

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 6 月 30 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09946

研究課題名(和文) 臍帯血移植後の血小板回復遅延に対する、巨核球前駆細胞を介した新規アプローチ

研究課題名(英文) A novel pathway of megakaryopoiesis after cord blood transplantation

研究代表者

栗田 尚樹 (Kurita, Naoki)

筑波大学・医学医療系・講師

研究者番号：30555561

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：臍帯血移植は、HLA適合ドナーを有しない難治性造血器疾患症例に対し治療を提供しうる治療だが、血小板回復遅延は解決すべき課題である。本研究では巨核球前駆細胞を介した新規の血小板分化経路に着目し、同経路の動態の解明と、臍帯血骨髄内移植・臍帯血移植後早期のトロンボポエチン受容体作動薬投与による、同経路の介した血小板造血促進の可能性を検討した。臍帯血骨髄内移植の臨床試験では静脈内投与と比較して血小板回復が早く、マウスモデルでは骨髄内移植により巨核球前駆細胞の骨髄における生着が促進していることが示唆された。臍帯血移植直後のトロンボポエチン受容体作動薬投与の安全性と効果につき、臨床試験により検証中である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本邦の非血縁者間移植の約半数を臍帯血移植が占め、世界で最も臍帯血移植が盛んである。しかし臍帯血移植では、血小板減少期間の遷延により出血性合併症のリスクが高く、頻回の輸血を要することから入院の長期化、医療費の増加に繋がらう。本研究により臍帯血骨髄内移植、臍帯血移植後早期のトロンボポエチン受容体作動薬投与の血小板早期回復に対する効果が示せ、巨核球前駆細胞を介した血小板造血促進の理論的背景を示すことができれば、臍帯血移植の唯一の欠点である移植後の血球回復遅延の問題が克服できる可能性がある。その結果、臍帯血移植成績の向上、臍帯血移植適応の拡大により、移植医療に対して大きく貢献できる。

研究成果の概要(英文)：Cord blood (CB) is a promising alternative source for patients without HLA-matched donors. However, delayed platelet recovery after CB transplantation (CBT) is yet to be solved. We focused on megakaryopoiesis after CBT through megakaryocytic progenitors (MKP), which is novel differentiation pathway. We aimed to clarify the mechanism which intra-bone injection of CB and thrombopoietin receptor agonist (TPO-RA) promotes platelet recovery via MKP pathway. We found that the number of MKP was increased after intra-bone injection of CB using mouse models. TPO, which is indispensable for differentiation of MKP, was expressed on stromal cells in the bone marrow. Analysis of the nation-wide database of hematopoietic stem-cell transplantation revealed that the survival of patients who achieved platelet recovery after CBT was comparable to that after bone marrow transplantation. Based on these findings, we are also conducting a clinical trial of TPO-RA administration in the early phase after CBT.

研究分野：造血幹細胞移植

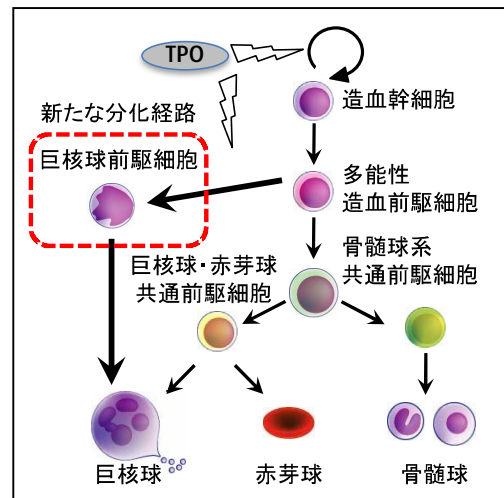
キーワード：巨核球前駆細胞 臍帯血移植 トロンボポエチン

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

同種造血幹細胞移植は、難治性造血器腫瘍に対する強力かつ唯一の根治的な治療である。臍帯血は、HLA 適合ドナーを有しない患者に対する有力な代替幹細胞源であり、ドナーへの負担がないこと、入手が迅速であること、有害な免疫反応が少ないことなどの利点を有する。しかし移植後の血球回復が不十分であり、特に血小板回復が顕著に遅れることが問題である。

申請者のグループは、血小板需要が高まった際に、新たな分化経路を辿って巨核球への分化が生じることをマウスにおいて明らかにした。この分化経路上にある細胞分画が「巨核球前駆細胞」である (Nishikii, Stem Cells 2015)。また巨核球前駆細胞への分化は、トロンボポエチン (TPO) シグナルが重要であること、ヒトにおいても同様の細胞分画が存在することも示された。また申請者は、臍帯血を骨髓内に移植する臨床試験を行い、同法は血小板回復を促進することを示した (Kurita, BMT 2017)。骨髓内移植法が、血小板造血に特化した細胞に対して最適な造血の場を提供していると仮定すれば、血小板回復の促進現象は説明可能である。



### 2. 研究の目的

本研究では、臍帯血移植における巨核球前駆細胞に焦点を絞り、臍帯血骨髓内移植、および臍帯血移植後早期のトロンボポエチン (TPO) 受容体作動薬投与により、巨核球前駆細胞を介した造血を促進することで血小板回復を促進できる可能性につき検討する。

- (1) 臍帯血骨髓内移植法において、血小板造血が促進される機序を解明する
- (2) 巨核球前駆細胞に対する、TPO の作用機序を解明する
- (3) 臍帯血移植後早期に TPO 受容体作動薬を投与することの安全性と効果を評価する
- (4) リアルワールドデータを用いて、臍帯血移植後の血球回復動態を明らかにする

### 3. 研究の方法

(1) 造血幹細胞移植マウスモデルにおける、巨核球前駆細胞の生着効率の検討  
GFP トランスジェニックマウスの骨髓より造血幹細胞および巨核球前駆細胞を採取し、致死量の放射線を照射したマウスに移植した。経尾静脈的に移植したマウスと、骨髓内に移植したマウスにおいて、移植後の造血を定量的に評価した。

(2) マウス骨髓間質における TPO 産生細胞の同定  
間質細胞に相当する細胞集団を造血幹細胞移植マウスモデルから単離し、single cell PCR, single cell RNAseq により TPO 遺伝子発現解析を行った。

(3) 臍帯血移植後早期の TPO 受容体作動薬投与に関する臨床試験  
臍帯血移植後早期から TPO 受容体作動薬 (ロミプロスチム) 投与の安全性と効果の検証を医師主導治験 (第 I 相単施設単群試験) として行った。目標症例数は 6 例。臍帯血移植翌日より血小板回復まで、治験薬を週 1 回投与した。主要評価項目は全ての有害事象の発生とした。

(4) 造血幹細胞移植レジストリデータの解析  
本邦の成人急性白血病症例に対する同種造血幹細胞移植 17756 例を対象とした Multistate model を用いて、血球回復について骨髓移植、末梢血幹細胞移植、臍帯血移植を比較した。更に血球回復の各段階が移植成績に及ぼす影響を、Cox 比例ハザードモデルを用いて解析した。

### 4. 研究成果

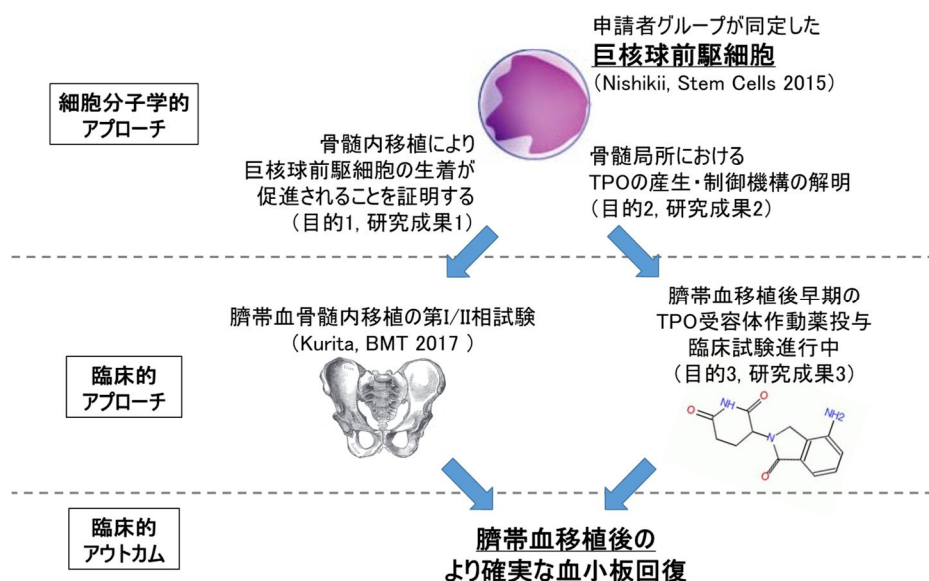
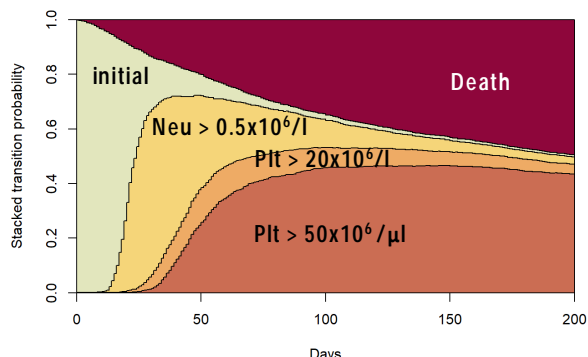
(1) 造血幹細胞移植モデルマウスにおいて、静脈内投与に比較して骨髓内投与において CD34, GPIb $\alpha$  陽性巨核球前駆細胞が有意に増加していることをフローサイトメトリー、組織染色において確認した。ヒト臍帯血を用いて同様の実験を行い、最適条件を検討中である。

(2) 骨髓中の間質細胞のうち ICAM-1 $^{+}$  PECAM1 $^{-}$  間質細胞には、造血幹細胞の維持に必要な SCF, CXCL12 と同時に TPO の発現を認めた。また骨組織をコラゲナーゼ処理して得られた、骨皮質近傍に存在する Sca1 $^{-}$ , PDGFR $\alpha^{+}$  細胞にも TPO が発現していた。これらの細胞は、造血幹細胞のごく近傍において TPO 濃度を制御している可能性を示している。巨核球前駆細胞の分化には

TPO が不可欠であることから，肝臓由来の TPO に加えて，骨髄局所において産生された TPO が重要な役割を果たしている可能性が示唆された．

(3) 医師主導治験「同種臍帯血移植後の血小板回復に対する AMG531 に関する第 Ⅰ 相試験」について，筑波大学附属病院治験審査委員会の承認を得て，2018 年 7 月に独立行政法人医薬品医療機器総合機構に治験届を提出．2019 年 4 月に 1 例目を登録した．2020 年 5 月現在 6 例の登録が完了し，治験は遅滞なく継続している．

(4) 造血幹細胞移植レジストリーデータを用いた解析では，臍帯血移植後の血小板回復は他の幹細胞ソースと比較して著しく遅延した（血小板 5 万/l; HR 0.45, P<0.001; vs. 骨髄移植; 右図）．しかし臍帯血移植における血小板 5 万達成後の生存は，骨髄移植と同等であった（HR 0.98, P=0.6）．これらにより，臍帯血移植において早期に血小板回復を達成することで，臍帯血移植後の生存が改善できる可能性が示唆された．



## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kurita Naoki, Sakamoto Tatsuhiro, Kato Takayasu, Kusakabe Manabu, Yokoyama Yasuhisa, Nishikii Hidekazu, Sakata-Yanagimoto Mamiko, Obara Naoshi, Hasegawa Yuichi, Chiba Shigeru	4. 巻 173
2. 論文標題 The prognosis of disseminated intravascular coagulation associated with hematologic malignancy and its response to recombinant human thrombomodulin	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Thrombosis Research	6. 最初と最後の頁 57-64
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.thromres.2018.11.014	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Hattori Keiichiro, Sakata-Yanagimoto Mamiko, Kusakabe Manabu, Nanmoku Toru, Suehara Yasuhito, Matsuoka Ryota, Noguchi Masayuki, Yokoyama Yasuhisa, Kato Takayasu, Kurita Naoki, Nishikii Hidekazu, Obara Naoshi, Takano Shingo, Ishikawa Eiichi, Matsumura Akira, Muratani Masafumi, Hasegawa Yuichi, Chiba Shigeru	4. 巻 110
2. 論文標題 Genetic evidence implies that primary and relapsed tumors arise from common precursor cells in primary central nervous system lymphoma	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 401-407
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/cas.13848	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Suehara Yasuhito, Sakata-Yanagimoto Mamiko, Hattori Keiichiro, Nanmoku Toru, Itoh Takayoshi, Kaji Daisuke, Yamamoto Go, Abe Yoshiaki, Narita Kentaro, Takeuchi Masami, Matsue Kosei, Sato Taiki, Noguchi Masayuki, Baba Naoko, Sakamoto Tatsuhiro, Kusakabe Manabu, Kurita Naoki, Chiba Shigeru	4. 巻 103
2. 論文標題 Liquid biopsy for the identification of intravascular large B-cell lymphoma	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Haematologica	6. 最初と最後の頁 e241-e244
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3324/haematol.2017.178830	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Sakurako Suma, Naoki Kurita, Naoko Baba, Kantaro Ishitsuka, Shinichiro Sukegawa, Kenichi Makishima, Yusuke Kiyoki, Yumiko Maruyama, Takayasu Kato, Yasuhisa Yokoyama, Mamiko Sakata-Yanagimoto, Naoshi Obara, Yuichi Hasegawa, Shigeru Chiba	4. 巻 60
2. 論文標題 Fatal Exacerbations of Chronic Active Epstein-Barr Virus Infection Subsequent to Cytotoxic Chemotherapy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Rinsho Ketsueki	6. 最初と最後の頁 286-290
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.11406/rinketsu.60.286	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nishikii H, Kurita N, Shinagawa A, Sakamoto T, Kusakabe M, Yokoyama Y, Kato T, Sakata-Yanagimoto M, Obara N, Hasegawa Y, Nakamura N, Chiba S	4. 巻 -
2. 論文標題 Durable Leukemic Remission and Autologous Marrow Recovery with Random Chromosomal Abnormalities after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Chronic Lymphocytic Leukemia	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Case Rep Hematol	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1155/2019/9710790	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hidekazu Nishikii, Naoki Kurita, Shigeru Chiba	4. 巻 6
2. 論文標題 The Road Map for Megakaryopoietic Lineage From Hematopoietic Stem/Progenitor Cells	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Stem Cells Transl Med	6. 最初と最後の頁 1661-1665
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/sctm.16-0490	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Manabu Kusakabe, Naoki Kurita, Hidekazu Nishikii, Rie Sato, Chikashi Yoshida, Yasuhisa Yokoyama, Mamiko Sakata-Yanagimoto, Naoshi Obara, Yuichi Hasegawa, Shigeru Chiba	4. 巻 58
2. 論文標題 Haploidentical Transplantation Using Post-Transplant High-Dose Cyclophosphamide for Adult T-cell Lymphoma After Mogamulizumab Treatment	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Rinsho Ketsueki	6. 最初と最後の頁 449-454
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11406/rinketsu.58.449	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 N Kurita, M Gosho, Y Yokoyama, T Kato, N Obara, M Sakata-Yanagimoto, Y Hasegawa, N Uchida, S Takahashi, Y Kouzai, Y Atsuta, M Kurata, T Ichinohe, S Chiba	4. 巻 52
2. 論文標題 A Phase I/II Trial of Intrabone Marrow Cord Blood Transplantation and Comparison of the Hematological Recovery With the Japanese Nationwide Database	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Bone Marrow Transplant	6. 最初と最後の頁 574-579
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/bmt.2016.319	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 栗田尚樹, 千葉滋
2. 発表標題 A retrospective analysis of once-daily administration of intravenous busulfan in allo-HSCT
3. 学会等名 第80回日本血液学会学術集会（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Naoki Kurita, Yasuhisa Yokoyama, Takayasu Kato, Hidekazu Nishikii, Mamiko Sakata-Yanagimoto, Naoshi Obara, Yuichi Hasegawa, and Shigeru Chiba
2. 発表標題 Allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation from haploidentical donor with post-transplant cyclophosphamide was related to less inpatient cost compared to cord blood transplantation
3. 学会等名 22nd Congress of European Hematology Association（国際学会）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Naoki Kurita, Yasuhisa Yokoyama, Takayasu Kato, Hidekazu Nishikii, Mamiko Sakata-Yanagimoto, Naoshi Obara, Yuichi Hasegawa, and Shigeru Chiba
2. 発表標題 Analysis of the cost and the length of hospitalization after allogeneic HSCT
3. 学会等名 第79回日本血液学会学術集会（国際学会）
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織		
氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考