

キメラ抗原受容体 T 細胞療法による血液凝固と線溶の変動を解析

—サイトカイン放出症候群に伴う凝固障害の病態解析にむけて—

概要

京都大学医学部附属病院 検査部の山崎真紀子 臨床検査技師、新井康之 同助教（院内講師・細胞療法センター）と、京都大学大学院医学研究科 高折晃史 教授、足立壯一 同教授らの研究グループは、同院血液内科にてキメラ抗原受容体 T 細胞（CAR-T）療法^{*1}として、チサゲンレクルユーセル（tisagenlecleucel, tisa-cel）^{*2}を投与されたびまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫（DLBCL）^{*3}25 例を対象に、リンパ球除去化学療法^{*4}前、CAR-T 細胞投与 3 日後、13 日後での凝固線溶^{*5}系マーカーの変動を解析しました。その結果、リンパ球除去前と比較し、サイトカイン放出症候群（CRS）^{*6}発症初期（3 日後）においては、炎症マーカーに加えて、線溶抑制^{*7}マーカーである PAI-1 (total PAI-1) ^{*8}が約 2 倍という有意な上昇を示しました。同時に凝固活性化^{*9}マーカーも上昇を認めたことから、CRS 発症初期においては、PAI-1 上昇による線溶抑制と、それによる相対的な凝固亢進状態^{*10}にあり、血栓の本体となるフィブリンの生成が増加していることが分かりました。CRS が沈静化した投与 13 日後には、total PAI-1 も化学療法前の値まで低下しており、線溶抑制状態が解消し、フィブリンの分解が分解されていることが示唆されました。

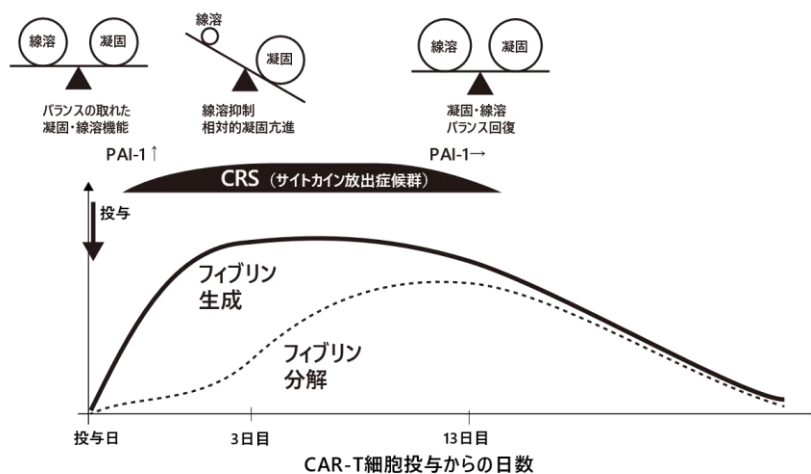
CAR-T 療法においては CRS がほぼ不可避であり、それによる凝固障害や血栓症、血管内皮障害の発症が課題となっていますが、この CRS 関連凝固障害は、原因や病態が十分解明されていません。今回の研究成果により、CAR-T 療法患者における凝固線溶マーカー測定的重要性が再認識され、凝固障害の原因解明の一助となることが期待されます。

本成果は、米国血液学会の国際学術誌「Blood Advances」に 5 月 17 日にオンライン掲載されました。

CAR-T細胞療法を成功に導くためのステップ



サイトカイン放出症候群に伴う凝固異常の病態解析



1. 背景

キメラ抗原受容体 T 細胞 (CAR-T) 療法は、難治性急性リンパ性白血病や、難治性悪性リンパ腫などの患者さんを対象とした治療法の一つで、本邦では 2019 年に承認されました。CAR-T 療法は、がん細胞に対する特異性が高く、長期間 CAR-T 細胞が体内に維持されるという長所を持つ反面、免疫反応によるサイトカイン放出症候群 (CRS) や神経毒性をはじめとした治療毒性が現在の課題となっています。なかでも CRS 関連凝固障害は、いまだ原因や病態がはっきりとは解明されていません。CAR-T 細胞投与によって放出される大量の炎症性サイトカインにより、もともとは血栓形成を防ぐ作用を持つ血管内皮細胞が傷害を受けることで、血栓症や消費性凝固障害^{*11} が引き起こされるといわれています。重度の CRS を合併した急性リンパ性白血病 (ALL)^{*12} においては、CRS 関連凝固障害が著明に見られますが、びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 (DLBCL) においては凝固障害の頻度や程度はいまだ不明な点が多くあります。

2. 研究手法・成果

我々は、京都大学医学部附属病院血液内科で、CAR-T 療法のひとつであるチサゲンレクルユーセル (tisagenlecleucel, tisa-cel) を投与されたびまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 (DLBCL) 25 例を対象に、リンパ球除去化学療法前、tisa-cel 投与 3 日後、13 日後の凝固線溶マーカールの変化を解析しました。1 例を除き軽度の CRS を合併しました。解析の結果、リンパ球除去前と比較し、CRS 発症初期 (3 日後) においては、炎症マーカールに加えて、線溶抑制マーカールである PAI-1 (total PAI-1) が約 2 倍という有意な上昇を示しました。凝固活性化マーカールも上昇を認めたことから、CRS 発症初期においては、PAI-1 上昇による線溶抑制と、それによる相対的過凝固状態にあることが分かりました。CRS が沈静化した投与 13 日後には、total PAI-1 もリンパ球除去化学療法前の値まで低下し、線溶抑制状態は解消したことが示唆されました。なお、一連の反応の端緒となった PAI-1 は、CRS に伴い血管内皮細胞から放出されたと推測しています。

今回の研究では、DLBCL においても、通常検査値異常に現れない凝固異常が確実に起こっていることが示されました。同時に、本コホートにおいては、血管内皮障害や血栓症の明らかな発症は認めず、新鮮凍結血漿投与などの治療による影響を受けない CRS 関連凝固異常の自然史を観察できたと考えています。

3. 波及効果、今後の予定

本研究によって、重度の CRS だけではなく、軽度の CRS においても、確実に凝固異常が起こっていることが示されました。また、多数の凝固線溶マーカールを測定することにより、CRS 期間中の凝固線溶マーカールの動きも捉えることができました。本研究結果が、CRS 関連凝固障害の原因や病態解明の一助となることが期待されます。

4. 研究プロジェクトについて

本研究は、医学部附属病院 血液内科、検査部、医学研究科 人間健康科学系専攻、奈良県立医科大学 小児科、株式会社 LSI メディエンスによる共同研究として実施されました。測定試薬の一部は、株式会社 LSI メディエンスより提供されました。本研究は、公益財団法人 がん研究振興財団、日本血液学会、文部科学省「世界視力を備えた次世代トップ研究者育成プログラム (L-INSIGHT)」より資金的支援を受けて実施されました。

<研究者のコメント>

CAR-T療法は、再発・難治性のリンパ性造血器疾患に対する最有力な次世代治療法ですが、CAR-T細胞投与によるサイトカイン放出症候群に起因する随伴症状が、治療の課題となっています。特に、CRS関連凝固障害は、全身に影響が及び、集中的な輸血療法や血漿交換療法が必要となる場合もあります。ALLに関しては凝固障害に関する研究が進んでおりますが、DLBCLにおいては頻度や病態がいまだ不明な点が多くありました。今回、tisa-celを投与されたDLBCLの患者さんの凝固線溶マーカー等を解析することで、CAR-T投与後の凝固線溶マーカーの詳細な動きを観察することができました。本研究結果が、CRS関連凝固障害の原因や病態解明の一助となり、最終的には本疾患の治療成績向上につながることを期待しています。(京都大学医学部附属病院 検査部 山崎真紀子 臨床検査技師、新井康之 助教(院内講師・細胞療法センター))

<用語解説>

※1 **キメラ抗原受容体T細胞(CAR-T)療法**:キメラ抗原受容体(CAR)は、抗原を特異的に認識する抗体由来の部分と、T細胞受容体由来の細胞傷害性機能部分を結合させて人工的に作製された、がん抗原を特異的に認識できる受容体である。患者さん自身のT細胞を取り出し、遺伝子改変技術によりCARを発現させたT細胞(CAR-T細胞)を患者さんに投与することで、難治性のがんを治療するのがCAR-T細胞療法である。

※2 **チサゲンレクルユーセル(tisagenlecleucel, tisa-cel)**:CD19を標的としたCAR-T細胞製剤で、再発・難治性のB細胞性急性リンパ性白血病とびまん性大細胞型B細胞リンパ腫に適応がある。米国では2017年に、本邦では2019年にCAR-T細胞製剤として初めて承認された。商品名はキムリア®(ノバルティスファーマ株式会社)。

※3 **びまん性大細胞型B細胞リンパ腫(DLBCL)**:血液細胞の一種であるB細胞の腫瘍。大きな細胞核をもつB細胞が“びまん性”に(組織全体にはびこるように)増殖して広がるもので、病気の進行が月単位で進む中悪性度のリンパ腫である。本邦のリンパ腫のうち3割程度を占め、最も発生頻度の高い病型である。

※4 **リンパ球除去化学療法**:CAR-T細胞療法の数日前に投与される化学療法(抗がん剤)を指す。体内に存在するリンパ球を除去し、投与されるCAR-T細胞が増殖しやすい環境を作るために重要な役割を果たす。

※5 **凝固線溶**:血液と血管内皮には血液の凝固を助ける因子(凝固因子)、凝固した血液を溶かす因子(線溶因子)とこれらを調節する因子が存在し、通常状態ではバランスよく働き、血管内で血栓が生じるのを防ぐとともに、必要な際に血液を凝固させ止血する働きがある。凝固線溶系のバランスが障害されることで、出血や血栓形成による臓器障害を引き起こす。

※6 **サイトカイン放出症候群(CRS)**:CAR-T細胞療法を含む免疫療法において、活性化した免疫細胞から放出される大量のサイトカインによって、発熱、頭痛、嘔吐、呼吸困難、血圧低下、血液凝固障害、多臓器不全を惹き起こし、時に生命を脅かす可能性がある合併症。CRSの制御は、CAR-T細胞療法を効果的に実施するために重要な要素である。

※7 **線溶抑制**:体内で凝固した血液を溶かす機構である「線溶」に対して、負の制御をかける機能。線溶機能

を適正に保つためには、アクセルである線溶因子と、ブレーキである線溶抑制因子のバランスが重要である。

※8 **PAI-1 (total PAI-1)** : 分子量約 42700 のタンパク質であり、主に血管内皮細胞と肝細胞から合成分泌され、血管内皮障害や血小板の崩壊により、血中に多く放出される。形成された血栓を溶解するプラスミンの生成反応を助ける「組織プラスミノゲンアクチベーター (t-PA)」を阻害することで、線溶を抑制する。通常使用される測定方法では、検体中の total PAI-1 (活性型 PAI-1、潜在型 PAI-1、t-PA・PAI-1 複合体) を測定し、線溶系の活性化における状態を反映している。

※9 **凝固活性化** : 血液を固め、止血を促す機能 (凝固) が亢進している状態。凝固活性化が続くと、血栓が過剰に形成されるため、体内で血栓症を起こす可能性がある。

※10 **凝固亢進** : 凝固活性化に伴い、体内で血液凝固しやすい状態にあることを指す。血栓を溶かす線溶機能が抑制された状態が続く場合も、線溶と凝固のバランスが崩れ、相対的に凝固が優勢となることもある。

※11 **消費性凝固障害** : 体内で凝固・線溶因子が大量に消費され、これらの因子が欠乏することで発生する凝固障害のこと。重症の炎症時や体内に大量の血栓が存在する場合には見られる。

※12 **急性リンパ性白血病 (ALL)** : 本来なら「リンパ球」になる細胞が未熟な段階でがん化して、短期間のうちに体内の正常細胞と入れ替わる血液の悪性腫瘍のこと。

<論文タイトルと著者>

タイトル : Relative hypercoagulation induced by suppressed fibrinolysis after tisagenlecleucel infusion in malignant lymphoma. (悪性リンパ腫に対するチサゲンレクルユーセル投与後に見られる線溶抑制および相対的凝固亢進状態)

著者 : Makiko Yamasaki-Morita, Yasuyuki Arai, Takashi Ishihara, Tomoko Onishi, Hanako Shimo, Kayoko Nakanishi, Yukiko Nishiyama, Tomoyasu Jo, Hidefumi Hiramatsu, Takaya Mitsuyoshi, Chisaki Mizumoto, Junya Kanda, Momoko Nishikori, Toshio Kitawaki, Keiji Nogami, Akifumi Takaori-Kondo, Miki Nagao, and Souichi Adachi

掲載誌 : Blood Advances DOI : 10.1182/bloodadvances.2022007454