

論文内容要旨

論文題目

Donor-derived T cell responses are involved in renal injury after allogeneic hematopoietic cell transplantation

(同種造血細胞移植後の腎障害にドナーT細胞が関与する)

責任講座： 内科学第一 講座
氏名： 宮田 匡大

【内容要旨】(1,200字以内)

急性移植片対宿主病 (aGVHD) は、同種造血細胞移植 (allo-HCT) 後に発症する重篤な合併症の一つであり、皮膚、肝臓、消化管が主な標的臓器と考えられている。腎臓は aGVHD の標的臓器として認識されていないが、急性腎障害 (AKI) は HCT 後に高頻度に生じる合併症であり、最近の研究では、腎臓もドナーT細胞の標的となる可能性が示唆されている。しかし、HCT 後の急性期に腎生検を施行することは稀であり、AKI の原因を特定することは困難である。本研究では、骨髄移植マウスモデルを用いて、同種ドナーT細胞が腎細胞を直接障害する、すなわち腎臓が aGVHD の標的であるという仮説を検証した。

主要組織適合抗原複合体 (MHC) 不一致の aGVHD マウスモデルとして、BALB/c に致死量の放射線を照射し、BALB/c (同系移植) または C57BL/6 (同種移植) から骨髄細胞および脾臓 T 細胞を移植した。移植後 14 日目に、尿細管傷害マーカーである尿中 N-アセチル-β-D-グルコサミニダーゼ (NAG) が同種移植のレシピエントで上昇していた。MHC 半合致モデルでも同様の結果であった。病理組織学的検討では、MHC 不一致モデルのレシピエントの腎臓にドナー MHC 陽性の細胞が認められ、傍尿細管毛細血管、間質、糸球体、動脈周囲で CD3 陽性 T 細胞が増加していた。次に腎臓に浸潤した T 細胞の詳細をフローサイトメトリーで解析した。同種移植レシピエントでは同系移植レシピエントに比べ、ドナー由来 CD4 陽性および CD8 陽性 T 細胞数の有意な増加を認め、これらの T 細胞は活性化マーカー (CD69、CD25) や疲弊マーカー (PD-1、Tim-3) の発現が亢進し、炎症性サイトカインである腫瘍壊死因子 (TNF) -α、インターフェロン (IFN) -γ の分泌および、グランザイム B とパーフォリンの産生が増加していた。腎組織の蛋白発現の検討では、同種移植レシピエントの腎臓で、急性腎障害のマーカーである好中球ゼラチナーゼ結合性リポカリン (NGAL) と皮膚 GVHD のマーカーであるエラフィン蛋白の発現が増加していた。ドナー T 細胞の細胞障害活性を検討するために、腎由来培養細胞をターゲットとして細胞傷害性 T リンパ球 (CTL) アッセイを行った。T 細胞を同種または同系の抗原提示細胞で刺激して活性化させ、腎血管内皮細胞または近位尿細管上皮細胞と共培養した結果、同種反応性 T 細胞による腎血管内皮細胞と尿細管上皮細胞のアポトーシスの誘導を認めた。

本研究では、allo-HCT レシピエントの腎臓において、ドナーT細胞により誘導される免疫反応が腎血管内皮及び尿細管上皮細胞傷害に関与することを示した。以上の結果から、腎臓が aGVHD の標的となり得ることが示唆される。

2022年12月19日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名： 宮田 匡大

論文題目： Donor-derived T cell responses are involved in renal injury after allogeneic

hematopoietic cell transplantation (同種造血細胞移植後の腎障害にドナー T 細胞が関与する)

審査委員：主審査委員

工谷 順孝



副審査委員

高木 理彰



副審査委員

藤井 順逸



審査終了日： 2022年 12月 16日

【 論 文 審 査 結 果 要 旨 】

急性腎障害 (AKI) は同種造血細胞移植 (allo-HCT) 後の頻度の高い合併症であるが、腎臓は急性移植片対宿主病 (aGVHD) の標的臓器として認識されていない。宮田らは同種移植のドナー T 細胞が腎臓の内皮細胞や上皮細胞を攻撃するかどうかを、aGVHD マウスモデルで検討した。前処置としてマウスに放射線を照射し、その後骨髄移植を行った。

骨髄移植後 14 日目に尿細管障害のマーカーである N-acetyl- β -D8 glucosaminidase (NAG) が同種レシピエントで上昇し、骨髄移植後 44 日目に尿細管障害のマーカーである N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG) が同種レシピエントの尿中で上昇した。同種移植マウスの腎病理標本にはドナー MHC 陽性細胞が存在し、糸球体、尿細管周囲毛細血管、間質、血管周囲に CD3+ T 細胞が増加した。これらのドナー由来 T 細胞をフローサイトメトリーで解析したところ、CD4+ と CD8+ 細胞が同種移植マウスで増加し、これらの T 細胞は炎症性サイトカインと細胞障害性タンパクの分泌亢進と活性化ならびに疲弊表面マーカーの上昇がみられた。また、同種移植マウスの腎組では急性腎障害のマーカーである neutrophil gelatinase-binding lipocalin (NGAL) と皮膚 GVHD のマーカーである elafin の発現が増加していた。In vitro 細胞傷害性 T リンパ球 (CTL) アッセイでは、同種反応性 T 細胞との共培養により、腎内皮細胞および尿細管上皮細胞のアポトーシスを増加させることが示された。

本研究において、ドナー T 細胞によって誘導される免疫応答が、allo-HCT レシピエントの腎血管内皮細胞および尿細管上皮細胞の障害に関与することを示し、腎臓が aGVHD 標的臓器であることを示唆された。

当論文は、存在が予想されていたものの臨床的に診断することが困難であり、重要視されていなかった HCT 後の腎 aGVHD について、aGVHD マウスモデルと *in vitro* での実験系を用いて検討した。活性化ならびに疲弊表面マーカーを発現するドナー T 細胞がレシピエント腎に浸潤し、血管内皮細胞および尿細管上皮細胞を傷害することによって aGVHD を来す可能性を初めて検証した意義のある論文であり、学位を授与する論文に値すると判定する。