

# 博士の学位論文審査結果の要旨

申請者氏名 大橋 卓馬

横浜市立大学大学院医学研究科 幹細胞免疫制御内科学

## 審査員

主査	横浜市立大学大学院医学研究科	皮膚科学	主任教授	山口 由衣
副査	横浜市立大学大学院医学研究科	免疫学	講師	藩 龍馬
副査	横浜市立大学附属病院	がんゲノム診断科	講師	加藤 真吾

**Clinical impact of cigarette smoking  
on the outcomes of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation:  
a multicenter retrospective study**

(喫煙が同種造血幹細胞移植に与える影響:多施設共同後方視試験)

要旨

1. 序論

同種造血幹細胞移植は様々な種類の血液疾患患者の治療に広く用いられているが、移植関連死亡率は依然高いままである。肺合併症は移植後に発生する主な移植関連有害事象の一つであり、致命的な経過となることも少なくないが移植転帰に対する喫煙の影響に関するデータは限られている。既報では喫煙が移植後肺合併症と関連することを報告しているものもあるが、これらは特定の疾患群に限られており肺および他の移植後合併症に与える喫煙の臨床的な影響については十分に検討されていない(Marks DI et al. Biol Blood Marrow Transplant 2009; Ehlers SL al. Bone Marrow Transplant 2011)。本研究では喫煙歴と呼吸機能および移植後の転帰との相関を評価するために多施設共同後向き研究を実施した。

2. 実験材料と方法

2000年から2015年に横浜市立大学附属市民総合医療センター、神奈川県立がんセンター、横浜市立大学附属病院で同種造血幹細胞移植を受けた20歳以上の患者について喫煙歴や肺機能検査、肺合併症などのデータを収集した。急性骨髄性白血病や急性リンパ芽球性白血病、慢性骨髄性白血病、リンパ腫、不応性再生不良性貧血、骨髄異形成症候群の様々な疾患群で行われた移植成績について、全生存期間と無病生存期間、非再発死亡率を主要評価項目に、肺の有害事象や Graft-versus-host disease(GVHD)発症率を二次評価項目として評価した。非喫煙者もしくは Brinkman Index が 0-500 の軽度喫煙群と 500 以上の重度喫煙群の 2 群に分け、呼吸機能検査の結果を含む 2 群の移植結果を比較した。患者背景については Fisher の直接確率検定で、連続変数については Mann-Whitney U 検定を用いて喫煙群間で比較した。全生存期間および無病生存期間については Kaplan-Meier 法を使用し、単変量ではログランク検定、多変量解析では Cox 比例ハザードモデルを使用し解析した。非再発死亡率、および GVHD 発症率については Fine-Gray モデルを用いて評価した。既報で

有意とされている変数に、単変量解析の結果から backward-stepwise 法で得られた変数を加えて多変量解析を行なった。0.05 以下の p 値を統計的に有意とみなした。本試験は各施設の治験審査委員会で承認された後に実施され、すべての統計解析は R ver3.5.2 のユーザーインターフェースである EZR ver1.54 を用いて行った。

(Kanda Y. Bone Marrow Transplant. 2013) 本研究はヘルシンキ宣言および厚生労働省の臨床研究に関する倫理指針に従って実施された。また横浜市立大学附属市民総合医療センターの人を対象とする医学・生物学的研究に関する倫理委員会の承認を得た(B190400048)。各施設の倫理委員会からプロトコルの承認とインフォームドコンセントの書面を取得した。

### 3. 結果

合計 608 人の患者が本研究にエントリーされ、同種造血幹細胞移植後の観察期間の中央値は 1971 日だった。重度喫煙群と軽度喫煙群では平均年齢と性別、疾患リスクと前処置において群間で差を認めた。呼吸機能検査では%VC と DLCO (%) は移植前後で有意差は認めなかったが、重度喫煙群では移植前後の両方で軽度喫煙群より低い FEV1 (%) を示した ( $p < 0.01$ )。移植前後の%VC, DLCO (%) および FEV1 (%) の継時的な変化においては 2 群間で有意差は認めなかった。多変量解析では、喫煙量は全生存期間(ハザード比[HR]:1.16, 95%信頼区間 [CI]:0.9-1.6,  $p=0.33$ )または無病生存期間(HR:1.12, 95% CI:0.8-1.5,  $p=0.45$ )、非再発死亡(HR:1.04, 95% CI:0.6 - 1.9,  $p=0.9$ )と関連しなかった。喫煙量は急性 GVHD の発生率と相関しなかったが (HR:0.99, 95% CI:0.6-1.5,  $p=0.95$ )、重度喫煙群では慢性 GVHD の発生率が増加した (HR:1.73, 95% CI:1.2-2.6,  $p < 0.01$ )。サブグループ解析では大量喫煙は慢性肺 GVHD の発生率を増加させなかった ( $p=0.19$ )。慢性 GVHD の重症度や慢性 GVHD に対する各種の免疫抑制療法を必要とする患者の割合は 2 群の間で有意差はなかった。

### 4. 考察

本研究では大量喫煙が慢性 GVHD を増加させることを示した。サブグループ解析では、肺を含め臓器毎の慢性 GVHD の発症率に明らかな差は認めず、有意差のつかない臓器毎の僅かな慢性 GVHD の増加が全体的な増加につながったと推測された。軽度喫煙群と重度喫煙群の間で慢性 GVHD の重症度と治療法は同等であった。大量喫煙が肺の慢性 GVHD と肺感染症の発生率に影響しなかったことは喫煙による影響は肺の局所的でなく全身性の事象であることが示唆された。また慢性 GVHD において非適合ドナーのリスクが高く、臍帯血移植のリスクが低い結果からは、重度喫煙者のドナーとして HLA 一致同胞が得られない場合、臍帯血移植が選択肢として好ましいと考えられた。制限事項としては、複数回の肺合併症の評価

が困難であったことや移植後の喫煙状況の評価をしておらず結果に影響した可能性があること、重度の肺機能障害または他の併存症を有する患者においてそもそも移植治療を選択しないというバイアスが生じている可能性がある。喫煙が慢性 GVHD を増加させた機序については今後の検討課題であり、さらなる研究が望まれる。

#### 質疑応答詳細

副査である加藤真吾講師より以下の質問がなされた。

1. 群別の cut off 値である  $BI \geq 500$  はどのように設定したのか。
2. 本研究での移植成績とは生存期間等を指すのか、GVHD 等の合併症の発生率を指すのか。
3. 人種は慢性 GVHD の発症に影響するのか。
4. 今後の研究課題としていくつか挙げられているが、今後の研究の方向性並びに科研費の獲得のためにはどの課題を検討すべきか。

これらに対して以下のように回答がなされた。

1. Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) のリスクである  $BI=400$  と肺癌のリスクである  $BI=600$  を参考に設定した。cut off 値の設定は後方視研究において重要であり、設定により結果が変動するため研究者の恣意性が問題となる。cut off 値を変動させて同じ結果が得られるか確認することも重要とのコメントを頂いた。
2. 主要評価項目としては全生存期間と無病生存期間とを設定し、GVHD 等の合併症については副次評価項目として解析をおこなった。
3. 影響はあり、日本人のように比較的均一の集団は慢性 GVHD の発症率は少ないことが報告されている。
4. 今回でいうところの慢性 GVHD のモデルマウスに対してベリムマブを投与する等の治療に対してのフェノタイプの解析等の治療的な介入研究が優先される。その他、皮膚の GVHD の発症についてはマクロファージの寄与が大きいと疑われることや B 細胞のサブタイプの解析について推奨するコメントがあった。

副査である藩龍馬講師より以下の質問がなされた。

1. Patient characteristics の疾患リスクの項目は両群で差がないように見える。検定法はなにか。

2. 喫煙が COPD を BAFF や IgA を介して引き起こすメカニズムについて.

これらに対して以下のように回答がなされた.

1. T 検定を用いて解析を行なった. 再度確認したが結果は同じであり, 症例数が多いため小さい違いでも結果につながったと考えられる.
2. 本発表では血液細胞でなく造血幹細胞移植後にも残存すると考えられる気道上皮細胞を介したメカニズムについて提示する. タバコ煙に暴露された気道上皮に生じた炎症により上皮細胞より BAFF が産出され B 細胞が IgA 産出型の形質細胞に分化し, IgA が気道上皮に吸着することで分泌型 IgA となることで COPD を来す. なぜ IgA なのかについては複数の既報をあたったが機序については原因は未解明との記載であった.

主査である山口由衣教授より以下の質問がなされた.

1. 本研究における研究者の貢献度は?
2. 本研究の新規性は何か.
3. 喫煙量の群別における Cut off 値は先行研究によって異なるのか.
4. 原疾患ごとに慢性 GVHD の発症率は異なるのか.
5. 慢性 GVHD の発症が増加するとの結論であったが, 喫煙以外の慢性 GVHD のリスクについては考慮されているのか.
6. 慢性 GVHD の発症臓器において皮膚が有意差をもつように見える. 皮膚 GVHD について臨床型の情報はあるのか.
7. 発表の考察において BAFF だけに着目した理由について.

これらに対して以下のように回答がなされた.

1. 上級医に助言を仰ぎつつではあるが, 症例情報の集積以外の部分では研究者自らが主導して行なった.
2. 移植の症例情報は単施設では限られ多数の施設間でのデータベースで管理されることが多いが, 喫煙情報は含まれないことが多く移植と喫煙に焦点を当てた先行研究は少ない. また, 少ない既報においてもその見解は一致しておらず更なる検証が必要である. また生存期間や呼吸器合併症等の検討が主であり GVHD を検討している先行研究も限られる点が新規性と考える.
3. 既報では 10-20 pack-year, 移植前 1 年間の喫煙の有無, BI $\geq$ 400 等の様々な値で検討されている.
4. 多発性骨髄腫では慢性 GVHD を含む NRM が上昇するが, 他の疾患では関連は明らかでない.
5. 喫煙以外のリスク(年齢や前処置の強度, ドナーとの HLA の合致度, 造血幹細胞の種類)については多変量解析の変数として組み込み解析している.

6. 臓器ごとの症例数は限られているためより多くの症例数で検討する必要があるが、各臓器の発症率が少しずつ上昇した結果が全体の発症率の有意な上昇の結果につながったと考えている。今回使用したデータベースでは GVHD の発症の有無のみが含まれ、その臨床型などの検討のためには追加の情報収集が必要となる。
7. 本研究はあくまで臨床情報を元にした後方視研究であり、喫煙と慢性 GVHD の発症リスク上昇のメカニズムについて推論以上の言及は難しい。慢性 GVHD 発症の主要な要素である B 細胞の様々な関連の因子について既報をあたり、今回の事象を説明しうる可能性のある既報が出ていた BAFF についてとりあげた。メカニズムの究明には BAFF を含めた様々な慢性 GVHD の発症に関与する因子についての検討が必要と考える。

以上の他にも質疑が行われたが、いずれも申請者から適切な回答が得られた。

研究内容は臨床的に重要な知見を与えるものであり、将来のさらなる発展が期待される。質疑への回答も的確であり、博士（医学）の学位授与に値すると判断された。