

令和元年6月12日現在

機関番号：82606

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K19563

研究課題名(和文) 同種造血細胞移植後の移植片対宿主病の新規バイオマーカーと国際的評価法の研究

研究課題名(英文) Development of novel biomarkers and international evaluation methods of chronic graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic cell transplantation

研究代表者

稲本 賢弘 (INAMOTO, YOSHIHIRO)

国立研究開発法人国立がん研究センター・中央病院・医員

研究者番号：70730349

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：同種造血細胞移植後の移植片対宿主病(GVHD)の発症や予後を簡便に予測する新規検査法を開発する必要がある。本研究では海外の研究者と共同し、将来慢性GVHDを発症する患者を移植後80日前後の採血で予測可能な蛋白を、質量分析という方法を用いて検討し、CD163という血漿蛋白を発見した。また、同様の方法で肺のGVHD(閉塞性細気管支炎)の診断に関連する血漿蛋白としてMMP3を同定した。さらに、日本人の慢性GVHDの特徴を明らかにするため、国際基準である2014年NIH新基準を用いて日本人患者のデータベースを作成し、日本人慢性GVHD患者の臨床像の特徴を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は海外との共同研究という形で、同種造血細胞移植後の大きな課題である慢性GVHDの予測や病態に関連した新規血漿蛋白バイオマーカーを発見した。慢性GVHDの新規バイオマーカーは、現在も知見が限られており、貴重な学術成果が得られたものと考えられる。また、臨床応用が進めば、治療成績の向上につながる可能性もある。次に、国際評価法を用いて日本人患者の慢性GVHDの特徴を明らかに出来たことは、2014年NIH新基準の有用性を日本から海外に向けて示したという意義が大きい。さらに、今後のGVHDに関する国際共同研究や治験において、日本人の基礎データとして役立つものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：There is an unmet need for identifying useful biomarkers to predict onset and outcomes of graft-versus-host disease (GVHD) after allogeneic hematopoietic cell transplantation. We performed international collaborative studies of novel biomarkers for chronic GVHD. Using tandem mass spectrometry, we have identified plasma CD163 protein as a novel biomarker for predicting chronic GVHD, and have identified plasma MMP3 as a novel biomarker related to bronchiolitis obliterans. We also evaluated Japanese patients with chronic GVHD using the 2014 NIH consensus criteria and have characterized clinical manifestations of chronic GVHD in Japanese patients. The results would serve as a benchmark for Japanese patients with chronic GVHD.

研究分野：造血細胞移植

キーワード：移植片対宿主病 造血細胞移植 バイオマーカー

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

同種造血細胞移植は血液悪性疾患を治癒させるのに非常に有効な治療法であるが、移植の成績は移植片対宿主病(GVHD)の制御に左右される。GVHD はドナーの免疫細胞が引き起こす免疫異常反応と考えられ、急性 GVHD と慢性 GVHD に分けられる。以前は国際的に標準化された GVHD の分類法が存在しなかったため、研究結果を解釈する際に注意が必要であった。この問題を解決するため、2005 年に米国 NIH がコンセンサス会議を主催して慢性 GVHD 研究に関する NIH 国際基準および臨床試験の標準化が提唱された(2005 年 Phillipovich ら)。NIH 国際基準が提唱されて約 10 年経過し、世界中で NIH 基準に基づいた多くの研究が行われ、分野は大きく進歩した。一方で、NIH 基準を運用していく中で GVHD phenotype のより明確な定義や biology に基づいた研究の在り方の見直しのニーズが出てきた。こうした背景を受けて 2014 年にコンセンサスの改定会議が行われ、新たな NIH 基準が提唱された。NIH 新基準を用いた GVHD 研究の新しい知見を海外研究者と協力して日本から発信する必要がある。

2. 研究の目的

(1) 国際共同研究の中で判明しつつある GVHD の新規バイオマーカーを国際コンセンサスに則った形で日米双方のコホートで検証し国際標準を確立する。

(2) 2014 年 NIH 新基準の中で新たに提唱される項目に関して日本人コホートで有用性を示す。これらの研究成果は GVHD の病態解明とより優れた GVHD の新規治療法の開発につながるものと考えられる。

3. 研究の方法

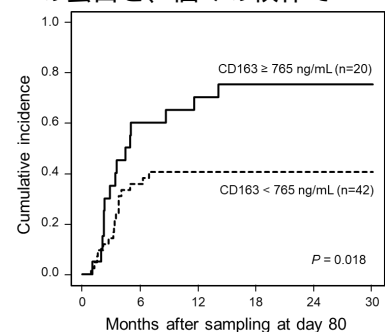
(1) GVHD の新規バイオマーカーに関しては米国の共同研究者と mass spectrometry の分析結果解析を進め、バイオマーカー候補を決定した。同時に日本人の血清検体と詳細臨床情報の収集を行った。候補が決定したら米国多施設検体および日本で収集した検体も含めて有用性の検証を行った。

(2) 2014 年 NIH 新国際基準の有用性に関しては前向きに GVHD 評価データを収集し、データ解析を行うことで GVHD 評価法や改定基準の有用性を示していく。

4. 研究成果

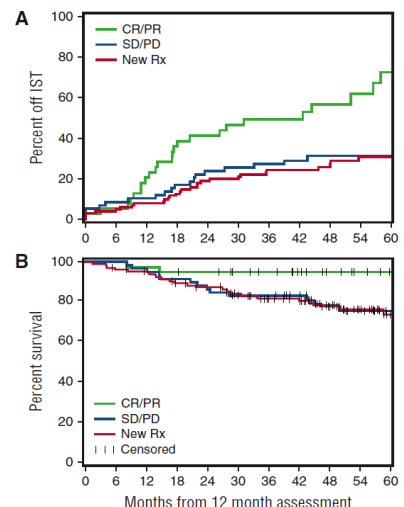
(1) De novo 慢性 GVHD 発症を予測する血漿蛋白 CD163 の同定

167 名の同種移植後患者において採取された移植後 80 日付近の保存血漿から慢性 GVHD を発症した 20 例と発症しなかった 20 例(発症例と背景一致)を発見コホートとして選択し、慢性 GVHD の発症を予測する血漿蛋白を tandem mass spectrometry にて解析したところ、20 の候補蛋白が見つかった。このうち、ELISA 検査が可能な 12 の蛋白を、個々の検体で確認したところ、4 つの蛋白(LGALS3BP, CD5L, CD163, TXN)が有力候補となった。発見コホートで使用しなかった 127 名の検体を用いて 4 つの蛋白を検証したところ、移植後 80 日目の血漿 CD163 濃度が高い症例においてその後の慢性 GVHD の発症割合が有意に高かった(右図)。また、健常人では CD163 濃度は低く、活動性慢性 GVHD 患者では CD163 濃度は高かった。CD163 は macrophage scavenger receptor であり、酸素化ストレスが高い状況で増加する。この研究結果は単球やマクロファージの活性化と酸素化ストレスが慢性 GVHD の発症に関わる可能性を示唆した。詳細は論文 参照。



(2) 慢性 GVHD 一次治療試験に適切なエンドポイント

慢性 GVHD 一次治療試験に適切なエンドポイントはこれまで確立したものがなかったが、本研究は 2014 年 NIH 新国際基準を用いて米国で前向きに収集した多施設の慢性 GVHD 患者のデータを利用して、治療後 1 年時点で追加治療を行わずに無病生存し、かつ GVHD が改善した患者の割合を客観的基準で評価した。1 年でこのエンドポイントを満たす患者の割合は 20%未満であったが、このエンドポイントを満たす場合は症状スコア、QOL スコアが改善し、その後に免疫抑制剤が終了できる割合が高く(右図 A)、死亡リスクも低いことが示された(右図 B)。慢性 GVHD 治療のエンドポイントとして多施設データを用いて臨床的なメリットと強く相関するものが見つかったのは初めてであり、今後慢性 GVHD 一次治療試験で適切なエンドポイントとなる。詳細は論文 参照。

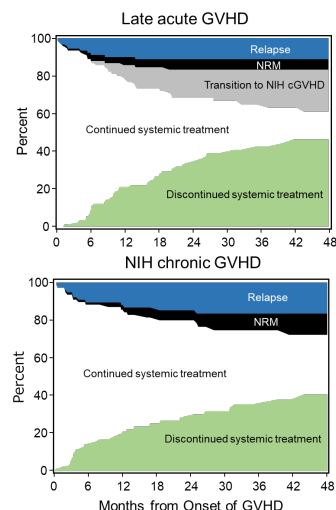


(3) 日本人における移植ソースごとの GRFS の比較

Graft-versus-host disease-free, relapse-free survival (GRFS)は重症の急性 GVHD (III-IV 度)、全身治療を要する慢性 GVHD、原疾患の再発、死亡を失敗イベントとみなし、いずれのイベントもない状態のことを指す。GRFS は GVHD 予防試験における意義深い複合エンドポイントであり、患者中心の成功も意味する。海外から報告されたエンドポイントであるが、日本人における検証が必要である。造血細胞移植学会全国データベースを用いて、2000年から2013年に血液悪性疾患に対して施行された初回同種移植 23,302 例を解析した。1年 GRFS は全体で 41%であり、骨髄移植は末梢血幹細胞移植より GRFS が優れた。GRFS は HLA 適合血縁骨髄移植で最も高く、HLA 不適合があると低下した。単一臍帯血移植の GRFS は HLA 適合非血縁骨髄移植とほぼ同等であった。GRFS を高める他の因子は、女性患者、標準リスク疾患での ATG 使用、最近の移植、女性ドナーから男性患者への移植以外、自家移植歴が無いこと、骨髄破壊的移植、CMV 抗体陰性、tacrolimus を用いた GVHD 予防であった。移植ソース毎に ATG の影響を解析すると、成人血縁末梢血幹細胞移植では、HLA6/6 適合でも 5/6 適合でも、ATG の使用は GRFS の改善と相関しており、その理由は重症急性 GVHD と慢性 GVHD が減少するためであった。ただし、5/6 適合血縁末梢血幹細胞移植において、ATG の使用によって原疾患の再発リスクが有意に増加する可能性が示唆された。HLA8/8 適合非血縁骨髄移植では、ATG の使用は GRFS に影響しなかった。単一臍帯血移植においては、ATG の使用は死亡と再発のリスクを増加させ、GRFS を悪化させる可能性が示唆された。データベースでは ATG の使用量が得られないため、解釈は注意を要するが、ATG のメリットは移植ソースによって大きく異なり、特に単一臍帯血移植においてはデメリットが多い可能性がある。本研究結果は日本人の GRFS を考える際の基礎データとなるものと思われる。詳細は論文 参照。

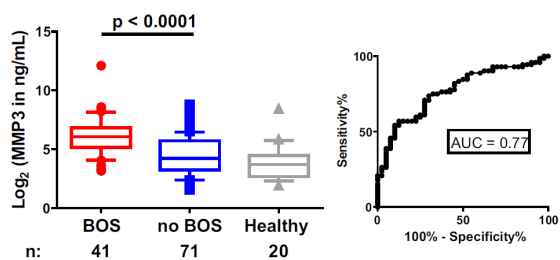
(4) 日本人患者の遅発性急性 GVHD と 2014 年 NIH 新国際基準による慢性 GVHD の特徴

2014 年 NIH 新基準を用いて自施設の慢性 GVHD 患者 151 名の詳細を後方視的に検討した。発症時の症状で分類すると、60%が遅発性急性 GVHD、40%が NIH 基準を満たす慢性 GVHD であった。移植後 4 年の時点で遅発性急性 GVHD の発症割合は 20%、NIH 慢性 GVHD の発症頻度は 17%であった。遅発性急性 GVHD の部位は皮膚 71%、消化管 13%、肝臓 8%で、治療後慢性 GVHD に進行せずに免疫抑制剤が終了できる割合は 46%で、22%は慢性 GVHD に進行した(右図)。多変量解析で女性ドナーから男性患者への移植、骨髄破壊的移植、発症時の PS が低いと免疫抑制剤終了までの期間が長いことが判明した。NIH 慢性 GVHD で多い部位は口腔、肝臓、皮膚、眼であり、治療後免疫抑制剤が終了できる割合は 41%であった(右図)。ATG による GVHD 予防を行った移植で免疫抑制剤が早期に終了できていた。詳細は論文 参照。



(5) 閉塞性細気管支炎の新規バイオマーカーとしての MMP3

同種造血細胞移植後閉塞性細気管支炎(BOS)の血漿バイオマーカーはこれまで見つかっていなかった。12名の造血細胞移植後 BOS、16名の肺感染症、15名の肺以外の慢性 GVHD、15名のGVHDのない移植後患者の血清を質量分析器を用いて解析し、変化の大きかった血漿蛋白をコンピューターを用いて解析したところ、matrix metalloproteinase 3 (MMP3)が BOS の病態の中心である可能性が示唆された。さらに独立した検証コホートとして造血細胞移植後または肺移植後の BOS 患者 41 名と BOS のない患者 71 名、および健康人 20 名で比較すると、MMP 濃度は BOS 患者で有意に高いこと、BOS 診断に対する AUC は 0.77 であることが分かった(上図)。本研究により BOS の新規血漿バイオマーカーとして MMP3 が同定された。詳細は論文 参照。



5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 10 件)

Ito R, Inamoto Y, Inoue Y, et al. Characterization of Late Acute and Chronic Graft-Versus-Host Disease according to the 2014 National Institutes of Health Consensus Criteria in Japanese Patients. Biol Blood Marrow Transplant、査読有、2019;25(2):293-300.

Holtan SG, DeFor TE, Panoskaltis-Mortari A, Khera N, Levine JE, Flowers MED, Lee SJ, Inamoto Y, et al. Amphiregulin modifies the Minnesota Acute Graft-versus-Host Disease Risk Score: results from BMT CTN 0302/0802. Blood Adv、査読有、2018;2(15):1882-1888

Martin PJ, Storer BE, Inamoto Y, et al. An endpoint associated with clinical benefit after initial treatment of chronic graft-versus-host disease. Blood、査読有、2017;130(3):360-367.

Inamoto Y, Martin PJ, Paczesny S, et al. Association of Plasma CD163 Concentration with De Novo-Onset Chronic Graft-versus-Host Disease. Biol Blood Marrow Transplant、査読有、2017;23(8):1250-1256.

Liu X, Yue Z, Yu J, Daguindau E, Kushekhar K, Zhang Q, Ogata Y, Gafken PR, Inamoto Y, et al. Proteomic Characterization Reveals That MMP-3 Correlates With Bronchiolitis Obliterans Syndrome Following Allogeneic Hematopoietic Cell and Lung Transplantation. Am J Transplant、査読有、2016;16(8):2342-2351.

Inamoto Y, Kimura F, Kanda J, et al. Comparison of graft-versus-host disease-free, relapse-free survival according to a variety of graft sources: antithymocyte globulin and single cord blood provide favorable outcomes in some subgroups. Haematologica、査読有、2016;101(12):1592-1602.

Inamoto Y, Martin PJ, Flowers ME, et al. Genetic risk factors for sclerotic graft-versus-host disease. Blood、査読有、2016;128(11):1516-1524.

Matsumura-Kimoto Y, Inamoto Y, Tajima K, et al. Association of Cumulative Steroid Dose with Risk of Infection after Treatment for Severe Acute Graft-versus-Host Disease. Biol Blood Marrow Transplant、査読有、2016;22(6):1102-1107.

Inamoto Y, Flowers ME, Wang T, et al. Tacrolimus versus Cyclosporine after Hematopoietic Cell Transplantation for Acquired Aplastic Anemia. Biol Blood Marrow Transplant、査読有、2015;21(10):1776-1782.

Inamoto Y, Sun YC, Flowers ME, et al. Bandage Soft Contact Lenses for Ocular Graft-versus-Host Disease. Biol Blood Marrow Transplant、査読有、2015;21(11):2002-2007.

〔学会発表〕(計 5 件)

稲本賢弘、移植後長期フォローアップと慢性 GVHD、第 41 回 日本造血細胞移植学会総会、2019 年

稲本賢弘、慢性 GVHD についての最新知見、第 80 回 日本血液学会学術集会、2018 年
Inamoto Y, Characteristics of cGVHD in Japanese and results of physician survey、第 39 回 日本造血細胞移植学会総会、2017 年

Inamoto Y, Comparison of Graft-versus-Host Disease-Free, Relapse-Free Survival According to a Variety of Graft Sources、第 79 回 日本血液学会学術集会、2017 年
稲本賢弘 他、血液悪性疾患における移植ソース別 GRFS の解析: JSHCT Working Group 研究、第 38 回 日本造血細胞移植学会総会、2016 年

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0 件)

○取得状況(計 0 件)

〔その他〕なし

6 . 研究組織

(1)研究分担者 なし

(2)研究協力者 なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。