

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 6 月 15 日現在

機関番号：33920

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24591418

研究課題名(和文)免疫調整遺伝子多型解析に基づくテーラーメイド型同種造血幹細胞移植の確立

研究課題名(英文) Establishment of tailor-made type allogeneic hematopoietic stem cell transplantation based on immune-modulating gene polymorphism analysis

研究代表者

高見 昭良 (Takami, Akiyoshi)

愛知医科大学・医学部・教授

研究者番号：80324078

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：免疫調整遺伝子多型を臨床的・機能的に解析し、CXCL10、NLRP3、PTPN22、CD53、THBD各遺伝子多型が、非血縁者間骨髄移植後転帰に影響すること、NLRP3、CD53、THBDが機能的多型であることを明らかにした。これらは、同種造血幹細胞移植にとどまらず、自己免疫疾患や感染症、がん、臓器移植診療への波及効果も期待される。

研究成果の概要(英文)：When the impact of immune-modulating gene polymorphisms was examined in patients and their donors of unrelated hematopoietic stem cell transplantation, genetic variations in the CXCL10, NLRP3, PTPN22, CD53, and THBD genes were associated with transplant outcomes. Experimental investigation revealed that the gene polymorphisms of NLRP3, CD53 and THBD play functionally important roles in the regulation of their production. These findings may offer clinical benefits in patients with receiving allogeneic hematopoietic stem cell transplants as well as those with autoimmune diseases, infectious diseases, cancers and receiving organ transplants.

研究分野：血液内科

キーワード：遺伝子多型

## 1. 研究開始当初の背景

サイトカイン・先天免疫など免疫調整遺伝子多型は、自己免疫疾患や感染免疫、がん監視機構、臓器移植後拒絶との関連が知られている。研究代表者は、日本骨髄バンクと共同で非血縁者間同種骨髄移植患者・ドナーの DNA と臨床データを解析し、複数の免疫調整遺伝子多型が同種骨髄移植後転帰に影響することを明らかにした(1-5)。このような免疫調整遺伝子多型情報からドナー選択や移植後合併症予防・治療を行えば、同種造血幹細胞移植成績は大幅に向上すると期待される。しかも、免疫調整遺伝子多型の一部は、サイトカイン産生能など機能的役割を持っていた。これらは、多型遺伝子や遺伝子産物、サイトカインなどを標的とした新規治療開発につながる可能性がある。

## 2. 研究の目的

同種造血幹細胞移植患者・ドナーを対象に、複数の免疫調整遺伝子多型を決定し、移植成績への影響を前・後方視的に解析する。さらに、関連を認めた免疫調整遺伝子多型の機能を実験的に検証する。

## 3. 研究の方法

倫理審査承認後、日本骨髄バンクより、HLA 12/12 アリル一致非血縁者間骨髄移植を受けた前移植歴のない血液がん患者とドナー800組の DNA と臨床情報の提供を受けた。統合解析用 1 塩基多型 (SNP) の必要条件を、(1)コード蛋白が同種造血幹細胞移植の免疫病態に関与、(2)SNP が自己免疫疾患や感染免疫、臓器移植拒絶に関与、(3)研究室で臨床解析が済んでいる SNP は生存率 (OS) や移植関連死亡率 (TRM) 再発率 (Rel) への影響が乏しかったものを除外とし、SNP を決定した。以上の条件から選択した 18 SNP (*ATG16L1*, *CCL2\_1*, *CCL2\_2*, *CCL2\_3*, *CCR5*, *CCR6*, *CD53*, *IL23R\_1*, *IL23R\_2*,

*IL12R\_3*、*IL23RIL12RB2\_1*、*IL23RIL12RB2\_2*, *NLRP3\_1*, *NLRP3\_2*, *PTPN22*, *TLR1*, *TLR2*, *TLR4*) を TaqMan SNP 遺伝子多型解析法で決定し、OS、TRM、Rel、急性・慢性 GVHD との関連を後方視的に解析した。統計解析には Excel2007 と EZR を用いた。多変量解析は交絡因子 (血液型適合性、患者・ドナー年齢、前処置強度、疾患リスク、GVHD 予防法、患者性別、性別適合性、全身放射線照射、患者体重あたり輸注細胞数、移植実施年) で補正し、連続変数は中央値で区分けした。OS のみ Cox 比例ハザード法を、それ以外は Fine-Gray 比例ハザード法を用いた。P 値 0.05 以下を移植後転帰に関連する SNP と判定した。

*NLRP3*、*CD53* 各遺伝子多型に関して、健常人血液を用いた機能解析を行った。さらに、トロンボモジュリン遺伝子 (*THBD*) 多型解析 (臨床解析、機能解析) も追加して実施した。

## 4. 研究成果

### (1) 複数 SNP 解析

統合解析用 SNP 解析上、OS に関連する SNP は、患者側が *CCL2\_2*, *CCL2\_3*, *CD53*, *IL23RIL12RB2\_1*、*IL23RIL12RB2\_2*、*NLRP3\_1*, *PTPN22*、ドナー側が *PTPN22* であった。患者側の *CCL2\_2* (T<C)、*CCL2\_3* (T<C)、*CD53* (C<G)、*IL23RIL12RB2\_1* (C<A)、*IL23RIL12RB2\_2* (A<G)、*NLRP3\_1* (C<G)、*PTPN22* (G<C) の 7 種類の SNP をスコア化した。低リスクアリルのホモ=0 点、ヘテロ=1 点、高リスクアリルのホモ=2 点としたとき、合計点の 0 点から 5 点を good risk、6 点を intermediate risk、7 点から 14 点を high risk と層別化し、生存率を比較した。患者側 SNP スコアで層別化した Good risk、intermediate risk、high risk の順に生存率が低下することがわかった。ドナー側 SNP についても同様の検討を行った

ところ、生存率に関連するのは、*PTPN22* (*C>G*)のみであった。

## (2) 機能解析

健康人末梢血を全血培養法を用いて機能解析を行った。*NLRP3* (*C>G*) 遺伝子多型と活性化リンパ球の IL-18 産生能の関連をみたところ、*G/G>C/G* ( $P=0.04$ )、*G/G>C/C* ( $P=0.03$ )であった。次に、*CD53* 遺伝子多型と TNF $\alpha$  誘導能との関連をみたところ、*CG* 型または *GG* 型は、*CC* 型より TNF $\alpha$  誘導能が高い傾向がみられた( $P=0.09$ )。*CD53* 遺伝子多型の影響をアリル特異的転写量測定法で解析したところ、*G* アリルは、*C* アリルより転写量が有意に多いことが示された( $P=0.03$ )。

## (3) トロンボモジュリン遺伝子多型解析

*THBD* SNP ドナー *AC* または *CC* 型は II 度から IV 度急性移植片対宿主病 (GVHD) 発症率が低いことがわかった。患者側の SNP に関しては、有意な影響はみられなかった。機能解析では、*A* アリル mRNA 転写量亢進がみられた。

## (4) 考察

*CD53*、*NLRP3\_1*、*PTPN22*、*THBD* 各 SNP が臨床的に有意とわかった。複数 SNP 情報をもとにドナー選択や移植後合併症予防・治療を実施すれば、同種造血幹細胞移植成績は大幅に向上すると期待される。

機能解析より、*THBD*、*CD53*、*NLRP3* 各遺伝子多型が機能性多型とわかった。移植合併症予防・治療にとどまらず、TNF $\alpha$  が関与する疾患、特に関節リウマチ、強直性脊椎炎、クローン病、乾癬、汗腺膿瘍、難治性喘息など自己免疫疾患の診断・治療・予後予測にも役立つかもしれない。

以上から、複数の SNP 解析結果をもとに、最適ドナー選択や移植後転帰を予測し適切に対応する個別移植医療の実現に役立つ可能性が示唆された。

## 引用文献

1. [Takami A](#), et al. A single-nucleotide polymorphism of the Fc $\gamma$  receptor type IIIA gene in the recipient predicts transplant outcomes after HLA fully matched unrelated BMT for myeloid malignancies. *Bone Marrow Transplant.* 2011;46(2):238-43.
2. Espinoza JL, [Takami A](#), et al. A single nucleotide polymorphism of IL-17 gene in the recipient is associated with acute GVHD after HLA-matched unrelated BMT. *Bone Marrow Transplant.* 2011;46(11):1455-63.
3. Espinoza JL, [Takami A](#), et al. Genetic variants of human granzyme B predict transplant outcomes after HLA matched unrelated bone marrow transplantation for myeloid malignancies. *PLoS One.* 2011;6(8):e23827.
4. Espinoza JL, [Takami A](#), et al. A genetic variant in the IL-17 promoter is functionally associated with acute graft-versus-host disease after unrelated bone marrow transplantation. *PLoS One.* 2011;6(10):e26229.
5. Espinoza JL, [Takami A](#), et al. NKG2D gene polymorphism has a significant impact on transplant outcomes after HLA-fully-matched unrelated bone marrow transplantation for standard risk hematologic malignancies. *Haematologica.* 2009;94(10):1427-34.

## 5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計 27 件)

1. Sugimori N, [Takami A](#), et al. Paraptosis cell death induction by the thiamine analog benfotiamine in leukemia cells. *PLoS One.* 2015;10(4):e0120709. 査

読あり

2. Umeda K, Takami A, et al. Comparison of continuous and twice-daily infusions of cyclosporine A for graft-versus-host-disease prophylaxis in pediatric hematopoietic stem cell transplantation. *Pediatric blood & cancer*. 2014 Oct 12. 査読あり
3. Takami A, et al. Donor lymphocyte infusion for the treatment of relapsed acute myeloid leukemia after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a retrospective analysis by the Adult Acute Myeloid Leukemia Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2014 Nov;20(11):1785-90. 査読あり
4. Mochizuki K, Takami A, et al. Adenovirus pneumonia presenting with nodular shadows on chest X-ray in two unrelated allogeneic bone marrow transplant recipients. *Intern Med*. 2014;53(5):499-503. 査読あり
5. Kanda J, Takami A, et al. Decision analysis for donor selection in stem cell transplantation-HLA-8/8 allele-matched unrelated donor vs HLA-1 AG mismatched related donor. *Blood cancer journal*. 2014;4:e263. 査読あり
6. Hosokawa K, Takami A, et al. Successful hyperbaric oxygen therapy for refractory BK virus-associated hemorrhagic cystitis after cord blood transplantation. *Transpl Infect Dis*. 2014 Oct;16(5):843-6. 査読あり
7. Hosokawa K, Takami A, et al. Relative incidences and outcomes of *Clostridium difficile* infection following transplantation of unrelated cord blood,

- unrelated bone marrow, and related peripheral blood in adult patients: a single institute study. *Transpl Infect Dis*. 2014 Jun;16(3):412-20. 査読あり
8. Hosokawa K, Takami A, et al. Increased glycosylphosphatidylinositol-anchored protein-deficient granulocytes define a benign subset of bone marrow failures in patients with trisomy 8. *European journal of haematology*. 2014 Nov 18. 査読あり
  9. Zaimoku Y, Takami A, et al. IgM anti-recipient ABO antibodies predict acute graft-versus-host disease following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Int J Hematol*. 2013 Jul;98(1):96-101. 査読あり
  10. Yokoyama H, Takami A, et al. Influence Of Donor Source On Relapse and Survival In Patients With Acute Myeloid Leukemia After Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation: A Retrospective Analysis From The Japan Society For Hematopoietic Cell Transplantation (JSHCT) AML Working Group. *Blood*. 2013 November 15, 2013;122(21):3361. 査読あり
  11. Takami A. The role of non-HLA gene polymorphisms in graft-versus-host disease. *Int J Hematol*. 2013 Sep;98(3):309-18. 査読あり
  12. Takami A. Guest editorial: new basic and clinical aspects of graft-versus-host disease: what can we do without "Doc" Brown's help? *Int J Hematol*. 2013 Sep;98(3):273-4. 査読あり
  13. Seiki Y, Takami A, et al. Increased plasma thrombopoietin levels in patients with myelodysplastic syndrome: a reliable marker for a benign subset of bone marrow failure. *Haematologica*. 2013

Jun;98(6):901-7. 査読あり

14. Quoc Trung L, [Takami A](#), et al. Resveratrol induces cell cycle arrest and apoptosis in malignant NK cells via JAK2/STAT3 pathway inhibition. *PLoS One*. 2013;8(1):e55183. 査読あり

15. Nakata K, [Takami A](#), et al. The recipient CXCL10 + 1642C>G variation predicts survival outcomes after HLA fully matched unrelated bone marrow transplantation. *Clin Immunol*. 2013 Feb;146(2):104-11. 査読あり

16. Nakamae H, [Takami A](#), et al. Gvhd Prophylaxis With Mycophenolate Mofetil and Calcineurin Inhibitor In Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation From HLA-Matched Siblings Or 7-8/8 HLA-Matched Unrelated Volunteer Donors: A Japanese, Multicenter, Phase II Trial. *Blood*. 2013 November 15, 2013;122(21):4586. 査読あり

17. Luis Espinoza J, [Takami A](#), et al. Ataxia-telangiectasia mutated kinase-mediated upregulation of NKG2D ligands on leukemia cells by resveratrol results in enhanced natural killer cell susceptibility. *Cancer Sci*. 2013 Jun;104(6):657-62. 査読あり

18. [Takami A](#), et al. Late response to low-dose imatinib in patients with chronic phase chronic myeloid leukemia. *Int J Hematol*. 2012 Sep;96(3):357-63. 査読あり

19. Ishiyama K, [Takami A](#), et al. Prognostic factors for acute myeloid leukemia patients with t(6;9)(p23;q34) who underwent an allogeneic hematopoietic stem cell transplant. *Leukemia*. 2012 Jun;26(6):1416-9. 査読あり

20. Ishiyama K, [Takami A](#), et al. Allogeneic hematopoietic stem cell

transplantation for acute myeloid leukemia with t(6;9)(p23;q34) dramatically improves the patient prognosis: a matched-pair analysis. *Leukemia*. 2012 Mar;26(3):461-4. 査読あり

21. Ishiyama K, [Takami A](#), et al. Intensive chemotherapy for a relapsed ALL patient who received living-donor lobar lung transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2012 Jan;47(1):135-6. 査読あり

22. Ishiyama K, [Takami A](#), et al. Safety of pre-engraftment prophylactic foscarnet administration after allogeneic stem cell transplantation. *Transpl Infect Dis*. 2012 Feb;14(1):33-9. 査読あり

23. Hosokawa K, [Takami A](#), et al. Pulmonary veno-occlusive disease following reduced-intensity allogeneic bone marrow transplantation for acute myeloid leukemia. *Intern Med*. 2012;51(2):195-8. 査読あり

24. Hosokawa K, [Takami A](#), et al. Successful treatment of Trichosporon fungemia in a patient with refractory acute myeloid leukemia using voriconazole combined with liposomal amphotericin B. *Transpl Infect Dis*. 2012 Apr;14(2):184-7. 査読あり

25. Hatanaka K, [Takami A](#), et al. Low incidences of acute and chronic graft-versus-host disease after unrelated bone marrow transplantation with low-dose anti-T lymphocyte globulin. *Int J Hematol*. 2012 Dec;96(6):773-80. 査読あり

26. Espinoza JL, [Takami A](#), et al. Human microRNA-1245 down-regulates the NKG2D receptor in natural killer cells and impairs NKG2D-mediated functions. *Haematologica*. 2012 Sep;97(9):1295-303.

査読あり

27. Espinoza JL, Takami A, et al. Resveratrol prevents EBV transformation and inhibits the outgrowth of EBV-immortalized human B cells. PLoS One. 2012;7(12):e51306. 査読あり

〔学会発表〕(計 13 件)

1. Takagi S, Takami A, et al. Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Patients with Acute Myeloid Leukemia Transformed from Ph-Negative Myeloproliferative Neoplasm: A Study from the Adult AML Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation (JSHCT). ASH Annual Meeting. 2014 年 12 月 5-8 日サンフランシスコ (米国)

2. Nomoto H, Takami A, et al. Thrombomodulin Has a Significant Impact on Transplant Outcomes after HLA-Fully-Matched Unrelated Bone Marrow Transplantation for Standard Risk Hematologic Malignancies. ASH Annual Meeting. 2014 年 12 月 5-8 日サンフランシスコ (米国)

3. Mizutani M, Takami A, et al. Comparable Leukemia-Free Survival after Autologous Hematopoietic Cell Transplantation Versus HLA-Identical Sibling Hematopoietic Cell Transplantation for Adult Acute Myeloid Leukemia in First Complete Remission: A Registry Study By the Adult AML Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. ASH Annual Meeting. 2014 年 12 月 5-8 日サンフランシスコ (米国)

4. Espinoza LJ, Takami A, et al. A Genetic Variant in the CD53 Gene Is

Associated with Clinical Outcomes after Unrelated Bone Marrow Transplantation. ASH Annual Meeting. 2014 年 12 月 5-8 日サンフランシスコ (米国) (1)

5. Espinoza LJ, Takami A, et al. The Effects of the Repeated Administration of Resveratrol Monomer and Resveratrol Dimer on Circulating Immune Cells in Healthy Individuals. ASH Annual Meeting. 2014 年 12 月 5-8 日サンフランシスコ (米国) (2)

6. Aoki J, Takami A, et al. Impact of Low-Dose TBI on Outcome of Reduced Intensity Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation from HLA Identical Sibling for Acute Myeloid Leukemia. ASH Annual Meeting. 2014 年 12 月 5-8 日サンフランシスコ (米国)

他 7 件

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕  
出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕  
ホームページ等 なし

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

高見 昭良 (TAKAMI AKIYOSHI)

愛知医科大学・医学部・教授

研究者番号 : 80324078