

論文の内容の要旨

論文題目「Increased Granulopoiesis in the Bone Marrow following Epstein-Barr
Virus Infection」

(エプスタイン・バールウイルス感染後の骨髄における顆粒球形成の増加)

学位申請者 片平 泰弘

キーワード：EBV LPD 骨髄 顆粒球 GM-CSF

背景

Epstein Barrウイルス(EBV)はヒトと一部の霊長類に感染するヘルペスウイルスの一種で、90%以上の健常成人に潜伏感染している事が知られている。多くの感染者では生涯にわたり潜伏感染が維持されるが、まれに宿主免疫機能の減弱などの原因で感染細胞が異常に増殖するEBV関連リンパ増殖性疾患(EBV-LPD)へと進展する。EBV-LPDは種々の血液腫瘍へと移行する致死的な疾患で、EBV陽性の血液腫瘍は陰性のものとは比べ予後不良因子となる。重篤な血液腫瘍の治療には造血幹細胞移植が行われるが、EBV陽性の患者では移植時の免疫抑制剤投与を起因とする移植後LPDを発症する危険性をはらんでおり、より安全な新規治療法の開発が望まれている。さらにEBV関連腫瘍は日本を含む東アジアで好発しており、日本において詳細な研究が急務と考えられる。

種々のウイルス感染は、宿主の免疫を抑制することが知られており、近年、様々な腫瘍において、本来抗腫瘍を担うはずの免疫担当細胞の一部がリンパ球の活性化抑制や、血管新生を誘導するなど、腫瘍の生存や悪性化をむしろ支持する事がわかってきた。EBV-LPDにおいてもその増悪に免疫細胞の関与が予想されているが、その詳細は不明である。

これまで、EBV-LPDを発症させた造血系ヒト化マウスの解析から、脾臓でEBV陽性腫瘍が発生し、ヒト由来マクロファージが病変部へ浸潤する事、および浸潤したマクロファージが腫瘍の増悪に必須である事がわかっている。この事からEBV感染が腫瘍の生存を正に制御するために造血系へ影響を与えている事が予想されるが、その詳細は不明である。

目的

そこで本研究では、EBVが感染する事で造血系にどのような変化が起きているのか解析し、それがどのように腫瘍の増悪に関与するのかを明らかにする事を目的とした。

方法

NOD/Shi-*scid*/IL2r γ^{null} (NOG) マウスは異種組織の生着率が高く、ヒト臍帯血の移植により造血系のヒト化が可能である。EBVが感染可能なヒト白血球を構築した造血系ヒト化マウスにEBVを感染させて、LPDを発症したマウスから造血の場である骨髄を採材する。フローサイトメトリ解析により免疫細胞を解析し、未感染マウスと比較する。骨髄以外に末梢血およびリンパ組織である脾臓を解析対象とした。

結果と考察

フローサイトメトリー解析を行った結果、EBV感染マウスの末梢血で単球が増加していた。脾臓で腫瘍養育性のマクロファージが増加していた過去の知見を鑑みると、この単球がマクロファージの分化元である可能性が考えられる。EBV感染マウスでは単球が増加していたことから、すでに造血の場で変化が起きている可能性が示唆された。そこでEBV感染マウスの骨髄を解析したところ、未感染マウスに比べてヒトCD66b抗原陽性の顆粒球細胞が劇的に増加していた。顆粒球の増加はEBV-LPD発症の有無にかかわらず、EBVに感染したマウスの骨髄で検出された。一般的に造血系ヒト化マウスではリンパ球系の細胞が効率よく構築されるが、顆粒球などの骨髄系細胞は比較的構築されにくい事が知られている。EBVの感染によって骨髄で造血に変化が起きる事が示された。興味深い事に、感染マウス骨髄の解析を進めると増加した顆粒球中の成熟細胞は未感染マウスよりも有意に少なく、本来末梢血へ放出され自然免疫に機能するはずの顆粒球はほぼ骨髄にとどまっている事がわかった。この増加した顆粒球の本質を調べる一環で、増加顆粒球が骨髄由来免疫抑制細胞(MDSC)である可能性を考え検証したところ、その特徴は検出されなかった。さらに、顆粒球の分化経路を解析するために、骨髄系免疫細胞の前駆細胞群をフローサイトメトリーによって解析したところ、EBV感染マウス骨髄内では顆粒球の前駆細胞であるGMP細胞集団が激減していた。LPD発症マウス骨髄だけでなく、未発症マウス骨髄でも同様の結果が得られたことから、モデルマウス感染初期のGMAP減少後も顆粒球の供給は続いていると考えられる。このことから、増加した顆粒球はGMP以外の細胞から供給されている可能性が示された。

顆粒球の分化にはいくつかのサイトカインの存在が必須である。顆粒球の分化に影響を与えるサイトカインの一つである、GM-CSFをELISA解析によってEBV感染マウスと未感染マウス間で比較したところ、LPDの発症に関わらず、EBV感染マウスで劇的に増加している事がわかった。未感染マウスは検出限界値以下であった。この結果から、GM-CSFの発現を抑制する事でLPDの発症を防ぐ事ができるのではないかと期待される。

EBV感染マウスで検出された骨髄内の顆粒球増加および末梢でのGM-CSFの増加は、ヒト患者の骨髄および末梢血を用いた解析からも同様の結果が得られた。このことから、モデルマウスを用いた解析が今後の研究に有用である事が示された。

結論

本研究により、EBV感染マウス、ヒトともに、EBVの感染によって血中のGM-CSFが増加する事、および骨髄内で未熟な顆粒球形成が促進される事が明らかになった。骨髄にて顆粒球の分化異常が認められ、顆粒球を含む防御応答が低下し、EBV関連リンパ増殖性疾患の発症へつながる可能性が示唆された。増加した単球との関係は明らかではないが、骨髄での造血分化異常がその出現に影響する可能性が考えられる。EBV関連疾患のモデルマウスを用いた解析は、ウイルス感染に依存した造血の変化と発がん性、宿主免疫の監視ネットワークとの相互作用を解明するために有用である事が示された。