



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	造血細胞移植後の合併症を予測するバイオマーカーに関する研究 [全文の要約]
Author(s)	寺下, 友佳代
Description	この博士論文全文の閲覧方法については、以下のサイトをご参照ください。 配架番号：2542 他
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第14077号
Issue Date	2020-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/78028
Type	doctoral thesis
File Information	Yukayo_Terashita_summary.pdf



学 位 論 文

(要約)

造血細胞移植後の合併症を予測する

バイオマーカーに関する研究

(Study on predictive biomarkers for complications
after hematopoietic stem cell transplantation)

2020 年 3 月

北 海 道 大 学

寺下 友佳代

学 位 論 文

(要約)

造血細胞移植後の合併症を予測する
バイオマーカーに関する研究

(Study on predictive biomarkers for complications
after hematopoietic stem cell transplantation)

2020 年 3 月

北 海 道 大 学

寺下 友佳代

1. 緒言

造血細胞移植は小児領域において白血病などの血液疾患、悪性固形腫瘍、原発性免疫不全症などの多岐にわたる疾患に対して広く普及している治療法である。本邦における 20 歳未満の造血細胞移植の年間総数は約 600 例であり、うち約 500 例に同種移植が施行されている。自家移植では悪性固形腫瘍が圧倒的に占めており、大量化学療法による造血機能不全を救済するために行われている。本研究の対象となった北海道大学病院小児科においても移植適応は前述と同様、疾患は多岐にわたり、年間約 10-15 例の造血細胞移植が行われている。小児期は成長途上であり、今後の将来が長いことを考慮すると、造血細胞移植による合併症には特に配慮が必要である。

造血細胞移植に関連した合併症のうち、移植後 100 日以内に発症する早期の合併症として、ウイルスの再活性化、肝中心静脈閉塞症、血栓性微小血管障害症、同種移植においては移植片対宿主病 (GVHD: graft-versus-host disease) が挙げられる。これらの合併症を予防、制御することは移植関連死亡や原病の治癒に影響するため、極めて重要である。

一方、化学療法または造血細胞移植を受けた患者において、皮膚の色素沈着は頻度が高い副作用症状の一つである。化学療法後の色素沈着をきたす抗腫瘍剤としてアルキル化剤が代表的であり、薬剤投与後 1-4 週の間に身体全体から爪を含めた局所的に皮膚反応が観察される。一般的な色素沈着の機序はメラニンの合成亢進もしくは炎症などの基底膜破壊によりメラニンが真皮層に停滞した結果と考えられており、造血細胞移植後の色素沈着は移植前処置での抗腫瘍剤、特にアルキル化剤の使用や全身照射、移植片対宿主病 (GVHD) 等の移植関連合併症による皮膚傷害がメラニンの合成亢進もしくは基底膜を破壊することが原因と推測される。しかし、その機序は明らかにされておらず、他の移植関連合併症との関連性についての報告も少ない。今回、造血細胞移植後の皮膚の色素沈着に着目し、移植関連合併症や予後との関連性を推測した。しかし、視診では主観的な視覚、光源などの環境条件を一貫して保つことは困難であり、皮膚色の程度を一律に評価することは不可能である。そこで、客観的な指標として二種類のメラニンの内の一つであるフェオメラニンの前駆物質、5S-システイニルドーパ (5SCD) を用いることとした。5SCD は悪性黒色腫の病勢マーカーとして臨床的に広く使用されており、血清 5SCD は年齢に依存しないことが知られている。

本研究の目的はこの血清 5SCD 値と移植関連合併症との関連性について検討することである。関連性が明らかとなれば、血清 5SCD 値を移植関連合併症のバイオマーカーとして用いることによって移植後早期の合併症の予防や制御に役立ち、より安全な移植治療の向上に寄与することができると考える。また、小児に限らず成人も含めた造血細胞移植の診療で日常行われる最も施行容易な皮膚の視診で移植合併症を予測することができる可能性を見出すことができると考える。

2. 対象と方法

2011 年 5 月から 2015 年 3 月まで北海道大学病院小児科で造血細胞移植を施行された 41 例（移植時平均年齢 7.95 歳(0-22 歳)、男児 27 例、女児 14 例)を対象とし、前向き観察研究を行った。移植日からの観察期間は平均 2056 日（1319-3027 日）であった。各合併症の発症時期を考慮して、造血細胞移植日を day0 とし、血清 5SCD 値の測定ポイントを前処置開始前、day0、day5、day10、day15、day25、day40 の計 7 ポイントとした。

はじめに、上記 7 ポイントの各平均値を算出し、移植前後の血清 5SCD 値の推移を解析した。次に、前処置前を除いた day0 以降の 6 ポイントの値に加えて、7 ポイント中の最高値と、前処置前の値と最高値の差(上昇値)の計 8 つの値の血清 5SCD 値と移植関連合併症、前処置の強度・内容、造血細胞移植、ステロイドの使用、死亡もしくは再発のイベント、悪性疾患などの項目を更に細かくした 15 項目との関連性を解析した。統計学的解析方法は単変量ロジスティック解析を用いた単変量解析の結果の中から有意に関連性が示された移植合併症の項目についてロジスティック回帰解析を用いて多変量解析を行い、バイオマーカーとしての独立性を示した。

3. 結果

患者の臨床的背景は悪性疾患 32 例(血液悪性疾患 21 例、悪性固形腫瘍 11 例)に対して非悪性疾患 9 例、同種移植 34 例に対して自家移植 7 例、前処置強度は骨髄破壊的前処置 30 例に対して骨髄非破壊的前処置 11 例、同種移植 34 例に対して自家移植 7 例であった。移植関連合併症はウイルス再活性化

21 例、生着前症候群 18 例、急性移植片対宿主病 (GVHD) 19 例のうち、Grade II-IV の急性 GVHD は 12 例、急性皮膚 GVHD は 16 例であった。

血清 5SCD 値の 7 ポイントの各々の平均値の推移は、day0 と day5 に向けてピークに達し以降は徐々に低下し、day40 には正常範囲内となった。

血清 5SCD 値と評価項目間の単変量解析では、血清 5SCD の day0 値とウイルスの再活性化 ($p=0.044$)、day5 値と生着前症候群 ($p=0.041$) の間に有意に関連性が示された。同種移植患者 ($n=34$) に限定した場合、血清 5SCD の最高値、上昇値と急性 GVHD ($p=0.030, 0.016$)、day5 値、上昇値と急性皮膚 GVHD ($p=0.030, 0.026$) にそれぞれ有意な関連性が示された。以上の項目で多変量解析を行なった結果、血清 5SCD の day0 値とウイルスの再活性化 ($p=0.002$)、day5 値と生着前症候群 ($p=0.007$)、最高値、上昇値と急性 GVHD ($p=0.014, 0.015$)、day5 値、上昇値と急性皮膚 GVHD ($p=0.011, 0.005$) の間で独立した有意な関連性を示した。尚、血清 5SCD 値と前処置の強度や内容、同種・自家移植、予後との間には関連性はなかった。

4. 考察

本研究において、血清 5SCD 値が急性 GVHD、生着前症候群、ウイルス再活性化など、免疫学的機序で発症する移植関連合併症の予測バイオマーカーとなる可能性があることを見出した。今回の結果から、血清 5SCD 値の上昇は治療薬による直接的な細胞障害だけでなく、上記合併症に関連してフェオメラニンの合成が促進されると推測された。メラニン合成経路の内、活性化される箇所に関しては、フェオメラニンが黄色メラニンであり色素沈着の直接的な原因物質ではないことを考慮すると、チロシン以下の上流の部位のいずれかで合成亢進されていると推測されたが、今回はユーメラニンの前駆物質を測定することができなかったため、活性箇所の特定はできなかった。

また、今回それぞれの合併症と関連性が示されたのは血清 5SCD の day0 値、day5 値、最高値、上昇値など複数ポイントであったが、造血細胞移植前後の血清 5SCD 値の推移から day0 と day5 に最高値となる傾向があると判明したことから、移植前の値を基礎値として、day0 または day5 の値が合併症を予測するバイオマーカーとしての意義があると考えた。

生着前症候群は造血細胞移植後に、急性 GVHD は同種移植後に見られる免疫反応による主要な合併症である。生着症候群は生着前後の発疹、毛細血管

漏出症候群による、皮膚の病理では接合部の浮腫が主体でマクロファージの浸潤、急性 GVHD の皮膚所見は斑状丘疹の発疹を特徴とし、皮膚の病理ではリンパ球の浸潤を主体とした炎症と壊死を認めることが明らかとなっている。臨床的には双方の鑑別が困難な場合があるが、いずれも免疫学的機序で皮膚の炎症をもたらし、そのことがメラノサイトを活性化し、フェオメラニン産生を促進して血清 5SCD 値が上昇すると推測される。この推測を実証するためには急性皮膚 GVHD および生着前症候群の患者における皮膚の病理所見でメラニン色素の観察が必要であるが、今回は小児にとって侵襲性が高く、時に鎮静処置を要すること、また本研究では GVHD 等の皮膚病変の鑑別診断に生検を要した症例はなかったため、病理所見を確認できなかった。また、移植後の皮膚所見の経過として、GVHD 等による炎症から色素沈着後、晩期には色素脱失を伴う丘疹などがみられる慢性皮膚 GVHD が出現するため、移植後 100 日以上に観察期間を広げて 5SCD を測定することで、より皮膚反応と 5SCD の関連性を明確にできたと考えるが、今回は早期合併症に焦点を当てたためできなかった。

本研究では急性 GVHD と急性皮膚 GVHD 双方とものバイオマーカーとして血清 5SCD の可能性を示したが、本研究においては、急性 GVHD の 19 例中 16 例 (84%) と大半に皮膚症状を認めたため、血清 5SCD 値が消化管 GVHD と肝臓 GVHD のバイオマーカーとなり得るか判断できなかった。また、急性 GVHD の重症度との関連性もなかったため、血清 5SCD 値は重症度を予測するマーカーとはなり得なかった。

今回、ウイルス再活性化と関連性が示されたのは血清 5SCD の day0 値であり、サイトメガロウイルスおよび EB ウイルスの再活性化は造血細胞移植後の約 3 週間後に、水痘帯状疱疹ウイルスの再活性化は約 3 ヶ月後に発症しやすいことから、血清 5SCD 値はウイルス再活性化を予測するバイオマーカーとなる可能性が示された。しかし、単変量解析において、血清 5SCD はウイルス再活性化の時期にむしろ低くなる傾向を示したことから、同種/自家移植混合でかつ疾患も多岐にわたる集団であったため、データの信頼性を疑う余地はあり、統一した集団での再検討を要すると考える。また、ウイルスの再活性化の危険因子には、ATG の使用、ステロイドの使用、臍帯血移植などが挙げられる。今回、臍帯血と血清 5SCD の day25, 40 値の関連性が単変量解析で示されたが、時期が遅かったため生着などの異なった要因が考えられ、また ATG とステロイドに関しては関連性が示されなかった。

悪性疾患の患者は造血細胞移植前に複数サイクルの化学療法を施行され

ており、今回は血清 5SCD の最高値との関連性が示された。前処置は多くが MAC であったが（32 人中 28 人：87.5%）、血清 5SCD 値が前処置強度と関連性がなく、さらに移植前の血清 5SCD 値と悪性疾患の間に関連性がなかった。以上から移植前の化学療法は移植というイベントを通して血清 5SCD 値がより上昇することが明らかとなり、複数の化学療法によって臓器障害をはじめとした合併症が発症しやすいことが原因とも推測された。

アルキル化剤は皮膚の色素沈着を引き起こす代表的な抗腫瘍剤であるが、本研究では前処置に使用した CY、LPAM、および BU と各々の血清 5SCD 値との間に関連性は示されなかった。しかし、ほとんどの患者（41 例中 39 例：95%）がアルキル化剤を含む前処置内容であったため、血清 5SCD 値とアルキル化剤の関連性を明確にすることはできなかった。今回は前処置の強度と血清 5SCD 値との間にも関連性はなかったが、造血細胞移植後の血清 5SCD 値の上昇はアルキル化剤が一因であった可能性は否定できない。これは、アルキル化剤と他の薬剤を用いた化学療法での血清 5SCD 値を比較、解析することで解明できると考える。

これまで造血細胞移植関連の合併症の重症度および予後因子として多数のバイオマーカーが報告されている。ST-2(Soluble stimulation-2)、IL-2R α (Interleukin-2 receptor α chain)、TNFR-1(tumor necrosis factor receptor-1)は急性 GVHD の予後のマーカーとして報告されており、皮膚の elafin 発現は、急性皮膚 GVHD の予後マーカーとして報告されている。プロカルシトニンが生着症候群のバイオマーカー、プロテイン C が肝中心静脈閉塞症のバイオマーカーとの報告もある。今回用いた血清 5SCD は上記のマーカーと比較して臨床現場で広く一般的に使用されており、更に複数の移植関連合併症を予測するバイオマーカーとしての可能性が明らかとなった。今後は validation cohort を含めた検証が必要である。

以下に本研究の限界について述べる。第一に、皮膚の色素沈着の程度と移植関連の合併症との関係を直接示すことはできなかった。血清 5SCD 値と皮膚の病理所見上でのメラニンとの関係を調べるためには皮膚生検が必要である。しかし、今回は前述の通り、皮膚生検を施行した症例はいなかった。村上らは melanin index と erythema index の測定値を用いて血液透析患者の色素沈着の程度を調べた結果、色素沈着の程度は血清 5SCD 値と有意に相関することが明らかになり、フェオメラニンが皮膚に蓄積することを指摘している。melanin index と erythema index は医学的にはあまり用いられていない手法ではあるが、このことから、本研究の結果は色素沈着が移植関連

合併症の予測因子となる可能性を見出した。今後更なる研究がこの可能性を高め、移植関連死の予防かつ予後の改善につながることを期待する。第二に、単施設で小児に限定した研究であったため、サンプルサイズが小さく、疾患も多様であり統一性のある集団ではなく、データの信用性が低くなることは言わざるを得ない。多施設または成人を含むより大きな統一性のある集団での研究で更に今回の結果が明確に実証できると考える。第三に、今回は黒色メラニンであるユーメラニンの前駆物質を測定することができなかったため、メラニン合成経路の内、活性化される箇所を特定できなかった。このことが明らかとなれば色素沈着と 5SCD の関連性について更に科学的に解明できると考える。最後に、フェオメラニンは紫外線によって活性酸素を生成する光増感剤として作用する可能性があるため、血清 5SCD 値は紫外線によって影響を受けることが報告されているが、本研究において全症例が同じ個室で造血細胞移植治療を受けてはおらず、また季節変動が血清 5SCD 値に及ぼす影響まで考慮することは困難であったが、影響は少ないと考えている。

5. 結論

血清 5SCD 値は急性 GVHD やウイルス再活性化などの免疫学的機序によって発症する移植関連合併症の予測バイオマーカーとなる可能性が示された。今回の結果を明確に実証するために、また機序を化学的に説明するために更なる前向き研究、また皮膚の病理所見との照合が必要である。