

学位論文題名

Significance of eosinophilia after stem cell transplantation  
as a possible prognostic marker for favorable outcome

(同種造血幹細胞移植後の好酸球増多の予後因子としての意義)

学位論文内容の要旨

造血幹細胞移植はこれまで難治性血液腫瘍性疾患や、ある種の非腫瘍性疾患患者の予後改善に貢献してきた。最近になって海外から同種造血幹細胞移植後にみられる好酸球増多に関する新たな知見が報告されている。それらは専ら移植後の末梢血好酸球増多が GVHD 発症のマーカーとなりうる可能性や、GVHD の重症度と関連があるとする報告であり、好酸球増多が潜在的に GVHD の発症を示唆しているというものである。当科ではこれまで計 180 例を超える小児患者に対して造血幹細胞移植を行ってきた。以前から移植後の末梢血中好酸球増多症例と非増多症例が存在することに注目してはいたが、その意義は不明であったものの、好酸球増多群では GVHD の発症とは無関係に予後が良好である傾向が認められていた。また造血幹細胞移植後の好酸球増多とその予後に関して多数例での検討がこれまでなかったことから、今回申請者らは移植後の 2 群間でその予後に差があるか否かを検討した。さらにいくつかのサイトカインの動態を調べ、差異がみられるかどうかを検討した。

対象と方法

症例は 1988 年 2 月から 2005 年 2 月に当科において造血幹細胞移植を施行した 160 例中、同種造血幹細胞移植を施行し解析可能であった 113 例を対象とした。年齢は 0~21 歳 (中央値 8 歳) で、70 例が男児、43 例が女児であった。疾患は腫瘍性疾患が 82 例で、非腫瘍性疾患は 31 例であった。

移植源別では 89 例が骨髄移植 (BMT) を、1 例が末梢血幹細胞移植 (PB SCT) を、さらに 23 例が臍帯血移植 (CBSCT) を施行された。ドナーは 49 例が HLA 一致血縁者、9 例が HLA 不一致血縁者、40 例が HLA 一致非血縁者、15 例が HLA 不一致非血縁者であった。

前処置はブスルファン (BU) を含むレジメンが 48 例で、全身放射線照射 (TBI) を含むレジメンが 60 例で行われた。GVHD 予防は 61 例がシクロスポリン A (CsA) +short term MTX で、2 例が CsA 単独、21 例が CsA+メチルプレドニゾロン (mPSL)、22 例がタクロリムス (FK506) +short term MTX、6 例が MTX 単独、そして 1 例が FK506+mPSL で施行された。なお対象となった 113 例のうち、移植後全身性にステロイド (PSL または mPSL) 投与を受けたのは 68 例 (60.2%) であり、投与期間の中央値は 64 日間 (6~408 日間) であった。末梢血中の好酸球数の測定は鏡検にて最低 2 回行い、移植後 day+40 までは連日、その後は週 2~3 回測定した。移植後、好酸球の絶対数が 500/ $\mu$ l を 2 日連続で超えた例を好酸球増多群と定義した。また好酸球増多群および非増多群それぞれから 13 例ずつ、計 26 例につきサイトカインの動態を検討した。それぞれの群につき、移植前処置開始時 (Pre : 平均 day-7)、移植後早期 (Early : 平均 day+37)、および移植後後期 (Late : 平均 day+76) の 3 点でサイトカインレベルを測定し、その平均値の動態に差異がみられるかを比較した。なお好酸球増多群では好酸球数がピークに達した付近でサイトカインを測定し、これを移植後早期 (Early) の値とした。測定は ELISA 法によって行い、IL-1 $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-2、IL-4、IL-5、IL-8、IL-10、IL-12、IFN- $\gamma$ 、および TNF- $\alpha$  の値を調べた。

## 結果

### 1) 移植後の好酸球増多

113 例中、44 例 (38.9%) に移植後好酸球増多がみられた。好酸球の絶対数がピークとなるのは中央値で移植後 day+67.5 (23~253 日) で、好酸球数の最大値は中央値で 840.5/ $\mu$ l (504~6,300/ $\mu$ l) であった。好酸球増多群と非増多群で比較したが 2 群間で有意差がみられたのは年齢のみで、移植方法、ドナー、前処置、GVHD、ステロイド投与の有無などで統計学的有意差はなかった。

### 2) 好酸球増多群と非増多群での予後の相違

腫瘍性疾患および非腫瘍性疾患を含めた 113 例での over all survival (OAS) は、移植後好酸球増多群の方が明らかに良好であった (88.7% vs. 43.0%、 $p=0.0034$ )。同様に 82 例の腫瘍性疾患患者における event-free survival (EFS) は、やはり移植後好酸球増多群の方で明らかに高い結果であった (81.1% vs. 44.6%、 $p=0.025$ )。さらに腫瘍性疾患患者の累積再発率を比較したところ、好酸球増多群に比して非好酸球増多群では有意に再発率が高かった (16.0% vs. 43.0%、 $p=0.0287$ )。移植後の生存期間に関わる因子を特定するため多変量解析を行った結果、疾患が腫瘍性か非腫瘍性かという因子を除けば、移植後に好酸球増多がみられることが長期生存に關与する唯一の因子であった。また非腫瘍性疾患においては統計学的有意差を示さなかったものの、やはり好酸球増多群で OAS が高い傾向にあった (100.0% vs. 82.4%、 $p=0.1093$ )。

### 3) サイトカインレベルの変動の比較

好酸球増多群、非増多群それぞれのサイトカインレベルの平均値を測定した。疾患の内容、急性および慢性 GVHD の発症率、ステロイド投与の有無に両群で偏りが生じないように選別した。両群それぞれでの移植前処置開始時、移植後早期、移植後期の 3 点での平均値の推移を調べた。2 群間で有意差がみられたのは、好酸球数がピークを迎えたときの IL-10 と IL-12 の値のみであった ( $p<0.05$ )。好酸球非増多群では移植後早期に IL-10 の上昇がみられるが、好酸球増多群では好酸球数がピークを迎える時期においても IL-10 の上昇はみられなかった。一方、好酸球増多群では移植後に好酸球数がピークを迎える時期に一致して IL-12 の上昇を認め、好酸球非増多群では IL-12 のピークは認めなかった。好酸球の分化増殖に關与するといわれる IL-5 は、移植の経過を通じて好酸球増多群でより高い値をとる傾向にあったが有意差は認めなかった。

## 考察

今回の検討で申請者は移植後にみられる好酸球増多の発生頻度およびその特徴を明らかにし、腫瘍性、非腫瘍性疾患に関わらず好酸球増多は一つの予後良好因子となりうる可能性を示した。同種造血幹細胞移植後の好酸球増多に関する報告はいくつかみられるが、移植後の疾患予後と好酸球増多の關連性を示した報告は初めてである。移植後の好酸球増多群では非増多群と比較して有意に OAS が高く、とりわけ腫瘍性疾患ではより低い再発率であったことから、その根底に graft-versus-leukemia (GVL) 効果が存在する可能性をうかがわせた。また好酸球増多群と非増多群でのサイトカインの動態比較で、好酸球数のピーク時期に一致して高い IL-12 レベルと低い IL-10 レベルを認めた。GVL 効果を促進する上で IL-12 が非常に重要な役割を担っていることが知られており、IL-12 により GVL 効果を誘導できたとする報告も散見され、今回の申請者の観察した事実はこれを支持する結果となった。加えて好酸球増多群では非増多群に比べて IL-10 の上昇がみられず、非増多群では逆に上昇がみられた。一般に IL-10 が免疫抑制方向に關与するサイトカインであることを考慮すれば、好酸球非増多群でその予後が不良である点も合致する。好酸球の分化増殖には IL-5 のみならず IL-3 や GM-CSF などのサイトカインが關与するが、今回の検討では測定していないものの、移植後の好酸球増多の背景には IL-12 の上昇だけではなく、GM-CSF などの上昇も伴い抗腫瘍効果を発揮しているのかもしれない。また非腫瘍性疾患の症例においても、好酸球増多群でより高い OAS が得られた。このことから移植後の好酸球増多はドナー細胞の適切な生着を示す良好なマーカーである可能性も示唆される。本研究から臨床の実際において造血幹細胞移植後の生着や、腫瘍性疾患における再発危険症例を予測可能となることが期待できると考えられる。また今後さらに多数例での検討が行われ、移植後の好酸球増多の病態解明とその意義が明らかになることが期待される。

# 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 今 村 雅 寛

副 査 教 授 佐々木 文 章

副 査 教 授 有 賀 正

## 学位論文題名

### Significance of eosinophilia after stem cell transplantation as a possible prognostic marker for favorable outcome

(同種造血幹細胞移植後の好酸球増多の予後因子としての意義)

造血幹細胞移植はこれまで難治性血液腫瘍性疾患や、ある種の非腫瘍性疾患患者の予後改善に貢献してきた。最近になって海外から同種造血幹細胞移植後にみられる好酸球増多に関する新たな知見が報告されている。それらは専ら好酸球増多が潜在的に GVHD の発症を示唆しているというものである。当科ではこれまで計 180 例を超える小児患者に対して造血幹細胞移植を行ってきた。以前から移植後の末梢血中好酸球増多症例と非増多症例が存在することに注目してはいたが、その意義は不明であり、好酸球増多群では GVHD の発症とは無関係に予後が良好である傾向が認められていた。また造血幹細胞移植後の好酸球増多とその予後に関して多数例での検討がこれまでなかったことから、今回申請者らは移植後の 2 群間でその予後に差があるか否かを検討した。さらにいくつかのサイトカインの動態を調べ、差異がみられるかどうかも検討した。

症例は 1988 年 2 月から 2005 年 2 月に当科において造血幹細胞移植を施行した 160 例中、同種造血幹細胞移植を施行し解析可能であった 113 例を対象とし、移植後好酸球増多の有無により 2 群に分けて、疾患内容、移植前処置の内容、ドナー、移植源、GVHD などとの関連性を比較検討した。好酸球の絶対数が  $500/\mu\text{l}$  を 2 日連続で超えた例を好酸球増多群と定義した。また好酸球増多群および非増多群それぞれから 13 例ずつ抽出し、計 26 例につき ELISA 法によりサイトカインの動態を検討した。

その結果 113 例中、44 例 (38.9%) に移植後好酸球増多がみられた。2 群間で有意差がみられたのは年齢のみで、移植方法、ドナーの種類、前処置法、GVHD の有無などで有意差はなかった。また全 113 例での over all survival (OAS) は、好酸球増多群の方が明らかに良好であり (88.7% vs. 43.0%、 $p=0.0034$ )、同様に 82 例の腫瘍性疾患患者における event-free survival (EFS) も好酸球増多群の方で明らかに高い結果であった (81.1% vs. 44.6%、 $p=0.025$ )。さらに腫瘍性疾患患者の累積再発率を比較したところ、好酸球増多群に比して非好酸球増多群では有意に再発率が高かった (16.0% vs. 43.0%、 $p=0.0287$ )。多変量解析を行った結果、

移植後に好酸球増多のみられることが長期生存に関与する一つの因子であった。また非腫瘍性疾患においても好酸球増多群で OAS が高い傾向にあった (100.0% vs. 82.4%,  $p=0.1093$ )。サイトカインレベルの平均値の比較では、2 群間で有意差がみられたのは好酸球数がピークを迎えたときの IL-10 と IL-12 の値のみであった ( $p<0.05$ )。好酸球増多群では抗腫瘍性サイトカインである IL-12 の上昇がみられ、免疫抑制性サイトカインである IL-10 は低値のままであった。非増多群ではそれとは逆のパターンであった。好酸球の分化増殖に関与するといわれる IL-5 は、移植の経過を通じて好酸球増多群でより高い値をとる傾向にあったが有意差は認めなかった。

以上の結果から腫瘍性、非腫瘍性疾患にかかわらず移植後好酸球増多は一つの予後良好因子となりうる可能性を示した。とりわけ腫瘍性疾患ではより低い再発率であったことから、その根底に graft-versus-leukemia (GVL) 効果が存在する可能性を示した。サイトカインの動態比較も、過去の知見と併せてこれを裏付ける結果であった。また非腫瘍性疾患の症例においても好酸球増多はドナー細胞の適切な生着を示す良好なマーカーである可能性も示した。本研究から臨床の実際において造血幹細胞移植後の生着や、腫瘍性疾患における再発危険症例を予測できると考えられるが、今後さらに多数例での検討が行われる必要がある。

公開発表に際し、副査の佐々木文章教授から、移植後好酸球増多群と非増多群での感染症罹患率の相違、好酸球増多時期の IL-5 値に有意差が出なかった理由、好酸球増多を誘導し予後改善につなげる臨床応用の可能性、RIST 症例での好酸球増多に関する質問があった。次いで副査の有賀正教授から移植後好酸球増多と GVHD の関連性、自家骨髄移植における好酸球増多の有無に関する質問があった。また主査の今村雅寛教授から、小児における移植後好酸球増多の頻度、好酸球増多と GVHD の grade 別での関連性、測定した IL-12 の活性の有無、測定で得られたサイトカインの変動パターンによる GVL 効果の説明、好酸球自体による GVL 効果への関与の可能性、移植後好酸球増多とステロイドの関連性に関する質問があったが、いずれの質問に対しても申請者は妥当な回答をした。

本研究は造血幹細胞移植後の末梢血中好酸球増多が、腫瘍性・非腫瘍性疾患にかかわらず移植患者の予後予測因子となる可能性を示した点で高く評価され、今後さらなる症例の蓄積から GVL 効果誘導の手がかりを得られることも期待される。

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十分な資格を有するものと判定した。