

再生不良性貧血患者にみられるHLA欠失造血幹/前駆細胞は分化段階と免疫学的な攻撃に対する感受性においてGPIアンカー型蛋白を欠失している細胞とは異なる

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2023-01-17 キーワード: 作成者: 鎧高, 健志, Yoroidaka, Takeshi メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.24517/00068795

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.



【総説】

第20回 高安賞優秀論文賞受賞

論文 「Hematopoietic stem progenitor cells lacking HLA differ from those lacking GPI-anchored proteins in the hierarchical stage and sensitivity to immune attack in patients with acquired aplastic anemia」
Leukemia. 2021 Nov; 35(11): 3257-3267. 2021年11月掲載
Takeshi Yoroidaka, Kohei Hosokawa, Tatsuya Imi,
Hiroki Mizumaki, Takamasa Katagiri, Ken Ishiyama,
Hirohito Yamazaki, Fumihito Azuma, Yasuhito Nanya,
Seishi Ogawa, and Shinji Nakao

「再生不良性貧血患者にみられるHLA欠失造血幹/前駆細胞は分化段階と免疫学的な攻撃に対する感受性においてGPIアンカー型蛋白を欠失している細胞とは異なる」

鎧高 健志 (よろいだけ たけし)

背 景

再生不良性貧血(AA)は、末梢血でのすべての血球の減少と骨髄の細胞密度の低下を特徴とする症候群である。後天性のAA患者の多くが免疫抑制療法により血球回復がみられることから、AAの発症には造血幹細胞に対する免疫学的な攻撃が関与していると考えられている。AA患者では、発作性夜間血色素尿症でみられるようなGPIアンカー型蛋白質(GPI-AP)が欠損した(GPI[-])血球が約50%に、6番短腕のuniparental disomy (6pUPD) やHLA-AまたはBアレルの機能欠失型変異によって特定のHLAクラスIアレルを欠失した (HLA[-])血球が約30%の例に検出される^{1),2)}。造血幹細胞がHLAクラスIアレルを欠失するのは、細胞傷害性T細胞 (CTL) からの免疫学的な攻撃を免れるためである³⁾一方で、GPI(-)造血幹細胞がどのような機序で免疫学的な攻撃を免れクローン選択されているのか、両欠失血球の関係性などは不明であった。

著者らはこれまでにGPI(-)血球、HLA(-)血球のそれぞれについて顆粒球、単球、T細胞、B細胞、NK細胞の細胞系列で欠失血球がみられるかを評価し、欠失血球が生じる遺伝子変異が造血幹細胞のどの分化段階で生じているのかを示した^{2),4)}。最近、AAにおいて巨核球系に分化能を有する未分化な造血幹細胞が減少していることが報告され⁵⁾、血小板を加えた形で欠失血球がみられる細胞系列を評価することで、より詳細にそれぞれの遺伝子変異が起こる分化段階を解析することが可能となり、AA発症における各欠失血球の

役割の解明につながると予想した。

そこで我々は、GPI(-)血球とHLA(-)血球の少なくともいずれかを有するAA患者56例を対象として、末梢血の顆粒球、単球、T細胞、B細胞、NK細胞、血小板の各血球系統におけるGPI(-)血球とHLA(-)血球の割合をフローサイトメトリーで評価した。また各クローンへの免疫学的な選択圧の影響を調べるために免疫抑制療法の有無による各血球割合の経時的な変化を解析した。

結果と考察

GPI(-)血球とHLA(-)血球の少なくともいずれかを有するAA患者56例のうち、13例が両欠失血球を有していた。GPI(-)血球とHLA(-)血球が検出される血球系統を比較したところ、HLA(-)血球は13例中10例ですべての系統に検出されたのに対して、GPI(-)血球は、すべての系統で検出された例は13例中3例のみであった(図1)。56例のうち、HLA(-)血球のみを有する例は9例であった。89% (8/9例)ですべての細胞系列で欠失血球が検出された。GPI(-)血球のみを有する例は34例であった。67% (23/34例)ですべての細胞系列で欠失血球が検出された(図2)。両欠失血球を有する症例で欠失している顆粒球の割合を比較すると、HLA(-)血球の割合 (0.04%-98.1%, 中央値 21.2%)がGPI(-)血球の割合 (0.006%-37.7%, 中央値 0.28%)に比べて有意に高かった。HLA(-)血球のみを有する9例とGPI(-)血球のみを有する34例を対象として、顆粒球における欠失血球の割合を比較すると、同様にHLA(-)血球の割合 (0.04%-99.99%,

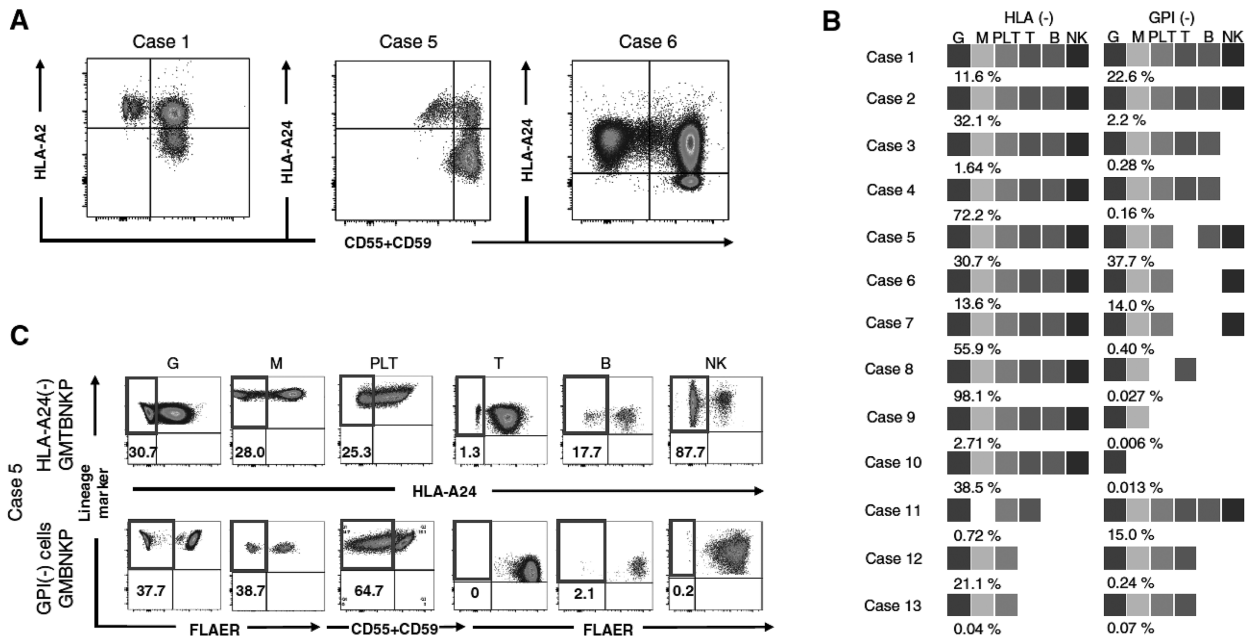


図1. HLA(-) 血球と GPI(-) 血球を有する AA 症例の細胞系列の多様性. (A) HLA(-) 血球と GPI(-) 血球は排他的に存在している. (B) 各症例の欠失血球のある細胞系列. (C) 症例 5 のフローサイトメトリーの結果. *Leukemia*. 2021; 35(11): 3257-3267 より引用.

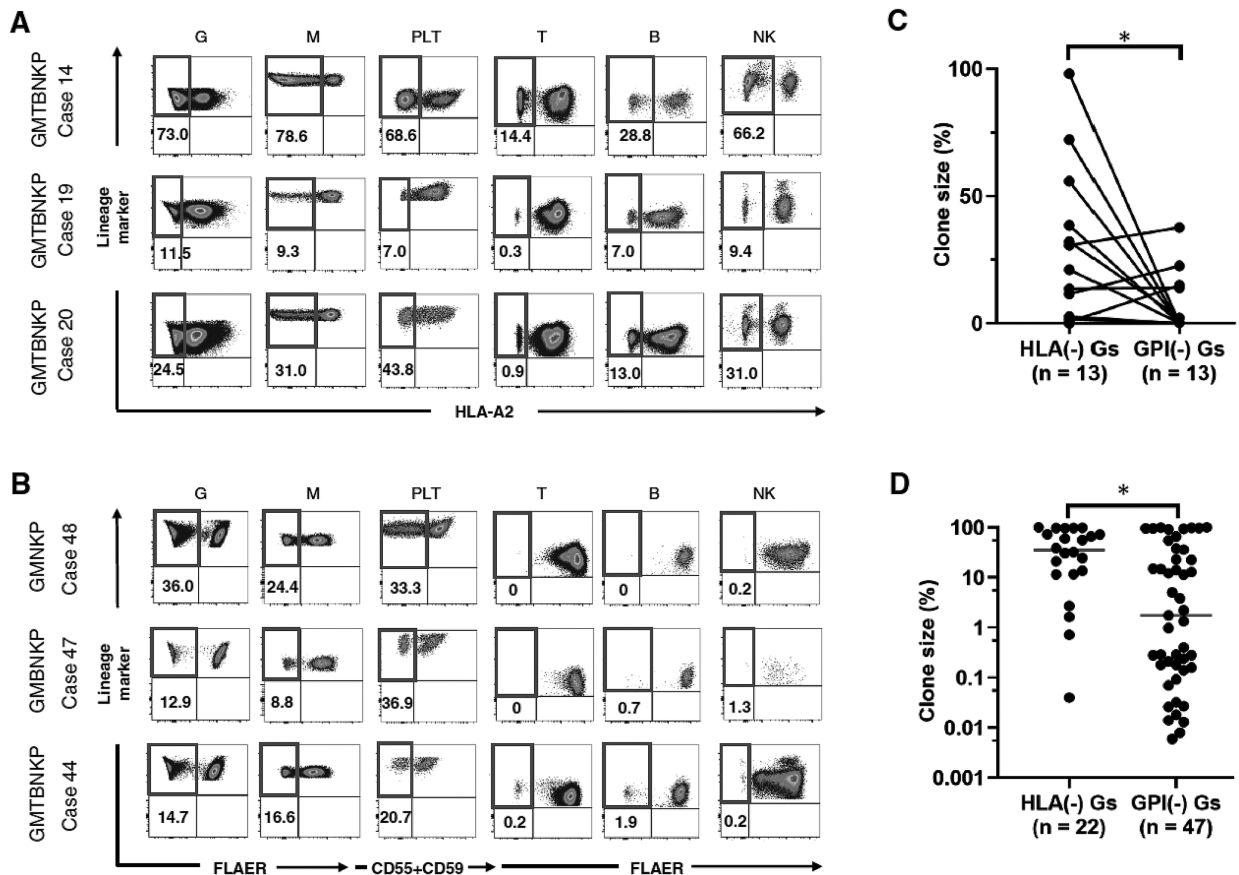


図2. HLA(-) 血球または GPI(-) 血球を有する AA 症例の細胞系列の多様性. (A) 代表的な 3 症例の各細胞系列ごとの HLA(-) 血球. (B) 代表的な 3 症例の各細胞系列ごとの GPI(-) 血球. (C) HLA(-) 血球と GPI(-) 血球を認める例でのクローンサイズ比較. (D) HLA(-) 血球または GPI(-) 血球のみを有する例でのクローンサイズ比較. *Leukemia*. 2021; 35(11): 3257-3267 より引用.

中央値 35.5%)はGPI(-) 血球の割合 (0.006%-99.96%, 中央値 1.75%) より有意に高かった。以上から、HLA欠失はGPI欠失よりも、より未分化な段階の造血幹細胞で生じ、病態形成において中心的な働きをしていることが示唆された。

両欠失血球を認める7例について、顆粒球全体におけるそれぞれの欠失血球の割合を経時的に評価したところ、シクロスポリン(CsA)を使用している4例ではHLA(-) 血球が経過とともに減少し、GPI(-) 血球が増加する傾向が見られた。他方、造血回復後にCsAを中止した2例とCsA投与なしで血球が回復した1例ではHLA(-) 血球の割合は徐々に増加したが、GPI(-) 血球の割合は減少するか、または不変であった(図3)。免疫抑制薬が使用されている例ではHLA(-) 血球が減少し、免疫抑制薬が中止された例ではHLA(-) 血球が増加する傾向がみられたことから、HLA(-) 造血幹細胞に対

してCTLによる免疫学的な抑制圧がかかっており、CsA中止後の寛解状態においても、subclinicalな造血幹細胞への攻撃が持続していることが考えられた。一方で、GPI(-) 血球の割合は、免疫抑制薬の有無に関わらず、変わらないか減少傾向を示すことから、CTLによる造血幹細胞抑制とは別の機序がGPI(-) 造血幹細胞の生存優位性に関与していることが示唆された。

各欠失血球のクローン拡大に増殖優位性を付与するドライバー変異が関与していないかを調べるために、両欠失血球を有する例のうち3例で、GPI(-) 顆粒球、HLA(-) 顆粒球、野生型顆粒球を単離した後、それぞれの分画でターゲットシーケンシングを行い、体細胞遺伝子変異の有無を検索した。1例のHLA(-) 顆粒球に、フレームシフトを起こすRUNX1の変異を認めたが、それ以外に、GPI(-) 顆粒球やHLA(-) 顆粒球にドライバー変異は検出されなかった。

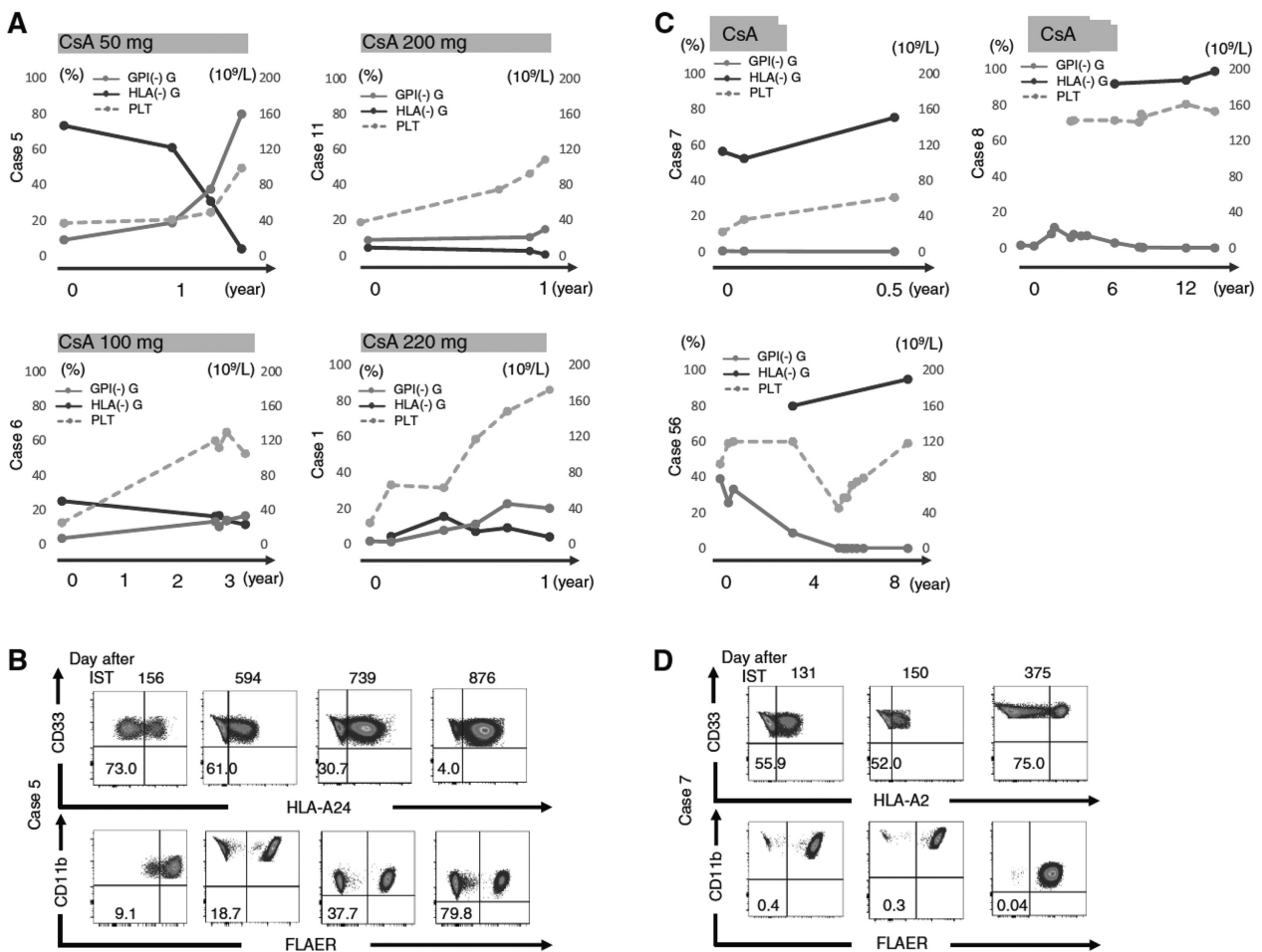


図3.免疫抑制療法中のAA患者のHLA(-) 顆粒球とGPI(-) 顆粒球の経時的な変化。(A)免疫抑制療法を継続している4例の経時的な変化。(B)症例5におけるフローサイトメトリーの結果。(C)免疫抑制療法が中断またはされていない3例の経時的な変化(D)症例7におけるフローサイトメトリーの結果。Leukemia. 2021; 35(11): 3257-3267 より引用。

結 論

本研究では、HLA(-)血球とGPI(-)血球の両者を有するAA症例において、欠失血球が存在する細胞系列の評価が血小板を含めて初めて行われた。その結果、HLA欠失はGPI-AP欠失をきたす造血幹細胞よりも、より未分化な造血幹細胞で生じていることが示唆された。また、GPI(-)血球を産生するPIGA変異幹細胞が、変異を起こす造血幹細胞の分化段階と、免疫学的な攻撃に対する感受性において、HLA(-)血球を生じるHLA(-)造血幹細胞とは異なることが明らかになった。

謝 辞

これまでご指導いただきました、金沢大学医薬保健研究域医学系血液内科学名誉教授、現石川県赤十字血液センター所長中尾眞二先生、多くの先生方に深謝いたします。

文 献

1) Yoshizato T, Young NS, Ogawa S, et al. Somatic Mutations and Clonal Hematopoiesis in Aplastic Anemia. *N Engl J Med* 373(1): 35-47, 2015

2) Maruyama H, Takamasa K, Nakao S, et al. Clinical significance and origin of leukocytes that lack HLA-A allele expression in patients with acquired aplastic anemia. *Exp Hematol* 44(10): 931-939, 2016

3) Elbadry MI, Hiroki Mizumaki, Nakao S, et al. Escape hematopoiesis by HLA-B5401-lacking hematopoietic stem progenitor cells in men with acquired aplastic anemia. *Haematologica* 104(10): 447-450, 2019

4) Katagiri T, Kawamoto H, Nakao S, et al. Individual hematopoietic stem cells in human bone marrow of patients with aplastic anemia or myelodysplastic syndrome stably give rise to limited cell lineages. *Stem Cells* 31(3): 536-546, 2013

5) Notta F, Zandi S, Dick JE, et al. Distinct routes of lineage development reshape the human blood hierarchy across ontogeny. *Science* 351(6269): aab2116, 2016



Profile

2012年 金沢大学医学部卒業
 2021年 金沢大学大学院医薬保健学総合研究科(博士課程)修了
 2022年 石川県立中央病院血液内科
 専門分野: 血液内科学