

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：2017～2020
課題番号：17K09959
研究課題名(和文)造血幹細胞移植後の免疫システムにおけるGas6の役割

研究課題名(英文)Critical roles of Gas6 in the pathology of GVHD

研究代表者
大河原 浩(Hiroshi, Ohkawara)

福島県立医科大学・医学部・准教授

研究者番号：10381360
交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：造血幹細胞移植症例の血清Gas6は急性移植片対宿主病(aGVHD)の好発時期3-5週に増加した。腸管GVHD組織の免疫染色ではGas6及びTAM受容体Tyro3, Axl, Mer)のひとつであるMerが高発現していた。これらの結果はGas6-MerシグナルがaGVHDの病態機序に寄与することを示した。in vitro実験で、aGVHD症例の血清を添加すると内皮障害が誘導され、Mer阻害剤は内皮障害を抑制した。さらに、Mer受容体阻害剤はGVHDの病態に重要な内皮障害を抑制した。同種移植マウス実験で、Mer阻害剤は肝GVHDを抑制した。

研究成果の学術的意義や社会的意義
本研究はGVHD及びTA-TMA病態の一端を解明し、Gas6-MerシグナルがGVHD及びTA-TMAに対する新たな治療標的や検査法開発に寄与する可能性を秘めている。本研究成果は米雑誌Blood Advances (Blood Adv. 2019;3(14): 2128-2143.)に掲載された。

研究成果の概要(英文)：Endothelial dysfunction in the early phases of hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) contributes to a pathology of graft-versus-host disease (GVHD), which are serious complications of HSCT. Serum Growth arrest-specific (Gas) 6 s levels were significantly increased in HSCT patients with acute GVHD (aGVHD), and Gas6 and Mer expression levels were upregulated in aGVHD lesions of the large intestine and skin. In human umbilical vein endothelial cells (ECs), exogenous Gas6 or the exposure of sera isolated from patients with aGVHD to ECs induced the downregulation of thrombomodulin and the upregulation of PAI-1, which were inhibited by UNC2250, a selective Mer tyrosine kinase inhibitor. In mouse HSCT models, we observed hepatic GVHD with hepatocellular apoptosis, necrosis, and fibrosis of the liver. Of note, intravenous administration of UNC2250 markedly suppressed GVHD in these mouse HSCT models. Our findings suggest that the Gas6-Mer axis is a promising target for GVHD.

研究分野：同種造血幹細胞移植

キーワード：Gas6 同種造血幹細胞移植 Mer 内皮障害

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

急性移植片対宿主病 (GVHD) は同種造血幹細胞移植 (HSCT) の予後を左右する合併症であり、ステロイド抵抗性の難治性 GVHD の有効な治療法は未だ不確立である。我々はこれまで、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 (Ohkawara H, et al. J Biol Chem. 2017;292:4280-92.)。我々は本研究の予備実験で、HSCT 患者の急性 GVHD 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 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 の予測マーカーとして Gas6 が有用性を検証する。さらに、GVHD の新規治療法の確立を目指すため、選択的 Mer 受容体阻害剤の GVHD に対する有用性を検証する。

3. 研究の方法

1. HSCT 症例の血清 Gas6 濃度と GVHD の指標 (フェリチン、IL-2R 等) との関連を明らかにする。
2. リコンビナント Gas6、GVHD 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、腎臓) 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 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 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。これらの結果は Gas6-Mer シグナルが GVHD の病態メカニズムに関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 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 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誘導を抑制した。これらの結果より、UNC2250 は GVHD の発症・増悪の病態メカニズムに重要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】

1. 本研究は GVHD 病態の一端を解明し、Gas6-Mer シグナルが GVHD 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(Ohkawara H, et al. Blood Adv. 2019;3:2128-43.)。

).

【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。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1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 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 古川未希 大河原浩
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
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) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Sho Takeyasu, Hiroshi Ohkawara, Koichiro Fukuchi, Wang Xiangmin, Koki Ueda, Kazuhiko Ikeda, Kazuei Ogawa, Takayuki Ikezoe.
2. 発表標題 A critical role of growth arrest-specific gene 6 in the pathogenesis of HSCT-associated thrombotic microangiopathy.
3. 学会等名 第79回日本血液学会学術集会 (2017.10.20東京) 優秀ポスター賞受賞
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

福島県立医科大学 血液内科学講座 研究内容
<https://www.fmu.ac.jp/home/hemato/kenkyu.html>

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	小川 一英 (Kazuei Ogawa) (40423800)	福島県立医科大学・医学部・教授 (21601)	
研究 分担者	池添 隆之 (Takayuki Ikezoe) (80294833)	福島県立医科大学・医学部・教授 (21601)	
研究 分担者	池田 和彦 (Kazuhiko Ikeda) (90381392)	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
---------	---------