



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Allogeneic peripheral blood stem cell transplantation using nonmyeloablative pretransplant conditioning regimen in dogs [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	金, 尚昊
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	乙第7133号
Issue Date	2021-06-30
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/82411
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Sangho_Kim_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（獣医学）

氏名： 金 尚昊

審査委員	主査 教授	奥 村 正 裕
	副査 教授	大 橋 和 彦 (国際感染症学院)
	副査 教授	滝 口 満 喜
	副査 准教授	細 谷 謙 次

学位論文題名

Allogeneic peripheral blood stem cell transplantation using nonmyeloablative pretransplant conditioning regimen in dogs

(犬における骨髄非破壊的前処置を用いた同種末梢血幹細胞移植に関する研究)

同種造血幹細胞移植 (allo-HSCT) は、医学領域では造血器系腫瘍に対する重要な治療技術となっている。その治療効果は移植前処置である大量抗がん剤投与、あるいは全身放射線照射による直接的な抗腫瘍効果と、同種移植片の免疫反応による移植片対腫瘍効果により得られる。従来の移植前処置によって生じる正常組織の傷害は移植関連死にもつながる重篤な副作用を引き起こす可能性があり、人では allo-HSCT が適応となる患者は限られていた。近年、その適応拡大を目的に、治療強度を弱めた骨髄非破壊的移植前処置 (RIC) を用いた HSCT が試されるようになり、治療成績が改善し、その適応範囲も拡大されている。全リンパ照射 (TLI) は放射線を用いた RIC であり、主要な免疫組織に線量を集中させ、その他の正常組織の被爆量を低減させる照射法である。獣医臨床学領域では allo-HSCT に関する報告は非常に少なく、ドナーからの造血幹細胞の採取方法やレシピエントに対する RIC の情報は極めて限られている。本研究では、犬においてより安全な allo-HSCT を確立するために、apheresis により末梢血からより多くの造血幹細胞を効率的に採取するプロトコルが検討され、さらに RIC として TLI を用いるための条件が確立された。また、それらの結果を踏まえ、2 頭の同腹犬を用いた同種末梢血幹細胞移植を実施し、それらの有効性が評価された。

第 1 章では、末梢血造血幹細胞 (PBSC) 採取において、これまで犬ではそれぞれ単剤で用いられてきた granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF) と plerixafor の併用による PBSC 動員の増強効果を検討した。実験には正常ビーグル犬 9 頭を用い、G-CSF と plerixafor をそれぞれ単剤あるいは併用した (各プロトコル 3 頭ずつ)。Apheresis 産物中の PBSC 数は、plerixafor 単剤、G-CSF 単剤、および併用群において、それぞれ 1.3 ± 0.24 、 4.2 ± 0.47 、および $6.4 \pm 0.9 \times 10^6$ cells/kg であった。Apheresis 中および終了時にみられた合併症は、貧血、血小板減少および低カルシウム血症などであったが、いずれも軽度であり無処置で回復した。これらの結果から、犬における二剤併用によって造血幹細胞を効率的に得られるプロトコルが確立された。

第 2 章では、ビーグル犬 6 頭を TLI の計画処方線量ごとに 8 Gy 群、および 12 Gy 群の 2 群に分け、照射後の血液学的変化の観察、および末梢血単核球を用いたリンパ球サブセット解析、

およびリンパ球増殖能試験を実施した。観察期間は照射後 2 ヶ月間とし、観察期間終了時には剖検を実施した。まず、確立されたプロトコルに従って apheresis を実施し、ドナーからの造血幹細胞を採取した。得られた細胞が移植されたレシピエントには、移植後より免疫抑制剤 2 剤の投薬を行い、移植細胞の生着を評価するためにマイクロサテライト法を用いたキメリズム解析を実施した。6 頭全頭で一時的な好中球減少症、および血小板減少症が確認され、末梢血中のリンパ球数は観察期間中低値で持続した。8 Gy 群の 1 頭で感染徴候が認められたが、その他の 5 頭では重篤な合併症は認められなかった。さらに、白血球抗原型の一致した同腹犬において、これらの結果をもとに RIC として 12 Gy の TLI を用い、allo-HSCT を実施した。その結果、移植後 2 週の時点でレシピエントからドナーの遺伝子が検出されるようになり、生着が確認された。観察期間中に移植の副作用と考えられる重篤な臨床徴候は認められなかった。

本研究から、G-CSF と plerixafor の併用により採取可能な PBSC 数が増加する傾向が認められた。また、犬においても TLI は安全に実施可能であることが示され、さらに移植片の生着に十分な免疫抑制効果が得られることが実証された。本研究の結果から、本法が犬の allo-HSCT を用いた治療を行う上で安全な移植技術であることが示された。よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者金尚昊氏が博士（獣医学）の学位を授与されるに十分な資格を有するものと認めた。