

令和 3 年 5 月 21 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08328

研究課題名(和文)慢性移植片対宿主病における単球・マクロファージの役割の解明

研究課題名(英文)Role of monocyte and macrophage in chronic GVHD

研究代表者

前田 嘉信 (Maeda, Yoshinobu)

岡山大学・医歯薬学総合研究科・教授

研究者番号：60403474

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：慢性GVHDマウスモデルにおいて、syngeneic移植コントロールと比べ気管支肺胞洗浄液BALF中ではLy6CCD11c+単球および、Satが同種移植群で明らかにその割合が増加していることが明らかとなった。以上からLy6C- CD11c+ 単球およびSatMが慢性GVHDモデルにおいて何らかの役割をしていることが示唆された。Cebpb^{-/-}キメラマウスの細胞をドナーに使用し、慢性GVHDモデルにおいて解析した結果、急性GVHDが増悪することが明らかとなった。これはCebpb^{-/-}キメラマウスの細胞には抑制性細胞の頻度が低下しているためと考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

慢性GVHDの予防・治療薬としてこれまでT細胞を抑制する薬剤が使用されてきたが、十分な効果を発揮できていない。本研究により慢性GVHD、特に肺病変における単球・マクロファージの関与が明らかとなった。SatM (Segregated-nucleus-containing atypical monocytes) と名付けられたLy6C- 単球のなかでもCeacam1+, MSR1+の集団が肺合併症に関与することが示唆された。また、C/EBPbが移植後の免疫抑制に関与することも明らかとなった。これにより治療のターゲットが明らかとなり新規治療薬の開発に繋がる。

研究成果の概要(英文)：Chronic graft-versus-host disease (GVHD) is the main cause of late death and morbidity after allogeneic stem cell transplantation (SCT). Fibrosis constitutes the end stage of the inflammatory process in chronic GVHD leading to major morbidity. Recently, segregated-nucleus-containing atypical monocytes (SatM) that involved in lung fibrosis has been identified. Ly6c^{low} monocyte, Ly6c⁺ monocyte and SatM increased in BALF of allogeneic recipient. In the sclerodermatous chronic GVHD model, SatM increased in ear of allogeneic group. From these results, we hypothesized that SatM may cause the fibrosis of chronic GVHD. To demonstrate that SatM causes the fibrosis of chronic GVHD, we established GVHD model with SatM deficiency mouse (Cebpb^{-/-} mouse). Recipient of SatM deficiency mouse showed exacerbated GVHD, suggesting that Cebpb^{-/-} donor cells have decreased regulatory function.

研究分野：血液学

キーワード：慢性GVHD

1. 研究開始当初の背景

同種造血幹細胞移植は、血液悪性疾患に治癒をもたらす治療法として確立しており、近年の移植治療法の発展により移植成績は改善している。一方で、長期生存者の増加に伴い、QOLを低下させる慢性移植片対宿主病(GVHD)の制御がさらに重要となってきた。慢性GVHDは、移植後後期に自己免疫様の症状で発症し、特に皮膚を中心とした線維化が特徴的であるが、その病態は未だ明らかではなく治療法の開発は喫緊の課題である。

線維化に關与する細胞として単球・マクロファージは重要な役割を果たしている。マクロファージには、炎症を誘発するM1マクロファージと、抗炎症性、組織修復にかかわるM2マクロファージに大別され、皮膚GVHDが発症した組織中にM2マクロファージが浸潤しているとする研究報告がある。マクロファージ・樹状細胞の前駆細胞である単球に関しては、Ly6C+ CD11c-の単球に関しては、Ly6C+ CD11c-の単球から炎症性のマクロファージが分化する。一方、Ly6C+ CD11c-の単球からLy6C-の発現が低下し代わりにCD11cの発現が増強したLy6C- CD11c+の単球を経た場合、免疫寛容性のマクロファージが分化する。これらの細胞と慢性GVHDとのかわりは全く不明である。また、近年、Ly6C-単球のなかでもCeacam1+, MSR1+の集団をSatM (Segregatd-nucleus-containing atypical monocytes)と名付け、線維化の原因となる単球であることを明らかにされた。SatMはC/EBP β を強発現しており、血液系細胞のC/EBP β をノックアウトしたCebpbn $^{-/-}$ キメラマウスは、プレオマイシン誘導性肺線維症を発症しなかった。しかし、慢性GVHDにおけるSatMの役割は不明である。

2. 研究の目的

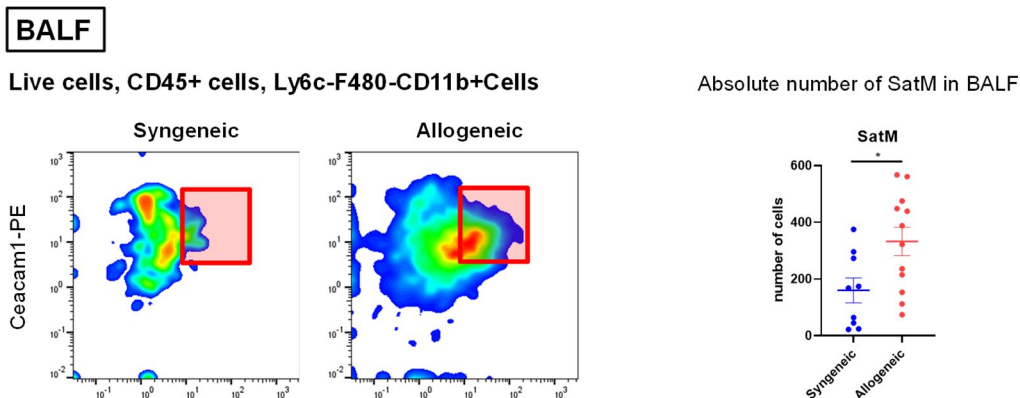
本研究では、単球・マクロファージがTh17細胞の下流で直接的に慢性GVHDに關与していること、また、それらの細胞のなかでもどのような細胞集団であるかを明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

慢性GVHDマウスモデルにはマイナー抗原不一致のBalb/c B10.D2を用いる。移植後経時的に脾臓、リンパ節、組織中のLy6C+ CD11c-単球とLy6C- CD11c+単球の増減をFACSにて解析し、B10.D2 B10.D2のsyngeneic移植をコントロールに比較し、Ly6C- CD11c+単球が慢性GVHD発症時に増加していることを明らかにする。さらに、慢性GVHDマウスモデルにおいて、SatMが血中あるいは組織で増加するかをCeacam1+, MSR1+をマーカーに経時的に測定する。次に、血液系細胞のC/EBP β をノックアウトしたCebpbn $^{-/-}$ キメラマウスは、血液細胞にSatMが欠損している。Cebpbn $^{-/-}$ キメラマウスをドナーに使用し、慢性GVHDの発現の有無を検討し、SatMの慢性GVHDにおける役割を明らかにする。

4. 研究成果

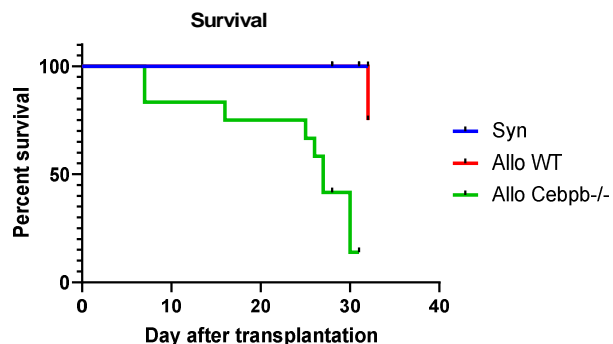
慢性GVHDマウスモデルにおいて移植後経時的に脾臓、リンパ節、組織中の免疫担当細胞をFACSにて解析し、B10.D2 B10.D2のsyngeneic移植をコントロールとして比較した。フルーサイトメトリーの解析の結果、皮膚、肝臓でLy6C- CD11c+単球が慢性GVHD発症時に増加していることを明らかにした。SatM(Segregatd nucleus containing atypical monocytes)の頻度を検討した結果、脾臓における割合ではsyngeneic移植コントロールと比べ有意な差を認めなかった。一方、気管支肺胞洗浄液BALF中ではLy6CCD11c+単球および、SatMが同種移植群



で明らかにその割合が増加していることが明らかとなった。以上から Ly6C- CD11c+ 単球および、

び SatM が 慢性 GVHD モデルにおいて何らかの役割をしていることが示唆された。

C/EBPb をノックアウトした *Cebpb^{-/-}* マウスは血液細胞の SatM が欠損しているが、胎生期に死亡する。この問題を回避するためにあらかじめ胎児肝を syngeneic のマウスに移植したキメラマウスを作成した。このキメラマウスは血液細胞のみ *Cebpb^{-/-}* マウス由来であり、長期に生存するが、血液細胞を調べたところ、*Ceacam1⁺*, *MSR1⁺* をマーカーに SatM が欠損していることを確認した。*Cebpb^{-/-}* キメラマウスの細胞をドナーに使用し、慢性 GVHD モデルにおいて解析した結果、急性 GVHD が増悪することが明らかとなった。これは *Cebpb^{-/-}* キメラマウスの細胞には抑制性細胞の頻度が低下しているためと考えられた。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------