

第29回 シスメックス血液学セミナー／質疑応答

4. 造血幹細胞移植における免疫反応 —移植片対宿主病—

豊嶋 崇徳

【司会】 豊嶋先生、造血細胞移植の長い歴史を分かりやすくまとめて下さり、しかも、漏れるところもなくお話しいただきまして、ありがとうございます。大変勉強になると同時に頭の中を整理するのに大変助かりました。

それでは、各会場からのご質問をお願いします。まず、東京会場からの質問ですが、白血病治療において、造血幹細胞移植によるGVL効果は、成人と小児では、その効果に有意な差は見られるのでしょうかというのが一つ目の質問です。続いて、仙台、シドニーからの質問にお答えをお願いします。

【豊嶋】 差があるという報告はされていないと思います。それから、差があると想像させるような違いも、今は思い浮かびません。ただし、小児と成人の造血幹細胞移植の大きな違いには、ご存じのように、小児では非常にGVHDが少ないということがあります。例えばGVHDとGVL効果が非常にパラレルに動くような疾患では、成人のほうがGVHDも強い分、GVL効果も強い可能性はあると思います。

【仙台会場】 仙台から一つ質問があります。末梢血、骨髄、臍帯血など、用いる幹細胞の違いによって、GVHD発症などの免疫反応に違いはあるのでしょうか。

【豊嶋】 そこは非常に重要な点だと思います。現時点で、まず一つは、GVHDの責任細胞であるT細胞が交じっている量は末梢血、骨髄、臍帯血の順番になっています。したがって、急性GVHDに関しては、末梢血は骨髄と同等か、やや多い、臍帯血では少ないことは言われています。慢性GVHDに関しては末梢血が多く、骨髄はそれより少ないです。臍帯血はまだ不明ですが、恐らく少ないのではないかと想像されます。

【仙台会場】 ありがとうございます。

【シドニー会場】 シドニー会場から一つ質問があります。もしプロバイオティクスを使うことによって、

GVHDを減らすことができるのであれば、これは非常に重要な因子であると思います。自己免疫疾患を減らすうえでも、よい影響があるとお考えでしょうか。

【豊嶋】 まず、プロバイオティクスをGVHD予防に使おうという現状についてお話しします。この研究が最も先行しているのは西ドイツのグループです。彼らは今、プロバイオティクスの中で、どれがいいかという検討に入っていて、その後、ヒトでの臨床試験を行うと言っていました。これがプロバイオティクス、いわゆる乳酸菌と言ったら分かりやすいと思いますが、その移植への応用の現況です。

次に、自己免疫疾患への応用については、例えばGVHDの腸病変によく似ているとされる潰瘍性大腸炎やクローン病において、どのような研究が行われているか分かりませんが、もしそのような疾患にエンドトキシンの関与が言われているのであれば、可能性はあると思います。

【シドニー会場】 ありがとうございます。

【司会】 それでは、東京会場からの二つめの質問です。CBT（臍帯血移植）においてGVHDが少ない機序についての質問です。他の造血幹細胞移植と比較して、幹細胞の性質の違いということから、CBTは、どのように考えられるのでしょうかというものです。

【豊嶋】 臍帯血移植で、GVHDが低い主な原因として、交じっている臍帯血中に、成熟T細胞の数が少ないことと、その機能が未熟であることが言われています。幹細胞の質の違いに関して言うと、本当の意味での比較試験ではないので分かりませんが、臨床成績として、臍帯血移植後の免疫の再構築は非常によいという論文があります。したがって、臍帯血と末梢血幹細胞、骨髄とは、おっしゃるように、少しstem cellとしての質が違うのかもしれませんが、そのようなことが影響しているとしたら、

おそらく慢性GVHDの頻度にも、差が出てくる可能性があると思います。現時点では、それをサポートするような幹細胞の質の違いによるGVHDの変化について、臨床成績はないと思います。

【神戸会場・内山】 神戸会場から二つ質問があります。まず一つめの質問ですが、慢性GVHDの発症に異常胸腺が関与しているのではないかというお話でしたが、異常胸腺という意味は、加齢に伴う胸腺の機能低下と理解していいのでしょうか。

【豊嶋】 異常胸腺の意味は、例えば動物実験で言われているのは、急性GVHDが起きた場合に、その急性GVHDが胸腺に影響を及ぼして、胸腺によるネガティブ・セレクションをできなくさせます。そのために、自己応答性のT細胞が出ることが示されています。他に、加齢の影響や移植前処置、抗がん剤等による複数の影響があると思いますが、因果関係が明らかになっているのは、急性GVHDが先行することによる胸腺障害が最も想定されています。

【神戸会場・内山】 ありがとうございます。二つめの質問です。ドナーリンパ球輸注の効果が、造血器の腫瘍、白血病の種類によって異なるのはなぜでしょうか。

【豊嶋】 まず、慢性骨髄性白血病というのは、分子遺伝学的モニタリングが非常に進んでいますから、目で見て白血球が増える前に再発をとらえることができます。腫瘍量が少ない状態で検出できるので、効果が出やすいことが一つあります。

それからもう一つは、慢性骨髄性白血病の慢性期、濾胞性リンパ腫、この二つは腫瘍の増殖速度が遅いと言えらると思います。GVL効果を、私たちは目で見るわけですが、それは免疫学的な意味でのGVL効果から、腫瘍の増殖速度を引いたものではないかと思ひます。腫瘍の増殖速度、それから早期発見、他にも、例えば塊を作りやすい、大量の腫瘍を作った場合にはT細胞が奥まで届かないなどの影響もあると思ひます。

【神戸会場・内山】 ありがとうございます。

【司会】 よろしいでしょうか。それでは続いて、名古屋会場、お願いします。

【名古屋会場】 移植されたT細胞がGVHDを起こす際

の抗原提示細胞は、自己のものでしょうか。それとも、移植されたもので起こるのでしょうか。

【豊嶋】 ドナーT細胞の活性化は、最初の反応としては、患者自身の抗原提示細胞によって起こされると考えられます。しかし、最近のその後の研究を見ると、その後に出てくるドナー由来の抗原提示細胞が、そのGVHD反応をさらに増幅させて言われています。正確に言うと、より重要なのは患者自身の抗原提示細胞ですが、GVHDが維持され、進展していく過程には、ドナーから出てきた抗原提示細胞が関与しているだろうと考えられます。

もう一つ言えることは、おそらく患者とドナーの差、HLAの差などが非常に大きい場合には、ドナーの抗原提示細胞だけでも、GVHDは起きるようです。したがって、どちらが大事かという問題に関しては、おそらくその発症時期、例えば慢性GVHDのように移植後100日経って何もない人に発症する場合には、その時点で、患者由来の抗原提示細胞はあまり残っていないでしょうから、その場合にはドナーの抗原提示細胞が重要になると思ひます。患者とドナーの違いの程度、それから発症時期によって、それぞれの貢献度は違ふと考えられます。

【名古屋会場】 ありがとうございます。

【司会】 東京会場から、さらに質問が三つきております。まず、一つめの質問です。engraftment syndrome, pre-engraftment syndromeのように、生着時にアロ免疫が強く認められることがあります。G-CSFの投与とアロ免疫の関係に関して、何か知見はあるでしょうか。ドナーの好中球の増加は、GVHDには全く無関係と考えてよろしいでしょうか。

【豊嶋】 engraftment syndromeというのは生着時、白血球が増えてくるときに高熱や体重増加を伴い、少し胸水がたまり、呼吸困難が生じるといふ症候群です。おそらく多くの方は、それが起こるときは、G-CSFを使って急激に白血球を増やしたために、好中球の産生するサイトカインや、好中球が肺の毛細血管にたくさん入り込むといったことが関係しているのではないかと考えられていることと思ひます。したがって、通常はengraftment

syndromeを心配するときには、G-CSFの投与は控えめにされているだろうと思います。しかし、それが本当に関係あるかどうかという証明は、まだないと思います。

それからもう一つ、好中球はGVHDに関与している可能性があると思います。今言ったのは、好中球の急激な増加が、GVHDを増幅させるという観点で言いましたが、一方では、好中球の回復は、障害を受けた腸管の回復に非常に影響します。よく経験することですが、白血球がゼロの状態から、20、30と増えてくると、急激に口腔粘膜の放射線障害が治ってきます。そういう観点から見ると、好中球には、障害された腸管粘膜を治すことによって、先ほど言ったエンドトキシンなどの血中流入を防御する効果もあると思います。つまり、好中球は、ある場合にはGVH反応を増強するであろうし、ある場合には抑制的に働くかもしれません。これはあくまでも類推です。

【司会】 二つめの質問です。ドナー由来のTリンパ球が患者の胸腺を経由して発生してくるといのは、どの程度、確実なのでしょう。データで明らかになっているのでしょうか、それとも推定でしょうか。

【豊嶋】 極めて重要なところだと思います。私が医学部を卒業した頃には、移植を受けるような大人の患者では、胸腺は萎縮をしまして働かないので、新しいT細胞をもう作らないと思ってきました。胸腺から出てきたT細胞には、T細胞のレセプターの再構築が起きて、遺伝子がちぎれ、丸い遺伝子が細胞の中に残っています。これは、TRECという現象で言われていますが、胸腺から出てきたばかりのT細胞は、TREC陽性細胞として認識されます。つまり、胸腺から出てきたばかりの細胞を同定する方法ができてきて、それに関する論文を見ると、非常に驚くことには、自家骨髄移植を受けた大人の患者さんでは、胸腺から新しいT細胞が比較的多く出てくるのが分かってきています。同種骨髄移植も、GVHDさえ軽ければ、数は少ないのですが、T細胞ができてきていることが分かってきています。

ただし、どの程度なのかと言われると、想像と

しては、おそらくほんの一部だと思います。特に、移植後早期に患者が持つT細胞は、あくまでも移植片に交じていたT細胞が、患者の中で増えたものが主体であって、移植後、3か月、6か月と経つと、新たなT細胞が少しずつ出ていきます。移植の患者さんには、通常、ワクチンを打っていただきます。移植を受けると、小さいときに罹ったはしかの記憶がなくなるので、移植が終わったら、はしかのワクチンを打っていただいています。この場合、ワクチンの投与は、GVHDがないこと、それから移植後1年経過していることが指標として考えられています。

ワクチンに反応するT細胞はナイーブT細胞です。ナイーブT細胞というのは、通常、胸腺から出てきた細胞です。ワクチンにある程度の反応も実際に見られますし、それもまた一つの傍証で、移植後時間がたってGVHDがなければ、新たなT細胞は成人でも出てきて機能しているという証明ではないかと思っています。

【司会】 三つめの質問です。PBSCTで慢性GVHDが移植例に多いのは、移植片に混入したT細胞が多くて、急性GVHDが起りやすく、それにより胸腺がダメージを受けるからでしょうか。PBSCTで特に急性GVHDが多くはないようですけども、PBSCTで慢性GVHDが多い理由を教えてください。

【豊嶋】 ご存じのように現在、PBSCTが増えたために慢性GVHDが増えているということが少し問題になっています。なぜPBSCTで、慢性GVHDが増えたのかについて、たくさん症例での統計解析が幾つか報告されています。その結果を見ると、PBSCTの中には、T細胞がたくさん、骨髄に比べると10倍以上入っていますが、その数と慢性GVHDには相関がないという報告が、現在のところ主体です。

では、その移植片の中のどの細胞が、慢性GVHDと関係しているのかというと、現在二つぐらい報告されているのは、CD34陽性細胞の数です。つまり、T細胞の数ではなく、stem cellの数が多いと、慢性GVHDが多いようです。このことはおそらく、新たに胸腺から出てくるT細胞が多

いのと関係しているのかもしれませんが。T細胞は10倍以上入るのですが、急性GVHDはそれほど増えてはいません。したがって、なぜPBSCTで慢性GVHDが多いのかは、いまだ謎です。少なくとも現在言えるのは、stem cellの数が多いから、慢性GVHDが多いという相関が少し明らかになっているところだと思います。それがなぜか、正確にはまだ分かっていないと思います。

【司会】 ご質問された方々、よろしいでしょうか。それでは私からよろしいでしょうか。先生のお仕事の中で、GVHDの発症には患者さんのAPCマクロファージが活性化することが極めて重要であり、逆に7日目にTリンパ球を移植するとGVHDはゼロであったということは、GVHDを克服していく上で極めて示唆に富んだ知見であると私も強い興味を持って聞かせていただきました。どうもありがとうございました。ところでこのことに少し関連するのですが、さきほどのPBSCTにおけるGVHDの問題、臍帯血移植ではHLA不適合でも骨髄移植の場合ほどにはGVHDが増えないという問題などと結び付けて考えるならば、どうしても、今までGVHDとされてきたもの、特に急性GVHDの要因には、過剰なサイトカインの放出もあるのではないかとすることも考えたくになります。

昔からその説はあったと思うのですが、先生はどのようにお考えでしょうか。

【豊嶋】 このようなCTLがなくても、GVHDが起きるのではないかとことを考えたきっかけの一つは、HLA不適合などの場合に急性GVHDが非常に早期に起こる場合、ほとんど末梢血にT細胞はなく、それから組織を取ってみても、非常に激しい炎症性疾患なのに、皮膚にも腸管にも、あまりT細胞はありません。そういったことが、このサイトカイン・ストームがそれらの重要な要因ではないかと考えるきっかけになったわけです。

このサイトカイン・ストームは、T細胞と抗原提示細胞の抗原特異的応答を増強させる自然免疫が暴れ回っている状況で、移植をやっているのではないかと気もします。それから、制御性T細胞を入れるというのは、非常に魅力的な方法に興味がありますが、まだ残念ながら、実際にそのほ

うがGVHDの発症が少なく、安全だという比較試験は、行われていないと思います。

【司会】 現時点で、サイトカイン・ストームがかなり重要な位置を占めている、少なくとも、急性GVHDで占めていると考えていいだろうということで、よろしいでしょうか。

【豊嶋】 すべてではありませんが、かなり大きな部分を占めていると思います。

【司会】 それに関連してもう一つだけお教えください。古くから感染症があるとGVHDが非常に起こりやすいことが知られており、最近になってこれに関連してNOD2 (CARD15)の重要性も説としても出てきています。そして、この遺伝子多型が腸管感染と関連する可能性が、今、非常に注目されてきています。それに関して、様々な遺伝子多型とGVHDの関連について最新の情報がありましたら、お願いします。

【豊嶋】 それを言い出したドイツのグループですが、今まで通常は、ドナーと患者の選択は、HLAで合わせていたのですが、現在、彼らが将来やりたいと考えてプログラムを組んでいるのは、HLAと、それから遺伝的な違いです。それ以外に、いろいろな遺伝子多型性が起きやすいほうなのか、起きにくいほうなのか。それから、昔から分かっていることですが、サイトメガロウイルスに未感染だとGVHDは起きにくいということもずっとありました。それらを組み合わせて、何か公式を作り、この人に移植をすると、どれぐらいの確率でGVHDが起きますよ、という指標を作るための五つぐらいの要因の一つに、このNOD2の多型性がありました。もしもこのようなことが可能になれば、今まではHLAの違いがあって、移植をして、その後に驚いたりとか、やってみたら何もなかったということが挙がってきたわけですが、そのような治験が増えるにつれて、少しずつ、この人はこのぐらいの確率でこれぐらいのものが起こるといことが分かるようになるかもしれません。これが可能になれば、GVHD予防法に関して、例えばこの人はこれぐらいの白血病が今あるので、これぐらいGVHDが起きたらいいのだ、とか、数式からテーラーメイドにできる時代が来ることが期待

されると思います。

【司会】 例えばIL-6のプロモータ領域の多型などのサイトカインの多型も、すべて免疫療法の中で個人差が説明されていないという感じがしますので、そのへんは今後視野を広げて研究を進めていく必要があるのでしょうか。

【豊嶋】 彼らのプログラムにも、確かIL-10の多型性と、TNFかIL-6かどちらか忘れましたが、そのどちらかが、使われています。結局は、一つのものです

べて説明が見つからないので、たくさんものを入れていって、どれがより関与があるかをコンピュータを使ってやろうとしているようです。

【司会】 まさに、移植の世界も個人差医療を求める情報科学の時代に実質的に入ってきたという気がしますね。まだまだたくさんご質問はあるかもしれませんが、時間となりましたので、終了させていただきます。豊嶋先生、どうもありがとうございました。

【後日ご回答をいただいた質問】

【質問】 ストレスが免疫反応に関わると聞いたことがあります。移植後、患者のストレスが何かしら影響することはあるのでしょうか。

【回答】 例えば強いストレスをかけたマウスでは、リンパ球がかなり減少することが知られています。だとすると強いストレス下では、免疫不全状態が悪化する可能性は否定できないと思います。ただし、これはヒトの移植では証明はされていません。

【質問】 急性GVHDの病理像は具体的にどのようなものなのでしょうか。

免疫不全マウス(SCIDマウス)にBALB/Cマウスの脾臓より採取したナイーブT細胞を腹腔内移入すると3～4週で腸炎が誘導されます。これはGVHDに起因するのでしょうか。

また、上記のように発症させた大腸炎を免疫抑制剤の薬効評価に利用したところ、全身状態が悪化しました。肝臓に微小肉芽腫が多発しましたが関連はあるのでしょうか。

【回答】 急性GVHDの病理は、皮膚では表皮・真皮接合部のリンパ球浸潤。表皮細胞のアポトーシス、好酸性壊死、リンパ球浸潤(satellitosis)、表皮・真皮間の裂隙形成、剥離など。

肝臓では、胆管上皮細胞の変性、胆管周囲へのリンパ球浸潤、門脈域へのリンパ球浸潤、肝細胞変性・アポトーシス、門脈・肝静脈へのリンパ球接着と内皮障害など。

消化管ではcrypt上皮アポトーシス、好中球浸潤、絨毛短縮、crypt消失・粘膜脱落など。

SCIDがBalb以外のbackgroundであれば、おきたのはGVHDと考えられます。SCIDがBalb由来であった場合は、lymphopenia-driven homeostatic proliferationという機序によって非特異的に活性化されたT細胞によっておこった腸炎ということになります。免疫抑制剤が何かは不明ですが、たとえばカルシニューリン阻害剤は、血管内皮障害をおこすため、GVHDによる血管内皮障害やTNFなどの産生とあいまって、血栓性微小血管症を起こす可能性があります。肝の肉芽腫はGVHDではみないので、その原因は不明です。

【質問】 GVHD発症時に自己免疫疾患類似の症状がでるとのことですが、“類似症状”とは、本来の自己免疫疾患とは異なる症状ということでしょうか。また、異なる場合は、どういう違いなのでしょうか。検査データでの違いも有るのでしょうか。

【回答】 例えば口腔乾燥、眼乾燥といった症状がある慢性GVHD患者がいるとします。そこだけの症状をみればシェーグレン症候群と同じですが、ある慢性GVHDでは眼球乾燥は高度で、目もあけられないほどになることがあります。シェーグレン症候群ではそこまでひどくなることはあまりないでしょう。また、慢性GVHDでは、口腔、眼病変以外にも高率に皮膚萎縮、爪萎縮などを伴います。これもシェーグレン症候群ではみないことです。

このように、慢性GVHDでは罹患する臓器の組み合わせが、純粋な自己免疫疾患とは異なりますので、類似と述べたわけです。