

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 6 日現在

機関番号：32666

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23790963

研究課題名(和文)造血幹細胞移植後の血栓性微小血管症の発症機序の解明

研究課題名(英文)Renal thrombotic microangiopathy associated with chronic GVHD after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation

研究代表者

三井 亜希子(Mii, Akiko)

日本医科大学・医学部・助教

研究者番号：50544417

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円、(間接経費) 960,000円

研究成果の概要(和文)：血栓性微小血管症(TMA)は造血幹細胞移植後の主要な合併症の1つである。移植後の腎TMAが慢性移植片対宿主病(chronic GVHD)により発症していると考えられる症例を経験した。組織学的に強い毛細血管の内皮細胞障害とC4d沈着を認め、腎微小血管に対する抗体が関与したchronic humoral GVHDによる腎TMAの概念を世界で初めて提唱し、移植後腎TMAには免疫抑制剤の増量が必要な症例が含まれると結論づけた。この裏付けとして、ラット同種骨髄移植実験を行い、ラットGVHDモデルの確立、移植後腎TMAの糸球体所見を有するモデルの作成に成功し、腎臓がGVHDの標的臓器となることを示した。

研究成果の概要(英文)：Thrombotic microangiopathy (TMA) is one of the major complications after hematopoietic stem cell transplantation (HSCT). The pathogenesis of HSCT-associated TMA is controversial. We reported the cases of renal TMA involved in chronic graft versus host disease (GVHD). The pathologic features showed severe endothelial injury with glomerular and peritubular capillary C4d deposition, and we termed it chronic humoral GVHD. Moreover we created the rat renal GVHD model with pathologic TMA. We indicate that kidney is one of the target organs of GVHD associated with the development of TMA after HSCT.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・腎臓内科学

キーワード：移植・再生医療 病理学 免疫学

1. 研究開始当初の背景

造血幹細胞移植は、造血系腫瘍を中心とした悪性腫瘍や自己免疫性疾患などの治療を目的として近年飛躍的に症例数が増加し、それに伴い移植後腎障害を呈する症例も増加している。移植後の早期の腎障害は、移植前の大量化学療法や、術前・術後に行われる免疫抑制療法に伴う薬剤性腎障害、感染症による敗血症が原因となることが多い。慢性期には、移植後生存例の20-60%に慢性腎臓病を合併するとされ、一般的にそれらの腎障害は、(1)免疫複合体型腎炎(膜性腎症やIgA腎症など)(2)非免疫複合体型腎炎(サイトカインによる糸球体上皮細胞傷害で発症するFSGSなど)(3)腎血栓性微小血管症(TMA)が知られている。このうち(1)と(2)は、造血幹細胞移植後にみられるGVHDに関連した病態であると考えられているが、(3)は現在のところ移植時に行われる全身放射線照射やGVHD予防に使用されるカルシニューリン阻害薬等が原因とされている。本研究申請者は、造血幹細胞移植後約2年の経過で蛋白尿を伴う腎機能障害が進展し腎生検を施行された症例の経験から、造血幹細胞移植後TMAの症例の中に腎微小血管の内皮細胞に対するchronicGVHD、特に抗体が関与したchronic humoralGVHDにより発症する症例が数多く含まれていると確信した。現在、造血幹細胞移植後TMAが発症した場合、免疫抑制薬の減量が行われることが多いが、移植後TMAにchronicGVHDが関与し、さらにはレシピエントに対する抗体が関連しているchronic humoralGVHDの場合には、免疫抑制薬の増量、血漿交換や抗CD20抗体の使用が必要となり、相反する治療を行う必要がある。

2. 研究の目的

臨床的な造血幹細胞移植後TMA症例の臨床病理学的解析、マウスやラットの動物実験を用いて造血幹細胞移植後TMAモデルを作成し、造血幹細胞移植後TMAの特徴及びその発症機序を明確にする。これにより造血幹細胞移植後TMAにお

けるchronicGVHDの概念の確立を行い、造血幹細胞移植後TMAの治療法や予後の改善を目指す。

3. 研究の方法

造血幹細胞移植後TMAにおけるGVHDの概念の確立と移植後TMAの治療および予後の改善を目指すため、以下の検討をおこなった。

- (1)本学で行われた造血幹細胞移植症例の腎生検例と剖検例の腎病変について臨床病理学的解析を行い、臨床における造血幹細胞移植後TMAの発症機序を明らかにする。さらに、chronic humoralGVHDによる造血幹細胞移植後TMAの頻度や予後を含め臨床病理学的特徴を解析する。
- (2)同種骨髄移植の動物実験を行い、腎臓がGVHDの標的臓器になり得るかどうかが、全身放射線照射や免疫抑制薬の造血幹細胞移植後TMAに対する影響、T細胞性及び抗体依存性のGVHDの関与について検討し、腎臓がGVHDの標的臓器となり得るか、また造血幹細胞移植後TMAの発症とGVHDの関連を明らかにする。

4. 研究成果

(1)臨床症例に関する検討

臍帯血移植後の蛋白尿を伴う腎機能障害を呈する症例の腎生検の解析から、腎組織において糸球体係蹄や傍尿管毛細血管(PTC)へのC4d沈着を伴った高度の内皮細胞傷害像を確認し、造血幹細胞移植後TMAの発症にはchronicGVHDが関与し、その成因に抗体産生が関与することをchronic humoralGVHDの概念とともに世界で初めて報告した。(Pathol Int 2011)また造血幹細胞移植症例の腎生検例と剖検例について臨床病理学的解析を行い、持続する腎微小血管内皮細胞傷害とchronicGVHDの関与を報告した。

(Pathol Int 2011)その後、症例の蓄積を行い、臨床病理学的にGVHDによる腎TMAと診断した症例に対して実際に免疫抑制薬の増量を行うことにより多くの症例で腎機能の改善を認め、学会で報告するとともに、現在論文を作成中である。(ASN 2013)

(2)ラット同種骨髄移植の実験による検討
まずは典型的なGVHDの評価として急性GVHDモデルの作成を試みた。Lewisラット (RT11)へ10Gyの全身放射線照射後、 6.0×10^7 個のDAラット (RT1a)の骨髄細胞を移植した。キメリズムチェックによりLewisラットの末梢白血球は移植したDAラット由来の細胞にほぼ100%変換されており移植骨髄の生着に成功した。移植後3-4週間で体重減少、脱毛を伴う皮膚赤紅斑、下痢といったacute GVHD症状を呈し、血液検査で肝機能障害、腎機能障害を確認した。腎組織では小動脈周囲間質へのCD8陽性T細胞、CD68陽性マクロファージを主体とした炎症細胞浸潤、傍尿細管毛細血管炎、急性糸球体炎や動脈内膜炎を認めた。またFlow cytometryにて、CD4+T細胞に比較してCD8+T細胞の優位の増加を認め、免疫組織化学的にもCD8+T細胞の腎臓内への浸潤を認めた。炎症性サイトカインであるIFN- γ とTNF- α の腎臓内での発現の上昇をRT-PCRで確認した。これより、腎臓がGVHDの標的臓器であること、またこのモデルがT細胞性GVHDであることを学会にて報告するとともに現在論文を投稿中である (ASN 2012, ASN 2013)。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計2件)

1. Mii A, Shimizu A, Masuda Y, Fujino T, Kaneko T, Utsumi K, Arai T, Ishikawa A, Wakamatsu K, Tajika K, Iino Y, Katayama Y, Fukuda Y.: Renal thrombotic microangiopathy associated with chronic humoral graft versus host disease after hematopoietic stem cell transplantation. Pathol Int. 61, 34-41, 2011
doi:10.1111/j.1440-1827.2010.02608.x.
査読あり
2. Mii A, Shimizu A, Kaneko T, Fujita E, Fukui M, Fujino T, Utsumi K, Yamaguchi H,

Tajika K, Tsuchiya S, Iino Y, Katayama Y, Fukuda Y.: Renal thrombotic microangiopathy associated with chronic graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. Pathol Int. 61, 518-27, 2011
doi: 10.1111/j.1440-1827.2011.02704.x.
査読あり

[学会発表](計 件)

1. 三井亜希子, 清水章, 益田幸成, 金子朋広, 内海甲一, 田近賢二, 山口博樹, 飯野靖彦, 片山泰朗, 福田悠: 造血幹細胞移植後の腎血栓性微小血管症(TMA)と移植片対宿主病(GVHD)の関与、第54回日本腎臓学会学術総会、2011. 6.15-17
2. 肥後清一郎, 清水章, 永坂真也, 梶本雄介, 神崎剛, 三井亜希子, 飯野靖彦, 片山泰朗, 益田幸成, 福田悠: ラット骨髄移植モデルにおける腎臓の急性移植片対宿主病(急性GVHD)の病理学的特徴、第101回日本病理学会、2012. 4.26-28
3. 肥後清一郎, 清水章, 益田幸成, 永坂真也, 梶本雄介, 神崎剛, 三井亜希子, 飯野靖彦, 片山泰朗, 福田悠: ラット同種骨髄移植後の急性移植片対宿主病(急性GVHD)の標的臓器としての腎臓、第55回日本腎臓学会、2012.6.1-3
4. Seiichiro Higo, Akira Shimizu, Yukinari Masuda, Shinya Nagasaka, Yusuke Kajimoto, Go Kanzaki, Akiko Mii, Yasuhiko Iino, Yasuo Katayama, Yuh Fukuda: The pathological characteristics of kidney in acute graft-versus-host disease after DA-to-Lewis rat bone marrow transplantation. ASN kidney Week 2012.

10.30-11.4

5. 三井亜希子、肥後清一郎、益田幸成：造血幹細胞移植後のGVHDに伴う腎病変について、第102回日本病理学会総会ワークショップ、2013. 6.6-8
6. 肥後清一郎、清水章、益田幸成、永坂真也、梶本雄介、神崎剛、三井亜希子、飯野靖彦、片山泰朗、福田 悠：ラット同種間骨髄移植で生じた急性移植片対宿主病(急性GVHD)の腎臓における病理学的・免疫学的特徴の検討、第102回日本病理学会、2013.6.6-8
7. Akiko Mii, Akira Shimizu, Seiichiro Higo, Shuichi Tsuruoka : Renal thrombotic microangiopathy associated with chronic graft versus host disease after hematopoietic stem cell transplantation. ASN Kidney Week 2013. 2013. 11.5-10
8. Seiichiro Higo, Akira Shimizu, Yukinari Masuda, Shinya Nagasaka, Yusuke Kajimoto, Go Kanzaki, Akiko Mii, Yasuo Katayama, Shuichi Tsuruoka: Acute graft-versus-host disease in the kidney after DA-to-Lewis rat bone marrow transplantation. ASN kidney Week 2012. 2013. 11.5-10

6. 研究組織

(1)研究代表者

三井亜希子

日本医科大学 腎臓内科 助教

研究者番号 : 50544417