

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 2 日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24790975

研究課題名(和文) 制御性T細胞恒常性を標的とした低用量IL-2による慢性移植片対宿主病治療法の開発

研究課題名(英文) Restoration of Treg homeostasis with Low-dose IL-2 administration for patients with refractory chronic GVHD

研究代表者

松岡 賢市 (Matsuoka, Ken-ichi)

岡山大学・大学病院・助教

研究者番号：90432640

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円、(間接経費) 960,000円

研究成果の概要(和文)：造血細胞移植後の免疫寛容に不可欠である制御性T細胞(Treg)について、移植後環境での相対的なIL-2不足を基盤とするTreg恒常性異常を発見し、この恒常性異常は少量IL-2投与により可逆的に補正しうることを臨床研究により明らかにした。一方で、マウスモデルによる解析では、多彩な生理活性を有するIL-2投与は、ホストの免疫状態やIL-2投与方法により、免疫寛容を導くだけでなく、状況により、免疫賦活を来しうる事が確認された。今後は、IL-2投与による免疫寛容効果の包括的な理解と、患者免疫モニタリング系の充実を通じて、個々の患者の状態や目的に応じたテーラーメイド型IL-2療法の確立を目指したい。

研究成果の概要(英文)：CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cell (Treg) has a central role in maintaining immune tolerance and interleukin-2 (IL-2) is critical for Treg growth, survival and activity. We reported that administration of low-dose IL-2 could preferentially enhance Treg in vivo and suppress clinical manifestations of chronic GVHD after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, suggesting the therapeutic potential of low-dose IL-2 to reconstruct immune tolerance in vivo. Our murine experiments of low-dose IL-2 therapy demonstrated that in vivo effect of exogenous IL-2 is susceptible to several external factors, including the host immune status and the dose or timing of IL-2 administration. These findings will be important information to explore the individualized IL-2 therapy that enables to standardize and optimize this cytokine therapy.

研究分野：医歯薬学系

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・血液内科学

キーワード：GVHD 制御性T細胞 免疫寛容 インターロイキン2

1. 研究開始当初の背景

同種造血幹細胞移植は、血液癌の根治療法として、多くの難治疾患患者の治療に貢献している。その一方で、移植片対宿主病（GVHD）は、今も最大の合併症である。とりわけ、致死的な多臓器障害をきたす慢性GVHDに関しては、現在まで正確な病態機序が解明されておらず、それゆえ治療法も確立していない。慢性GVHDの治療法開発は、早急の課題となっている。近年、もともと生体に内在し、末梢性免疫制御を担っている制御性T細胞（Treg）が、GVHDを抑制する可能性がマウス実験より示唆され、実際に慢性GVHDを発症した患者群でTregが減少していることが示されたことで、慢性GVHDの病態におけるTregの関与が注目されている。われわれは、Treg恒常性の維持に不可欠な役割を担っているインターロイキン2（IL-2）の少量投与がTregを体内増幅させ、臨床的にGVHDを改善することを報告したが、この治療法におけるTreg増幅効果の機序は明らかではなかった。

2. 研究の目的

低用量 IL-2 療法を非常に多彩な臨床像を示す慢性 GVHD 患者に広く適用するには、まず、この治療法による Treg 増幅のメカニズムを明らかにし、個々の症例に応じた運用法を検討する必要がある。今回の研究では、IL-2 投与による免疫変容効果を多角的に解析し、この治療による寛容機序を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 臨床検体の解析

臨床検体の解析系を立ち上げ、移植後免疫免疫モニタリングを行った。また IL-2 療法を受けた患者の検体解析結果を詳細に分析した。

(2) マウス IL-2 療法モデルの作成

C57BL6 マウスをドナーとし、B6D2F1 マウ

スをレシピエントとする同種骨髄移植を行い、移植後にさまざまな用量の IL-2 を投与することによる免疫変容効果を分析した。

4. 研究成果

申請者らは、慢性GVHD患者において、移植後環境での相対的なIL-2不足を基盤とするTreg恒常性異常が見られること報告したが（Matsuoka et al, JCI 2010）、今回の研究で、この恒常性異常は少量IL-2投与により可逆的に補正しうることを臨床検体の詳細な解析により明らかにした（Matsuoka et al, Sci Transl Med 2013）。この中で、IL-2投与は、Tregの末梢分裂の促進、胸腺新生細胞の増加、抗アポトーシス活性の亢進の大きく3つの体内効果を持つことを示した。これをさらに詳細に解析するために、マウスIL-2療法モデルを作成し、解析したところ、胸腺新生Tregが強く抑制される移植後早期ではIL-2投与によってもTreg増幅効果は限定的であり、逆にNK細胞やCD8陽性CTLがboostされることによる免疫賦活化が確認された。一方で、造血幹細胞由来の胸腺新生Tregの末梢への供出が確認できる移植後後期では、IL-2投与によってTregは抗アポトーシス活性を保持したまま強く末梢分裂が見られた。これらの結果から、多彩な生理活性を有するIL-2の投与は、ホストの免疫状態や投与方法により、免疫寛容を導くだけでなく、場合によっては、免疫賦活を来しうるものが改めて確認できた。

現在、低用量IL-2療法は、欧米において新しい免疫抑制法として注目され、自己免疫疾患を対象とした臨床試験が行われている。またPD-1経路阻害やキメラ抗原受容体（CAR）発現Tリンパ球といった新しい免疫療法が登場し、免疫変容薬としてのIL-2の役割が見直されてきている。IL-2投与がin vivoでTregに与える影響について、今回の研究ではマウスモ

デルを用いることで基礎的な新知見が得られており、今後のIL-2療法の進展の基盤になると期待される。今後は、IL-2投与による免疫変容効果の包括的な理解と、患者免疫モニタリング系の充実を通じて、個々の患者の状態と目的に応じたテーラーメイド型IL-2療法の確立を目指したい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計6件)

Exploring regulatory T cell-based therapy for refractory graft-versus-host disease

Matsuoka K, Jpn J Clin Hematol, 2014 in press, 査読有

mTOR inhibitors permit regulatory T cell reconstitution and inhibit chronic GVHD. Sugiyama H, Maeda Y, Nishimori H, Yamasuji Y, Matsuoka K, Fjii N, Kondo E, Shinagawa K, Takeuchi K, Teshima T, and Tanimoto M Biol Blood Marrow Transplant. 2014; Feb;20(2):183-91.

doi: 10.1016/j.bbmt.2013.11.018. 査読有

Bronchiolitis obliterans with allogeneic hematopoietic cell transplantation: a 10-year experience of the Okayama BMT Group.

Fujii N, Nakase K, Asakura S, Matsuo K, Nawa Y, Sunami K, Nishimori H, Matsuoka K, Kondo E, Maeda Y, Shinagawa K, Hara M, Tanimoto M. Int J Hematol. 2014 May;99(5):644-51. doi: 10.1007/s12185-014-1556-4 査読有

Low-dose interleukin-2 therapy restores regulatory T cell homeostasis in patients with chronic graft-versus-host disease.

Matsuoka K, Koreth J, Kim HT, Bascug G, McDonough S, Kawano Y, Murase K, Cutler C, Ho VT, Alyea EP, Armand P, Blazar BR, Antin JH, Soiffer RJ, Ritz J.

Sci Transl Med. 2013; 5(179):179ra43.

doi: 10.1126/scitranslmed.3005265. 査読有

CD40L-Tri, a novel formulation of recombinant human CD40L that effectively activates B cells.

Naito M, Hainz U, Burkhardt UE, Fu B, Arove D, Stevenson KE, Rajasagi M, Zhu B, Alonso A, Witten E, Matsuoka K, Neuberg D, Wu CJ, Freeman GJ.

Cancer Immunol Immunother. 2013; 62:347-57 doi: 10.1007/s00262-012-1331-4. 査読有

Induction of antitumor immunity ex vivo using dendritic cells transduced with fowl pox vector expressing MUC1, CEA, and a triad of costimulatory molecules (rF-PANVAC).

Vasir B, Zarwan C, Ahmad R, Crawford K, Rajabi H, Matsuoka K, Rosenblatt J, Wu Z, Mills H, Kufe D, Avigan D.

J Immunotherapy. 2012; 35(7):555-69. doi: 10.1097/CJI.0b013e31826a73de. 査読有

〔学会発表〕(計10件)

廻勇輔, 松岡賢市, 他、Rapid Assessment of Low-dose IL-2 Administration on Foxp3+ Regulatory T cell Homeostasis、日本血液学会国際シンポジウム、2014年5月24日、浜松

吉岡尚徳, 松岡賢市, 他、ハプロ移植後DLIによるHelios(+)制御性T細胞の増幅は急性GVHD発症を抑制する、日本造血幹細胞移植学会総会、2013年3月17日、沖縄

松岡賢市、Exploring regulatory T cell-based therapy for refractory graft-versus-host disease、日本血液学会総会、2013年10月12日、札幌

黒井大雅, 松岡賢市, 他
Chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy following low-dose donor lymphocyte infusion after haplo-identical hematopoietic stem cell transplantation、日本血液学会国際シンポジウム、2013年5月25日、松山

Murase K, Matsuoka K, 他、Low-Dose IL-2 Induces Bcl2 Expression and Resistance To Apoptosis In CD4 Regulatory T Cells、米国血液学会総会、2013年12月9日、ニューオーリンズ

Fujiwara H, Matsuoka K, 他、Host Tissue PD-1 Pathway Contribute To Murine Chronic Graft-Versus-Host Disease Via Th1+Th17+ Cells、米国血液学会総会、2013年12月9日、ニューオーリンズ

Murase K, Matsuoka K, 他、Apoptotic Pathways of Human Regulatory T Cells in Chronic Graft Versus Host Disease (cGVHD) After Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation (HSCT)、米国血液学会総会、2012年12月9日、アトランタ

Murase K, Matsuoka K, 他、Differential Effects of TCR Stimulation and IL-2 On Apoptotic Pathways in CD4 Regulatory T Cells Compared to Conventional CD4 T Cells and CD8 T Cells、米国血液学会総会、2012年12月10日、アトランタ

松岡賢市, 他、Phenotypic and Functional characterizations of Recent Thymic Emigrant Regulatory T cells (RTE-Treg)、日本血液学会総会、2012年10月10日、京都

松岡賢市, 他、PD-1 regulates Treg homeostasis during low-dose IL-2 therapy in patients with chronic GVHD、日本血液学会総会、2012年10月10日、京都

〔図書〕(計6件)

松岡賢市,他、医薬ジャーナル社、GVHD(移植片対宿主病)の基礎と臨床、2013、653-660、総421頁

松岡賢市,他、科学評論社、臨床免疫・アレルギー科「造血幹細胞移植後の免疫トレランスとレギュラトリーT細胞」、2013、447-454、総107頁

松岡賢市,他、医薬ジャーナル社、血液フロンティア「間葉系幹細胞など細胞療法の新展開」、2013、653-660、総142頁

松岡賢市,他、科学評論社、血液内科「慢性GVHDの新規治療法」、2013、298-305、総121頁

松岡賢市,他、科学評論社、血液内科「インターロイキン2によるGVHD治療と制御性T細胞」、2012、217-224、総115頁

松岡賢市,他、メディカルレビュー社、Trends in Hematological Malignancies「慢性GVHDにおけるTreg恒常性の破綻とその回復」、2012、82-85、総60頁

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

6. 研究組織

(1)研究代表者

松岡 賢市 (KEN-ICHI MATSUOKA)

岡山大学・岡山大学病院・助教

研究者番号：90432640

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし