



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Studies on inhibitory interaction between graft-derived and reconstituted T cells involves murine chronic graft-versus-host disease [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	小杉, 瑞葉
Description	配架番号 : 2147
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第11665号
Issue Date	2015-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/59095
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Mizuha_Kosugi_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医 学） 氏 名 小杉 瑞葉

審査担当者	主査	教授	橋野 聡
	副査	教授	豊嶋 崇徳
	副査	教授	有賀 正
	副査	教授	渥美 達也

学 位 論 文 題 名

Studies on inhibitory interaction between graft-derived and reconstituted T cells
involves murine chronic graft-versus-host disease
(慢性移植片対宿主病における移植片由来および再構築由来 T 細胞の相互作用に関する研究)

慢性移植片対宿主病 (cGVHD) は自己免疫疾患に類似した病像を呈し、その病態は未だ解明されていない。cGVHD の免疫学的病態において、移植片に含まれる成熟 T 細胞 (T_G) と、移植された造血幹細胞から胸腺で新規に再構築された T 細胞 (T_{HSC}) の動態理解が必要である。本研究では、cGVHD マウスモデルの解析から T_G および T_{HSC} の各々の役割を明らかにし、さらに T 細胞選択的除去により T_G と T_{HSC} の相互的な病態への関与を示した。cGVHD モデルはドナーに C57BL/6、レシピエントに C3H.Sw マウスを用いた。レシピエントに 9Gy の全身放射線照射をし、cGVHD 誘導群には T 細胞除去骨髄細胞および脾臓由来 T 細胞を、コントロールとしての BMT 群には T 細胞除去骨髄細胞のみを静注した。cGVHD 誘導マウスでは BMT 群と比べ、ドナー T 細胞の標的臓器への著明な浸潤と集積を認め、さらに胸腺における再構築遅延を認めた。ドナー T 細胞を T_G および T_{HSC} に分離し解析を行い、標的臓器では T_{HSC} の集積を認めたが、一貫して T_G が数的に優位であった。さらに標的臓器内の T_G には T 細胞老化に至らない集団を認め、また BrdU 標識増殖細胞や IFN γ および TNF α 産生細胞が多く見られた。また、抗マウス Thy1.2 抗体投与による T_G 選択的除去では、T_{HSC} の補完的な増殖により cGVHD の誘導を防げなかった。一方、選択的 T_{HSC} 除去では、T_G の機能的な補完により急激な cGVHD 悪化を認め全例早期に死亡した。これは、T_G および T_{HSC} の両者を除去した群では起こらず、少数の T_{HSC} による制御が解除され残存した T_G が cGVHD 悪化を誘導したといえる。さらに、これらの補完的な相互作用より、T_G および T_{HSC} の数的維持を担う抗原刺激や生存を担う因子を供給しうる niche を形成している可能性が示唆された。

審査にあたり、副査の豊嶋崇徳教授より、T_G および T_{HSC} のフローサイトメトリのプロットにはレシピエントのコントロールが必要であるとのコメントがあり、申請者は修正すると回答した。また compensatory という用語の意味は homeostatic proliferation によって数的に代償された可能性や、T_G により胸腺 GVHD が軽減し T_{HSC} の供給が増加した要素はないのか質問があった。回答者は、指摘された機序の可能性は十分あると回答した。また、T_{HSC} による制御は Treg の関連が強く示唆されるが、Foxp3 陽性細胞数のみで関与を否

定できるかとの質問があり、申請者は、Treg の関与を見るには DNA メチル化パターン解析や抑制性受容体発現強度などの機能的解析も必要である、と回答した。副査の有賀正教授より、背景と方法の説明不足を指摘され、申請者は補足する旨回答した。また、T 細胞同士の制御については T_G、T_{HSC} に分離して Treg を解析する必要がある、さらに機能的な検討が血中 IL-10 測定などで評価可能ではとの示唆を頂き、申請者は今後より詳細に評価する旨回答した。また、この実験で判明した T_G および T_{HSC} の動態は臨床に外挿可能かとの質問に対し、申請者はヒトにおいて T_{HSC} の評価が困難であるが、動態の推測は可能である旨回答した。副査の渥美達也教授より、今回の実験結果は、Sjogren 症候群などの自己免疫疾患に類似した病態を呈しているとのコメントがあり、自己抗体の関与はあるか質問を頂いた。申請者は、このモデルにおいては B 細胞分化が著しく障害されており、また標的臓器への抗体沈着は認めないことを回答した。また、強皮症患者に自家移植を施行することがあるが、新たな胸腺分化を経ることで、異なる自己免疫疾患を発症することが知られており、この機序としては胸腺分化の異常が関与していることも考えられるとの示唆があった。また、LAG-3 陽性 Treg の病態への関与について検討すべきとの提案があった。最後に主査の橋野聡教授からは、このモデルにおいて移植 T 細胞数を変えることで cGVHD の程度が変化するか、また今回用いた移植 T 細胞数は臨床におけるどの移植ソースに近いかなど質問があり、申請者は移植 T 細胞数を減らすことで cGVHD の重症度が低下すること、また、今回のモデルは末梢血幹細胞移植に近い病態である旨回答した。また、T_{HSC} 除去群における死因は cGVHD の悪化なのかどうか質問があり、申請者はサイトカインが関与した cGVHD の悪化と考えられる旨回答した。また、カルシニューリン阻害剤による治療介入で cGVHD が予防・改善されたか、また例えば T_{HSC} の再構築に影響を与えたからかどうかについて質問があり、申請者はタクロリムスの投与によっても T_G の活性化が起これば cGVHD の誘導を防げなかったと回答した。さらに、このモデルにおいて抗腫瘍効果については検証しているかどうか質問があったが、申請者は腫瘍を用いた実験は未施行である旨回答した。

この論文は、同種造血幹細胞移植後の cGVHD を再現するマウスモデルを確立し、T_G と T_{HSC} の果たす役割と相互作用を解析したもので、本研究の独創性と先端性は高く評価され、今後、cGVHD の臨床病態解明や治療法開発に繋がることが期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位等も併せ、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。