

[課程-2]

審査の結果の要旨

氏名 中内 祐介

本研究は、ヒト白血球抗原 (human leukocyte antigen; HLA) ミスマッチ同種造血幹細胞移植 (alloreactive hematopoietic stem cell transplantation; allo-HSCT) における重大な合併症である移植片対宿主病 (graft-versus-host disease; GVHD) に対して、アレル特異的抗HLAモノクローナル抗体 (allele-specific anti-HLA monoclonal antibody; ASHmAb) の持つ細胞障害作用に注目し、GVHD治療モデルの開発を目標としたものであり、以下の結果を得ている。

1. すでに確立された手法を用いて、HLA-A2あるいはHLA-A24に対するASHmAbを産生する複数のハイブリドーマを作製した。これらのハイブリドーマが産生する抗体のうち、*in vitro*で補体依存的にHLA-A*02:01、-A*02:01/-A*03:01、あるいは-A*23:01/-A*24:02を認識し、細胞を傷害する抗体の樹立に成功した。以後、HLA-A*02:01のみを認識する細胞障害 (killing) 抗体をA*02:01-kASHmAbとする。
2. *In vivo*におけるA*02:01-kASHmAbの細胞障害作用を解析するため、放射線照射した免疫不全マウスに、臍帯血由来のHLA-A2陽性あるいは陰性のCD34陽性細胞を移植し、ヒト・マウス骨髄キメラマウスを作製した。移植後、ヒト血液細胞の生着を確認したところでA*02:01-kASHmAbを投与した結果、*in vivo*においてもアレル特異的にHLA-A2陽性細胞のみを障害することが判明した。
3. A*02:01-kASHmAbの細胞障害作用とその特異性について、異種GVHDモデルマウスを用いて検討した。非放射線照射の免疫不全マウスにHLA-A2陽性あるいはHLA-A26陽性の健常人PBMCを移植し、致死性GVHDを引き起こすマウスモデルを作製した (それぞれHLA-A2マウスとHLA-A26マウス)。このマウスにA*02:01-kASHmAbを投与したところ、アレル特異的にHLA-A2陽性細胞のみを障害し、HLA-A26マウスと比較し、HLA-A2マウスの生存率を有意に改善した ($p < 0.0001$)。
4. 放射線照射した免疫不全マウスに、臍帯血由来HLA-A2およびCD34陽性細胞を移植し、ヒト・マウス骨髄キメラマウスを作製した上で、kASHmAbによる造血幹・

前駆細胞の傷害について検討した。移植後約3ヶ月が経過した時点でA*02:01-kASHmAbを投与したところ、末梢血中のヒト血液細胞は一旦大幅に減少したが、数週間すると再びその割合が増加してくることが判明した。さらに抗体投与後約3ヶ月が経過した時点でのマウス骨髄において、造血幹・前駆細胞と考えられるCD34陽性/CD38陰性のヒト血液細胞の存在を確認した。懸念される造血幹・前駆細胞の傷害による拒絶・生着不全は、kASHmAbの投与量を調整することで回避できると考えられた。

以上、本研究は、既知の分子であるにもかかわらず、今まで治療対象とされずにいたHLAを標的としたkASHmAbを樹立し、GVHD治療モデルの開発に成功した。これらの成果は、全ての細胞を傷害する可能性がある現行の治療薬とは違い、GVHDの原因とされるドナー由来の細胞のみを選択的に傷害することでGVHDを治療する画期的な作用機序によるものである。未だ不明な点が多いGVHDの病態解明に一石を投じるだけでなく、難治性GVHDに苦しむ患者への治療薬として重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。