

京都大学	博士（医学）	氏名	三上 貴司
論文題目	Alteration of the immune environment in bone marrow from children with recurrent B cell precursor acute lymphoblastic leukemia (小児前駆B細胞性急性リンパ性白血病における再発時の骨髄免疫環境の変化)		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p><b>【背景】</b>  小児の前駆 B 細胞性急性リンパ性白血病(B cell precursor acute lymphoblastic leukemia; BCP-ALL)の再発例の予後は不良である。近年様々な免疫療法が本疾患に承認され、再発や治療効果の予測の基盤となる患者の骨髄免疫環境の解明が必要である。</p> <p><b>【対象と方法】</b>  2006年から2013年に京都大学医学部附属病院で治療したBCP-ALLの小児患者9名について、初発時と再発時の凍結保存骨髄検体でマスサイトメトリー解析とRNAシーケンシングを行った。フローサイトメトリーによる結果の確認には、京都大学医学部附属病院と東京大学小児科、埼玉県立小児医療センターの別患者7名の検体を使用した。RNAデータの処理は東京大学医科学研究所ヒトゲノム解析センターのスーパーコンピューターを利用した。本研究は京都大学医学部附属病院の倫理委員会の承認を受けている(承認番号：G-1030)。</p> <p><b>【結果】</b>  骨髄検体は初発再発ともに殆どが腫瘍細胞で占められていたが(平均腫瘍比率；初発94.0%、再発92.2%)、マスサイトメトリーでは少量含まれている免疫細胞の分画を明瞭に捉えられた。主な免疫細胞の分画(CD4 T細胞、CD8 T細胞、double negative T細胞、NK細胞、単球、B細胞については初発時と再発時で有意な比率差は認めなかった。続いてT細胞に注目した解析を施行した。T細胞をクラスタリングしたところ、CD4 T細胞(制御性T細胞;Tregを除く)、Treg、CD8 T細胞それぞれでNaïveとEffectorの各分画に分類され、全体として再発時にNaïveからEffector分画へのシフトがみられた。Effector T細胞の各分画で再発時に発現が変動しているマーカーを抽出すると、CXCR3とHLA-DRの発現上昇が特徴的であった。Tregの解析では、CD3+CD4+CD25+CD127-CD45RA-FOXP3<sup>high</sup>で定義されるEffector Tregに着目した。CD4 T細胞中のEffector Tregの占める割合はそれほど高くはなかったものの、再発時にはEffector Treg分画の有意な増加やTregに關与するマーカー(PD-1, CTLA-4, CCR4)の発現上昇が認められた。再発時のT細胞のCXCR3の発現上昇とEffector Tregの増加については、別患者7名で施行したフローサイトメトリーによる測定でも同様の傾向が確認された。また、RNAシーケンシングで得られた発現データをGene set enrichment analysis(MSigDB gene ontology gene sets)を用いて比較すると、再発時の検体では免疫に關与する様々な遺伝子セットが高発現していた。</p> <p><b>【結語】</b>  本研究によりBCP-ALLの初発時と再発時では免疫環境に変化がみられることが明らかとなった。T細胞上のCXCR3の発現上昇はTh1型の細胞性免疫反応に關連していることが知られているが、再発時のこうした変化やEffector Tregの増加、免疫關連の遺伝子セットの発現上昇がBCP-ALLの再発にどのように關わっているは今後の検討が必要である。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

小児の前駆B細胞性急性リンパ性白血病(BCP-ALL)の再発予後は不良であり、免疫療法の治療効果の予測の基盤となる骨髄免疫環境の解明が必要である。

本研究では主にBCP-ALLの小児患者9名について、初発と再発時の骨髄検体でマスサイトメトリー解析とRNA解析を行い、免疫環境を比較した。マスサイトメトリーによる解析では主要な免疫細胞の構成比率は有意差がなかったものの、T細胞に着目すると、初発時と比較して再発時にEffector分画が増加し、CXCR3とHLA-DRの発現が有意に上昇しており、ヘルパー1(Th1)型の免疫応答が高まっていると考えられた。制御性T細胞(Treg)の解析では、再発時にはEffector Treg分画の有意な増加や關連マーカー(PD-1, CTLA-4, CCR4)の上昇が認められた。また、RNAデータをGene set enrichment analysisを用いて比較すると、再発時の検体では免疫に關連した遺伝子セットが高発現しており、マスサイトメトリーの結果と合わせて再発時の白血病細胞と免疫細胞の密接な相互作用が示唆された。

以上の研究は小児BCP-ALLの腫瘍免疫環境の解明に貢献し、今後の同疾患に対する免疫療法における治療効果予測や、最適患者の選択に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、令和4年3月14日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降