



Title	KRP203短期投与と移植後シクロフォスファミド大量療法併用による移植片対宿主病の予防 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	横山, 絵美
Description	配架番号 : 2490
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第13699号
Issue Date	2019-06-28
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/74987
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Emi_Yokoyama_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医 学） 氏 名 横 山 絵 美

学 位 論 文 題 名

KRP203 短期投与と移植後シクロフォスファミド大量療法併用による移植片対宿主病の予防
(Short-term KRP203 and posttransplant cyclophosphamide for graft-versus-host disease prophylaxis)

【背景と目的】

同種造血幹細胞移植において、移植片対宿主病 (graft-versus-host disease; GVHD)は、移植後の生存率に影響を及ぼす重大な合併症の一つである。GVHD 予防の手段として、移植後シクロフォスファミド大量療法 (posttransplant cyclophosphamide; PTCY)は、ヒト白血球抗原 (human leukocyte antigen; HLA)半合致、もしくは一致の造血幹細胞移植において広く使用されるようになってきている。しかし、PTCY 単独では GVHD 抑制効果が不十分であり、カルシニューリン阻害剤 (calcineurin inhibitor; CI) などの免疫抑制剤の併用が必要であることが示されている。しかし、CI は移植後の制御性 T 細胞 (regulatory T cell; Treg)の再構築を阻害することが知られており、免疫寛容の構築に不利に働くと考えられ、また長期投与では腎機能障害などが問題となりやすく、CI を用いない GVHD 予防法の確立が望まれる。KRP203 は、スフィンゴシン-1-リン酸受容体 type1 (sphingosine-1-phosphate receptor type1; S1PR₁)の特異的アゴニストであり、GVHD 標的臓器へのリンパ球の遊走を抑止する作用を持つと考えられる。今回我々は、PTCY に短期間の KRP203 投与を併用した新しい GVHD 抑制療法について、GVHD のマウスモデルを用いて研究を行った。

【材料と方法】

B6D2F1 (H2^{b/d})マウスをレシピエントとし、骨髓破壊的な全身放射線を照射した後に、ドナーの B6 (H2^b)マウスから抽出した骨髓細胞と脾臓細胞を輸注した。CY は 50 mg/kg を移植後 day +3 に腹腔内投与し、KRP203 は 1 mg/kg を移植日から day +4 まで連日内服させた。移植後の GVHD の程度の評価を連日行い、生存期間の観察を行った。GVHD の組織学的評価は、移植後 4 週間の時点でレシピエントマウスの GVHD 標的臓器を取り出し、病理組織標本を作成して Hematoxylin & Eosin 染色を行った。GVHD 標的臓器と 2 次リンパ組織のドナー T 細胞は、フローサイトメトリーによる解析を行ない、血清のサイトカイン濃度測定には cytometric beads array を用いた。移植片対腫瘍(graft versus leukemia; GVL)効果の評価のための移植では、T 細胞を除去した骨髓細胞と、脾臓細胞から純化した T 細胞をグラフトとして用い、ルシフェラーゼを導入した P815 腫瘍細胞を移植日に同時に輸注した。生体内生物発光イメージング(Bioluminescence imaging; BLI)を用いて、移植後の腫瘍増殖の評価を 1 週間ごとに行った。

【結果】

移植後、無治療の同種移植レシピエントマウスは重症の GVHD を発症し、day +50 までに全ての個体が死亡した。CY 50 mg/kg を投与したマウスでは GVHD の改善が見られ、30 %の個体が生

き延びた。KRP203 単独投与において、腸間膜リンパ節内で移植後早期にドナーT 細胞のアポトーシスが誘導され、これによるドナーT 細胞数の減少が起こっており、血清 IFN γ 濃度も低下していた。KRP203 単独投与において、無治療群と比較し GVHD が緩和され、死亡率が低下した。CY に day 0 から day +4 までの短期間の KRP203 投与を併用すると、CY 単独投与群と比較して生存率が改善し、移植後 day +14 の血清 TNF α 値が低下していた。CY+KRP203 併用群では、CY 単独群と比較して腸管の組織学的所見が改善しており、各臓器のフローサイトメトリー解析では、腸管と皮膚でドナーT 細胞の浸潤が少なかった。Treg は CY への耐性があり、PTCY では移植後 Treg が温存され回復しやすいことが示されているが、KRP203 の併用はこれを阻害することなく、むしろより多くの Treg を誘導していた。GVL 効果については、CY+KRP203 併用群では、CY 単独群と比較すると腫瘍の増殖が亢進したものの、ある程度の GVL 効果が保たれていることが示された。

【考察】

PTCY は、HLA 半合致移植における GVHD 予防法として、その安全性と有効性が示されている。移植後に活性化した同種抗原反応性 T 細胞に対する clonal destruction を起こすことがその主な作用機序だが、PTCY 単剤では GVHD 抑制効果は不十分である。今回我々は、KRP203 を併用することで CI とは異なり Treg の働きを阻害せずに GVHD を改善する効果が得られることを確認した。PTCY に KRP203 を併用した場合、PTCY 単独投与と比較して GVHD 標的臓器におけるドナーT 細胞の浸潤が有意に少なかった。移植後早期に活性化したドナーT 細胞を二次リンパ組織に隔離することで、より効率的に PTCY による clonal destruction が起こったことが考えられる。S1P アゴニストの二次リンパ組織へのリンパ球隔離効果は可逆的とされているが、KRP203 により移植後早期にドナーT 細胞球のアポトーシスが起こるために、移植後早期の短期間のみの併用でも十分に GVHD 抑制効果を示したものと考えられる。PTCY では GVL 効果が阻害されないことがこれまで示されている。PTCY 投与前の一時的なドナーT 細胞活性化が抗腫瘍効果に重要である可能性が考えられ、KRP203 を併用した場合にも移植後早期のドナーT 細胞活性化が起こるため、GVL 効果には有利に働く可能性が考えられる。先に報告された S1PR_{1,3,4,5} のアゴニストである FTY720 は、臨床的にも GVHD 抑制効果が示されているものの、心血管系への副作用が問題となった。S1PR₁ の選択的アゴニストである KRP203 は、より少ない副作用で GVHD 抑制効果が期待できる薬剤である。

【結論】

HLA 半合致の造血幹細胞移植において、短期間の KRP203 投与と PTCY の併用療法は、CI を用いない新たな優れた GVHD 抑制療法である。

