血器腫瘍に対して治癒をもたらすことが可能である。しかしながら、HLA 適合同胞、ないし HLA 適合非血縁ドナーが得られないために、移植を受けられない患者が多く存在する。HLA 半合致血縁者ドナーからの移植が可能であれば、ほぼ全ての患者が移植を受けられることになるが、重度の移植片対宿主病 (GVHD) が問題とされてきた。一方、近年、HLA 適合移植において、前処置を弱めた移植 (RIST) が盛んに行われるようになった。これにより、高齢、あるいは臓器障害を持つ患者に対する移植が可能となった。

我々は、RIST と HLA 半合致移植を組み合わせた、HLA 半合致 RIST を臨床において実践してきた。その結果、急性 GVHD は、骨髄破壊の前処置による移植 (MAST) に比べて軽度であることが明らかとなった。

今回、我々は、マウスの MHC 半合致移植モデルを用い、RIST により GVHD が軽減するメカニズムにつき検討した。GVHD のプロセスは、1) 前処置による組織障害、炎症性サイトカイン放出、2) 2 次リンパ組織におけるドナー T リンパ球の活性化および増殖、3) T リンパ球および炎症性サイトカイン等による標的臓器の攻撃、の 3 段階であると考えられている。このそれぞれについて、MAST と RIST につき比較、検討した。

[方法ならびに成績]

BDF1(H2^{bxd})をドナー、B6C3F1(H2^{b^hk})をレシピエントとする、MHC 半合致移植を行った。前処置は、TBI 8.5Gy 群、4.5Gy 群、3Gy 群の 3 群とした。TBI8.5Gy 群、4.5Gy 群では、day5 の時点で脾臓の T リンパ球の 95%以上がドナータイプと生着を認めたのに対し、TBI3Gy 群では、拒絶となった。また、TBI4.5Gy による前処置の後、移植を行わないと、移植後 14 日以内に、レシピエントの造血系が回復した。これより、TBI8.5Gy、4.5Gy、3Gy 群は、それぞれ、MAST、RIST、拒絶のモデルとなることが示された。

生存および GVHD につき、検討した。MAST 群の全例が 53 日までに死亡したのに対し、RIST 群および拒絶群では、全例が 80 日以上生存した。また、MAST 群では、RIST 群と比較し、有意に重度の GVHD を認めた。

まず、脾臓におけるドナーリンパ球の増殖、およびその形質につき検討した。MAST 群と RIST 群では、脾臓におけるドナーリンパ球数に有意差は認めなかった。また、ドナーリンパ球のアポトーシスについて Annexin-V により検討したところ、両群間に有意差を認めなかった。さらに、脾臓におけるドナーリンパ球の CD44、CD62L 発現についてフローサイトメトリーにより解析したところ、いずれも day5 までに CD44^{high}、CD62L⁻ の形質を持つリンパ球が大多数を占めるようになっており、両群間に差を認めなかった。この形質を有するリンパ球は、活性化状態にあり、リンパ節から末梢組織に移動する能力を有していると考えられている。以上より、2 次リンパ組織におけるドナーリンパ球の活性化および増殖については、前処置による影響は認められなかった。

次に、GVHD の標的臓器に対するドナーリンパ球の浸潤について、肝臓、肺組織から白血球を分離し、フローサイトメトリーで解析することにより検討した。その結果、RIST 群では、肝臓、肺に対するドナーリンパ球浸潤が有意に少ないことが明らかとなった（肝臓では day5、7、肺では day14 に有意差を認めた）。

最後に、血清 TNF- α につき、ELISA により検討した。MAST 群と RIST 群では、有意差を認めなかった。

[総 括]

RIST により GVHD が軽減されるメカニズムを明らかにするため、GVHD のプロセスにおける各段階について検討を行った。このメカニズムについては、これまでに、前処置により組織から放出される TNF- α レベルに差があること、RIST では混合キメラが形成され、これが GVHD を軽減する可能性があること、が報告されている。今回の実験系では、前者については、血清 TNF- α レベルに有意差を認めず、後者については、RIST 群でも早期に生着が得られており混合キメラの状態に無かったことから、影響があったとは考えにくい。今回の検討により、ドナーリンパ球が脾臓において増殖する時点では、MAST・RIST 間で差を認めないにも関わらず、RIST 群では標的臓器への浸潤が少なく、これにより GVHD が軽減されることが示された。

論文審査の結果の要旨

HLA 半合致血縁者間移植は、ドナーソースの問題を解決し、多くの造血器腫瘍患者に対して移植の可能性をもたらす一方、重症の移植片対宿主病（GVHD）が問題とされてきた。臨床において、前処置を弱めて HLA 半合致移植を行うと、重症 GVHD の頻度が低下する可能性が示唆された。

本論文では、マウスの MHC 半合致骨髓移植モデルを用い、前処置強度が移植片対宿主病（GVHD）の重症度に影響を与えるメカニズムについて検討を行った。GVHD の病態は、1) 前処置による組織障害、炎症性サイトカイン放出、2) 2 次リンパ組織におけるドナー T リンパ球の活性化および増殖、3) T リンパ球および炎症性サイトカイン等による標的臓器の攻撃、の 3 段階のプロセスであると考えられている。今回の検討により、前処置を弱めても、ドナー T リンパ球の脾臓における活性化、増殖、および血漿 TNF- α レベルについては有意な影響を受けないことが明らかとなった。一方、活性化 T リンパ球の肝および肺に対する浸潤は、前処置を弱めることにより有意に減少していた。以上より、前処置を弱めると、活性化リンパ球の GVHD 標的臓器浸潤が減少することにより、GVHD が軽減することが明らかとなった。

以上の内容は、臨床において HLA 半合致移植を行う上でも有意な知見であり、学位に値するものと認める。