

令和 3 年 6 月 1 日現在

機関番号：21601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08366

研究課題名(和文)同種移植関連微小血管障害症の病態解明：Gas6-TAMシグナルの意義

研究課題名(英文)A critical role of Gas6-TAM signaling pathway in the pathology of HSCT-associated TMA

研究代表者

小川 一英 (Ogawa, Kazuei)

福島県立医科大学・医学部・教授

研究者番号：40423800

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,000,000円

研究成果の概要(和文)：移植後TMAの分子機構の詳細は不明な点が多い。我々は、移植後TMAの好発時期に血清Gas6は有意に増加することを見出した。病理組織学的検討では、肝及び腎TMA病変にGas6及びTAM受容体Merが高発現した。培養細胞実験では、GVHD患者血清が内皮障害を誘導し、Mer阻害剤UNC2250は内皮障害を抑えた。移植後TMAの重要な病態である内皮障害の分子機序に、Gas6-Merシグナルが重要な役割を担う。移植後TMAを誘導マウスした実験の病理組織学的検討で、肝腎TMAの病変組織でGas6とMer発現増加を認めた。移植後TMA誘導マウスにUNC2250を投与すると、移植後TMA病変が著明に改善した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は移植後TMAの病態解明に寄与するとともに、Gas6-Merシグナルが新たな治療標的候補や新規バイオマーカーとなることを示した。我々の研究成果は新たな創薬や検査法の開発に大きく貢献できる可能性を秘めている。我々の研究成果は新たな創薬や検査法の開発に大きく貢献できる可能性を秘めている。これらの研究結果は2018年10月日本血液学会総会(大阪)、2018年12月米国血液学会学術集会(サンディエゴ)にて発表した。研究成果は米国科学雑誌Blood Advancesに掲載された(Blood Adv.2019;3(14):2128-2143.)。

研究成果の概要(英文)：Growth arrest-specific (Gas) 6 structurally belongs to the family of plasma vitamin K-dependent proteins working as a cofactor for activated protein C, and has growth factor-like properties through its interaction with receptor tyrosine kinases of the TAM family. Serum Gas6 levels were significantly increased in HSCT patients with transplant-associated thrombotic microangiopathy (TA-TMA), and Gas6 and a selective Mer tyrosine kinase (Mer) expression levels were upregulated in TA-TMA lesions of liver and kidney. In human umbilical vein endothelial cells (ECs), the exposure of sera isolated from patients with acute GVHD to ECs induced the downregulation of thrombomodulin, which were inhibited by UNC2250, a selective Mer tyrosine kinase inhibitor. In mouse HSCT models, we observed TA-TMA, which is characterized pathologically by thrombosis formation in the microvasculature of the liver and kidney. Of note, UNC2250 treatment suppressed TA-TMA in these mouse HSCT models.

研究分野：同種造血幹細胞移植

キーワード：Gas6 Mer 造血幹細胞移植 移植後TMA

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

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(文献 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。

2. 研究の目的

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。

3. 研究の方法

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. 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。

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。

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。

4. 研究成果

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 増加と相関し、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(文献 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.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Miki Furukawa, Xintao Wang, Hiroshi Ohkawara, Masahiko Fukatsu, Lobna Alkebsi, Hiroshi Takahashi, Kayo Harada-Shirado, Akiko Shichishima-Nakamura, Satoshi Kimura, Kazuei Ogawa, Takayuki Ikezoe	4. 巻 3 (14)
2. 論文標題 A critical role of the Gas6-Mer axis in endothelial dysfunction contributing to TA-TMA associated with GVHD	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Blood Advances	6. 最初と最後の頁 2128-2143.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 第81回 日本血液学会学術集会（2019.10.11-10.13, 東京）古川未希, 王新涛, 大河原浩, 深津真彦, Alkebsi Lobna, 小川一英, 池添隆之.
2. 発表標題 ARDSの新規治療ターゲット: Gas6-Merシグナル
3. 学会等名 第81回 日本血液学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 深津真彦
2. 発表標題 Gas6/Mer を目的とした新規ARDS治療法の開発
3. 学会等名 日本血液学会東北地方会主催 血液学シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 古川未希 大河原浩 小川一英 池添隆之
2. 発表標題 GVHD及びTMAの病態におけるGas6-TAM受容体シグナルの関与
3. 学会等名 2018年10月日本血液学会総会（大阪）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 古川未希 大河原浩 小川一英 池添隆之
2. 発表標題 A Critical Role of Growth Arrest-Specific Gene 6-Mer Axis in the Pathogenesis of Endothelial Damage Contributing to Thrombotic Microangiopathy Associated with Graft-Versus-Host Disease after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation
3. 学会等名 2018年12月米国血液学会学術集会(サンディエゴ)
4. 発表年 2018年

〔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
研究分担者	大河原 浩 (Hiroshi Ohkawara) (10381360)	福島県立医科大学・医学部・准教授 (21601)	
研究分担者	池添 隆之 (Tkayuki Ikezoe) (80294833)	福島県立医科大学・医学部・教授 (21601)	

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
---------	---------