

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 10 日現在

機関番号：17102
研究種目：基盤研究(C) (一般)
研究期間：2013～2015
課題番号：25461453
研究課題名(和文)GVHD/GVLに関わるメモリーT細胞分化のメカニズム

研究課題名(英文)Memory T cell differentiation in GVHD and GVL

研究代表者

加藤 光次 (Kato, Koji)

九州大学・大学病院・助教

研究者番号：20571764

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：ドナーソース毎の同種移植後免疫再構築について、ヒトメモリー幹細胞分画(TMSC)を中心に、その推移を多数例で検討した。移植後サイクロホスファミド(CY)によるハプロ移植において、特に、移植後早期にTMSCが濃縮されることがわかった。しかし、マウスGVHDモデルのTMSCは難治性GVHDの原因であるという報告と異なり、これらヒトTMSC分画は、重症GVHDを発症させることなく、その後正常のT細胞分化のパターンを認めた。HLA不適合移植にも関わらず、移植後CYにより免疫寛容が誘導され、「自然な」免疫再構築を認めることで、GVHDおよび日和見感染症の頻度もいずれも少ない結果であった。

研究成果の概要(英文)：T memory stem cell (TMSC) has reportedly played an important role in development of severe GVHD in mice. However, there is little information about the relation between TMSC and GVHD. We showed that TMSC was enriched after administration of post-cyclophosphamide in haplo-matched allogeneic stem cell transplantation. These TMSC did not lead to development of GVHD. Furthermore, the incidence of infectious complications was very low through the rapid immunological reconstitution. These data suggested that TMSC was a key subset of the separation between GVHD and GVL.

研究分野：医歯薬学・内科系臨床医学・血液内科学

キーワード：造血幹細胞移植学 メモリーT細胞 GVHD

1. 研究開始当初の背景

1970年代に臨床応用として本格的に始まった同種造血幹細胞移植 (Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, Allo-HSCT) のあゆみは、移植片対宿主病 (Graft-Versus-Host-Disease, GVHD) との闘いの歴史と言っても過言ではない。1980年以降のサイクロスポリンやFK506の導入はGVHD予防に一定の効果をもたらし、allo-HSCTの治療成績を向上させた。その結果、多くの患者がallo-HSCTによって長期生存できるようになった。しかし、未だ30%の患者で重症GVHDを併発し、ステロイドを中心とした現行の治療のみではその反応性が乏しいことに加え、薬剤そのものによる副作用を併発し、しばしば治療に難渋している。すなわち、難治性GVHD克服のためには、従来の単純なT細胞機能抑制に留まらず、表面抗原や転写因子、シグナル伝達レベルでのメカニズムの理解が必要で、GVHDの原因となっている因子を標的とするような、副作用が少なく、効果的な治療法の開発が望まれる。

アロ反応性エフェクターCD8陽性T細胞は、GVHDにおいて、標的臓器への組織障害の原因となり、その長期の生存持続は治療抵抗性の原因となる。一般に、これらのアロ反応性エフェクターCD8陽性T細胞は最終分化段階であり、apoptotic induced cell death (AICD) で多くの細胞が速やかに消失するはずである。しかし、allo-HSCTにおいて、一部の細胞が自己複製能をもつメモリーT細胞“Memory stem T cell (T_{MSC})”として生存することでGVHDが持続することを、マウスGVHDモデルを用いて、我々のグループのZhangらが報告した(Nature Med 2005)。

最近、この自己複製能を有するT_{MSC}の存在が、最も強力な腫瘍免疫効果を発揮する細胞として、ヒトでも報告された(Gattinoni et al. Nat Med 2011)。T_{MSC}はGVLの観点から非常に魅力的な細胞であるが、マウスモデルで示されたように、allo-HSCTの中で、難治性GVHDの原因になっているのかどうか、そして、GVLに対する関与について、ヒトでは今のところ不明である。

2. 研究の目的

本研究では、ヒトT_{MSC}の難治性GVHD発症における役割を、GVLとあわせて明らかにする。これら得られた知見に基づき、細胞・分子・遺伝子レベルでのGVHDの新規治療法を開発、ヒトへの臨床応用するための研究基盤を確立することが目標である。

3. 研究の方法

(1) Allo-HSCTにおけるヒトT_{MSC}の同定

T_{MSC}は、エフェクターT細胞(T_E)やセントラルメモリーT細胞(T_{CM})に比べ、GVHDを起こす可能性があるものの、その程度は弱い(Nature Med 2005)。一方で、腫瘍免疫モデルにおける養子免疫療法において、T_{MSC}によ

る持続的な高い抗腫瘍効果が報告されている(PNAS 2006, Nature Med 2009)。したがって、T_{MSC}を介した移植片対白血病効果(GVL)の増強が期待される。これらのメモリーT細胞のallo-HSCT後の動態を、ドナーソース別に追跡、特に、ヒトT_{MSC}を同定する。

(2) ヒトT_{MSC}のGVHD発症に及ぼす影響

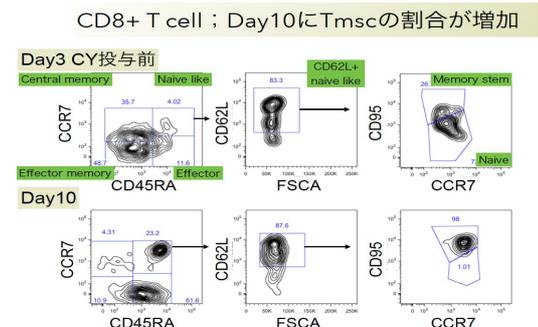
申請者らのグループが以前同定したマウスT_{MSC}は、ナイーブT細胞に非常に近いフェノタイプを持つ。ヒトT_{MSC}も、マウスと同様、ナイーブT細胞に非常に近いフェノタイプを持つ(CD3+CD8+CD45RO-CCR7+CD45RA+CD62L+CD27+CD28+IL7R+CD95+)。ヒトT_{MSC}が、マウスモデルで示されたような難治性GVHDの原因になっているかどうかはいまだ不明である。臨床情報とあわせ、その病的意義を明らかにする。

(3) T_{MSC}を頂点とするメモリーT細胞分化のメカニズムおよびGVHD発症に及ぼす影響

ヒトT_{MSC}を高速セルソーターにて細胞分離、他のメモリー分画と比較し、メモリーT細胞分化に重要な遺伝子をスクリーニングする。マウスモデルで得られている遺伝子情報も参考にしながら、GVHDとGVLを分離しうる可能性のある治療標的、特にT_{MSC}に焦点をあて探索する。

4. 研究成果

(1) T_{MSC}は、移植後サイクロホスファミド(CY)を用いたハプロ移植で濃縮される。



様々なドナーソースのallo-HSCT移植における、メモリーT細胞の移植後免疫動態を追跡した。上記に示す様に、最近開発されたばかりで、急速に臨床現場に広がっている移植後CYを用いたハプロ移植の、特にCY投与直後にT_{MSC}がenrichされることがわかった。これらは、特にGVHDを増悪させることなく、その後T_{CM}とT_Eに分化、正常な免疫再構築が行なわれ、強力な免疫抑制下にも関わらず、感染症の増加を認めなかった。

(2) ソートしたヒトT_{MSC}の遺伝子発現解析

マウスGVHDモデルで示された遺伝子発現(Kato K et al. BBMT 2012)も参考にしながら、ポリコム遺伝子やCY抵抗性遺伝子を中心にT_{MSC}の複製、維持に必要な遺伝子同定を行なっている。

(3) 一部のT_{MSC}が長期に持続することで、慢性GVHD発症の原因となる。

慢性GVHD合併レシピエントの末梢血で、

移植後の T_{MSC} の動態を追った。慢性 GVHD を発症した場合に T_{MSC} が増加、GVHD の原因として T_{MSC} の存在が考えられた。つまり、マウス GVHD モデルで示された様に、T_{MSC} が治療に難渋する慢性 GVHD の原因として治療標的となりうる可能性があることを示唆する。

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 15 件)

Uryu H, Hashimoto D, Kato K, Hayase E, Matsuoka S, Ogasawara R, Takahashi S, Maeda Y, Iwasaki H, Miyamoto T, Saijo S, Iwakura Y, Hill GR, Akashi K, Teshima T.

-Mannan induces Th17-mediated pulmonary graft-versus-host disease in mice. *Blood*. 2015;125: 3014-23. (査読有)

DOI: 10.1182/blood-2014-12-615781.

Kako S, Izutsu K, Kato K, Kim SW, Mori T, Fukuda T, Kobayashi N, Taji H, Hashimoto H, Kondo T, Sakamaki H, Morishima Y, Kato K, Suzuki R, Suzumiya J; on behalf of the Adult Lymphoma Working Group of the Japanese Society for Hematopoietic Cell Transplantation. The role of hematopoietic stem cell transplantation for relapsed and refractory Hodgkin Lymphoma. *Am J Hematol*. 2015; 90: 132-8. (査読有)

DOI: 10.1002/ajh.23897.

Kato K, Choi I, Wake A, Uike N, Taniguchi S, Moriuchi Y, Miyazaki Y, Nakamae H, Oku E, Murata M, Eto T, Akashi K, Sakamaki H, Kato K, Suzuki R, Yamanaka T, Utsunomiya A. Treatment of Patients with Adult T Cell Leukemia/Lymphoma with Cord Blood Transplantation: A Japanese Nationwide Retrospective Survey. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2014; 20: 1968-74. (査読有)

DOI: 10.1016/j.bbmt.2014.08.012.

Shima T, Miyamoto T, Kikushige Y, Yuda J, Tochigi T, Yoshimoto G, Kato K, Takenaka K, Iwasaki H, Mizuno S, Goto N, Akashi K. The ordered acquisition of Class II and Class I mutations directs formation of human t(8;21) acute myelogenous leukemia stem cell. *Exp Hematol*. 2014; 42: 955-65. (査読有)

DOI: 10.1016/j.exphem.2014.07.267.

Takashima S, Eto T, Shiratsuchi M, Hidaka M, Mori Y, Kato K, Kamezaki K, Oku S, Henzan H, Takase K, Matsushima T, Takenaka K, Iwasaki H, Miyamoto T, Akashi K, Teshima T. The Use of Oral Beclomethasone Dipropionate in the Treatment of Gastrointestinal Graft-versus-host Disease: The Experience of the Fukuoka Blood and Marrow

Transplantation (BMT) Group. *Intern Med*. 2014; 53: 1315-20. (査読有)

PMID: 24930650.

Chihara D, Izutsu K, Kondo E, Sakai R, Mizuta S, Yokoyama K, Kaneko H, Kato K, Hasegawa Y, Chou T, Sugahara H, Henzan H, Sakamaki H, Suzuki R, Suzumiya J. High-dose chemotherapy with autologous stem cell transplantation for elderly patients with relapsed/refractory diffuse large B-cell lymphoma: a nationwide retrospective study. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2014; 20: 684-9. (査読有)

DOI: 10.1016/j.bbmt.2014.01.025.

Ishida T, Hishizawa M, Kato K, Tanosaki R, Fukuda T, Takatsuka Y, Eto T, Miyazaki Y, Hidaka M, Uike N, Miyamoto T, Tsudo M, Sakamaki H, Morishima Y, Suzuki R, Utsunomiya A. Impact of Graft-versus-Host Disease on Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation for Adult T Cell Leukemia-Lymphoma Focusing on Preconditioning Regimens: Nationwide Retrospective Study. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2013; 19: 1731-9. (査読有)

DOI: 10.1016/j.bbmt.2013.09.014.

Ito Y, Miyamoto T, Kamimura T, Takase K, Henzan H, Sugio Y, Kato K, Ohno Y, Eto T, Teshima T, Akashi K. Clinical outcomes of allogeneic stem cell transplantation for relapsed or refractory follicular lymphoma: a retrospective analysis by the Fukuoka Blood and Marrow Transplantation Group. *Int J Hematol*. 2013; 98: 463-71. (査読有)

DOI: 10.1007/s12185-013-1430-9.

Miyamoto T, Yoshimoto G, Kamimura T, Muta T, Takashima S, Ito Y, Shiratsuchi M, Choi I, Kato K, Takenaka K, Iwasaki H, Takamatsu Y, Teshima T, Akashi K. Combination of high-dose melphalan and bortezomib as conditioning regimen for autologous peripheral blood stem cell transplantation in multiple myeloma. *Int J Hematol*. 2013; 98: 337-45. (査読有)

DOI: 10.1007/s12185-013-1402-0.

Shimoji S, Kato K, Eriguchi Y, Takenaka K, Iwasaki H, Miyamoto T, Oda Y, Akashi K, Teshima T. Evaluating the association between histological manifestations of cord colitis syndrome with GVHD. *Bone Marrow Transplant*. 2013; 48: 1249-52. (査読有)

DOI: 10.1038/bmt.2013.44.

Uchida M, Kato K, Ikesue H, Ichinose K, Hiraiwa H, Sakurai A, Muta T, Takenaka K, Iwasaki H, Miyamoto T, Teshima T, Shiratsuchi M, Suetsugu K, Nagata K, Egashira N, Akashi K, Oishi R. Efficacy and Safety of Aprepitant in Allogeneic

Hematopoietic Stem Cell Transplantation. Pharmacotherapy. 2013;33:893-901. (査読有) DOI: 10.1002/phar.1294.

Tamai Y, Hasegawa A, Takamori A, Sasada A, Tanosaki R, Choi I, Utsunomiya A, Maeda Y, Yamano Y, Eto T, Koh KR, Nakamae H, Suehiro Y, Kato K, Takemoto S, Okamura J, Uike N, Kannagi M. Potential Contribution of a Novel Tax Epitope-Specific CD4+ T Cells to Graft-versus-Tax Effect in Adult T Cell Leukemia Patients after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. J Immunol. 2013; 190: 4382-92. (査読有) DOI: 10.4049/jimmunol.1202971.

Mochizuki K, Xie F, He S, Tong Q, Liu Y, Mochizuki I, Guo Y, Kato K, Yagita H, Mineishi S, Zhang Y. Delta-Like Ligand 4 Identifies a Previously Uncharacterized Population of Inflammatory Dendritic Cells That Plays Important Roles in Eliciting Allogeneic T Cell Responses in qMice. J Immunol. 2013; 190: 3772-82. (査読有) DOI: 10.4049/jimmunol.1202820.

Daisaki H, Tateishi U, Terauchi T, Tatsumi M, Suzuki K, Shimada N, Nishida H, Numata A, Kato K, Akashi K, Harada M. Standardization of image quality across multiple centers by optimization of acquisition and reconstruction parameters with interim FDG-PET/CT for evaluating diffuse large B cell lymphoma. Ann Nucl Med. 2013; 27: 225-32. (査読有) DOI: 10.1007/s12149-012-0676-2.

Shima T, Miyamoto T, Kikushige Y, Mori Y, Kamezaki K, Takase K, Henzan H, Numata A, Ito Y, Takenaka K, Iwasaki H, Kamimura T, Eto T, Nagafuji K, Teshima T, Kato K, Akashi K. Quantitation of hematogones at the time of engraftment is a useful prognostic indicator in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. Blood. 2013; 121: 840-8. (査読有) DOI: 10.1182/blood-2012-02-409607.

〔学会発表〕(計7件)

加藤光次. ホジキンリンパ腫と末梢性 T 細胞性リンパ腫：希少リンパ腫治療の新展開 第6回日本血液学会九州地方会. (2016.3.19)

加藤光次. 急性骨髄性白血病における移植の位置付け 第77回日本血液学会. (2015.10.16)

Shimoji S, Hashimoto D, Kato K, Tujigiwa H, Akashi K, Teshima T. Graft-Versus-Host Disease Targets Granulosa Cell of Ovarian Follicle and Causes Infertility after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation (Plenary session) (2015.2.13.アメリカ)

Kato K. Second Allogeneic

Hematopoietic Stem Cell Transplantation (allo-HSCT) for Relapse of Hematological Malignancies after First Allo-HSCT. 第56回アメリカ血液学会年次集会 (2014.12.8.)

加藤光次. High-dose chemotherapy followed by auto-PBSCT for intravascular large B-cell lymphoma (IVLBCL) 第76回日本血液学会学術集会 (2014.11.1)

加藤光次. Treatment of relapsed/refractory adult T-cell leukemia/lymphoma after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: the JSHCT-ATLWG study. 第36回日本造血細胞移植学会総会 (2014.3.8)

Kato K. Cord blood transplantation for adult T-cell leukemia/lymphoma (ATL): A retrospective analysis from the ATL working group of the JSHCT.12th International conference on malignant lymphoma (2013.6.19.スイス)

〔図書〕(計7件)

Kato K, Akashi K. Recent Advances in Therapeutic Approaches for Adult T-cell Leukemia/Lymphoma. Viruses. 2015; 7: 6604-6612.

加藤光次 「急性骨髄性白血病における移植の位置付け」臨床血液 2015; 56: 1950-1959.

加藤光次, 宮本敏浩. 「血液専門医テキスト-分子標的薬の作用機序と分類-」南江堂 2015; p94-98.

加藤光次 「造血細胞移植学会ガイドライン(第1-3巻)」医薬ジャーナル社 2014; 編者.

加藤光次 「ファーマナビゲーターDIC編 -造血幹細胞移植に伴う合併症に対して、抗凝固療法はどの程度期待できますか」メディカルレビュー社 2014; p300-307.

加藤光次 「造血器疾患 -最新の治療戦略 (リンパ系疾患)-悪性リンパ腫および成人T細胞性白血病/リンパ腫」臨床血液 2014; 55: 191-200.

加藤光次 「ファーマナビゲーターDIC編 -造血幹細胞移植に伴う合併症に対して、抗凝固療法はどの程度期待できますか」メディカルレビュー社 2014; p300-307.

加藤光次 「みんなに役立つGVHDの基礎と臨床 -新規薬剤がGVHDに及ぼす影響」医薬ジャーナル社 2013; p116-123.

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.1nai.med.kyushu-u.ac.jp/>

6. 研究組織

研究代表者

加藤光次 (KATO KOJI)

九州大学・大学病院・血液腫瘍内科・助教
研究者番号：20571764