

令和 2 年 6 月 2 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09955

研究課題名(和文) 新規治療薬のヘルパー/制御性T細胞への作用に基づいた慢性GVHD治療法の開発

研究課題名(英文) Development of novel chronic GVHD treatment based on the effects of the new therapeutic agent on helper/regulatory T cells

研究代表者

西森 久和 (Hisakazu, Nishimori)

岡山大学・大学病院・助教

研究者番号：70756064

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)：本研究は、血液悪性疾患に対する同種造血幹細胞移植の合併症である慢性移植片対宿主病(GVHD)を克服するために、ヘルパーT細胞と制御性T細胞(Treg)のバランスをコントロールすることにより、GVHDを抑制する「次世代の治療法」を目指すものである。慢性GVHDに対する臨床試験と動物実験で得られたデータにより、どのようなサイトカイン、ケモカインが関与しているかを検討、解析した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

慢性GVHDに関わるサイトカイン、ケモカインの動態を確認することができたため、慢性GVHD患者さんへの治療介入にあたり、これらのサイトカインを確認しながら治療することでより適切なマネジメントが可能となる。さらに、このデータを参考し、次の慢性GVHDに対する臨床試験を計画中であり、慢性GVHDに対する新たな治療開発に繋げることができた。

研究成果の概要(英文)：This study aims to control the balance of helper T cells and regulatory T cells to overcome chronic graft-versus-host disease (GVHD), a complication of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for hematological malignancies. We investigated what kind of cytokines and chemokines are involved based on the data obtained from the clinical trial and animal experiments on chronic GVHD.

研究分野：造血幹細胞移植

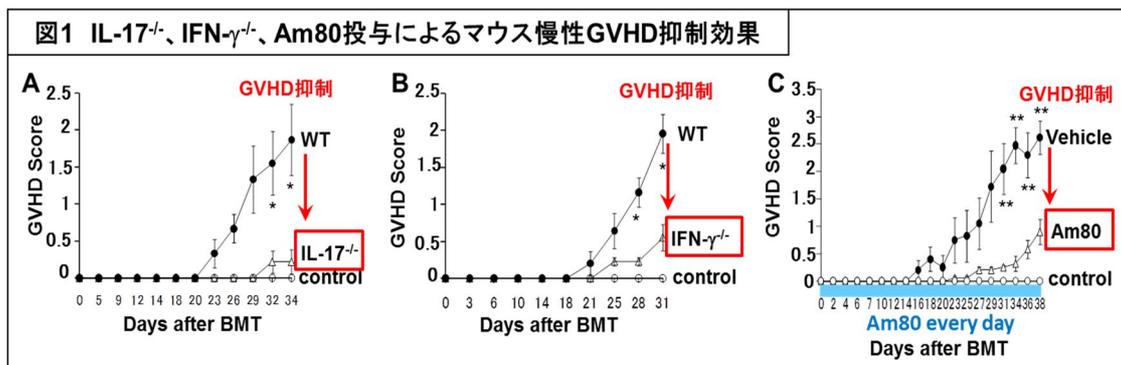
キーワード：タミバロテン Th1細胞 Th17細胞 制御性T細胞

1. 研究開始当初の背景

同種造血幹細胞移植は移植片対白血病 (GVL) 効果により白血病などの血液悪性疾患に治療をもたらす治療法として確立している。本邦でも年間約 3500 例 ~ 4000 例の同種造血細胞移植が行われているが、移植後に合併する移植片対宿主病 (graft-versus-host disease:GVHD) は致死の合併症として今日なお克服すべき課題である。GVHD は移植後早期に発症する急性型と移植後 100 日以降にみられる慢性型に大別される。慢性 GVHD は、移植症例の 30-50% にみられ、晩期死亡の主な原因となっている。慢性 GVHD は、移植された造血幹細胞により免疫が再構築される段階で、自己抗原反応性リンパ球が出現し自己免疫疾患に類似した臨床像を呈すると想定されている。申請者らは、慢性 GVHD における PD-1/PD-L1 経路の関与 (Fujiwara. J Immunol 2014) や、IL-12/IL-23 の関与 (Okamoto. J Immunol 2015) を明らかにしてきた。しかし、治療抵抗性や再発難治性の慢性 GVHD に対する標準治療は未だ確立されていない (Nishimori. Acta Med Okayama 2013)。

近年、Th1、Th2 細胞に続く第三の免疫担当細胞として IL-17 を産生する Th17 細胞の概念が確立し、自己免疫疾患との関連が指摘されている。慢性 GVHD が自己免疫疾患に類似した臨床像を呈すること、慢性 GVHD 発症患者では TGF- $\beta$ 、IL-6 が上昇しており、これらのサイトカインに Th17 細胞の誘導能があることから、申請者らは Th17 細胞が慢性 GVHD に関与している可能性に着目した。マウス慢性 GVHD モデルを使い、リンパ節あるいは病変組織中に IL-17 産生細胞が多く存在すること、IL-17 ノックアウトマウス (IL-17 $^{-/-}$ ) をドナーに用いて移植した場合、有意に慢性 GVHD が軽減することを見出した (図 1 A)。

また、Th1 細胞の増加も認められ、IFN- $\gamma$  ノックアウトマウス (IFN- $\gamma$  $^{-/-}$ ) をドナーに用いて移植した場合にも有意に慢性 GVHD が軽減した。さらに、合成ペプチドであるタミバロテン (Am80) は、マウス自己免疫疾患モデルにおいて Th1、Th17 を抑制するが、申請者らは、Am80 が慢性 GVHD マウスモデルにおいて in vitro、in vivo で Th1・Th17 を抑制することを見出し、Am80 投与がマウス慢性 GVHD を改善することを明らかにした (図 1 C) (Nishimori. Blood 2012)。



2. 研究の目的

本研究の目的は、新規治療薬タミバロテンによる慢性 GVHD 抑制メカニズムの解明と、Th1、Th17、Treg バランスに基づいた次世代慢性 GVHD 治療の確立である。申請者らは、慢性 GVHD 発症において、ヘルパー T 細胞のうち、特に Th1 細胞と Th17 細胞の関与に着目し、マウスモデルにおいて新規薬剤タミバロテンが、Th1 細胞、Th17 細胞の抑制によって慢性 GVHD を改善することを見出した。この成果を踏まえ、ヘルパー T 細胞と制御性 T 細胞 (Treg) のバランスをコントロールすることにより、GVHD を抑制する「次世代の治療法」を目指し、本研究ではタミバロテン投与における Th1、Th17 細胞と Treg の動態を患者検体にて検討し、マウスモデルにおいてはこれら細胞のバランスを調節する実験をおこない、新しい治療戦略の有効性を確立・実証する。

3. 研究の方法

難治性慢性 GVHD に対するタミバロテン投与の臨床第 Ⅰ 相試験において、フローサイトメトリー法によりタミバロテン投与前後での Th1、Th17 細胞と Treg を時系列で測定し、慢性 GVHD に対して最適な効果がでている状況での Th1、Th17、Treg バランスを決定する。

慢性 GVHD マウスモデルにおいて Th1、Th17、Treg バランスを再現するようにタミバロテンを調整して投与し、慢性 GVHD をコントロールしつつ、腫瘍細胞を用いた移植実験によって GVL 効果が維持できる投与量を決定し、得られたモデルにおける Th1、Th17 以外の

サイトカイン、ケモカインのプロファイルを確認する。

で得られた結果に基づいて、臨床検体を解析し、効果予測因子もしくは新たな治療ターゲットを見出す。という手順で研究を進める。

#### 4. 研究成果

慢性移植片対宿主病に対するタミバロテン(AM80G)の臨床第 II 相試験登録症例において、付随研究に同意が得られた症例に対してタミバロテン投与開始時来院日、投与 2 週、4 週、8 週、12 週、24 週、1 年後観察時の計 7 ポイントにおいて、10mL の血液を付随的に採取して解析を施行した。具体的には申請者らによる先行研究 (Nishimori. Blood 2012、Fujiwara. J Immunol 2014、Okamoto. J Immunol 2015) でのマウスモデルにおける Th1、Th17、Treg の解析方法をヒト検体に応用し、フローサイトメトリー法を用いて細胞内サイトカイン染色を施行することで、これらの細胞の population を測定した。図 2 に示す通り、ヒト検体での細胞内サイトカインを測定することができた。その傾向を慢性 GVHD の重症度、タミバロテンによる治療効果との関連について最終解析を施行している。

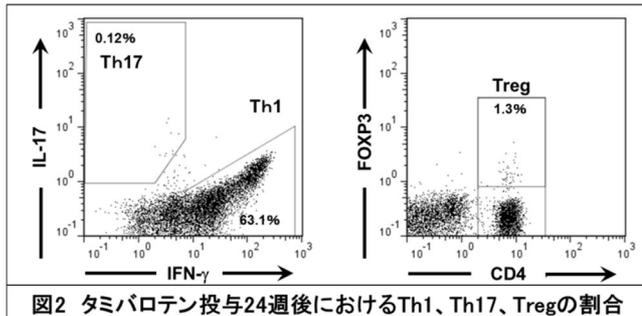


図2 タミバロテン投与24週後におけるTh1、Th17、Tregの割合

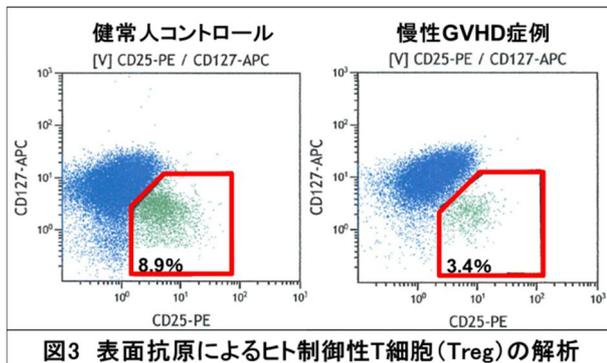


図3 表面抗原によるヒト制御性T細胞(Treg)の解析

米国血液学会にて慢性移植片対宿主病に対するタミバロテン(AM80G)の臨床第 II 相試験結果を誌上発表し、現在論文投稿準備中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 西森久和
2. 発表標題 Venous Thromboembolism in Patients with Steroid-Refractory Chronic Graft-Versus-Host Disease Receiving Synthetic Retinoid Am80
3. 学会等名 第59回米国血液学会（国際学会）
4. 発表年 2017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	前田 嘉信  (Maeda Yoshinobu)  (60403474)	岡山大学・医歯薬学総合研究科・教授    (15301)	