

# 論 文 要 旨

A nuclear factor- $\kappa$ B inhibitor, dehydroxymethylepoxyquinomicin, ameliorates  
GVHD in allogeneic bone marrow transplantation  
(移植片対宿主病に対する新規 NF- $\kappa$ B 阻害剤  
dehydroxymethylepoxyquinomicin (DHMEQ) の治療効果)

関西医科大学小児科学講座  
(指導：金子一成教授)

山内 壮作

## 【背景と目的】

現在、自己免疫疾患等に対して、単一の炎症性サイトカインの活性を抑える生物学的製剤が開発され、高い臨床効果が得られているが、易感染性等の問題がある。

近年開発された新規 NF- $\kappa$ B 阻害剤・dehydroxymethylepoxyquinomicin (DHMEQ) は、複数の炎症性サイトカインの活性を抑制することで強力な抗炎症効果を示す一方、低毒性の epoxyquinomicin をもとに作成されているため、重篤な有害事象の報告はない。当教室では DHMEQ の発見当初から新薬としての可能性に注目し、マウスを用いて検討を行ってきた。まず敗血症モデルマウスにおいて、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  等の様々な炎症性サイトカインを抑制することで、DHMEQ の治療効果を明らかにした(Shimo T, et al. Clin Exp Immunol. 2011.)。次に申請者は微小変化型ネフローゼ症候群モデルマウスにおいても、DHMEQ の有用性を明らかにした(Shimo T, Yamanouchi S, et al. Am J Nephrol. 2013.)。

今回、骨髄移植後の重要な合併症である移植片対宿主病(graft versus host disease: GVHD)に対する DHMEQ の治療効果を明らかにすることを目的に検討を行った。

## 【研究方法】

レシピエントを BALB/c マウス、ドナーを C57BL/6 マウスとする同種骨髄移植系において、DHMEQ の GVHD 抑制効果を検討した。実験群としては、1) 骨髄移植のみ(control 群)、2) 骨髄移植後 C57BL/6 マウスの脾細胞を投与し、さらに DHMEQ の溶媒である Dimethyl sulfoxide (DMSO) を投与する群(DMSO 群)、3) 骨髄移植後 C57BL/6 マウスの脾細胞を投与し、さらに DHMEQ を投与する群(DHMEQ 群)、の 3 群を作成した。実験方法は、BALB/c マウスに放射線を 7Gy 照射後、C57BL/6 マウスから得た骨髄細胞( $2 \times 10^7$ /mouse)を静脈注射し、骨髄移植を行った。DMSO 群と DHMEQ 群においては、ドナーの骨髄が生着した移植 2 週間後に、C57BL/6 マウスから得た脾細胞( $2 \times 10^8$ /mouse)を静脈注射した。脾細胞投与 1 週間後に、GVHD による症状の出現を確認後、同日から DMSO あるいは DHMEQ(10mg/kg/dose/day)を 4 週間投与した。

検討項目としては、i)移植後 80 日まで観察し生存率を検討した。移植後 35 日(DMSO あるいは DHMEQ 投与後 2 週間)および 49 日(DMSO あるいは DHMEQ 投与後 4 週間)の時点で臨床的に GVHD を評価した。さらに屠殺の後、組織学的に GVHD を評価し、末梢血中の T 細胞比、末梢血および脾臓組織における各種炎症性サイトカインの濃度、NF- $\kappa$ B の細胞質から核内への移行を検討した。

## 【結果】

骨髄移植のみの control 群は、GVHD はほとんどみられず、死亡率は 0%であった(0/13)。DHMEQ 投与後 2 週間(n= 5)と 4 週間(n= 9)の時点で、DHMEQ 群は DMSO 群よりも clinical GVHD score、histopathological GVHD score 共に有意に低く(p<0.05)、死亡率は DHMEQ 群が 0%(0/10)、DMSO 群が 43%(6/14)と、DHMEQ

群では DMSO 群と比較して有意に低下した( $p < 0.05$ )。

DHMEQ 投与後 2 週目における末梢血中の CD8 陽性 T 細胞の割合は、DHMEQ 群は DMSO 群より有意に低値であった( $p < 0.05$ )。DHMEQ 投与後 2 週目での末梢血中の制御性 T 細胞(regulatory T cell= Treg)の割合は、DHMEQ 群において DMSO 群より高い傾向にあり、DHMEQ に加えて Treg の発現を抑制させる抗 4 型葉酸受容体抗体を投与すると DHMEQ の治療効果を消失させた。よって、DHMEQ は Treg を介して GVHD を抑制している可能性が考えられた。

DHMEQ 投与後 4 週目の TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-10、IFN- $\gamma$  の血清濃度( $n = 9$ )や脾細胞中の TNF- $\alpha$  の mRNA 発現量( $n = 5$ )は、DHMEQ 群は DMSO 群より有意に低値であった( $p < 0.05$ )。

また、DHMEQ 投与後 4 週間時で、脾臓組織における NF- $\kappa$ B の細胞質から核内移行数( $n = 4$  or  $5$ )は、DHMEQ 群が DMSO 群よりも有意に低下していた( $p < 0.05$ )

### 【考察】

様々な炎症性サイトカインがドナー由来の T 細胞を刺激することで、GVHD が惹起されることが報告されている。実際、NF- $\kappa$ B が核内で活性化することで炎症性サイトカインの産生が促されるため、NF- $\kappa$ B 阻害剤である bortezomib や PS-1145 が GVHD の治療薬として注目され、その有用性が報告されてきた (Vodanovic-Jankovic S, et al. Blood. 2006.)。しかし bortezomib は間質性肺炎などの重篤な副作用の報告がある。一方、今回の実験で用いた DHMEQ については重篤な副作用報告はない。また、bortezomib や PS-1145 は proteasome や I $\kappa$ B kinase を阻害することによって 間接的に NF- $\kappa$ B の活性を抑制するが、DHMEQ は NF- $\kappa$ B の核内移行を阻止することで直接、その機能発現を抑制する。したがって、DHMEQ は既存の NF- $\kappa$ B 阻害剤に比してより軽度の副作用で、GVHD を強力に抑制できる可能性が示唆された。

### 【結論】

DHMEQ は、骨髄移植後に生じる GVHD の治療薬となる可能性が示唆された。