HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Exploration of Maximizing the Graft-Versus-Leukemia Effect Following Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation Utilizing Novel Agents [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	ZHANG, Zixuan
Description	配架番号：2840
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第15906号
Issue Date	2024-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/92434
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	ZHANG_Zixuan_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

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　Zhang　Zixuan

主査　教授　　真部　　淳
審査担当者　副査　准教授　和田 はるか
副査　准教授　北條 慎太郎

学 位 論 文 題 名

Exploration of Maximizing the Graft-Versus-Leukemia Effect Following Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation Utilizing Novel Agents
(新規薬剤による同種造血細胞移植後の移植片対白血病効果最大化の検討)

同種造血幹細胞移植（allo-HCT）は、血液悪性腫瘍治療において不可欠が、生命を脅かす移植片対宿主病（GVHD）などのリスクを伴う。カルシニューリン阻害剤（CNI）であるシクロスポリン（CSP）は GVHD の発生率を低下させる一方で、過剰な免疫抑制が、白血病やリンパ腫の再発を誘発する危険性を有している。そのため、移植片対白血病/リンパ腫（GVL）効果を維持しつつ、GVHD の予防を最適化する方法の確立が重要な課題となっている。本研究では、GVHD を抑制しつつ GVL 効果を最大化するため、2 つの戦略について検討を行った。

Chapter 1 では FLT3-ITD$^+$急性骨髄性白血病（AML）に対する allo-HCT のマウスモデルにおいて、移植後早期に第二世代 FLT3 阻害剤である gilteritinib を投与して、GVHD を増悪させることなく GVL 効果を増強できるかどうかを検討した。In vitro での検討の結果、gilteritinib は FLT3-ITD$^+$白血病細胞株で IL-15 の発現を増加させることを明らかにした。移植後に gilteritinib を投与したところ、移植後の Ba/F3-FLT3-ITD-luc$^+$細胞からの IL-15 も増強することができた。移植後の gilteritinib 投与によって、ドナーCD8$^+$ T 細胞上の PD-1、TIGIT などの抑制性レセプターの発現低下と、同時にレシピエント細胞特異的な細胞傷害性 T 細胞（CTL）反応が強化され、GVHD を増悪させることなく GVL 効果を促進する結果となった。

審査にあたり、まず副査の和田はるか准教授から IL-15 KO 腫瘍細胞を用いて、腫瘍の PD-1 発現を促進しているかどうかを検証する実験の実施について質問があった。申請者は、すでに過去の報告で、白血病細胞が産生する IL-15 はドナーT 細胞の PD-1 発現を低下させることが報告されているため、将来的にこの検証を行う計画であると回答した。また、FLT3 阻害剤は FLT3-WT AML に対しても IL-15 を促進するかどうかについて質問があった。申請者は、FLT3 阻害剤は FLT3-ITD 陰性 AML 患者において IL-15 の産生を促進しないと報告されていると回答した。副査の北條慎太郎准教授からは、GVL 効果を分析する際に BaF3 の数を減少させ、gilteritinib の投与期間を延長する理由について質問があった。申請者は、以前のモデルでは腫瘍が増えすぎて GVL 効果を観察できなかったため、腫瘍の量を減らし、投与期間を延長したと述べた。つづいて、Gilteritinib

投与を終えてしまうと最終的には白血病の再発が起こり死に至っているが、この投与終了後に再発を抑える治療法としてはどのようなことが考えられるか、例えばリコンビナント IL-15 の投与などは考えられるのか、Allo-HCT 後のマウスに IL-15 を投与して、IL-15 と GVL の関係を検証したかどうかについて質問があった。申請者は、IL-15 が GVL 効果を促進する可能性が報告されているため、将来的にこの検証を行う計画であると回答した。また gilteritinib に関する臨床研究の進展についての質問があった。申請者は、多くの臨床研究で gilteritinib が良好な GVL 効果を示していることを述べた。

Chapter 2 では S1PR 調節剤、特に S1PR1 の選択的調整剤である mocravimod が、allo-HCT 後の急性 GVHD を抑制しつつ、CNI よりも良好な GVL 効果が得られる可能性について検討した。過去の研究で、既に急性 GVHD を抑制できることは証明されているため、本研究では長期間の mocravimod 投与が慢性 GVHD を改善しつつ、GVL 効果を保てるかどうかに焦点を当った。研究の結果、mocravimod は、allo-HCT 後のマウスにおける慢性 GVHD 症状を顕著に減少させた。脾臓内の病原性 Th17 細胞を有意に減少させ、腸間膜 LN 内の $CD4^+$及び $CD8^+$ T 細胞を減少させた。重要なことに、movravimod は他の臓器における $CD4^+$ T 細胞を減少させたいっぽう、$CD8^+$ T 細胞は温存し、これが GVL 効果に寄与する可能性が考えられた。さらに、短期間の CSP と mocravimod の併用は、長期間の CSP と mocravimod の併用と比較して、GVHD を悪化させることなくより強い GVL 効果を発揮することができた。Mocravimod を併用することによって、臨床の移植でも CSP の早期終了を安全に目指せる可能性があり、GVL 効果の最大化を目指せる可能性が示唆されている。

審査にあたり、まず副査の和田はるか准教授から mocravimod 投与後、器官内 T 細胞が減少する理由の質問があった。申請者は、T 細胞は S1PR1 依存的に、S1P 濃度に基づいて migration するが、血管内濃度が高く、リンパ節内濃度が低いため、T 細胞は各器官内に移動できるが、S1PR1 阻害剤の使用により T 細胞が二次リンパ節に隔離され、活性化誘導アポトーシスによって細胞数が減少すると回答した。また、Th17 細胞の減少メカニズムについて質問があった。申請者は、IL-6 が Th17 細胞誘導を駆動するとされており、将来的には IL-6 の qPCR 検査を行い、Th17 減少の原因を検証する計画であると述べた。副査の北條慎太郎准教授から、mocravimod 投与後、$CD8^+$T 細胞の数が減少しなかった理由についての質問があった。申請者は、$CD8^+$ T 細胞は $CD4^+$ T 細胞に比べて、S1P-S1PR1 経路に対して感受性が低く、そのため腸間膜リンパ節を除く他の器官では減少していないが、腸間膜リンパ節内の $CD8^+$T 細胞はリンパ節細胞表面の S1P 量が少なく、S1PR1-modulator がより効果的に作用するため減少していると回答した。最後に主査の真部淳教授から $P815\text{-}lucf^+$ 細胞の由来と主要組織適合遺伝子複合体について質問があった。申請者は $P815\text{-}lucf^+$は Geoffrey R. Hill 研究室からの提供を受けたもので、レシピエントタイプの MHC を有している ($H2K^d$)と述べた。

本研究は、移植の有効性と安全性を改善する２つの具体的な方法を開発したものであり、近い将来、臨床の移植に活かせる成果である。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なども併せ、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに充分な資格を有するものと判定した。