

氏名	赤星佑
学位の種類	博士（医学）
学位記番号	甲第 621 号
学位授与年月日	令和 3 年 3 月 15 日
学位授与の要件	自治医科大学学位規定第 4 条第 2 項該当
学位論文名	同種造血幹細胞移植後における Mac-2 binding protein glycan isomer (M2BPGi) の移植片対宿主病 (GVHD) バイオマーカーとしての有用性
論文審査委員	(委員長) 古川 雄 祐 教授 (委員) 大森 司 教授 大嶺 謙 准教授

## 論文内容の要旨

### 1 研究目的

同種造血幹細胞後の移植片対宿主病 (GVHD) は致死的な合併症であり、侵襲性が少なく、客観的に GVHD の重症度や活動性を評価できるバイオマーカーの確立が期待されている。今回我々は GVHD の進展に大きく寄与するとされるマクロファージに関連した 3 つの候補タンパク質における GVHD バイオマーカーとしての予測能を検証することとした。

### 2 研究方法

自治医科大学附属さいたま医療センターで初回同種造血幹細胞移植を行い、180 日以上無病生存し、血液検体保存に同意をいただいた症例を対象とした。移植後 180 日におけるバイオマーカー候補の各非再発死亡予測能や、検体採取時の臨床症状などの関連を解析した。さらに、剖検症例の蛍光免疫染色を行うことで、候補バイオマーカータンパク質の各臓器における発現の有無を評価した。

### 3 研究成果

Discovery cohort において ROC (Receiver Operating Characteristic) 曲線解析で算出したカットオフを用いた結果、Wisteria Floribunda Agglutinin (WFA)<sup>+</sup>- Mac-2 Binding Protein (M2BP) (WFA<sup>+</sup>-M2BP : M2BPGi) がすべてのコホートで有意に非再発死亡と相関し、慢性 GVHD の重症度や肝臓への臓器浸潤と相関を認めた一方で、肺 GVHD との関連は認めなかった。さらに剖検症例で蛍光免疫染色を行ったところ、WFA<sup>+</sup>-M2BP 陽性マクロファージが、活動性の高い GVHD を有する肝臓でより多く発現していることが明らかとなった。

### 4 考察

これまでの GVHD バイオマーカー研究は、タンパク質や核酸をターゲットとして研究が行われてきた。一方で、タンパク質・核酸に次ぐ第 3 の生命鎖とされる糖鎖は、バイオマーカー研究において魅力的なターゲットであると考えられ、糖鎖解析技術を用いた GVHD バイオマーカー開発は非常に有望なツールである可能性が示唆された。

## 5 結論

同種造血幹細胞後の重要な合併症である慢性 GVHD の治療成績向上を目指すにあたり、マクロファージの活性化とタンパク質表面の糖鎖構造の変化に着目し、将来的な慢性 GVHD のバイオマーカー開発・実用化に寄与する重要な知見を示すことができた。本研究を皮切りに、これまでのタンパク質や核酸をターゲットとしたバイオマーカー開発とは異なる、糖鎖をターゲットにした研究が、さらなる慢性 GVHD の治療成績向上につながっていくことを期待する。

### 論文審査の結果の要旨

本研究において申請者らは、同種幹細胞移植後の重篤な合併症である慢性 GVHD の発症と予後を予測するバイオマーカーの確立を目的として後方視的研究を行った。移植後 180 日に採取した血漿中の galectin-3, M2BP, M2BPGi (WFA<sup>+</sup>-M2BP) を測定し、非再発死亡を主要評価項目として統計処理を行った。

その結果、M2BPGi (WFA<sup>+</sup>-M2BP) が移植後 5 年非再発死亡と有意に相関しており、サンプル採取時の肝臓 GVHD および GVHD 重症度と相関するものの、多変量解析によって独立した危険因子であることが示された。臓器病変との関連では、M2BPGi 値は肝臓 GVHD と有意の相関を認めたが、肺 GVHD との相関は有意でなかった。肝 GVHD を発症した症例では、肝臓に WFA<sup>+</sup>-M2BP<sup>+</sup>/CD68<sup>+</sup>マクロファージの浸潤が認められ、肝線維化への関与が推察された。

本研究によって移植後の血中 M2BPGi が肝 GVHD による移植後晩期非再発死亡のバイオマーカーであることが示された。線維芽細胞が産生した M2BP が GVHD を起こした肝臓において糖鎖修飾を受けて M2BPGi となり、galectin-3 に結合してマクロファージを活性化することで肝臓に線維化が誘導されると考えられる。この結果は新規性が高く、かつ臨床的にも高い意義を有するものである。一方、研究の主要エンドポイントが GVHD のマーカーとしての有用性であるのか、非再発死亡の予測としたのかがやや明確でない点は今後の課題と思われた。

研究成果はすでに血液領域の一流雑誌である Blood Advances に採択されている。学位論文も卒業論文として十分な質を有しており、表題および構成面の修正、方法の追記をもって合格とした。

### 最終試験の結果の要旨

申請者はほぼ学位論文のとおりにより発表を行った。発表は明快で、時間も厳守された。内容の骨子は「論文審査の結果」にまとめたとおりである。

審査員からは以下のような質問があったが、申請者は的確に返答し、有意義な discussion が行われた。

1. M2BPGi は GVHD の治療標的となるか？
2. M2BPGi によって刺激されたマクロファージが線維化を誘導するようなサイトカインを産生するか？ それらは血液中に検出されるか？ 免疫染色ではどうか？
3. 糖鎖修飾によって M2BP のマクロファージ表面の galectin-3 への結合親和性が向上するの

か？

4. 肝臓で増加している WFA<sup>+</sup>-M2BP 陽性マクロファージにおいて下流のシグナル伝達は活性化されているか？

発表および質疑応答から、申請者が研究者として十分な資質・能力を有することは明らかで、医学博士号を受けるに値すると審査員全員が判断、最終試験に合格とした。