

同種抗原による移植片対白血病効果減弱のメカニズム

朝倉昇司^{a*}, 橋本大吾^{b,d}, 高嶋秀一郎^c, 杉山暖子^d, 前田嘉信^d, 赤司浩一^{b,c},
谷本光音^d, 豊嶋崇徳^b

^a国立病院機構岡山医療センター 血液内科, ^b九州大学病院 遺伝子細胞療法部, ^c九州大学大学院 病態修復内科学,
^d岡山大学病院 血液・腫瘍内科

キーワード: 同種造血幹細胞移植, 移植片対白血病効果, 同種抗原, programmed death-1 (PD-1),
programmed death ligand-1 (PD-L1)

Alloantigen expression on non-hematopoietic cells reduces graft-versus-leukemia effects in mice

Shoji Asakura^{a*}, Daigo Hashimoto^{b,d}, Shuichiro Takashima^c, Haruko Sugiyama^d, Yoshinobu Maeda^d,
Koichi Akashi^{b,c}, Mitsune Tanimoto^d, Takanori Teshima^b

^aDepartment of Hematology, National Hospital Organization Okayama Medical Center, ^bCenter for Cellular and Molecular Medicine, Kyushu University Hospital, ^cDepartment of Medicine and Biosystemic Science, Kyushu University Graduate School of Science, ^dDepartment of Hematology, Oncology and Respiratory Medicine, Okayama University Hospital

はじめに

同種造血幹細胞移植 (hematopoietic stem cell transplantation; HSCT) は通常の化学療法で治癒困難な予後不良の白血病や悪性リンパ腫に対する根治的治療法として現在広く行われている^{1,2)}。造血器腫瘍に対する HSCT は細胞免疫療法と位置づけられており, ドナー免疫担当細胞が患者の腫瘍細胞を「標的」とみなして攻撃する移植片対白血病効果 (graft versus leukemia effect; GVL 効果) による治癒を目指している。一方でドナー免疫担当細胞は患者の体細胞を「異物」と認識して攻撃することで移植片対宿主病 (graft versus

host disease; GVHD) を発症し, 移植後の主要な合併症の1つとして時に致死的な経過をもたらす。GVHD を最小限に抑え GVL 効果を最大限に発揮することが「理想的な移植」と考えられているが, 主要なエフェクター細胞はいずれもドナー T 細胞であるため³⁻⁵⁾ 未だに明確な実現の方向性は見出せていない。

本稿ではマウス造血幹細胞移植モデルを用いて得られた我々の知見を中心に⁶⁾, 移植後再発において推測される GVL 効果減弱のメカニズムと GVHD/GVL 効果制御のための新しい概念について紹介したい。

造血幹細胞移植における同種抗原の役割

HSCT ではドナーとレシピエント間で主要あるいはマイナー組織適合性抗原 (major histocompatibility complex; MHC, minor histocompatibility antigen; mHA) の違いによりドナー免疫細胞が活性化される。通常, 白血病患者に対する HSCT ではドナー側から見

平成24年1月受理

*〒701-1192 岡山市北区田益1711-1

電話: 086-294-9911 FAX: 086-294-9255

E-mail: asakuras@okayama3.hosp.go.jp

プロフィール



昭和45年8月7日生

平成8年3月 香川医科大学医学部卒業

平成22年9月 岡山大学大学院医歯学総合研究科修了

平成8年5月 岡山大学医学部附属病院第二内科 医員 (研修医)

平成9年6月 香川労災病院内科 研修医

平成10年4月 亀田総合病院血液内科

平成11年4月 愛知県立がんセンター血液化学療法部

平成14年4月 岡山大学医学部附属病院慢性呼吸器疾患部 医員

平成17年4月 岡山医療センター血液内科

現在に至る

ると腫瘍細胞も含めてレシピエントの全身に同種抗原が分布している。レシピエントに分布する同種抗原はGVHDの発症に重要であるが、マウスモデルを用いた研究によりドナーT細胞の活性化やGVHD/GVL効果に与える影響は同種抗原の分布領域毎に異なる役割を有することが示された^{4,7)}。これまでの研究により、レシピエント側の同種抗原の分布領域を血液細胞由来の抗原提示細胞 (APC)、非血液細胞であるGVHDの標的上皮細胞、白血病などの腫瘍細胞という3つの主要構成要素に分けた場合、ドナーT細胞はレシピエントのAPCに提示された同種抗原を認識して活性化され、非血液細胞や腫瘍細胞に発現する同種抗原を標的としてGVHDの発症・増悪あるいはGVL効果をもたらすことが明らかになった^{3,4,7-9)}。

こうした一連の研究に続いてレシピエントの非血液細胞に発現する同種抗原によるGVL効果への影響を解明するため、我々は骨髄キメラマウスによる検討を行った⁶⁾。

同種抗原によるGVL効果の減弱

C3H.Sw (C3) マウスにMHC一致かつmHA不適合であるC57BL/6 (B6) マウス由来のT細胞除去骨髄を移植し、血液細胞がB6由来、非血液細胞がC3由来の骨髄キメラマウスを作製した ([B6→C3]) (図1)。Controlとして [B6→B6] キメラマウスを作

製し4ヶ月後にこれらのキメラマウスをレシピエント、C3をドナーとしてT細胞を含む骨髄移植を行った (2nd TP)。ドナー側からみると、[B6→B6]をレシピエントとした場合は血液細胞と非血液細胞いずれにもmHAを発現しておりGVHDを発症する。[B6→C3]をレシピエントとした場合は血液細胞にmHAを発現しているためGVHDを発症するが非血液細胞にmHAが発現していないことからGVHDは減弱する。次に白血病細胞に対するGVL効果を観察するために、B6由来の腫瘍であるEL4を移植時に輸注したところ、GVHDが軽微な[B6→C3]をレシピエントとした場合に腫瘍細胞死の割合が低下しGVL効果が増強することが確認された。この結果、非血液細胞に同種抗原を発現している場合 ([B6→B6]をレシピエントとした場合) はGVHDが増悪しGVL効果が弱められるということを示している。

ドナーT細胞のアポトーシスと機能不全

ドナーT細胞を移植しない場合はいずれのキメラマウスでも早期に腫瘍死することから¹⁰⁻¹²⁾、レシピエントの非血液細胞に発現する同種抗原がドナーT細胞に何らかの影響を与えるのではないかと考えて、我々は2nd TP後のドナーT細胞に着目した。同種抗原によるGVL効果減弱のメカニズムを明らかにするためにC3をドナーとして [B6→B6] および [B6→C3]

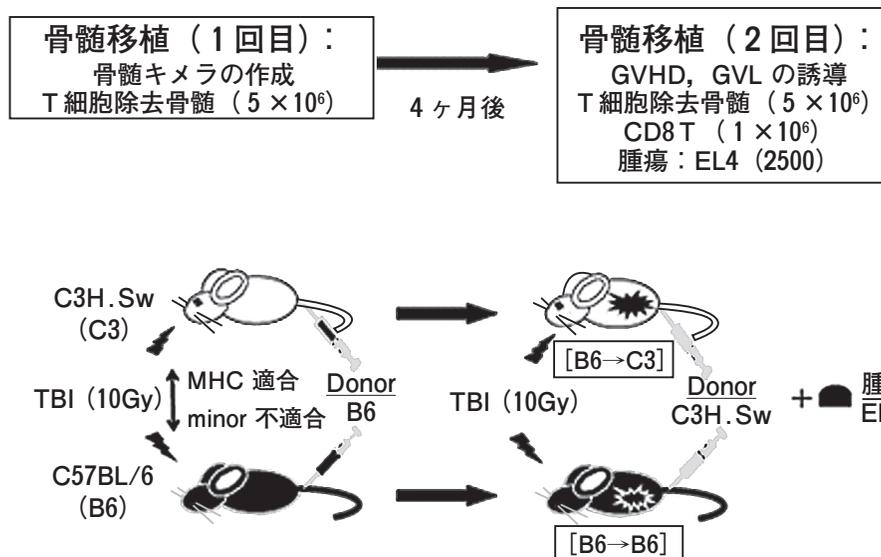


図1 1回目の骨髄移植で骨髄キメラマウス作成、2回目の骨髄移植でGVHDおよびGVLの誘導を行った。GVLの誘導には移植時に腫瘍細胞を同時に輸注した。

に対して HSCT を施行し，移植後のドナー T 細胞についての検討を行った。その結果 [B6 → B6] をレシピエントとした場合にドナー T 細胞は減少しアポトーシスが増加，更に細胞障害活性の低下が認められた。

この結果からホストの非血液細胞上に発現する同種抗原がドナー T 細胞のアポトーシスと機能不全をもたらすことが示された。

PD-1/PD-L1 pathway の関与

T 細胞の細胞死誘導の際に発現が増強される PD-1 (CD279) は活性化 T 細胞の negative regulator である¹³⁻¹⁵。感染症や腫瘍に対する T 細胞の exhaustion や寛容をもたらす最も重要な分子の一つとしても知られており¹⁶⁻¹⁸，GVHD への関与も既に報告されている¹⁹。我々はドナー T 細胞のアポトーシスと機能不全に PD-1/PD-L1 pathway が関与しているのではないかと考え 2nd TP 後のドナー T 細胞に関する解析を行った。その結果 [B6 → B6] をレシピエントとした場合，移植後にドナー T 細胞の PD-1 発現増強が確認された。また GVHD の標的臓器である肝臓では PD-1 のリガンドである PD-L1 発現の増強が認められたことから，標的臓器に発現する同種抗原により GVHD が増悪する過程で PD-1/PD-L1 系を介してドナー T 細胞が疲弊し，その結果として GVL 効果を喪失する可能性が示された。

更に PD-1/PD-L1 pathway を阻害するため 2nd TP 後の [B6 → B6] レシピエントマウスに抗 PD-L1 抗体を投与したところ，移植後ドナー T 細胞の CTL 活性が増強し GVHD が増悪するものの GVL 効果も増強することが確認された。また [B6 → C3] レシピエントマウスでは GVHD を増悪させることなく GVL 効果のみが増強する傾向がみられた。

考 察

臨床の造血幹細胞移植では移植後も同種抗原が非血液細胞の MHC class I 上に提示され続けるが，多くの症例では GVHD の発症ののちに寛容が成立し，ホスト応答性 T 細胞が存在するにも関わらずしばしば白血病の再発を経験する。しかしながら GVHD/GVL 効果に影響を与える要因を臨床検体のみを用いて解析することは極めて困難とされてきた。その理由の一つとしてヒトの造血幹細胞移植は同種抗原の違いという一点のみに限って考えても多種多様であり，更に個体差や環境

要因の違いなどが加わることにより免疫応答が極めて複雑になることが挙げられる。今回我々はマウスモデルを用いることにより移植臨床の複雑な免疫応答に埋もれていた現象を見出し，GVL 効果減弱のメカニズムの一端を明らかにした。今後は GVHD を増悪させることなく GVL 効果を増強させるための PD-1/PD-L1 経路阻害方法の（抗体投与期間やタイミング）の検討，PD-1/PD-L1 経路以外の制御因子の有無，また臨床検体による検討を行うと同時に将来的には臨床応用可能な PD-1/PD-L1 経路阻害薬の開発へと進展することが期待される。

ホストの非血液細胞に発現した同種抗原が GVHD を増強し GVL を減弱するという概念は GVHD/GVL 効果の病態理解するための新たな枠組みを与えるものである。この概念をもとに従来の非特異的免疫制御による GVHD 予防に加えて PD-1/PD-L1 経路のような選択的な免疫制御法の解明を目的とした新たなメカニズムを進めることにより，将来 GVHD と GVL の分離が可能となるかもしれない。

文 献

- 1) Weiden PL, Flournoy N, Thomas ED, Prentice R, Fefer A, Buckner CD, Storb R: Antileukemic effect of graft-versus-host disease in human recipients of allogeneic-marrow grafts. *N Engl J Med* (1979) 300, 1068-1073.
- 2) Weiden PL, Flournoy N, Sanders JE, Sullivan KM, Thomas ED: Antileukemic effect of graft-versus-host disease contributes to improved survival after allogeneic marrow transplantation. *Transplant Proc* (1981) 13, 248-251.
- 3) Teshima T, Ordemann R, Reddy P, Gagrin S, Liu C, Cooke KR, Ferrara JL: Acute graft-versus-host disease does not require alloantigen expression on host epithelium. *Nat Med* (2002) 8, 575-581.
- 4) Reddy P, Maeda Y, Liu C, Krijanovski OI, Korngold R, Ferrara JL: A crucial role for antigen-presenting cells and alloantigen expression in graft-versus-leukemia responses. *Nat Med* (2005) 11, 1244-1249.
- 5) Bleakley M, Riddell SR: Molecules and mechanisms of the graft-versus-leukaemia effect. *Nat Rev Cancer* (2004) 4, 371-380.
- 6) Asakura S, Hashimoto D, Takashima S, Sugiyama H, Maeda Y, Akashi K, Tanimoto M, Teshima T: Alloantigen expression on non-hematopoietic cells reduces graft-versus-leukemia effects in mice. *J Clin Invest* (2010) 120, 2370-2378.
- 7) Shlomchik WD, Couzens MS, Tang CB, McNiff J, Robert ME, Liu J, Shlomchik MJ, Emerson SG: Prevention of

- graft versus host disease by inactivation of host antigen-presenting cells. *Science* (1999) 285, 412-415.
- 8) Ruggeri L, Capanni M, Urbani E, Perruccio K, Shlomchik WD, Tosti A, Posati S, Rogaia D, Frassoni F, Aversa F, Martelli MF, Velardi A : Effectiveness of donor natural killer cell alloreactivity in mismatched hematopoietic transplants. *Science* (2002) 295, 2097-2100.
 - 9) Jones SC, Murphy GF, Friedman TM, Korngold R : Importance of minor histocompatibility antigen expression by nonhematopoietic tissues in a CD4+ T cell-mediated graft-versus-host disease model. *J Clin Invest* (2003) 112, 1880-1886.
 - 10) Korngold R, Sprent J : Lethal graft-versus-host disease after bone marrow transplantation across minor histocompatibility barriers in mice. Prevention by removing mature T cells from marrow. *J Exp Med* (1978) 148, 1687-1698.
 - 11) Apperley JF, Jones L, Hale G, Waldmann H, Hows J, Rombos Y, Tsatalas C, Marcus RE, Goolden AW, Gordon-Smith EC, et al. : Bone marrow transplantation for patients with chronic myeloid leukaemia : T-cell depletion with Campath-1 reduces the incidence of graft-versus-host disease but may increase the risk of leukaemic relapse. *Bone Marrow Transplant* (1986) 1, 53-66.
 - 12) Atkinson K, Horowitz MM, Gale RP, van Bekkum DW, Gluckman E, Good RA, Jacobsen N, Kolb HJ, Rimm AA, Ringden O, et al. : Risk factors for chronic graft-versus-host disease after HLA-identical sibling bone marrow transplantation. *Blood* (1990) 75, 2459-2464.
 - 13) Zajac AJ, Blattman JN, Murali-Krishna K, Sourdive DJ, Suresh M, Altman JD, Ahmed R : Viral immune evasion due to persistence of activated T cells without effector function. *J Exp Med* (1998) 188, 2205-2213.
 - 14) Barber DL, Wherry EJ, Masopust D, Zhu B, Allison JP, Sharpe AH, Freeman GJ, Ahmed R : Restoring function in exhausted CD8 T cells during chronic viral infection. *Nature* (2006) 439, 682-687.
 - 15) Shin H, Wherry EJ : CD8 T cell dysfunction during chronic viral infection. *Curr Opin Immunol* (2007) 19, 408-415.
 - 16) Ahmadzadeh M, Johnson LA, Heemskerk B, Wunderlich JR, Dudley ME, White DE, Rosenberg SA : Tumor antigen-specific CD8 T cells infiltrating the tumor express high levels of PD-1 and are functionally impaired. *Blood* (2009) 114, 1537-1544.
 - 17) Zhang L, Gajewski TF, Kline J : PD-1/PD-L1 interactions inhibit antitumor immune responses in a murine acute myeloid leukemia model. *Blood* (2009) 114, 1545-1552.
 - 18) Mumprecht S, Schurch C, Schwaller J, Solenthaler M, Ochsenbein AF : Programmed death 1 signaling on chronic myeloid leukemia-specific T cells results in T-cell exhaustion and disease progression. *Blood* (2009) 114, 1528-1536.
 - 19) Blazar BR, Carreno BM, Panoskaltis-Mortari A, Carter L, Iwai Y, Yagita H, Nishimura H, Taylor PA : Blockade of programmed death-1 engagement accelerates graft-versus-host disease lethality by an IFN-gamma-dependent mechanism. *J Immunol* (2003) 171, 1272-1277.