

令和 4 年 6 月 24 日現在

機関番号：34417

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08827

研究課題名(和文)セマフォリン4Aが移植後免疫応答に及ぼす影響の解明と新規急性GVHD制御法の開発

研究課題名(英文) Host-derived Semaphorine-4A contributes to maintain regulatory T cell after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation

研究代表者

佐竹 敦志 (SATAKE, Atsushi)

関西医科大学・医学部・講師

研究者番号：50412028

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：B6ドナーからBALB/cマウスに骨髄移植を行う急性GVHDモデルで、Sema4Aが移植後のTregの動態とGVHDに与える影響を検証した。ホストマウスにSema4Aが欠損していた場合、移植後にTregは減少し、野生型ホストと比較して、GVHDが増悪することが分かった。Sema4Aの有無によってTregの抑制機能には変化がみられなかった。Sema4Aはホストの血液細胞由来のものがGVHD抑制的に作用していることに加え、Sema4Aを介したGVHD抑制作用にはTregが必要である事が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで明らかとなっていなかった同種造血幹細胞移植の免疫応答におけるSema4Aの役割について、解明する事ができた。移植後Tregの維持にSema4Aが重要な役割を果たしている事が示唆された事で、今回の研究で得られた知見は、Sema4Aを標的とした新たな免疫抑制療法の開発を検討するための重要な基礎的データとなると考えられる。また、ホストのSema4Aを利用してGVHD発症や重症化リスクを事前に予測できる可能性もあり、個々の患者で最適なGVHD予防法や治療介入時期を選択するための情報として応用する事も期待できる。

研究成果の概要(英文)：We employed a murine acute GVHD model (B6 to BALB/c). Seven days after transplantation, the proportion of Tregs in the spleen in Sema4A-KO (KO) host mice was significantly lower than that of WT host mice. Both preexisting and inducible Tregs were decreased in KO host mice. We observed similar suppressive function between Tregs cocultured with WT and KO APCs. KO host mice developed significantly higher GVHD mortality compared to WT host mice. When bone marrow chimera mice were used as host, WT>KO host mice developed comparable GVHD mortality with WT>WT host mice, indicating that hematopoietic cell-derived Sema4A is responsible for GVHD protection. KO host mice showed comparable mortality to WT host mice when Treg-depleted graft was transplanted, suggesting that Sema4A plays an important role for Treg dependent GVHD protection. Together, these results suggest that Sema4A contributes to Treg maintenance and the regulation of alloimmune responses after allo-HCT.

研究分野：造血幹細胞移植学

キーワード：セマフォリン 制御性T細胞 移植片対宿主病 同種造血幹細胞移植

1. 研究開始当初の背景

同種造血幹細胞移植は難治性の血液・免疫疾患に対する根治を目的とした治療法であり、移植前治療減量や移植細胞ソースの多様化によって、近年移植件数は増加している。とりわけ患者の高齢化や HLA 不一致移植の増加に伴い、移植後合併症である移植片対宿主病 (GVHD) のハイリスク患者は増加している。ドナー由来免疫細胞が移植後早期に活性化されて生じる急性 GVHD の標準治療はステロイド投与であるが、減量が困難な場合や、ステロイド抵抗性の症例も少なくならずあり、GVHD を完全にコントロールできない場合があることが臨床上の問題である。また、GVHD の重症化は致命的となるだけでなく、他の合併症リスク増加や QOL 低下にも繋がるため、同種造血幹細胞移植後の予後改善のために、急性 GVHD の制御を可能とする新たな効果的治療方法の開発が必要である。

制御性 T 細胞 (Treg) は、移植片対白血病効果を減じることなく、GVHD 抑制的に働くことが示されており、生体内で Treg を増幅させることは理想的な GVHD 制御法となり得る。私たちは、カルシニューリン阻害薬と IL-2 の併用は Treg の選択的増幅を導き、自己免疫疾患モデルに対しては、疾患抑制的に働く明らかにしている (Satake et.al J of Autoimmun 2013)。一方で、同種造血幹細胞移植後早期に IL-2 投与を行った場合、カルシニューリン阻害薬を併用すると、Treg は著明に減少することを明らかにしている (Satake et al. PLoS One 2014)。このことから、同種造血幹細胞移植後の Treg 維持・増殖には IL-2 や TCR 刺激以外の要因も重要な役割を果たすことが示唆された。

セマフォリンは発生過程での神経ガイダンス因子として同定されたが、一部のセマフォリンは免疫系で機能することが明らかになっている。特にセマフォリン 4A (Sema4A) は樹状細胞 (DC) や、Th1 環境下で刺激を受けた T 細胞上に発現し、細胞間相互作用において副刺激様作用に関与する。Sema4A は Th1、Th17 免疫応答の促進や IL-4 産生抑制的に働くほか、制御性 T 細胞 (Treg) の機能発現や安定化に関わっていることが報告されている。従って、Sema4A は T 細胞応答の変化や Treg の維持・増殖を介して GVHD 抑制的に働くことが期待できるが、GVHD と Sema4A の関わりについてはこれまで明らかになっていない。

2. 研究の目的

急性 GVHD の発症には T 細胞の免疫応答や Treg による免疫抑制が深く関わっていることから、Sema4A が同種造血幹細胞移植後の GVHD の過程にも関わっていることが予想された。そこで、本研究で Sema4A が Treg を中心とした移植後免疫応答に及ぼす影響を解明し、Sema4A を利用した新たな急性 GVHD 制御法を開発するための基礎データを得ることを目的とする。

3. 研究の方法

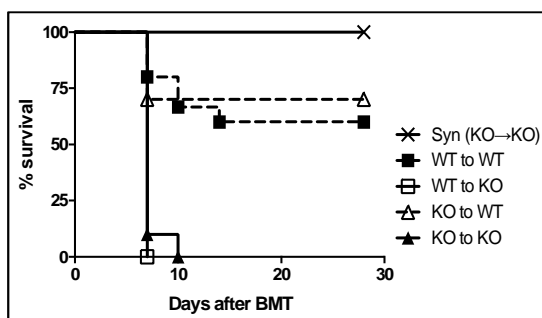
野生型、及び Sema4A を欠損させた Sema4AKO マウスを用いて、in vitro で細胞レベルの評価を行うと共に、マウス急性 GVHD モデルを用いて、ドナー、及びホストの Sema4A が同種免疫反応や GVHD 強度に与える影響を検証する。

4. 研究成果

Sema4A が同種免疫反応に及ぼす影響を検討するために、B6 マウスから放射線の前処置を行った BALB/c マウスに移植を行う急性 GVHD モデルを用いた。Sema4AKO マウスをドナーとして用いた場合、GVHD の強度に差を認めなかったが、Sema4AKO マウスをホストに用いた場合、野生型ホストに比べて、急性 GVHD が明らかに増悪することが判明した (図 1)。移植後の T 細胞の解析を行ったところ、野生型と Sema4AKO ホストでキメリズムに差はなかったが、Sema4AKO ホストで Treg が減少していることが判明した。これらの差の要因となっている Sema4A 発現細胞の起源を調べるため、骨髓キメラマウスを作成してホストに使用することで検討を行ったところ、ホストの血液細胞由来の Sema4A が欠損している場合に、GVHD が増悪し Treg の減少が起こっていることが分かった。

Treg のうち移植中に元々 Treg として存在していた Treg と、移植後に通常 T 細胞から Treg へ形質転換する Treg を判別できるようにして移植を行ったところ、いずれの Treg も Sema4AKO ホストでは減少していることが明らかとなった。また、Treg と抗原提示細胞の培養実験から、Sema4A の有無は Treg の増殖に関わらないことが分かった。これらの事から、Sema4AKO ホストにおける移植後の Treg 減少は、増殖の低下ではなく、Treg としての安定性や通常 T 細胞からの形質転換が減少することに起因していると考えられた。また、Treg の抑制機能解析では、抗原提示細胞に Sema4A がある場合と、欠損する場合で差を認めなかったことから、Treg の免疫抑制機

図 1. ホスト Sema4A 欠損で GVHD は増悪



能に Sema4A は関わらないことが示唆された。さらに、ドナー移植片中の Treg を除去して、移植を行ったところ、野生型と Sema4AKO ホストでは GVHD の強度に差を認めなかったことから、Sema4A による GVHD 抑制効果には Treg が必要であることが示唆された。

以上の結果から、ホストの Sema4A が Treg の維持を介して急性 GVHD の抑制に関わっていることが明らかとなり、GVHD 予防法との関わりや Sema4A を利用した GVHD 発症の予測、新たな GVHD 制御法開発を今後進めたい。

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 0件）

1. 発表者名 Hideaki Yoshimura, Yukie Tsubokura, Yutaro Nasa, Ryohei Tsuji, Atsushi Satake, Tomoki Ito, Shosaku Nomura
2. 発表標題 A critical role of host-derived semaphorin 4A for the maintenance of Tregs after allo-HCT
3. 学会等名 第83回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2021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
研究協力者	吉村 英晃 (YOSHIMURA Hideaki)		
研究協力者	坪倉 幸恵 (TSUBOKURA Yukie)		
研究協力者	伊藤 量基 (ITO Tomoki)		

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