

令和 5 年 6 月 6 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K08753

研究課題名(和文) 移植急性期のB細胞恒常性異常に基づく慢性GVHD発症予測と先制的治療法の開発

研究課題名(英文) Development of the prediction marker and the preemptive therapy for chronic GVHD based on abnormal B cell homeostasis during the acute phase of allogeneic HSCT

研究代表者

松岡 賢市 (Matsuoka, Ken-ichi)

岡山大学・医歯薬学域・准教授

研究者番号：90432640

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)：古典的な急性GVHDは、皮膚・肝・腸管といったバリア臓器がドナー成熟T細胞による同種免疫反応から受ける損傷が組織寛容の閾値を超えるとときに臨床的に発症するが、これまでこの急性期T細胞免疫の慢性GVHD発症への意義は示されていなかった。今回の研究では、移植後臨床検体解析およびマウス移植モデルでの検証実験から、骨髄・胸腺という一次リンパ器官がドナー成熟T細胞による同種免疫反応から受ける損傷が、その後のB細胞およびT細胞の慢性的な異常ホメオスタシスの起点であり、これらを戦略的に保全することで慢性GVHD発症を抑制する治療戦略の理論的妥当性が明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

慢性GVHDの病態基盤としてのB細胞恒常性異常が起こるメカニズム、またこれへの治療的介入については十分な検討がなされていなかった。今回の研究成果により、移植後超急性期の同種T細胞免疫による骨髄損傷が長期的なB細胞系列および制御性T細胞の再構築不全をきたし、慢性GVHDの発症に関与していることが明らかとなった。今回の結果を基礎として、現在、B細胞新生不全および慢性GVHD発症を予測するバイオマーカーの同定へ向けて、移植急性期における骨髄微小環境の網羅的な細胞遺伝子学的解析を進めている。一連の基礎・臨床研究は、客観的バイオマーカーに基づく慢性GVHDの評価と治療法の確立への基盤となる。

研究成果の概要(英文)：Acute GVHD clinically develops when barrier organs such as the skin, liver, and intestinal tract are damaged above the tissue tolerance threshold by alloimmune responses with mature donor T cells. In contrast, the significance of allo-immunity to development of chronic GVHD had not been well known. In the present study, the exploratory clinical sample analyses and the validation experiments in a murine BMT model revealed that damage to primary lymphoid organs such as the bone marrow and thymus from alloimmune reactions by donor mature T cells was associated with subsequent failure of lymphogenesis of B-cell and Treg. Our results demonstrated that the functional damage of the bone marrow is the starting point of abnormal B-cell homeostasis after HSCT, and the theoretical validity of a therapeutic strategy that suppresses the onset of chronic GVHD by strategically preserving the primary lymphoid organs in acute phase.

研究分野：血液内科学、造血幹細胞移植学

キーワード：血液内科学 造血幹細胞移植学 免疫寛容 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 (HSCT) は、血液癌の根治的な治療法である。急性期を乗り切る症例が増えた一方で、長期サバイバーの QOL を著しく低下させる慢性 GVHD に対する早期診断と治療法の確立は喫緊の課題である。これまでの研究において、慢性 GVHD を発症した患者では、B 細胞活性化因子 (BAFF) の恒常的上昇、B 細胞総数の低下、特に Transitional B cell の著減が報告され、その後、B 細胞シグナルを標的としたイブルチニブが慢性 GVHD の治療に有用であることが示された。しかしながら、慢性 GVHD の病態基盤としての B 細胞恒常性異常の機序とこれへの治療的介入については十分な検討がなされていない。今回の研究では、移植急性期の免疫モニタリングに基づく確度の高い発症リスク評価と発症前からの先制治療の開発を目指す。

2. 研究の目的

本研究では、移植後急性期の B 細胞恒常性モニタリングから、その後の慢性 GVHD 発症を予測するスコアリングシステムを構築し、さらに、この B 細胞恒常性異常を抑制できる治療法を、マウス骨髄移植モデルを用いて探索することを目標とする。本研究で得られるコンセプトを基に臨床試験を計画し、個々の病態に合わせた個別的な移植管理を可能にする免疫制御イノベーションへ導出する。

3. 研究の方法

臨床検体解析では、様々な移植法による移植を実施した患者を対象に、移植早期(2週、4週、8週、12週)の末梢血検体を集積し、フローサイトメトリーにより解析した。HLA 不適合移植では、移植後のドナーキメラリズムをリンパ球サブセット別に解析するため、フローサイトメトリーによるキメラリズム解析を実施した。

動物による検証実験では、マウスの MHC 半合致移植のモデルとして、B6 ドナーから B6D2F1 レシピエントへ骨髄移植を行った。移植後早期からの骨髄内 B 細胞免疫再構築のプロセスを検討するため、移植後 Day7,14,21,28,56,84 の骨髄細胞を得て、共通リンパ系前駆細胞からの B 細胞骨髄内分化 (pre-proB, proB, preB, immature-B) をフローサイトメトリーにて観察した。さらに day28,56,84 の末梢における B 細胞成熟過程 (transitional-B, follicular-B, marginal zone-B, germinal center-B) を確認するため、脾臓およびリンパ節の B 細胞系列を解析した。IL-10 を産生する制御性 B 細胞の末梢出現についても検討した。一方、これらの B 細胞免疫再構築への T 細胞サブセットの関与を検討するために、同時期の胸腺細胞の再構築を観察した。特にドナー由来 Treg の再構築と B 細胞免疫再構築の関連を考察するため、移植ドナーに Dreg マウスを用いて、ジフテリアトキシンによる in vivo Treg depletion を行い、B 細胞分化過程への影響を確認を行なった。Day84 の GVHD 標的臓器を保存し、慢性 GVHD について病理的検討を行った。このようにして得られた、骨髄内から末梢に至るまでの B 細胞再構築および慢性 GVHD 発症が、移植シクロフォスファミド (PTCy) 投与によって改善するかを検証した。

4. 研究成果

臨床検体解析においては、移植後 8 週の B 細胞サブセット解析にて、臍帯血移植および PTCy ハプロ移植では、Transitional B subset が増加している一方で、ATG ハプロ移植では、Switched/memory B subset が特徴的に増加していた。Transitional B subset と switched/memory B subset の増加は互いに排他的であり、増加している subset による類型化が可能であった。重要なことに、Transitional B が低下する B 細胞回復パターンは、移植後 3 ヶ月以降の慢性 GVHD の発症に相関する傾向がみられた。これらの結果から、B 細胞恒常性異常は実際の慢性 GVHD 発症よりもかなり早い段階ですでに形成されていることを示唆されるとともに、移植後急性期の B 細胞解析が慢性 GVHD 発症リスク評価に有用なツールとなる可能性が示された。(Iwamoto et al, BMT 2021)

動物による検証実験では、PTCy による移植直後の T 細胞除去が移植後の B 細胞再構築および慢性 GVHD 発症に与える影響を検証した。PTCy 投与をしない通常の移植群では、移植片から移入したドナー成熟 T 細胞が骨髄内で急激に増加し、その後のドナー造血幹細胞由来の制御性 T 細胞 (Treg) ならびに B 細胞の産生が障害され、慢性 GVHD の発症を認めた。これに対し、PTCy 投与群では、移植直後の骨髄内 T 細胞増加が抑制され、Treg と B 細胞の回復が促進され、慢性 GVHD が有意に改善した。興味深いことに PTCy 群においても、造血幹細胞由来の Treg を除去すると骨髄内 B 細胞分化が停止した。これらの結果から、PTCy による骨髄内 T 細胞増加の抑制と造血幹細胞由来 Treg の維持が長期的な B 細胞再構築に重要であり、慢性 GVHD の発症抑制に寄与することが示唆された。(Sumii et al, JCI insight 2023)

今回の一連の研究では、移植後臨床検体解析およびマウス移植モデルでの検証実験から、骨

髄・胸腺という一次リンパ器官がドナー成熟 T 細胞による同種免疫反応から受ける損傷が、その後の B 細胞および T 細胞の慢性的な異常ホメオスタシスの起点であり、これらを戦略的に保全することで慢性 GVHD 発症を抑制する治療戦略の理論的妥当性が明らかとなった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 13件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Nakamura M, Meguri Y, Ikegawa S, Kondo T, Sumii Y, Fukumi T, Iwamoto M, Sando Y, Sugiura H, Asada N, Ennishi D, Tomida S, Fukuda-Kawaguchi E, Ishii Y, Maeda Y, Matsuoka KI.	4. 巻 11
2. 論文標題 Reduced dose of PTCy followed by adjuvant α -galactosylceramide enhances GVL effect without sacrificing GVHD suppression	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 13125
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-021-92526-z.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kondo T, Ikegawa S, Fukumi T, Sumii Y, Sugiura H, Sando Y, Nakamura M, Meguri Y, Iwamoto M, Maeda Y, Matsuoka KI.	4. 巻 5
2. 論文標題 Pretransplant Short-Term Exposure of Donor Graft Cells to ITK Selective Inhibitor Ameliorates Acute Graft-versus-Host Disease by Inhibiting Effector T Cell Differentiation while Sparing Regulatory T Cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Immunohorizons	6. 最初と最後の頁 424-437
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.4049/immunohorizons.2100042.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Sando Y, Matsuoka KI, Sumii Y, Kondo T, Ikegawa S, Sugiura H, Nakamura M, Iwamoto M, Meguri Y, Asada N, Ennishi D, Nishimori H, Fujii K, Fujii N, Utsunomiya A, Oka T, Maeda Y.	4. 巻 10
2. 論文標題 5-aminolevulinic acid-mediated photodynamic therapy can target aggressive adult T cell leukemia/lymphoma resistant to conventional chemotherapy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 17237
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-74174-x.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ikegawa S, Meguri Y, Mizuhara K, Fukumi T, Kobayashi H, Sumii Y, Kondo T, Sando Y, Iwamoto M, Asada N, Ennishi D, Nishimori H, Fujii K, Fujii N, Fujisawa Y, Imai T, Maeda Y, Matsuoka KI.	4. 巻 35
2. 論文標題 Pretransplant nivolumab further enhanced Treg expansion after posttransplant cyclophosphamide; another aspect for immune tolerance by PTCy after nivolumab	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Leukemia	6. 最初と最後の頁 929-931
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41375-021-01167-8.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Meguri Y, Asano T, Yoshioka T, Iwamoto M, Ikegawa S, Sugiura H, Kishi Y, Nakamura M, Sando Y, Kondo T, Sumii Y, Maeda Y, Matsuoka KI.	4. 巻 13
2. 論文標題 Responses of regulatory and effector T-cells to low-dose interleukin-2 differ depending on the immune environment after allogeneic stem cell transplantation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 891925
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2022.891925	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ikegawa S, Matsuoka KI.	4. 巻 12
2. 論文標題 Harnessing Treg Homeostasis to Optimize Posttransplant Immunity: Current Concepts and Future Perspectives	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 713358
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2021.713358.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sugiura H, Matsuoka KI, Fukumi T, Sumii Y, Kondo T, Ikegawa S, Meguri Y, Iwamoto M, Sando Y, Nakamura M, Toji T, Ishii Y, Maeda Y.	4. 巻 3
2. 論文標題 Donor Treg expansion by liposomal α -galactosylceramide modulates Tfh cells and prevents sclerodermatous chronic graft-versus-host disease	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Immun Inflamm Dis.	6. 最初と最後の頁 721-733
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/iid3.425	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takanori Teshima, Jaap Jan Boelens, Ken-ichi Matsuoka	4. 巻 2
2. 論文標題 Novel insights into GVHD and immune reconstitution after allogeneic hematopoietic cell transplantation	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Blood Cell Therapy	6. 最初と最後の頁 1-6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.31547/bct-2022-023	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

1. 著者名 Sumii Y, Kondo T, Ikegawa S, Fukumi T, Iwamoto M, Nishimura MF, Sugiura H, Sando Y, Nakamura M, Meguri Y, Matsushita T, Tanimine N, Kimura M, Asada N, Ennishi D, Maeda Y, Matsuoka KI.	4. 巻 8
2. 論文標題 Hematopoietic stem cell-derived Tregs are essential for maintaining favorable B cell lymphopoiesis following posttransplant cyclophosphamide	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 JCI Insight	6. 最初と最後の頁 1-21
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1172/jci.insight.162180.	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 -

1. 著者名 松岡賢市	4. 巻 62
2. 論文標題 GVHDの免疫病態と治療	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 臨床血液	6. 最初と最後の頁 1281-1287
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11406/rinketsu.62.1281.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 松岡賢市	4. 巻 62
2. 論文標題 GVHDの予防と治療の新たな展開	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 臨床血液	6. 最初と最後の頁 602-609
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11406/rinketsu.62.602	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Iwamoto M, Ikegawa S, Kondo T, Meguri Y, Nakamura M, Sando Y, Sugiura H, Sumii Y, Asada N, Ennishi D, Nishimori H, Fujii K, Fujii N, Shibakura M, Maeda Y, Matsuoka KI.	4. 巻 56
2. 論文標題 Post-transplantation cyclophosphamide restores early B-cell lymphogenesis that suppresses subsequent chronic graft-versus-host disease	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Bone Marrow Transplant	6. 最初と最後の頁 956-959.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41409-020-01100-0.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Iwamoto M, Ikegawa S, Kondo T, Meguri Y, Nakamura M, Sando Y, Sugiura H, Sumii Y, Asada N, Ennishi D, Nishimori H, Fujii K, Fujii N, Shibakura M, Maeda Y, Matsuoka KI.	4. 巻 56(4)
2. 論文標題 Post-transplantation cyclophosphamide restores early B-cell lymphogenesis that suppresses subsequent chronic graft-versus-host disease	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bone Marrow Transplant.	6. 最初と最後の頁 956-959
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41409-020-01100-0.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Matsuoka K.
2. 発表標題 Novel insights in biology and treatment of chronic GVHD
3. 学会等名 Asia-Pacific Bone Marrow Transplantation (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松岡賢市
2. 発表標題 移植ブリッジングと維持療法
3. 学会等名 日本造血・免疫細胞学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松岡賢市
2. 発表標題 GVHDの免疫病態と治療
3. 学会等名 日本血液学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 住居 優一、松岡 賢市、福見 拓也、近藤 匠、池川 俊太郎、岩本 美紀、杉浦 弘幸、三道 康永、中村 真、廻 勇輔、西村 碧 フィリーズ、前田 嘉信
2. 発表標題 移植後シクロホスファミドはエフェクターT細胞の骨髄浸潤を抑制し、B細胞再構築を促進させる
3. 学会等名 日本造血・免疫細胞学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Takuya Fukumi, Ken-ichi Matsuoka, Yuichi Sumii, Takumi Kondo, Shuntaro Ikegawa, Hiroki Takasuka, Midori Filiz Nishimura, Noboru Asada, Yoshinobu Maeda
2. 発表標題 Host-Treg cells can expand and comprise a major component of the suppressor compartment after PTCy-based MHC-matched HSCT.
3. 学会等名 日本造血・免疫細胞学会学術集会
4. 発表年 2022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
---------------------------	-----------------------	----

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