

同種造血幹細胞移植における血清可溶性

IL-2レセプター値の動態に関する研究

学位論文内容の要旨

I 緒言

血清可溶性IL-2レセプター α 鎖(血清sIL-2R)は、T細胞を中心とする種々の細胞表面に存在し、生体の免疫防御機構やT細胞系の活性化に伴い上昇する。移植片対宿主病(graft-versus-host disease; GVHD)は同種造血幹細胞移植に起こり、これを克服することは移植成績向上に重要である。しかし現在のところGVHDの病勢把握、発症予知、治療効果判定に定量性や客観性のある指標がないため、免疫反応の中心となるT細胞系の活性を反映する血清sIL-2R値の変動を検索することは臨床的に有用であると考えられる。そこで同種造血幹細胞移植後のGVHDにおける血清sIL-2R値の臨床的意義と移植前後に投与されるサイトカインが血清sIL-2R値に与える影響について検討した。

II 対象と方法

同種造血幹細胞移植を実施した38例を対象とした。症例の内訳は急性骨髄性白血病が11例、急性リンパ性白血病が5例、慢性骨髄性白血病10例、急性混合型白血病が1例、骨髄異形成症候群が6例、3系統に異形成を認める急性骨髄性白血病が1例、重症再生不良性貧血が2例、非ホジキンリンパ腫と多発性骨髄腫が各1例の計38例である。急性GVHDは21例に認められ(I度:12例, II度:5例, III度:2例, IV例:2例)、慢性GVHDは11例(全身型:8例, 限局型3例)に認めた。血清sIL-2R値の観察時期は移植前、生着時、急性GVHD発症時と治療後および慢性GVHD発症時とした。生着促進目的で投与したサイトカインは顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)が35例、マクロファージコロニー刺激因子(M-CSF)及び顆粒球/マクロファージコロニー刺激因子(GM-CSF)使用例が各々1例ずつであった。さらに、移植後の血清sIL-2R値がG-CSFの投与や免疫抑制剤の種類によって影響を受けるか否か、また移植前に投与されたG-CSFの血清sIL-2R値への影響についても検討した。血清sIL-2Rの測定方法は、2つの異なるエピトープを認識するモノクローナル抗体を使用するサンドイッチ酵素免疫吸着法により比色定量で測定した(Cellfree interleukin-2 receptor bead assay kit, Cambridge社)。血清G-CSF濃度はEIA法(Cyclizer G-CSF, Kainos社)により測定した(健常人における正常値は 12.6 ± 5.87 pg/ml)。検体は血清に分離後、測定まで -40°C で保存し、血清sIL-2R値のコントロールには健常人16名を対象とした(341 ± 81 U/ml)。統計学的検討は

Student *t*-testを用い、危険率5%以下を有意と判定した。

III 結 果

1. 生着前後の検討

1) 生着時の血清sIL-2R値: G-CSFを使用した全例が急性GVHDの有無にかかわらず移植前(541 ± 349U/ml)に比較して血清sIL-2R値は生着時に有意に高く(2,416 ± 932U/ml)($p < 0.01$), 検討しえた26例中1例を除く25例が経過中の最高値を示した(1,080~4,200U/ml). 前処置前および生着時における血清sIL-2R値と急性GVHDの発症に相関を認めなかった。

2) 移植前のサイトカイン投与の影響: 移植前にG-CSFを使用した3例(1,263 ± 181U/ml)における移植前血清sIL-2R値はG-CSF未使用例(368 ± 28U/ml, 394 ± 85U/ml)に比して有意に高値を認めた(G-CSF; $p < 0.01$).

3) 急性GVHD予防法の影響: 急性GVHD予防法やG-CSF投与期間と血清sIL-2R値には有意差は認めなかった。

2. 急性GVHD発症時期の検討

1) 急性GVHDを認めた16例は認めなかった11例に比較して、発症時において血清sIL-2R値は有意に高値であった(2,349 ± 215 U/ml vs 1,462 ± 123 U/ml)($p < 0.01$). また急性GVHD I度とII度以上の群の比較においても同様に有意差を認めた(2,114 ± 271 U/ml vs 2,852 ± 651U/ml)($p < 0.04$). 一方急性GVHDを認めなかった11例は、移植後12週目でほぼ移植前値に復していた(541 ± 67U/ml).

2) 急性GVHD発症とG-CSF使用時期: G-CSF投与後にGVHDを認めた10例の血清sIL-2R値は、G-CSF投与中にGVHDを発症した6例に比して有意に低かった(1,834 ± 614 U/ml vs 2,845 ± 703U/ml)($p < 0.01$).

3. 慢性GVHD発症時期の検討

de novo type4例の発症前血清sIL-2R値は急性GVHDのみを認めた群のそれに比して有意に高かった($p < 0.02$). 全身型は限局型に比較して有意に血清sIL-2R値は高値を認め($p < 0.01$), 生死別では慢性GVHD関連死3例は全例が全身型であり、発症前値および治療後においても生存8例と死亡3例に有意差を認めた(662 ± 125U/ml vs 290 ± 172 U/ml)($p < 0.01$).

IV 考 察

同種造血幹細胞移植後における血清sIL-2R値の変動は、生着時に全経過中の最高値を認め、生着時の指標になりうると考えられた。しかしこの現象は血清G-CSFの濃度と血清sIL-2R値との間に正の相関を認めており、外因性のG-CSFの影響によってもたらされる可能性が示唆された。また同値は急性GVHDの重症度に一致して高値となり、特にII度以上の急性GVHDにおけるモニタリングには有用性が高いことが示唆された。一方で移植前あるいは生着促進目的で投与されるG-CSFは、移植後早期に活性化される様々な内因性サイトカインと影響を及ぼし合い、T細胞系の活性化のみならずサイトカインネットワークを介した調節機構から血清sIL-2R値の変動に影響していることが示唆された。慢性GVHD

の動態に関しては、先行する急性GVHDの有無や変動値の差などから早期より高値を示し、治療後も高値を持続する症例は予後不良であったことから、発症の予知のみならず予後の推測にも利用できることが示唆された。

V 結 語

同種造血幹細胞移植後における血清sIL-2R値は、移植後の生着時に全経過中の最高値を認め、これは外因性に投与されるG-CSFが影響を及ぼすが、前処置や免疫抑制剤の投与内容とは無関係であった。急性GVHDにおいては重症度に一致して上昇し、G-CSFの影響がない時期の急性GVHDの発症予知は可能であった。慢性GVHDでは発症の予知と治療効果判定、予後の推測など臨床的意義が高いと考えられた。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 浅 香 正 博
副 査 教 授 小 林 邦 彦
副 査 教 授 今 村 雅 寛

学 位 論 文 題 名

同種造血幹細胞移植における血清可溶性

IL-2レセプター値の動態に関する研究

血清可溶性IL-2レセプター α 鎖 (sIL-2R) は生体の免疫防御機構の活性化や、T細胞系の活性に伴い上昇するため、同種造血幹細胞移植後の移植片対宿主病 (Graft-Versus-Host Disease; GVHD) において変動すると考えられる。GVHDの病勢把握、発症予知、治療効果判定には定量性や客観性のある指標がないため、免疫反応の中心となるT細胞系の活性を反映すると考えられる血清sIL-2R値の変動を検索し、臨床的意義について臨床的検討を行った。38例の同種造血幹細胞移植例を対象とし、血清sIL-2Rの測定は前処置前、生着時、急性GVHD発症時期および治療後、慢性GVHD発症時期とした。生着促進目的で投与したサイトカインは顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)が35例であった。さらに、移植後の血清sIL-2R値がG-CSFの投与や免疫抑制剤の投与の違いによって影響を受けるか否かについても検討した。血清sIL-2Rの測定方法は、2つの異なるエピトープを認識するモノクローナル抗体を使用するサンドイッチ酵素免疫吸着法により比色定量で測定した。同種造血幹細胞移植後における血清sIL-2R値の変動は、生着時に全経過中の最高値を認め、生着時の指標になりうると考えられた。しかしこの現象は血清G-CSFの濃度と血清sIL-2R値との間に正の相関を認めており、外因性のG-CSFの影響が大きいことが示唆された。また同値は急性GVHDの重症度に一致して高値となった。慢性GVHDについては、G-CSFの影響が少ないため、発症の予知と治療効果判定に有用な結果が得られ、予後の推測など臨床的意義が高いと考えられた。

公開発表に際して、副査の小児科の小林教授から、G-CSF使用の有無による血清sIL-2R値の変動はどうかとの質問があった。申請者は、G-CSFの未使用例では生着時に血清sIL-2R値の上昇は認められなかったが、急性GVHDが発症する例では

上昇を示したと答えた。続いて、慢性GVHDの皮膚病変の改善時期での血清sIL-2R値の推移についての質問があった。申請者は、特に全身型の慢性GVHDの場合には病態の改善と比例して改善するので有用と思われると答えた。

次いで副査の加齢制御医学の今村教授から、何故生着時期において血清sIL-2R値上昇を起こすのかについての質問があった。申請者は、生着時の主な細胞は骨髄系の幼若な細胞で、これらがsIL-2Rを発現していることにより、血清sIL-2R値上昇の主体になりうるとと思われると答えた。続いて、より重症の急性GVHDでは血清sIL-2R値はどのように変動するのかという質問があった。申請者は、今回の重症急性GVHD症例は5例と少数であったため、検討の余地はあるものの、他の文献と合わせて重症度に一致して高値を認めると答えた。続いて、モノクローナル抗体を使用したGVHD治療への応用に関する質問があった。申請者は、生着時に血清sIL-2R値が5,000U/mlを超え、高値を持続するような場合には重症急性GVHDの頻度が高まると予測されるので、このような場合には予防投与する価値が高いのではないかと答えた。最後に、主査の第3内科の浅香教授から、同種移植後のG-CSF使用時のみに血清sIL-2R値が上昇する機序についての質問があった。申請者は、allo reactiveなT細胞の活性化が血清sIL-2R値上昇に強く関与すると答えた。

本研究は、同種造血幹細胞移植における血清sIL-2R値の動態を検討し貴重な知見を得たものであり、GVHD発症予知や治療のモニタリング、予後の推測に応用可能で、臨床的有用性が高いと考えられた。審査員一同は、これらの成果を高く評価し、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものとした。