

新規 GVHD 診断マーカー

—その臨床応用の可能性—

堀 司¹⁾, 苗代康可²⁾, 相馬 仁²⁾, 鈴木信寛¹⁾,
畠山直樹¹⁾, 山本雅樹^{1) 2)}, 園田智子³⁾, 水江由佳⁵⁾,
今井浩三⁴⁾, 小海康夫²⁾, 堤 裕幸¹⁾

¹⁾ 札幌医科大学医学部小児科学講座

²⁾ 札幌医科大学医学部分子機能解析部門

³⁾ 札幌医科大学医学部公衆衛生学講座

⁴⁾ 札幌医科大学学長

⁵⁾ 札幌イムノ・ダイアグノスティック・ラボラトリー

Potential biomarker discovery in graft-versus-host disease (GVHD)

Tsukasa HORI¹⁾, Yasuyoshi NAISHIRO²⁾, Hitoshi SOHMA²⁾, Nobuhiro SUZUKI¹⁾,
Naoki HATAKEYAMA¹⁾, Masaki YAMAMOTO^{1) 2)}, Tomoko SONODA³⁾, Yuka MIZUE⁵⁾,
Kohzoh IMAI⁴⁾, Yasuo KOKAI²⁾ and Hiroyuki TSUTSUMI¹⁾

¹⁾Department of Pediatrics, Sapporo Medical University School of Medicine

²⁾Department of Biomedical Engineering, Sapporo Medical University School of Medicine

³⁾Department of Public Health, Sapporo Medical University School of Medicine

⁴⁾President, Sapporo Medical University School of Medicine

⁵⁾Sapporo Immuno Diagnostic Laboratory

ABSTRACT

Although graft-versus-host disease (GVHD) is a life-threatening complication of hematopoietic stem cell transplantation (HSCT), current diagnosis mainly depends on clinical manifestations and invasive biopsies. Specific biomarkers for GVHD would facilitate early and accurate recognition of this grave condition. Using a proteomic approach, we screened for plasma proteins specific for GVHD in a mouse model. One peak with 8,972 m/z retained a discriminatory value in two diagnostic groups (GVHD and normal controls) with increased expression in the disease, decreased expression during cyclosporin A treatment and was barely detectable in syngeneic transplantation. Purification and mass analysis identified this molecule as CCL8, a member of a large chemokine family. In human samples, the serum concentration of CCL8 correlated closely with GVHD severity. All non-GVHD samples had low levels of CCL8. In sharp contrast, CCL8 was highly up-regulated in GVHD sera. CCL8 is a promising specific serum marker for the early and accurate diagnosis of GVHD.

(Accepted December 24, 2008)

Key words: GVHD, CCL8, Biomarker, Proteomics

1 はじめに

造血幹細胞移植は国内においても30年以上の歴史を有し、白血病、再生不良性貧血などの血液疾患、原発性免疫不全症などの根治療法としてすでに確立されている。その対象疾患は先天性代謝異常症などにも拡大しつつあり、ま

た近年高齢者などにも行い得る移植方法が確立されてきたこともあり、国内では年間約3,000例の造血幹細胞移植が行われており、この恩恵を受けた患者の数は計り知れない。しかしながら移植の合併症である移植片対宿主病 (graft-versus-host disease: GVHD) は克服されたとはいえず、様々な免疫抑制剤の開発を含めた移植方法の進歩にも関わ

らず, いまだに造血幹細胞移植の成否を左右する極めて重要な合併症のひとつとして位置付けられている。さらにGVHDの診断は主に臨床症状に基づきなされているために主治医の経験に依るところが大きい。また鑑別診断には侵襲性の高い生検術が必要となるが, ときに病理所見によっても診断が困難な場合がある。造血幹細胞移植の成績の向上にはGVHDの良好なコントロールが最重要課題のひとつであり, GVHDの早期診断, 早期治療のための非侵襲的で客観的な診断マーカーが切望されてきた。本稿では, 我々が特定できた新規診断マーカーchemokine (C-Cmotif) ligand8 (CCL8) について, その探索の経緯と結果について解説し, さらに将来的な応用について考察したい。

2 移植片対宿主病 (GVHD) とは

GVHDは移植後早期に発症し, 皮膚, 消化管, 肝臓が標的臓器となる急性GVHDと, 移植後後期(主に移植後100日以降)に発症し自己免疫疾患に類似した病態を呈する慢性GVHDに分類されている。両者の病態生理は全く異なる機序が考えられており, 本稿では前者の急性GVHDに焦点を絞ることとする。急性GVHDの発症機序は現在, 以下のように3段階に分けて説明されている。第1相では移植前処置によってホストの組織が傷害を受けて活性化され, 第2相ではホスト由来の抗原提示細胞 (antigen-presenting cells: APCs) がドナー由来のT細胞を活性化する。第3相では細胞障害性Tリンパ球 (cytotoxic T lymphocytes: CTLs) と炎症性サイトカイン, これらのエフェクターが相乗的に作用して標的臓器の組織を障害しGVHDが発症するというものである(図1)¹⁾。急性GVHDの発症率はHLAの一致度, 移植ソース, 前処置, GVHD予防などの移植条件によって異なるため30~80%と報告によりかなりの相違が認められるが²⁾, 単一民族国家である日本では欧米と比較して発症率も重症度も低いとき

れている。診断は主に臨床症状である皮疹, 下痢, 黄疸によってなされ, その重症度分類も体表面積中の皮疹の占める割合, 下痢の1日量, ビリルビン値などによって決定されており, 主治医間によって差が出ることも否めないのが現状である。重症度がgradeⅢ以上となると生存率が50%以下と極端に低下するため, 早期に正確な診断を行い, 治療を開始することが極めて重要である²⁾。

3 GVHDの診断マーカー

急性GVHDの診断マーカーの可能性に関して, サイトカインを中心にこれまでにいくつかの検討が行われている。可溶性インターロイキン-2レセプター (sIL-2R) が有用なマーカーと考えられたが, 個人差が大きいことや, 生着時期にも上昇を認めるなどその特異性は低い^{3,4)}。インターロイキン-1 (IL-1), tumor necrosis factor α (TNF α), インターロイキン-10 (IL-10) などの他のサイトカインについても検討されたが^{5,6)}, いずれも必ずしも急性GVHDと連動しているわけではなく, 客観的, 特異的マーカーとして臨床応用されるには至っていない。

4 プロテオミクスアプローチによるマーカー探索

ポストゲノム時代に入り, タンパク質発現レベルでの解析の重要性が再認識され, さらにゲノム解析の成果により遺伝子データベースが整備されたこと, 質量分析技術がより高感度, 高精度, 高処理能力へと進歩したことからプロテオミクスが一躍注目を浴び, 2002年以降急速に発展してきている。

プロテオミクスによる疾患研究はタンパク質レベルでの異常を網羅的にスクリーニングすることから始まり, 病態マーカー探索から病態機序の解明へ進み, さらに新たな検査システムの構築や治療ターゲットの探索へと発展させ, 最終的に臨床応用に到達することが期待される。いくつかの疾患においては病態マーカー探索の段階での成果がすでに報告されている⁷⁻⁹⁾。今回我々はGVHDの病態マーカー探索を質量分析技術の一つであるsurface enhanced laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (SELDI-TOF MS) 法を用いて血漿中のタンパク質をプロテオミクス解析することから始めた。

5 GVHDモデルマウスの解析

今回の目的疾患であるGVHDは移植が必要となる原疾患, 移植前処置, GVHD予防などの背景が非常に複雑で解析が困難となることが想定された。実際, 臨床サンプルを用いたプロテオミクス解析によるGVHDの病態マーカー探索の報告も散見されるが, いずれもタンパク質発現パターンを認識するに留まり, マーカー候補分子の選定には至っていない¹⁰⁻¹²⁾。

マウスの造血幹細胞移植後のGVHDモデルはヒトと原理が同一であるため, GVHDの研究に多く用いられ, これ

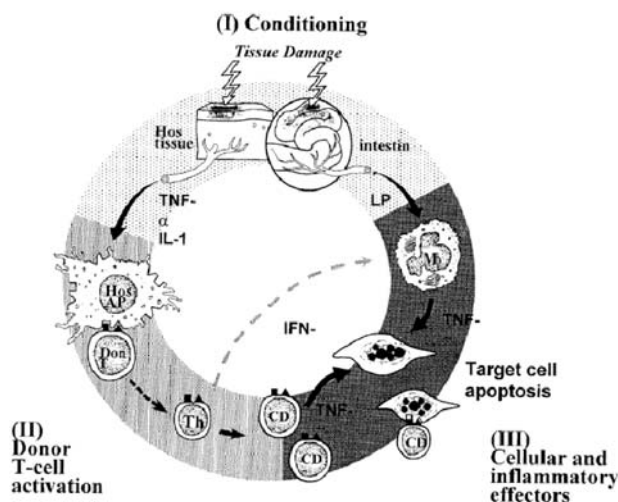


図1 GVHD発症の3段階の病態生理(文献¹⁾より)

までにもたくさんの成果をもたらしている^{13, 14)}。そこで我々は背景を均一化した GVHD モデルマウスの血漿タンパク質の解析から着手した。

5・1 モデルマウス

GVHD モデルマウスは遺伝背景、環境因子を均一化するために近交系マウスを使用し、C57BL/6 をドナー、BALB/c をレシピエントとし、前治療は全身放射線照射 (TBI) 8.5Gy、輸注骨髄細胞数 2×10^7 の骨髄移植により作製した。同種移植のコントロールとしては同様の前治療、輸注細胞数で BALB/c 同士の移植で作製した (同系移植)。移植後 day7 以降に症状、病理組織ともに GVHD 所見が確認することができ、day7, 14, 21, 28 で血液のサンプリングを施行した。

5・2 血漿のプロテオミクス解析

GVHD モデルマウスとコントロールマウスの血漿中のタンパク質の発現を SELDI-TOF MS により網羅的に解析したところ、約 43,000 個の分子が検出された。これらをさらに機械学習法のひとつであるクロスバリデーション法を用いることにより解析したところ、8,972-Da の分子が GVHD 群とコントロール群を感度、特異度ともに 100% で分類できる分子として選定された。この 8,972-Da 分子の動向は GVHD モデルマウスでは、GVHD 発症後の day7 以降は有意な発現強度の上昇を呈しており、GVHD を発症しない

同系移植のコントロールマウスでは有意な変化は認めなかった。さらに cyclosporin A (CsA) による治療が施された GVHD マウスでは、治療後に症状の改善とともに 8,972-Da 分子の発現強度の有意な低下を認めた (図 2)。また感染症を想定し lipopolysaccharide (LPS) あるいは poly (I:C) を投与した群では、いずれも GVHD モデルでみられたような 8,972-Da 分子の有意な上昇は認めず、この分子が GVHD の診断マーカーとなり得る候補分子と考えられた。GVHD モデルマウスの血漿から本分子を分離精製し、最終的に MS/MS 解析によりアミノ酸配列を決定することで、8,972-Da 分子をケモカイン CCL8 と同定することができた¹⁵⁾。以上よりマウスの GVHD において CCL8 がその病態、重症度に深く関与していることが示唆された。

6 ヒト血清サンプルの解析

札幌医科大学小児科において 1993 年 4 月から 2005 年 12 月までの期間に施行された同種造血幹細胞移植患者の血清とドナー血清 (健常者) をサンプルとして使用した。尚、これらのサンプルは患者両親あるいは本人の同意と学内の倫理委員会の承認を得て - 80°C で保存されていたものである。

6・1 抗ヒト CCL8 抗体を用いた SELDI immunoassay

抗ヒト CCL8 抗体を用いた SELDI immunoassay において、ヒト血清サンプル中の CCL8 は 8,920-Da 分子として検

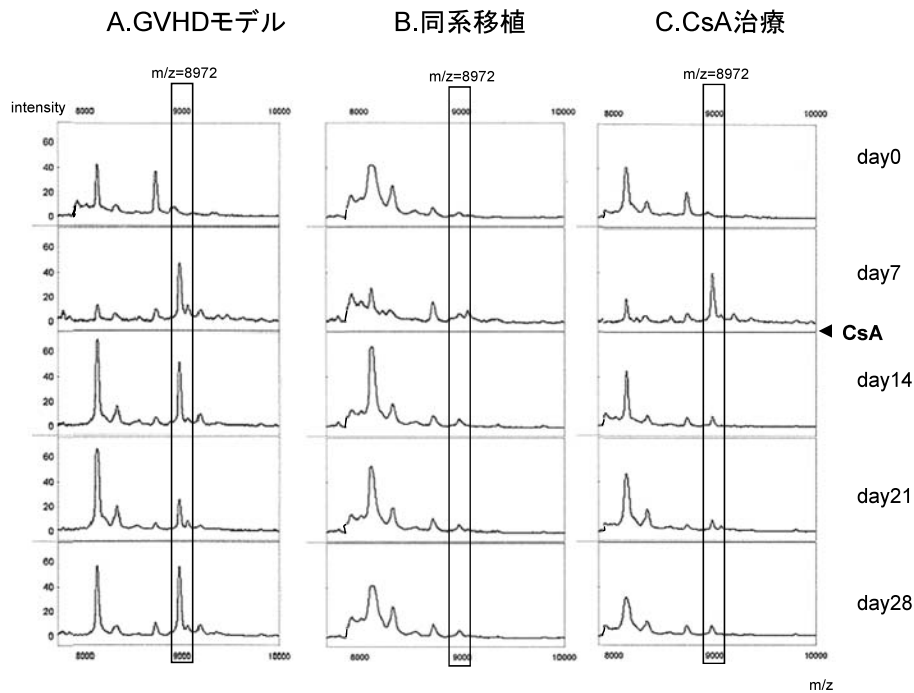


図 2 モデルマウスにおける 8,972Da 分子の発現強度の変化

A. GVHD モデルでは GVHD 発症後の day7 以降に発現強度が有意に上昇した。B. GVHD を発症しない同系移植では有意な変化は認めない。C. GVHD 発症後の day8 - 13 の 6 日間 CsA による治療を施した GVHD マウスでは治療後の day14 以降に症状の改善とともに発現強度が有意に低下した。

出されることを確認した。

患者 A は 5 歳男児, ファンコニ貧血で前処置 fludarabine (Flu) 200mg/m² + cyclophosphamide (CY) 40mg/kg + 全身放射線照射 (TBI) 3Gy により非血縁臍帯血移植を施行した患者であり, GVHD 予防は CsA + mycophenolate mofetil (MMF) で行った。移植後 day12 に臨床的 GVHD を発症し, ステロイド投与により一時症状は改善したが, day26 で再燃した症例である。患者 B は 10 歳男児, 慢性骨髄性白血病で前処置 TBI 12Gy + CY120mg/kg により非血縁同種骨髄移植を施行した患者であり, GVHD 予防は tacrolimus + methotrexate (MTX) で行った。移植後 day19 に臨床的 GVHD を発症したが, ステロイドの投与により症状が軽快した症例である。患者 A, B の 2 例とも CCL8 の発現強度は GVHD 発症時に上昇しており, ステロイド投与後の症状改善時には下降していた。

患者 C は 3 歳女児, 急性リンパ性白血病で前処置 TBI 12Gy + CY120mg/kg による HLA 一致の同胞間骨髄移植の患者であり, GVHD 予防は MTX のみで行った。経過中 GVHD を発症しなかった症例であり, 経過を通して CCL8 の発現強度の有意な上昇を認めなかった (図 3)。

さらにデータは示さないが, 造血幹細胞移植後に GVHD との鑑別診断に重要な Veno-occlusive disease (VOD), ウイルスの再活性化, 敗血症などを呈した症例においても CCL8 の有意な発現強度の上昇は認めなかった。これによりマウスと同様にヒト GVHD においても CCL8 が診断, 重症度に深く関与していることが示された。

6・2 ELISA 法による解析

SELDI 法による発現強度の測定は半定量であることから, CCL8 を定量的に比較するために ELISA 法による CCL8 の血清中濃度の検討を行った。同種造血幹細胞移植後の患者 14 例中 7 例の non-GVHD 群は mean ± SE : 22.5 ± 5.5pg/ml, range : 12.6 ~ 48.0pg/ml であったのに対して, 残り 7 例の grade II 以上の GVHD 群は mean ± SE : 165.0 ± 39.8pg/ml, range : 52.0 ~ 333.6pg/ml であり有意に高値を示した (p < 0.05, t test)。また健常コントロール 8 例については mean : 18.9pg/ml, range : 0.0 ~ 32.6pg/ml であった (図 4)。特に GVHD 群の 333.6pg/ml と 290.4pg/ml と高値を示した 2 例はいずれも grade IV を呈した死亡例であった。以上の結果よりヒトにおいても CCL8 は GVHD の診断, 重症度に深く関与していることが示され, 診断マーカーとなり得ると考えられた。

7 ケモカイン CCL8 と GVHD

ケモカインは 8 - 12kDa 程度の分泌蛋白であり, ケモカインレセプターと結合することで主に白血球の遊走活性を制御している。現在 50 種類以上のケモカインが報告されており, よく保存された 4 つのシステイン残基が存在し, そのうち N 末端側の 2 残基が形成するモチーフにより CXC, C, CX₃C, CC の 4 つのサブファミリーに分類されている^{16, 17)}。CCL8 は CC ケモカインの 1 つであり, 別名 monocyte chemoattractant protein-2 (MCP-2) とも呼ばれており, 単球や線維芽細胞から産生されるが, CCL2 (MCP-1), CCL7 (MCP-3), CCL13 (MCP-4) らとともに CC ケモカ

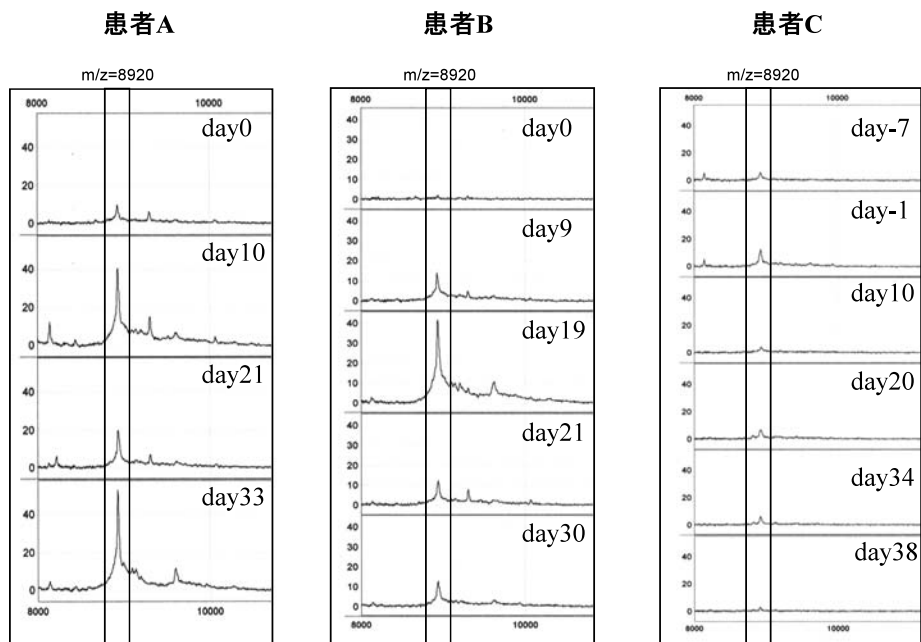


図 3 同種造血幹細胞移植後の患者血清における CCL8 の発現強度の変化

患者 A は移植後 day12 に臨床的 GVHD を発症, ステロイド投与により一時症状は軽快したが, day26 で再燃した症例。患者 B は移植後 day19 で臨床的 GVHD を発症, ステロイド投与により症状軽快した症例。患者 C は経過中 GVHD を発症しなかった症例。

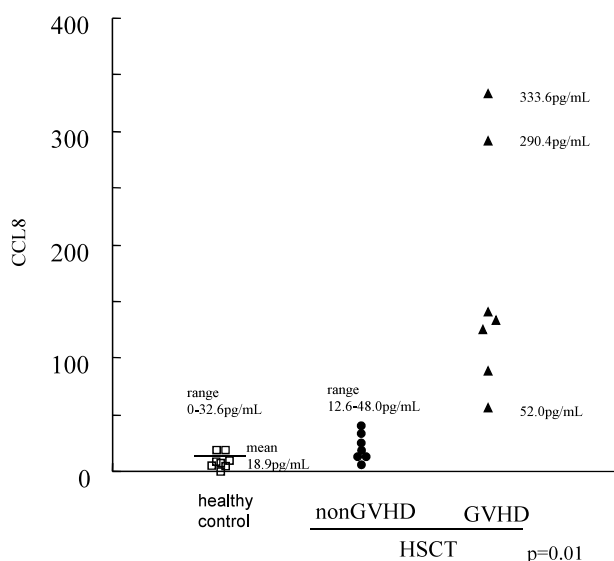


図4 同種造血幹細胞移植後患者におけるCCL8の血清中濃度
移植後の患者7例のnon-GVHD群はmean ± SE: 22.5 ± 5.5pg/ml, range: 12.6 ~ 48.0pg/mlであったのに対して, 7例のgrade II以上のGVHD群はmean ± SE: 165.0 ± 39.8pg/ml, range: 52.0 ~ 333.6pg/mlであり有意に高値を示した。健康コントロール8例はmean: 18.9pg/ml, range: 0.0 ~ 32.6pg/mlであった。

インの中で主に単球, 活性化T細胞, 樹状細胞 (dendritic cells: DCs) の遊走能を制御する1群に分類されている^{18, 19)}。ヒトCCL8は2種類存在するが, 1つは76残基(1-76)から成る生物学的活性を有するタイプであり, もう1つは71残基(6-76)から成る活性を有しないタイプである。後者は通常のケモカインの作用である遊走活性に対してむしろ抑制的に働くと考えられている²⁰⁾。しかしCCL8の生体内における機能に関しては, 他のケモカインと比較しても解明されていない点が多く, 報告も少ない。

ケモカイン-ケモカインレセプターの相互作用とGVHDとの関連についての報告はこれまでもいくつか見られており, CCL2-CCR2, CCL3-, CCL4-, CCL5-CCR5, CXCL9-, CXCL10-, CXCL11-CXCR3などのケモカイン-ケモカインレセプターの反応がGVHDにおけるドナーT細胞の遊走活性に関与することが示されてきた²¹⁻²⁴⁾。一方, CCL8についてはCCR2とCCR5のリガンドであるにもかかわらず, これらの報告では全く言及されていない。CCL8とGVHDに関してはマウスの皮膚GVHDにおいてCCL8の遺伝子レベルでの発現が上昇するという報告のみである²⁵⁾。

GVHDはアロ応答性ドナーT細胞が宿主由来のAPCsによって抗原提示され, 活性化されることでその反応が開始する¹³⁾。最も効率よくナイーブT細胞を活性化することができるプロフェッショナルAPCsはDCsであり, そのDCsは成熟することにより抗原提示能を発揮する。CCL8はDCsが成熟することで分泌されるケモカインの1種でも

あるので, この過程は今回我々が示したGVHDの際にCCL8の産生が亢進することを裏付けてもいる。また前述した3段階のGVHD発症機序(図1)¹⁾においては, CCL8が第2相に関与していると推測することができる。

今回感度, 特異度ともに100%であったCCL8に着目し研究を進めたが, 感度, 特異度が100%以下ではあるがマーカー候補の可能性のある未同定の分子もいくつか検出されている。ただこれらの分子はGVHD自体ではなく, その付帯現象の過程で産まれた, いわゆる急性期蛋白などである可能性が高い。病態のより根源的な段階で関与している可能性の高い分子は, 今回示したCCL8のように高いdiscriminatory powerをもって検出されるべきである。

GVHDの発症には様々なケモカインやサイトカイン等の相互作用が関与していると考えられており, その詳細はまだまだ不明な点が多いが, 我々の結果からCCL8はこれらの複雑な相互作用において非常に重要で, かつ中心的な役割を担っていると考えられる。

8 今後の展望

CCL8がGVHDの診断マーカーとして臨床応用されるためには, 今回の研究ではまだ少人数でのデータであるため, まず大規模な母集団での臨床的検討が必要であり, これにより特に移植後に起こり得る様々な合併症との鑑別診断能力を評価しなければならない。これらの検討によりマーカーとして確立されれば, 非侵襲的かつ客観的な早期診断法になり得るだけでなく, 重症度との関連も示されているため治療の効果判定に応用することも可能となる。GVHD治療は免疫抑制剤開始のタイミングのみならず, その減量や中止の判断も主治医の経験に依るところが大きいため, マーカーの存在意義は非常に大きい。またCCL8のGVHD発症の機序への関与の解明も重要であると考えられる。CCL8のGVHDにおける役割を明らかにすることは, CCL8を標的分子とする新たな治療薬開発の可能性を拓けることにもなり, 今後のGVHD診療に大きく貢献すると考えられる。

9 おわりに

同種造血幹細胞移植は近年移植ソースの選択肢が増えたこと, 骨髄非破壊の前処置が導入されたことなどによりますます多様化してきており, これに伴いGVHDの発症パターンの多様化も見られてきている。したがって今後のGVHD治療は, 患者個別にマーカーをモニタリングしながら免疫抑制の程度を調節してゆくような, いわゆるテーラーメイド医療が必要となってくるであろう。またこのようなGVHD診療の進歩は移植成績自体の向上と造血幹細胞移植の適応の拡大にもつながると考えられる。

参考文献

1. Ferrara JL, Reddy P. Pathophysiology of graft-versus-host

- disease. *Semin Hematol* 2006; 43: 3-10.
2. Sullivan KM. Graft vs. host disease. In: Blume KG, Forman SJ, Appelbaum FR, eds. *Thomas' Hematopoietic Cell Transplantation*. 3rd ed. Malden, MA: Blackwell Publishing; 2004. p.635-664.
 3. Grimm J, Zeller W, Zander AR. Soluble interleukin-2 receptor serum levels after allogeneic bone marrow transplantations as a marker for GVHD. *Bone Marrow Transplant* 1998; 21: 29-32.
 4. Kami M, Matsumura T, Tanaka Y, Mikami Y, Miyakoshi S, Ueyama J, Morinaga S, Mori S, Machida U, Kanda Y, Chiba S, Sakamaki H, Hirai H, Muto Y. Serum levels of soluble interleukin-2 receptor after bone marrow transplantation: a true marker of acute graft-versus-host disease. *Leuk Lymphoma* 2000; 38: 533-540.
 5. Hill GR, Teshima T, Gerbitz A, Pan L, Cooke KR, Brinson YS, Crawford JM, Ferrara JL. Differential roles of IL-1 and TNF-alpha on graft-versus-host disease and graft versus leukemia. *J Clin Invest* 1999; 104: 459-467.
 6. Liem LM, van Houwelingen HC, Goulmy E. Serum cytokine levels after HLA-identical bone marrow transplantation. *Transplantation* 1998; 66: 863-891.
 7. Petricoin EF, Ardekani AM, Hitt BA, Levine PJ, Fusaro VA, Steinberg SM, Mills GB, Simone C, Fishman DA, Kohn EC, Liotta LA. Use of proteomic patterns in serum to identify ovarian cancer. *Lancet* 2002; 359: 572-577.
 8. Li J, Orlandi R, White CN, Rosenzweig J, Zhao J, Seregini E, Morelli D, Yu Y, Meng XY, Zhang Z, Davidson NE, Fung ET, Chan DW. Independent validation of candidate breast cancer serum biomarkers identified by mass spectrometry. *Clin Chem* 2005; 51: 2229-2235.
 9. Sundsten T, Eberhardson M, Goransson M, Bergsten P. The use of proteomics in identifying differentially expressed serum proteins in humans with type 2 diabetes. *Proteome Sci* 2006; 4: 22-31.
 10. Kaiser T, Kamal H, Rank A, Kolb HJ, Holler E, Ganser A, Hertenstein B, Mischak H, Weissinger EM. Proteomics applied to the clinical follow-up of patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 2004; 104: 340-349.
 11. Wang H, Clouthier SG, Galchev V, Misek DE, Duffner U, Min CK, Zhao R, Tra J, Omenn GS, Ferrara JL, Hanash SM. Intact-protein-based high-resolution three-dimensional quantitative analysis system for proteome profiling of biological fluids. *Mol Cell Proteomics* 2005; 4: 618-625.
 12. Weissinger EM, Schiffer E, Hertenstein B, Ferrara JL, Holler E, Stadler M, Kolb HJ, Zander A, Zürbig P, Kellmann M, Ganser A. Proteomic patterns predict acute graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 2007; 109: 5511-5519.
 13. Shlomchik WD, Couzens MS, Tang CB, McNiff J, Robert ME, Liu J, Shlomchik MJ, Emerson SG. Prevention of graft versus host disease by inactivation of host antigen-presenting cells. *Science* 1999; 285: 412-415.
 14. Teshima T, Ordemann R, Reddy P, Gagin S, Liu C, Cooke KR, Ferrara JL. Acute graft-versus-host disease does not require alloantigen expression on host epithelium. *Nat Med* 2002 Jun; 8: 575-581.
 15. Tsukasa Hori, Yasuyoshi Naishiro, Hitoshi Sohma, Nobuhiro Suzuki, Naoki Hatakeyama, Masaki Yamamoto, Tomoko Sonoda, Yuka Mizue, Kohzo Imai, Hiroyuki Tsutsumi, Yasuo Kokai. CCL8 is a potential molecular candidate for the diagnosis of graft versus host disease. *Blood* 2008; 111: 4403-4412.
 16. Moser B, Wolf M, Walz A, Loetscher P. Chemokines: multiple levels of leukocyte migration control. *Trends Immunol* 2004; 25: 75-84.
 17. Rollins BJ. Chemokines. *Blood* 1997; 90: 909-928.
 18. Van Coillie E, Van Damme J, Opdenakker G. The MCP/eotaxin subfamily of CC chemokines. *Cytokine Growth Factor Rev* 1999; 10: 61-86.
 19. Wain JH, Kirby JA, Ali S. Leucocyte chemotaxis: Examination of mitogen-activated protein kinase and phosphoinositide 3-kinase activation by Monocyte Chemoattractant Proteins-1, -2, -3 and -4. *Clin Exp Immunol* 2002; 127: 436-444.
 20. Proost P, Struyf S, Couvreur M, Lenaerts JP, Conings R, Menten P, Verhaert P, Wuyts A, Van Damme J. Posttranslational modifications affect the activity of the human monocyte chemotactic proteins MCP-1 and MCP-2: identification of MCP-2(6-76) as a natural chemokine inhibitor. *J Immunol* 1998; 160: 4034-4041.
 21. Wysocki CA, Panoskaltis-Mortari A, Blazar BR, Serody JS. Leukocyte migration and graft-versus-host disease. *Blood* 2005; 105: 4191-4199.
 22. Terwey TH, Kim TD, Kochman AA, et al. CCR2 is required for CD8-induced graft-versus-host disease. *Blood* 2005; 106: 3322-3330.
 23. Murai M, Yoneyama H, Harada A, et al. Active participation of CCR5(+)CD8(+) T lymphocytes in the pathogenesis of liver injury in graft-versus-host disease. *J Clin Invest* 1999; 104: 49-57.
 24. Murai M, Yoneyama H, Ezaki T, et al. Peyer's patch is the essential site in initiating murine acute and lethal graft-versus-host reaction. *Nat Immunol* 2003; 4: 154-160.
 25. Sugerman PB, Faber SB, Willis LM, et al. Kinetics of gene expression in murine cutaneous graft-versus-host disease. *Am J Pathol* 2004; 164: 2189-2202.

別刷請求先：

〒060-8543 札幌市中央区南1条西16丁目
札幌医科大学医学部小児科学講座
TEL：011-611-2111 (内線3413)
FAX：011-611-0352