

学位論文（博士）

Bronchial structural changes analyzed  
with three-dimensional computed tomography correlate  
with severe acute graft-versus-host disease  
after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation  
(三次元コンピューター断層撮影による  
気管支の構造変化と同種造血幹細胞移植後の  
重症急性移植片対宿主病との関連性)

氏名 藤岡 侑香

所属 山口大学大学院医学系研究科

医学専攻 病態制御内科学講座

令和 7 年 1 月

## 目 次

|                    |    |
|--------------------|----|
| 1. 要旨 . . . . .    | 3  |
| 2. 研究の背景 . . . . . | 4  |
| 3. 目的 . . . . .    | 7  |
| 4. 方法 . . . . .    | 7  |
| (1) 対象 . . . . .   | 7  |
| (2) 方法 . . . . .   | 8  |
| (3) 解析 . . . . .   | 10 |
| 5. 結果 . . . . .    | 11 |
| 6. 考察 . . . . .    | 26 |
| 7. 結語 . . . . .    | 30 |
| 8. 謝辞 . . . . .    | 30 |
| 9. 参考文献 . . . . .  | 31 |

## 1. 要旨

背景と目的: 同種造血幹細胞移植は血液悪性腫瘍において唯一の根治的治療となり得るが、その治療強度の高さから治療関連死亡率も高い。急性移植片対宿主病（急性 GVHD）は移植後早期に起こる合併症であり、時に重篤な経過となり死亡率の上昇に寄与する。急性 GVHD を予測するバイオマーカーは複数報告されているが、一般臨床では測定が困難であることが多く日常診療において活用しづらいのが現状である。近年、3次元コンピューター断層撮影法（3D-CT）とその専用ソフトウェアによる解析が広く利用されており、移植後合併症との関連も報告されている。急性 GVHD のマーカーとしての 3D-CT 気管支解析の有用性を検討した。

対象と方法: 当院で 2016 年から 2020 年に初回同種造血幹細胞移植を行った 55 名の患者を後方視的に解析した。3D-CT 解析を用いて第 3-5 世代気管支の気道内腔面積（Ai）、壁面積（WA）、壁厚（WT）を測定し、各値は体表面積（BSA）に応じて調整した。好中球生着時の値と移植前処置前の値の比（好中球生着時の値 / 移植前処置前の値）を評価した。

結果: 全コホートにおいて、Ai/BSA は狭窄し、WA/BSA は増大し、WT/BSA は肥厚した。全コホートにおける Grade II-IV 急性 GVHD の累積発生率は 24%であった。第 4 気管支における好中球生着時の WA/BSA と移植前処置前の

WA4/BSA の比は、grade II–IV 急性 GVHD を発症した患者は grade 0–I 急性 GVHD の患者と比較して有意に低下した (0.99 vs. 1.08,  $P < 0.01$ )。WA4/BSA 比  $< 0.955$  の患者群は、grade II–IV 急性 GVHD の発生率が有意に上昇した ( $< 0.955$ : 60% vs.  $\geq 0.955$ : 16%,  $P < 0.01$ )。

結論: 3D-CT 解析を用いて同種造血幹細胞移植後の好中球生着中の気管支構造変化を定量化した最初の研究であり、これらの変化は重症急性 GVHD の発生率と相関する。



## 2. 研究の背景

血液疾患患者において同種造血幹細胞移植（同種移植）は通常の化学療法では治療困難な患者でも根治的になり得る治療法である。大量化学療法や放射線照射などの移植前処置を移植の約 1 週間前より行い、ドナーから造血幹細胞を患者（レシピエント）に移植する。移植前処置により患者の造血・免疫系統は破壊されるが、ドナーの造血幹細胞が骨髄に定置化することで患者の造血・免疫能が回復することは生着と定義されている。

ドナーの T 細胞が患者の病原細胞を攻撃し抗腫瘍効果をもたらす一方、患者の病原細胞以外を攻撃する移植後合併症は移植片対宿主病（graft-versus-host disease, GVHD）と呼ばれる。発症時期によって急性と慢性に分類され、急性 GVHD は移植後 30-120 日と早期に発症し、皮膚や消化管、肝臓など様々な臓器に症状が出現する。重症度に応じて grade I から grade IV に分類され、全身治療を要するような重症と判断されるのは grade II 以上である。重症急性 GVHD は移植後の死亡率に関連することが報告されており [1]、早期発見と早期治療により生存率を向上させることが期待される。急性 GVHD に対するいくつかの有望なバイオマーカーが報告されているが [2-8]、これらのバイオマーカーは測定が困難であり、一般臨床において測定が限定的である。我々の以前の研究では、好中球生着時の T 細胞反応の大きさが重症急性 GVHD [9] や同種造血幹細胞移

植後の転帰 [10] を予測しており、好中球生着前後の免疫反応が同種造血幹細胞移植後の合併症や転帰に影響する可能性を示唆している。

また、同種造血幹細胞移植後の好中球生着期間中では、様々な炎症性サイトカインが放出され、これが生着症候群 [11] や生着前免疫反応 [12] などの生着周囲合併症の発症に関与している可能性がある。これらの合併症は、重症の場合は肺障害を併発し、移植周囲呼吸窮迫症候群と呼ばれる [13]。上記の生着周囲合併症は、急性 GVHD のリスク因子となる可能性があることが報告されている [14,15]。

近年、3次元コンピューター断層撮影法（3D-CT）が普及し、様々な臓器の詳細な構造を把握できるようになっている。さらに、その専用のソフトウェアを用いて臓器構造を自動で定量化することができる。我々は以前、肺泡一酸化窒素濃度が同種移植後の器質化肺炎と関連すること、肺泡一酸化窒素濃度が 3D-CT 解析を用いて測定された詳細な気管支構造と関連することを報告した [16]。これまでに報告された同種移植後のバイオマーカーは血液サンプルを用いたものが多かったが、我々の先行研究では 3D-CT 解析を用いて測定された詳細な気管支構造の所見も、同種移植後の合併症や転帰と関連する可能性が示唆された。

以上より、移植前処置前と好中球生着前後の 2 点における気管支構造の比較により、急性 GVHD 発症との関連性を検討することは有用と考えられる。

### 3. 目的

3D-CT による気管支解析により、同種移植後の移植前処置前から好中球生着期までの気管支構造が免疫反応やサイトカインなどの影響を受けて変化すること、またこれらの変化が急性 GVHD と関連するという仮説を基に検討した。

### 4. 方法

#### (1) 対象

2016 年 1 月から 2020 年 12 月に山口大学医学部附属病院で初回同種移植を受けた 16 歳以上の血液疾患患者 64 名を対象とした。急性 GVHD 発症後に生着時の CT 検査が施行された 4 名、移植前処置前および生着時に CT 検査が施行されていない 2 名、初回同種移植後に一次生着不全となった 1 名、初回同種移植後の二次生着不全により早期に二次移植を行い、急性 GVHD の評価ができなかった 1 名、著明な気管支内粘液栓のため正確な気道壁の測定ができなかった 1 名を除外し、55 名について解析を行った。HCT-CI (hematopoietic cell transplantation comorbidity index) は先行論文に基づいて評価した[17]。移植前処置に関して、骨髄破壊的処置 (myeloablative conditioning, MAC) と骨髄非破壊的処置 (reduced-intensity conditioning, RIC) は、既存の基準に沿って定義された[18]。

なお、本研究は当院の倫理審査委員会により承認され、ヘルシンキ宣言の倫理基準に従って実施した（承認番号：H2022-122）。

## **(2) 方法**

### **定義**

移植関連合併症の評価と転帰の定義 急性 GVHD および慢性 GVHD の診断は、臨床症状及び組織学的所見に基づき、重症度分類にはコンセンサス基準を用いた[19,20]。再発は基礎疾患が形態学的に確認された状態、非再発死亡(non-relapse Mortality, NRM)は寛解期における死亡と定義した。全生存期間（overall survival, OS）は、移植日から死亡または最終観察期間までと定義した。

### **気管支の 3D-CT 解析と肺機能検査**

気管支の 3D-CT 解析と肺機能検査 全ての患者は移植前処置前と移植後好中球生着前後で胸部 CT 検査を施行され、既報に沿って 3D-CT 解析を行った[21]。胸部 CT 検査は 64 列マルチスライス CT（64-slice multidetector CT, MDCT）を用いて、仰臥位で吸気時の条件で撮像した。専用ソフトウェア（SYNAPSE VINCENT; FUJIFILM, Tokyo, Japan）を用いて、MDCT 画像から 3D-CT 画像の気道樹を再構成した（Figure 1）。すべての気道は、機械学習により学習された気

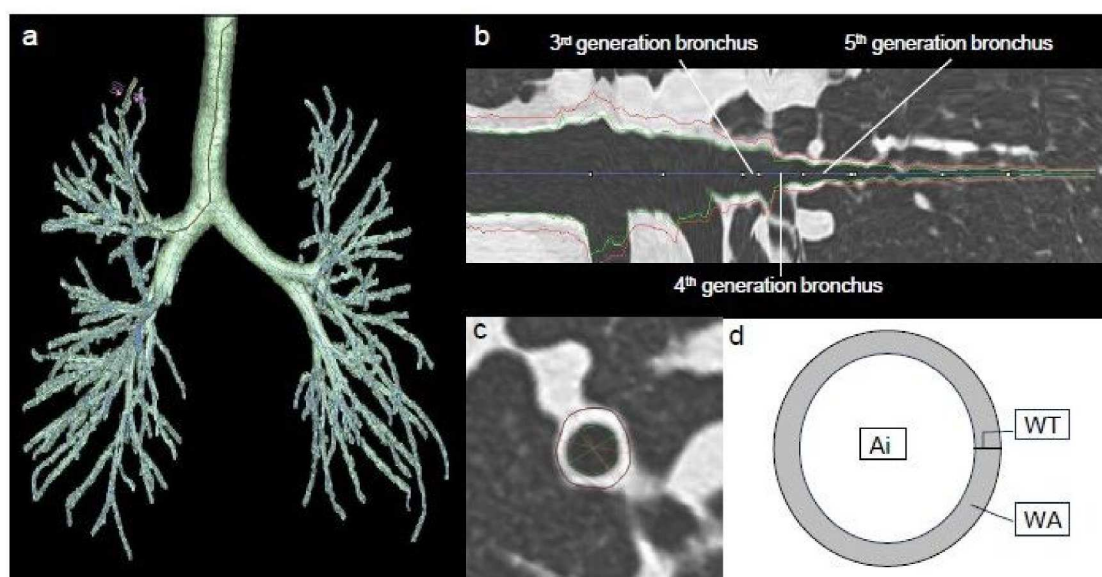
道分類によって検出された。検出された気道に基づき、最小全域木を用いて気道の中心線を構築し、グラフカット法を用いて気道の内側と外側の輪郭を自動抽出した (Figure 1a) [22]。気道輪郭の自動抽出中にエラーが発生した場合は、手動で修正した。気管支測定は、先行研究[21]に記載された方法に従って、右肺の6つの分節気管支 (B1, B2, B3, B8, B9, B10) で行った。右肺の他の文節気管支は無気肺、気管支虚脱、粘液分泌過多に関連する傾向があり、左肺は心臓の動きによる影響を受けやすいためそれぞれ除外した。選択した各気管支について、3段階の気道 (第3、第4、第5世代気管支) を同定した (Figure 1b)。

各気管支レベルの midpoint で、気管支の長軸に垂直な内腔面積 ( $A_i$ )、壁面積 ( $WA$ )、壁厚 ( $WT$ ) を自動で算出した。 $A_i$  は気管支内腔の面積、 $WA$  は気管支の外縁と内縁の間の面積、 $WT$  は外縁と内縁の平均距離と定義した (Figure 1c, 1d)。各世代気管支の  $A_i$ ,  $WA$ ,  $WT$  は6つの気管支の平均値として表した。

総気道数 (Total airway count, TAC) は3D-CT解析で再構成された気道樹から算出された。先行研究に則って、 $A_i$ ,  $WA$ ,  $WT$ , TAC は体表面積 (body surface area, BSA) で補正された[23,24]。さらに、 $A_i/BSA$ ,  $WA/BSA$ ,  $WT/BSA$ ,  $TAC/BSA$  の値について好中球生着時と移植前処置前の比を算出した (好中球生着時の値 / 移植前処置前の値)。

肺機能検査は、移植前に乾式ローリングシールスパイロメーター (CHESTAC-8800; Chest Co., Tokyo, Japan) で評価された。努力肺活量

(forced vital capacity, VC)、努力呼気 1 秒量 (forced expiratory volume in one second, FEV1.0)、一酸化炭素肺拡散能 (diffusing capacity for carbon monoxide, DLCO) は、先行研究で記載されたとおりに測定した[25]。



**Figure 1** 移植前処置前と好中球生着期の気管支の 3D-CT 解析

a) 3D-CT 解析により再構成した気道樹の画像。b) 再設定された気管支の長軸像。c) 第 3-5 世代気管支の短軸像。赤線と緑線はそれぞれ気管支壁の外縁と内縁を形成している。d) 気管支短軸像のイメージ図。気管支内腔面積 (Ai) は気管支の内腔の面積、気管支壁面積 (WA) は気管支の外縁と内縁の間、気管支壁厚 (WT) は外縁と内縁の距離の平均と定義される。

## (2) 解析

2 群間の比較には、名義変数は Fisher の正確検定、連続変数は Mann-Whitney U 検定を用いた。Youden J index を用いて最適な cut-off 値を決定するために受信者動作特性試験 (receiver Operating Characteristic, ROC) 曲線を使用し、ROC 曲線下面積 (Area Under the Curve, AUC) を算出して指標の性能を検討した。急性および慢性 GVHD の累積発生率は Gray 検定を用いて算出し、各イベントを伴わない再発または死亡を競合リスクとみなした。再発及び NRM の発生率も Gray 検定を用いて算出し、互いを競合リスク関係にあることを考慮した。Spearman の順位相関分析を用いて WA4/BSA の比と Ai4/BSA の比の相関を評価した。OS の単変量比較には、Kaplan-Meier 法と log-rank 検定を用いた。P 値が 0.05 未満である場合に統計的に有意と判定した。すべての統計解析には、生物統計学で頻繁に使用される統計関数用に設定された R commander の改良版である EZR (Version 1.52 : 自治医科大学附属さいたま医療センター、日本、埼玉県) を用いた[26]。

## 5. 結果

### 患者の特徴

55 名の患者が解析の対象となった。患者と移植前情報について Table 1 に示し

ている。34名は骨髄系悪性腫瘍として群別され、急性骨髄性白血病が20名、骨髄異形成症候群が10名、慢性骨髄性白血病が2名、原発性骨髄繊維症と骨髄肉腫がそれぞれ1名であった。残りの21名はその他の疾患として群別され、急性リンパ芽球性白血病が12名、悪性リンパ腫と成人T細胞白血病リンパ腫がそれぞれ3名、再生不良性貧血が2名、混合形質性急性白血病が1名であった。2名が血縁間、21名が非血縁間骨髄移植を行った。12名が血縁間、4名が非血縁間で末梢血幹細胞移植を行った。16名が臍帯血移植を行った。



**Table 1** 患者の特徴

| Table 1 Patient and transplantation characteristics |                     |                                  |                                  |         |
|-----------------------------------------------------|---------------------|----------------------------------|----------------------------------|---------|
|                                                     | Total<br>N=55       | WA4/BSA ratio*<br>< 0.955 (N=10) | WA4/BSA ratio*<br>≥ 0.955 (N=45) | P value |
| <b>Age at HSCT</b>                                  |                     |                                  |                                  |         |
| Median years (range)                                | 50 (16–64)          | 39 (18–64)                       | 52 (16–64)                       | 0.48    |
| <40                                                 | 18                  | 6                                | 12                               | 0.06    |
| ≥40                                                 | 37                  | 4                                | 33                               |         |
| <b>Sex</b>                                          |                     |                                  |                                  |         |
| Male                                                | 27                  | 6                                | 21                               | 0.50    |
| Female                                              | 28                  | 4                                | 24                               |         |
| <b>Performance status at HSCT</b>                   |                     |                                  |                                  |         |
| 0                                                   | 34                  | 8                                | 26                               | 0.29    |
| 1–4                                                 | 21                  | 2                                | 19                               |         |
| <b>Diagnosis</b>                                    |                     |                                  |                                  |         |
| Myeloid neoplasms                                   | 33                  | 5                                | 28                               | 0.50    |
| Other diseases                                      | 22                  | 5                                | 17                               |         |
| <b>HCT-CI</b>                                       |                     |                                  |                                  |         |
| 0                                                   | 41                  | 6                                | 35                               |         |
| ≥ 1                                                 | 14                  | 4                                | 10                               | 0.26    |
| <b>Disease status at HSCT</b>                       |                     |                                  |                                  |         |
| Complete remission                                  | 38                  | 6                                | 32                               | 0.48    |
| Non remission                                       | 17                  | 4                                | 13                               |         |
| <b>Stem cell source</b>                             |                     |                                  |                                  |         |
| Bone marrow transplantation                         | 23                  | 4                                | 19                               | 0.22    |
| Peripheral blood stem cell transplantation          | 16                  | 5                                | 11                               |         |
| Cord blood transplantation                          | 16                  | 1                                | 15                               |         |
| <b>ABO matching between patient and donor</b>       |                     |                                  |                                  |         |
| Matched                                             | 34                  | 8                                | 26                               | 0.29    |
| Mismatch                                            | 21                  | 2                                | 19                               |         |
| <b>Sex matching between patient and donor</b>       |                     |                                  |                                  |         |
| Matched or male to female                           | 45                  | 7                                | 38                               | 0.37    |
| Female to male                                      | 10                  | 3                                | 7                                |         |
| <b>Conditioning intensity</b>                       |                     |                                  |                                  |         |
| Myeloablative conditioning                          | 26                  | 3                                | 23                               | 0.30    |
| Reduced intensity conditioning                      | 29                  | 7                                | 22                               |         |
| <b>GVHD prophylaxis</b>                             |                     |                                  |                                  |         |
| Cyclosporine-based                                  | 16                  | 4                                | 12                               | 0.45    |
| Tacrolimus-based                                    | 39                  | 6                                | 33                               |         |
| <b>Pulmonary function tests</b>                     |                     |                                  |                                  |         |
| Median %DLCO (range)                                | 62.6 (42.2–133.3)   | 67.10 (53.40–87.70)              | 62.10 (42.20–133.30)             | 0.29    |
| Median %FEV1.0 (range)                              | 96.2 (52.3–122.4)   | 93.25 (52.30–102.00)             | 99.25 (70.80–122.40)             | 0.06    |
| Median %VC (range)                                  | 98.35 (71.1–121.8)  | 91.75 (76.90–121.80)             | 101.20 (71.10–119.00)            | 0.05    |
| Median FEV1.0% (range)                              | 80.51 (50.82–98.39) | 82.58 (50.82–93.42)              | 80.51 (61.07–98.39)              | 0.96    |
| <b>Acute GVHD</b>                                   |                     |                                  |                                  |         |
| None                                                | 26                  | 2                                | 24                               |         |
| Grade I                                             | 14                  | 2                                | 12                               |         |
| Grade II                                            | 14                  | 6                                | 8                                |         |
| Grade III                                           | 0                   | 0                                | 0                                |         |
| Grade IV                                            | 0                   | 0                                | 0                                |         |
| Unknown                                             | 1                   | 0                                | 1                                |         |
| <b>Chronic GVHD</b>                                 |                     |                                  |                                  |         |
| None                                                | 20                  | 2                                | 18                               |         |
| Mild                                                | 13                  | 5                                | 8                                |         |
| Severe                                              | 4                   | 1                                | 3                                |         |
| Unknown                                             | 4                   | 1                                | 3                                |         |

値は指定しない限り、数値として表示する

BSA, body surface area; DLCO, diffusing capacity of the lung for carbon monoxide;

FEV1.0, forced expiratory volume in one second; GVHD, graft-versus-host disease; HCT-CI, hematopoietic cell transplantation-specific comorbidity Index; HSCT, hematopoietic stem cell transplantation; VC, vital capacity; WA, airway wall area.

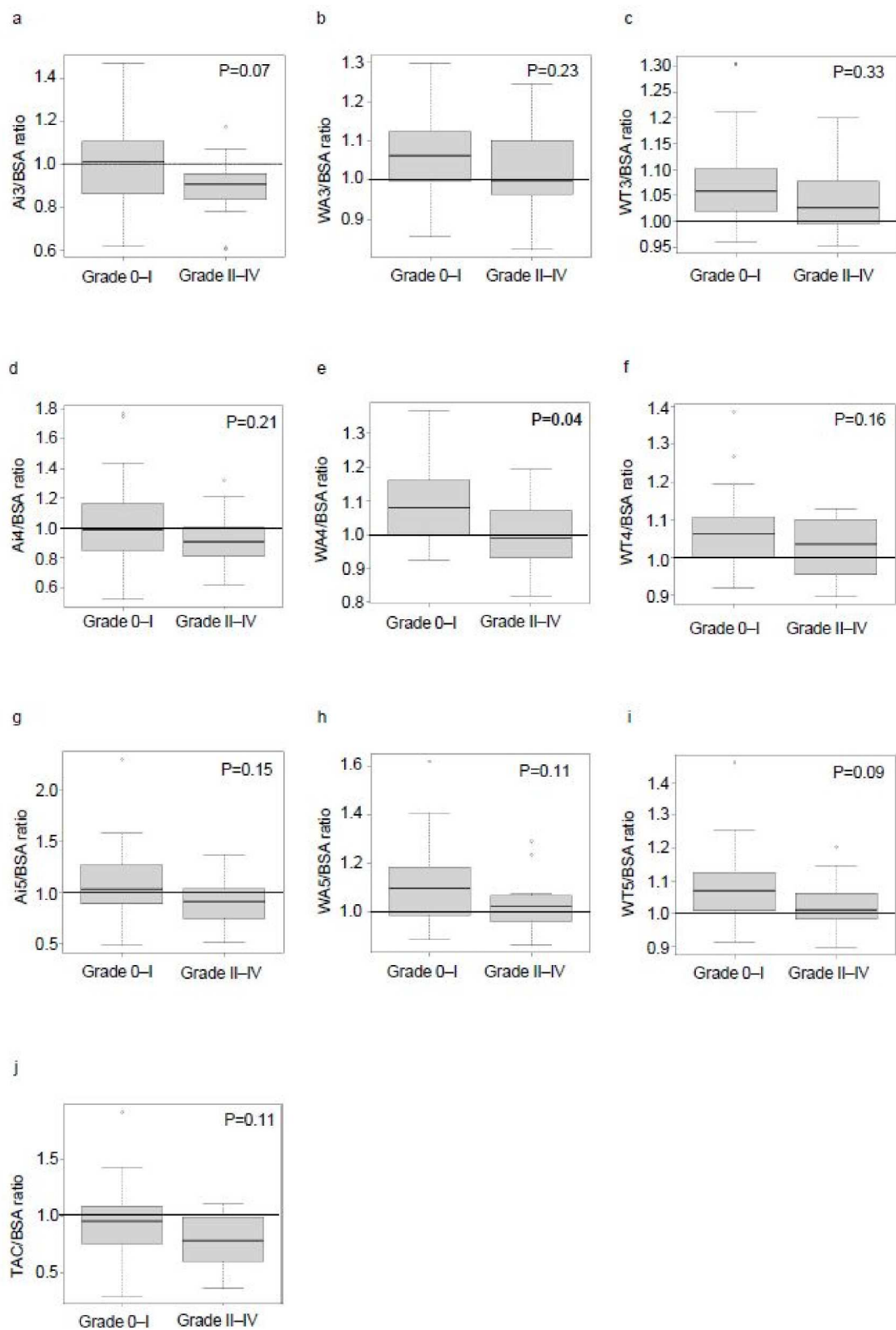
\*WA4/BSA ratio indicates the ratio of WA/BSA at neutrophil engraftment to that of pre-conditioning in the fourth-generation bronchi.

#### 移植前処置前から好中球生着までの気管支壁の変化

好中球生着時と移植前処置前の Ai/BSA, WA/BSA, WT/BSA の値の比が算出された。第 3 世代気管支では、Ai3/BSA, WA3/BSA, WT3/BSA の中央値はそれぞれ 0.985 (range, 0.606–1.473), 1.056 (range, 0.823–1.298), 1.058 (range, 0.952–1.305)であった。第 4 世代気管支では、Ai4/BSA, WA4/BSA, WT4/BSA の中央値はそれぞれ 0.976 (range, 0.522–1.772), 1.066 (range, 0.897–1.062), and 1.060 (range, 0.819–1.367)であった。第 5 世代気管支では、Ai5/BSA, WA5/BSA, WT5/BSA の中央値はそれぞれ 0.995 (range, 0.48–2.305), 1.057 (range, 0.862–1.619), and 1.068 (range, 0.896–1.462)であった。それぞれの世代気管支において、移植前処置前から好中球生着時にかけて Ai/BSA は狭小、WA/BSA は増大、WT/BSA は肥厚した。好中球生着時と移植前処置前の TAC/BSA の中央値の比は 0.877 (range, 0.229–1.923)であり、移植前処置前から好中球生着時にかけて減少した。

## 気管支の変化と急性 GVHD の関係

移植後 120 日における grade II–IV 急性 GVHD の累積発生率は 23.6% (95% confidence interval [CI]: 13.4–35.4%)であり、発症の中央値は 31 日(range, 15–66)であった。第 3-5 気管支の Ai/BSA, WA/BSA, WT/BSA と TAC/BSA の好中球生着時と移植前処置前の中央値の比は、grade II–IV 急性 GVHD 発症の有無で群別された。第 4 気管支では、grade II–IV 急性 GVHD 発症患者の Ai4/BSA の中央値の比は、grade 0–I 急性 GVHD 患者よりも低い傾向であった (0.909 vs. 0.99,  $P = 0.21$ ; Figure 2d)。grade II–IV 急性 GVHD 発症患者の WA4/BSA の中央値の比は、grade 0–I 急性 GVHD 患者よりも有意に低下していた (0.99 vs. 1.08,  $P = 0.04$ ; Figure 2e)。対照的に、grade II–IV 急性 GVHD 発症患者の WT4/BSA の中央値の比は有意な違いはなかった (1.036 vs. 1.064,  $P = 0.16$ ; Figure 2f)。第 3 気管支、第 5 気管支の Ai/BSA, WA/BSA, WT/BSA の中央値の比は、grade II–IV 急性 GVHD の有無で有意な差を認めなかったが (Figure 2a-c, g-i)、それぞれの気管支におけるこれらの値の傾向は類似していた。TAC/BSA の中央値の比は、grade II–IV 急性 GVHD 発症患者の方がより低い傾向であったが、統計学的な有意差はなかった (Figure 2j)。



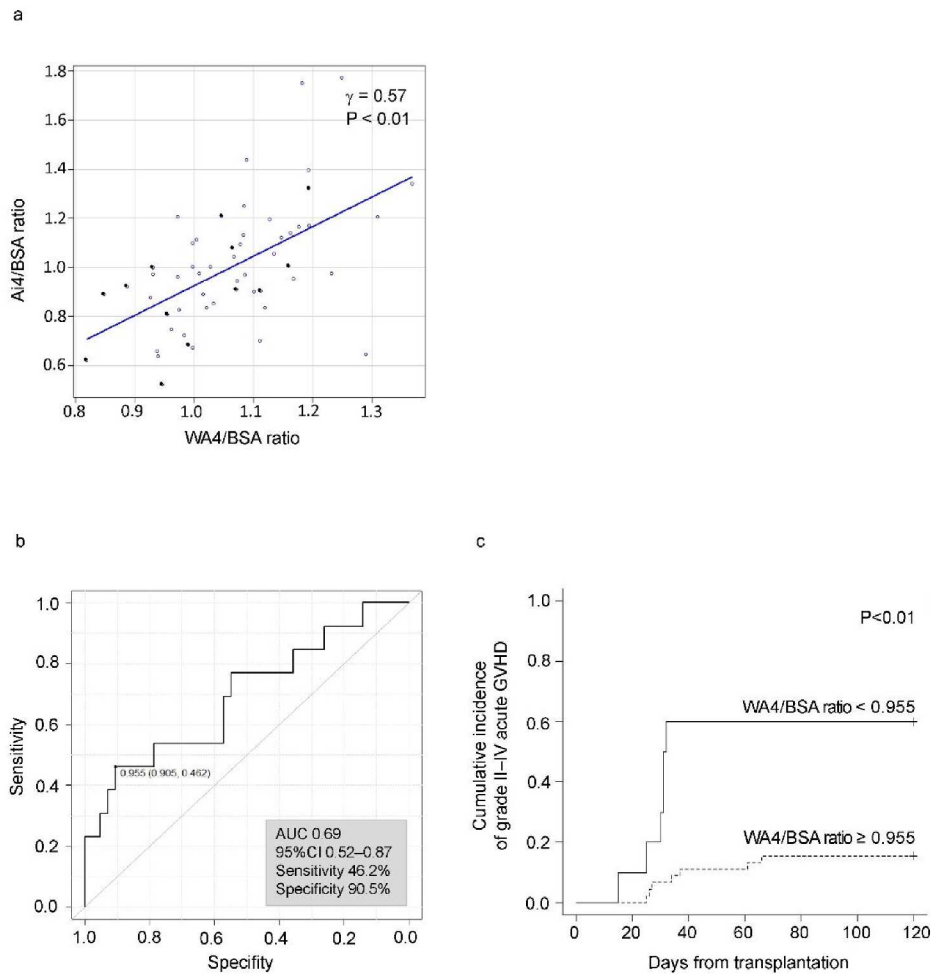
**Figure 2** 移植前処置前から好中球生着時の第 3-5 世代気管支壁の変化や総気管支数(total airway count, TAC)と、grade 0-I 急性 GVHD と grade II-IV 急性 GVHD に群別した患者の関係。

第 3 気管支における a) 移植前処置前と好中球生着時の  $Ai3/BSA$  の比、b)  $WA3/BSA$  の比、c)  $WT3/BSA$  の比。第 4 気管支における d)  $Ai4/BSA$  の比、e)  $WA4/BSA$  の比、f)  $WT4/BSA$  の比。第 5 気管支における g)  $Ai5/BSA$  の比、h)  $WA5/BSA$  の比、i)  $WT5/BSA$  の比。j)  $TAC/BSA$  の比

#### 第 4 気管支の壁面積と急性 GVHD との関連

私たちは第 4 気管支の変化に着目した。移植前処置前と好中球生着時の  $WA4/BSA$  の比は、 $Ai4/BSA$  の比と有意に相関していた( $\gamma = 0.57$ ,  $P < 0.01$ , Figure 3a)。Grade II-IV 急性 GVHD の患者と grade 0-I 急性 GVHD の患者の相関はそれぞれ  $\gamma = 0.60$  ( $P = 0.03$ ),  $\gamma = 0.52$  ( $P < 0.01$ )と有意差を認めた。ROC 解析は移植後に grade II-IV 急性 GVHD を発症する  $WA4/BSA$  の比の値を評価するために施行された。曲線下面積は 0.69 (95%CI, 0.52-0.87)であり、移植前処置前から好中球生着時の  $WA4/BSA$  の比の値は grade II-IV 急性 GVHD を予測するのに不足ないと判断した。ROC 解析により、 $WA4/BSA$  の比は 0.955 と定義され、感度 46.2%、特異度 90.5%であった(Figure 3b)。  $WA4/BSA$  の比の値をこの cut-off 値を

用いて患者を群別し、10 人が WA4/BSA の比  $< 0.955$ 、45 人が WA4/BSA の比  $\geq 0.955$  であった (Table 1)。WA4/BSA の比を cut-off 値で群別して患者の特徴や移植の情報、移植前の呼吸機能検査と関連するか単変量解析を用いて評価したが、2 つのグループに有意な差はなかった (Table 1)。Spitzer の基準 [27] では ES を発症した患者は 1 人のみであり、WA4/BSA の比と ES に有意な関連はなかった。Grade II–IV 急性 GVHD の累積発生率は WA4/BSA の比の値が 0.955 未満か以上かで群別した。WA4/BSA の比  $< 0.955$  の患者は、 $\geq 0.955$  の患者と比較して grade II–IV 急性 GVHD の発生率が有意に高かった (Figure 3c and Table 2; Hazard ratio, 5.7; 95% CI, 1.9–16.9)。加えて、患者の特徴や移植情報が grade II–IV 急性 GVHD の発生率に影響しているか解析した。WA4/BSA の比の cut off 値以外では、単変量解析では grade II–IV 急性 GVHD の発症と患者の特徴や移植の情報の間で有意な差はなかった (Table 2)。さらに、好中球生着時の CT 撮像日における白血球数、血小板数、血清アルブミン、乳酸脱水素酵素 (lactate dehydrogenase, LDH)、クレアチニン、C 反応性蛋白 (C-reactive protein, CRP) などの血液検査の結果と、grade II–IV 急性 GVHD や WA4/BSA の比が関連するか解析したが、どちらも有意な関連はなかった (Figure S1 and Figure S2)。



**Figure 3** 移植前処置前と好中球生着時における第4気管支 WA4/BSA の比と grade II-IV 急性 GVHD との関係。

a) 好中球生着時と移植前処置前の WA4/BSA の比と気道内腔面積 (Ai)4/BSA の比の相関。白丸は grade 0-I 急性 GVHD の患者、黒丸は grade II-IV 急性 GVHD の患者を表す。最もよく適合する回帰線が示されている。b) WA4/BSA 比の受信者動作特性 (ROC) 曲線。Youden の J 統計量を使用して grade II-IV 急性

GVHDを予測するための cut-off 値、特異度と感度 (%)、および ROC 曲線下面積 (AUC) と 95% 信頼区間 (CI) が示されている。c) grade II–IV 急性 GVHD の累積発生率は、WA4/BSA の比の cut-off 値 0.955 を使用して層別化されている。



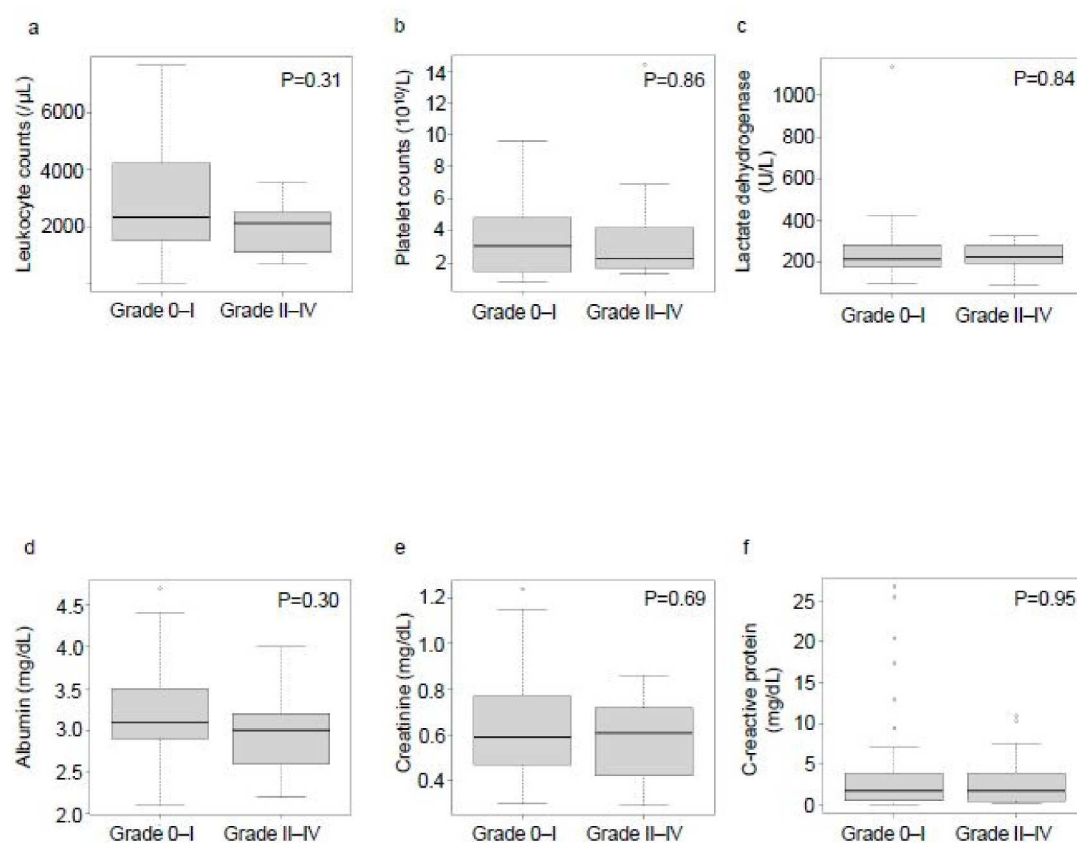
**Table 2** 移植後 120 日後までの grade II–IV 急性 GVHD の累積発生率に影響した

因子の単変量解析 (N = 55)

|                                               | Cumulative incidence (%)<br>(95% CI) | P value |
|-----------------------------------------------|--------------------------------------|---------|
| <b>WA4/BSA ratio*</b>                         |                                      |         |
| < 0.955                                       | 60 (25–83)                           | < 0.01  |
| ≥ 0.955                                       | 16 (7–28)                            |         |
| <b>Age at HSCT (years)</b>                    |                                      |         |
| < 40                                          | 28 (10–49)                           | 0.58    |
| ≥ 40                                          | 22 (10–36)                           |         |
| <b>Sex</b>                                    |                                      |         |
| Male                                          | 22 (9–39)                            | 0.73    |
| Female                                        | 25 (11–42)                           |         |
| <b>Days from diagnosis to HSCT</b>            |                                      |         |
| < 183                                         | 28 (12–46)                           | 0.49    |
| ≥ 183                                         | 20 (8–36)                            |         |
| <b>Performance status at HSCT</b>             |                                      |         |
| 0                                             | 21 (9–35)                            | 0.60    |
| 1–4                                           | 29 (12–48)                           |         |
| <b>Diagnosis</b>                              |                                      |         |
| Myeloid neoplasms                             | 21 (9–35)                            | 0.49    |
| Other diseases                                | 29 (12–48)                           |         |
| <b>HCT-CI</b>                                 |                                      |         |
| 0                                             | 27 (15–41)                           | 0.34    |
| ≥ 1                                           | 14 (2–37)                            |         |
| <b>Disease status at HSCT</b>                 |                                      |         |
| Complete remission                            | 29 (16–44)                           | 0.18    |
| Non remission                                 | 12 (2–31)                            |         |
| <b>Stem cell source</b>                       |                                      |         |
| Bone marrow transplantation                   | 22 (8–40)                            | 0.19    |
| Peripheral blood stem cell transplantation    | 38 (15–60)                           |         |
| Cord blood transplantation                    | 13 (2–33)                            |         |
| <b>ABO matching between patient and donor</b> | 29 (15–45)                           | 0.17    |
| Matched                                       |                                      |         |
| Mismatch                                      | 14 (4–32)                            |         |
| <b>Sex matching between patient and donor</b> |                                      |         |
| Matched or male to female                     | 24 (13–38)                           | 0.81    |
| Female to male                                | 20 (3–48)                            |         |
| <b>Conditioning intensity</b>                 |                                      |         |
| Myeloablative conditioning                    | 31 (15–49)                           | 0.23    |
| Reduced intensity conditioning                | 17 (6–33)                            |         |
| <b>GVHD prophylaxis</b>                       |                                      |         |
| Cyclosporine-based                            | 31 (11–54)                           | 0.32    |
| Tacrolimus-based                              | 21 (10–34)                           |         |

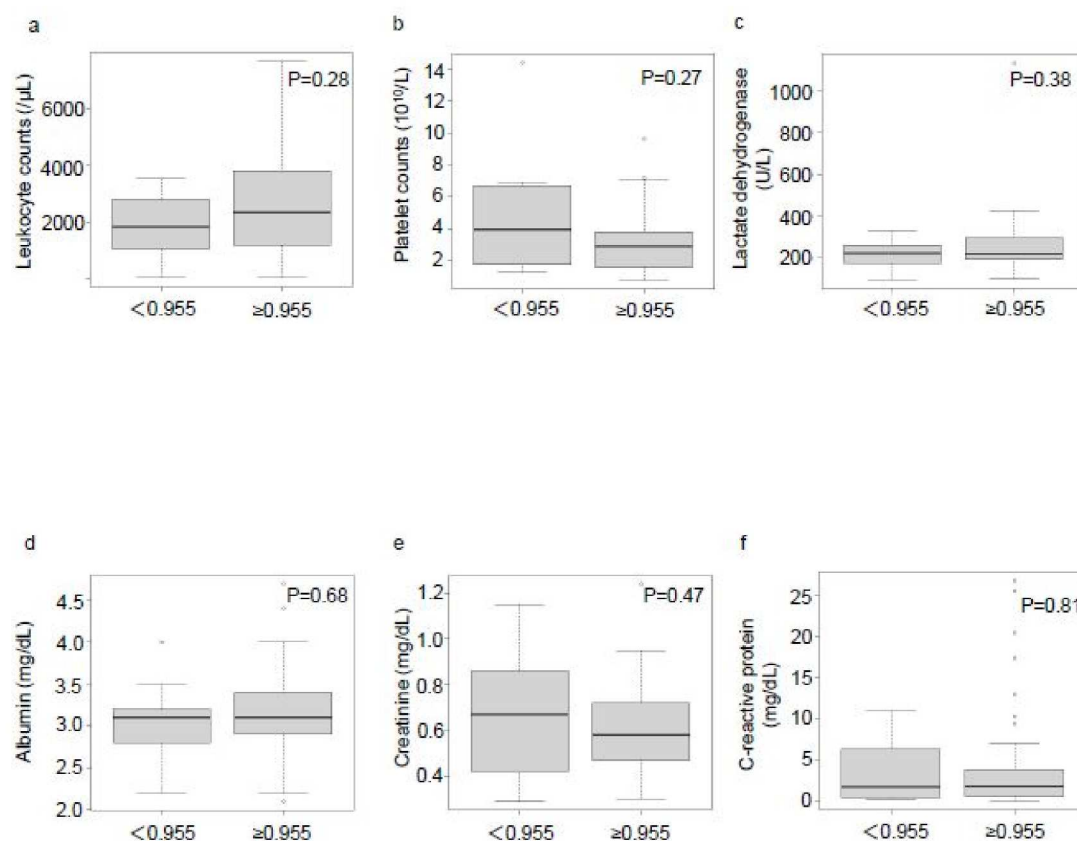
BSA, body surface area; CI, confidence interval; GVHD, graft-versus-host disease; HCT-CI, hematopoietic cell transplantation-specific comorbidity index; HSCT, hematopoietic stem cell transplantation; WA, airway wall area.

\*WA4/BSA ratio は、第4気管支における好中球生着時の WA/BSA の値を移植前処置前の値で割った比を表している。



**Fig. S1** 移植後の CT 検査時の血液検査結果と、grade 0-I 急性移植片対宿主病 (GVHD) および grade II-IV 急性 GVHD との関係。

a) 白血球数、b) 血小板数、c) 乳酸脱水素酵素、d) アルブミン、e) クレアチニン、f) C反応性タンパク質



**Fig. S2** 移植後の CT 撮影時の血液検査の結果と第 4 世代気管支における壁面積 (WA) 4/体表面積 (BSA) の比  $<0.955$  と  $\geq 0.955$  の関係。

a) 白血球数、b) 血小板数、c) 乳酸脱水素酵素、d) アルブミン、e) クレアチニン、f) C反応性タンパク質

WA4/BSA の変化と慢性 GVHD、再発、NRM、OS との関係

生存患者の追跡期間の中央値は、移植後 34.2 ヶ月 (range, 5.5–71.3)であった。患者は WA4/BSA の比が 0.955 で 2 群に群別された。中等症から重症の慢性 GVHD 患者の 2 年累積発生率は、2 群で類似していた (20.0% [95% CI, 3.1–47.5] vs. 29.3% [95% CI, 16.8–42.9],  $P = 0.55$ )。再発や非再発死亡の 2 年累積発生率も、それぞれ 2 群で類似していた ( $< 0.955$ : 30.0% [95% CI, 7.1–57.8] vs.  $\geq 0.955$ : 37.6% [95% CI, 20.4–54.8],  $P = 0.92$ ,  $< 0.955$ : 10.0% [95% CI, 0.6–35.8] vs.  $\geq 0.955$ : 9.3% [95% CI, 2.9–20.1],  $P = 0.93$ )。2 年 OS は、2 群で有意な差を認めなかった ( $< 0.955$ : 78.7% [95% CI, 38.1–94.3] vs.  $\geq 0.955$ : 56.8% [95% CI, 34.6–74.0],  $P = 0.49$ )。

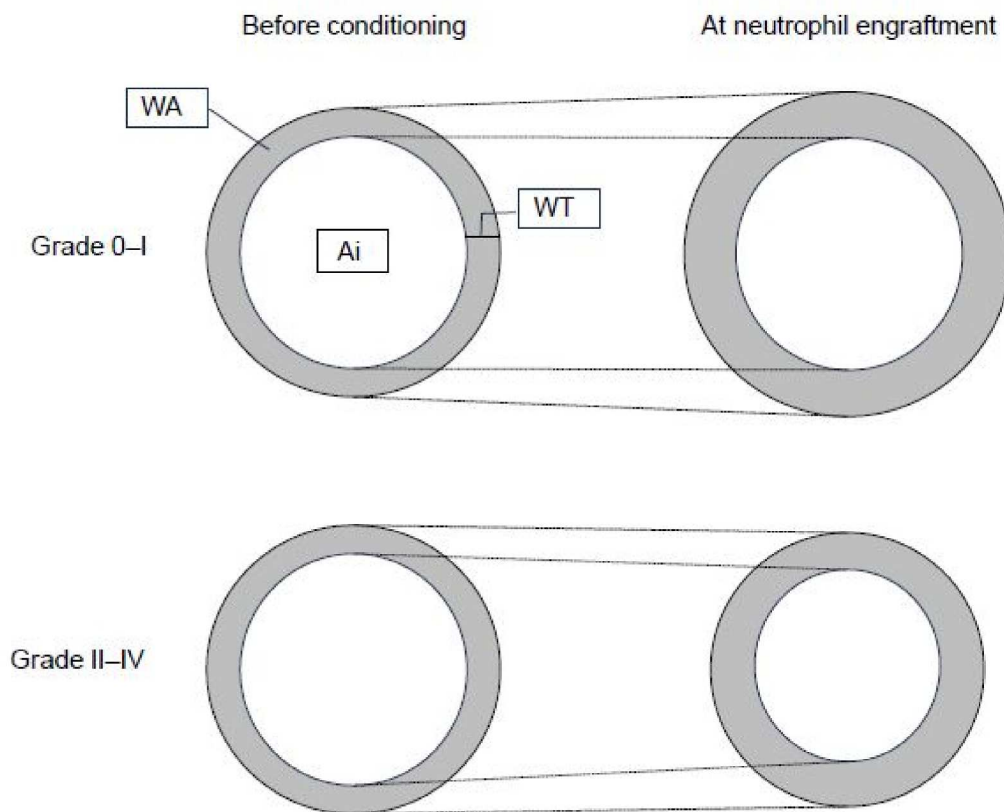
## 6. 考察

この研究により、以下の 2 つの新たな知見が明らかになった。1. 同種造血幹細胞移植後の好中球生着時における Ai、WA、WT、TAC などの気管支構造の変化を 3D-CT 解析により定量化できること。2. WA4/BSA の変化は、grade II–IV 急性 GVHD の発生率と関連していること。我々の知る限りでは、これは同種造血幹細胞移植後の好中球生着時の気管支構造の変化と呼吸器以外の臓器の合併症との相関関係を示した初めての報告である。

コホート全体では、同種造血幹細胞移植後の好中球生着時の値は移植前処置前の値と比較して、Ai/BSA が狭小化し、WA/BSA が増加し、WT/BSA が肥厚し、

TAC/BSA が減少した。これらの知見は、同種造血幹細胞移植後の好中球生着時に気管支構造が変化することを示唆している。移植後の好中球生着前後では、特発性肺炎症候群 [28]、びまん性肺胞出血 [29]、PERDS [30] などの非感染性急性肺障害が出現する可能性がある。これらの肺合併症は、前処置の毒性や炎症性サイトカイン、同種免疫反応によって誘発されると推察されており、同時に、好中球生着時の気管支構造の変化と関連していると思われる [28, 31]。

grade II–IV 急性 GVHD 患者では、移植前処置前から好中球生着時までで WA4/BSA の変化はなかった。対照的に、grade 0–I 急性 GVHD 患者では WA4/BSA が増大した。WA の変化は Ai と WT の変化と関連する。Ai4/BSA は grade II–IV 急性 GVHD 患者では狭小化する傾向があったのに対し grade 0–I 急性 GVHD 患者では変化がなく、WT4/BSA は両群で同様に肥厚した。そのため、grade 0–I 急性 GVHD 患者では、WT4/BSA が肥厚し Ai4/BSA は変化がなく、そのため WA4/BSA が増大したと考える。一方で、grade II–IV 急性 GVHD 患者では、WT4/BSA は肥厚し Ai4/BSA が狭小化したため、WA4/BSA に変化はなかった (Figure 4)。実際に、WA4/BSA の変化は Ai4/BSA の変化と相関していた (Figure 3a)。



**Figure 4** Grade 0-I および grade II-IV の急性 GVHD 患者の前処置前および好中球移植時の第 4 世代気管支の短軸像の図解。Ai は気道内腔の面積、WA は気道の外縁と内縁の間の面積、WT は外縁と内縁の間の平均距離として定義される

これまでの研究で、ES は重症急性 GVHD の危険因子であることが示されている [14, 15]。ES または PERDS 患者の気管支構造の変化はこれまで報告されていないが、ES と同様に急性呼吸窮迫症候群 (ARDS) も炎症性サイトカインによって誘発され、非心原性肺水腫 [32] だけでなく、小気道、特に内層の肥厚、気道

壁への炎症細胞の浸潤、異常な細気管支上皮細胞の増加を引き起こし、気管支の内腔が狭小化する[33]。ARDS で観察されるような気管支構造の変化は、同種 HSCT 後に ES または PERDS の臨床症状がない患者であっても、好中球生着時および重症急性 GVHD の発症前にみられる可能性がある。言い換えれば、同種造血幹細胞移植後の好中球生着時の気管支構造の変化は、前処置の毒性や炎症性サイトカイン、同種免疫反応によって引き起こされる可能性があり、3D-CT 解析を使用して定量化することができ、これらの変化は重症急性 GVHD の発症と関連している。

本研究では、3D-CT で解析した好中球生着時の気管支構造の変化が、同種造血幹細胞移植後の呼吸器以外の合併症と関連していることが明らかになった。この気管支構造の変化は、同種造血幹細胞移植後の全身性炎症を反映していると考えられる。したがって、これらを使用して重症急性 GVHD を予測できる可能性がある。これは、同種造血幹細胞移植後の合併症と転帰を予測するための新しいアプローチである。本研究で行った方法は、2 つの大きな利点がある。第一に、3D-CT 解析は日常の臨床診療で行えること、第二に、この解析の結果を迅速に取得できることである。3D-CT 解析は、同種造血幹細胞移植以外のさまざまな臨床状況にも適用できる。3D-CT 解析の有用性を判断するには、今後さらなる解析が必要である。

この研究にはいくつかの限界がある。第一に、これは少人数の患者を対象とした単一施設で実施された後ろ向き研究であり、予測し得ないバイアスがかかっている可能性がある。さらに、14 人の患者のみが grade II–IV 急性 GVHD を発症したため、多変量解析を実施できなかった。WA4/BSA の比の cut-off 値の有用性や 3D-CT 解析の臨床適用性など、この研究の結果を検証するには、大規模な前向き研究が必要である。第二に、この研究では気管支の病理学的検査や好中球生着時の炎症性サイトカインの測定は行われていない。したがって、気管支の構造変化の背後にある正確なメカニズムは不明である。第三に、この研究は第 4 世代気管支に焦点を当てているが、第 4 世代気管支が重要なリスク因子である理由は不明である。第 3 世代から第 5 世代気管支の変化の傾向は同様であったが、画像解像度が限られているため遠位気管支では 3D-CT 分析が難しい可能性があるため、この 3D-CT 解析には第 4 世代の気管支が最も適していると考えられる。

## 7. 結語

本研究では、3D-CT 分析により、同種造血幹細胞移植後の好中球移植中の気管支構造の変化を定量化できることが明らかになった。さらに、これらの変化は重度の急性 GVHD の発生率と相関していた。この方法は、同種造血幹細胞移植



後の転帰を改善するための新しいアプローチとなる可能性がある。しかし、私たちの研究結果を検証するには、より大規模な前向き研究が必要である。

## 8. 謝辞

本論文の作成にあたりご指導いただきました山口大学大学院医学系研究科病態制御内科学講座の先生方、特に太田康晴教授および中邑幸伸准教授には研究に関わる直接のご指導に対して深く御礼申し上げます。

## 9. 参考文献

1. Jagasia M, Arora M, Flowers ME et al (2012) Risk factors for acute GVHD and survival after hematopoietic cell transplantation. Blood 119:296–307.  
<https://doi.org/10.1182/blood-2011-06-364265>
2. Vander Lugt MT, Braun TM, Hanash S et al (2013) ST2 as a marker for risk of therapy-resistant graft-versus-host disease and death. N Engl J Med 369:529–539.  
<https://doi.org/10.1056/NEJMoa1213299>
3. Ponce DM, Hilden P, Mumaw C et al (2015) High day 28 ST2 levels predict for acute graft-versus-host disease and transplant-related mortality after cord blood transplantation. Blood 125:199–205. <https://doi.org/10.1182/blood-2014-06-584789>

4. Wang B, Yin Y, Li Y et al (2023) Combination of ST2 with organ-specific biomarker is more sensitive and specific for the diagnosis of acute graft-vs-host disease. *Transplant Proc* 55:1706–1714. <https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2023.04.043>
5. Ferrara JL, Harris AC, Greenson JK et al (2011) Regenerating islet-derived 3-alpha is a biomarker of gastrointestinal graft-versus-host disease. *Blood* 118:6702–6708. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-08-375006>
6. Yang J, Peng B, Wang L et al (2022) Elevated REG3 $\alpha$  predicts refractory aGVHD in patients who received steroids-Ruxolitinib as first-line therapy. *Ann Hematol* 101:621–630. <https://doi.org/10.1007/s00277-021-04727-1>
7. McDonald GB, Tabellini L, Storer BE, Lawler RL, Martin PJ, Hansen JA (2015) Plasma biomarkers of acute GVHD and nonrelapse mortality: predictive value of measurements before GVHD onset and treatment. *Blood* 126:113–120. <https://doi.org/10.1182/blood-2015-03-636753>
8. Pang N, Yu M, Xu J et al (2023) The level of Tim-3+CD8+ T cells can serve as a potential marker for evaluating the severity of acute graft-versus-host disease after haplo-PBSCT. *Braz J Med Biol Res* 56:e12997. <https://doi.org/10.1590/1414-431X2023e12997>
9. Nakamura Y, Tanaka Y, Tanaka M et al (2016) Soluble interleukin-2 receptor index predicts the development of acute graft-versus-host disease after allogeneic

hematopoietic stem cell transplantation from unrelated donors. *Int J Hematol* 103:436–443. <https://doi.org/10.1007/s12185-016-1936-z>

10. Kajimura Y, Nakamura Y, Tanaka Y et al (2021) Soluble interleukin-2 receptor index predicts outcomes after cord blood transplantation. *Transplant Proc* 53:379–385. <https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2020.03.027>

11. Spitzer TR (2015) Engraftment syndrome: double-edged sword of hematopoietic cell transplants. *Bone Marrow Transplant* 50:469–475. <https://doi.org/10.1038/bmt.2014.296>

12. Konuma T, Kohara C, Watanabe E et al (2017) Cytokine profiles of pre-engraftment syndrome after single-unit cord blood transplantation for adult patients. *Biol Blood Marrow Transplant* 23:1932–1938. <https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2017.07.020>

13. Ahya VN (2017) Noninfectious acute lung injury syndromes early after hematopoietic stem cell transplantation. *Clin Chest Med* 38:595–606. <https://doi.org/10.1016/j.ccm.2017.07.002>

14. Poonsombudlert K, Kewcharoen J, Prueksapraopong C, Limpruttidham N (2020) Engraftment syndrome and acute graft-versus-host disease: A meta-analysis. *Hawaii J Health Soc Welf* 79:194–201

15. ElGohary G, Toor AA, Gergis U (2023) Engraftment syndrome after allogeneic stem cell transplantation: a systematic review and meta-analysis. *Bone Marrow Transplant*

58:1–9. <https://doi.org/10.1038/s41409-022-01849-6>

16. Kajimura Y, Nakamura Y, Hirano T et al (2022) Significance of alveolar nitric oxide concentration in the airway of patients with organizing pneumonia after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Ann Hematol* 101:1803–1813. <https://doi.org/10.1007/s00277-022-04868-x>

17. Sorrow ML, Maris MB, Storb R et al (2005) Hematopoietic cell transplantation (HCT)-specific comorbidity index: a new tool for risk assessment before allogeneic HCT. *Blood* 106:2912–2919. <https://doi.org/10.1182/blood-2005-05-2004>

18. Giralt S, Ballen K, Rizzo D et al (2009) Reduced-intensity conditioning regimen workshop: defining the dose spectrum. Report of a workshop convened by the center for international blood and marrow transplant research. *Biol Blood Marrow Transplant*. Report of a workshop convened by the center for international blood and marrow transplant research 15:367–369. <https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2008.12.497>

19. Przepiorka D, Weisdorf D, Martin P et al (1995). 1994 Consensus Conference on Acute GVHD Grading. *Bone Marrow Transplant* 15: 825–828.

20. Jagasia MH, Greinix HT, Arora M et al (2015) National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease: I. The 2014 Diagnosis and Staging Working Group report. *The 2014 Diagnosis and Staging*

Working Group report. *Biol Blood Marrow Transplant* 21:389–401.e1.

<https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2014.12.001>

21. Karayama M, Inui N, Mori K et al (2017) Respiratory impedance is correlated with morphological changes in the lungs on three-dimensional CT in patients with COPD. *Sci Rep* 7:41709. <https://doi.org/10.1038/srep41709>

22. Inoue T, Kitamura Y, Li Y, Ito W (2013) Robust airway extraction based on machine learning and minimum spanning tree. In *Medical imaging 2013: computer-aided diagnosis*. SPIE Proc 8670:141–149. <https://doi.org/10.1117/12.2006321>

23. Nakano Y, Muro S, Sakai H et al (2000) Computed tomographic measurements of airway dimensions and emphysema in smokers. Correlation with lung function. *Am J Respir Crit Care Med* 162:1102–1108. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.162.3.9907120>

24. Nishimoto K, Karayama M, Inui N et al (2017) Relationship between fraction of exhaled nitric oxide and airway morphology assessed by three-dimensional CT analysis in asthma. *Sci Rep* 7:10187. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-10504-w>

25. Miller MR, Hankinson J, Brusasco V et al (2005) Standardisation of spirometry. *Eur Respir J* 26:319–338. <https://doi.org/10.1183/09031936.05.00034805>

26. Kanda Y (2013) Investigation of the freely available easy-to-use software ‘EZ’ for medical statistics. *Bone Marrow Transplant* 48:452–458.

<https://doi.org/10.1038/bmt.2012.244>

27. Spitzer TR (2001) Engraftment syndrome following hematopoietic stem cell transplantation. Bone Marrow Transplant 27:893–898.

<https://doi.org/10.1038/sj.bmt.1703015>

28. Gerbitz A, Nickoloff BJ, Olkiewicz K et al (2004) A role for tumor necrosis factor- $\alpha$ -mediated endothelial apoptosis in the development of experimental idiopathic pneumonia syndrome. Transplantation 78:494–502.

<https://doi.org/10.1097/01.tp.0000128839.13674.02>

29. Afessa B, Tefferi A, Litzow MR, Peters SG (2002) Outcome of diffuse alveolar hemorrhage in hematopoietic stem cell transplant recipients. Am J Respir Crit Care Med 166:1364–1368. <https://doi.org/10.1164/rccm.200208-792OC>

30. Capizzi SA, Kumar S, Huneke NE et al (2001) Peri-engraftment respiratory distress syndrome during autologous hematopoietic stem cell transplantation. Bone Marrow Transplant 27:1299–1303. <https://doi.org/10.1038/sj.bmt.1703075>

31. Majhail NS, Parks K, Defor TE, Weisdorf DJ (2006) Diffuse alveolar hemorrhage and Infection-Associated alveolar hemorrhage following Hematopoietic Stem Cell Transplantation: related and High-Risk Clinical Syndromes. Biol Blood Marrow Transplant 12:1038–1046. <https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2006.06.002>

32. Thompson BT, Chambers RC, Liu KD (2017) Acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 377:562–572. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1608077>
33. Morales MM, Pires-Neto RC, Inforsato N et al (2011) Small airway remodeling in acute respiratory distress syndrome: a study in autopsy lung tissue. *Crit Care* 15:R4. <https://doi.org/10.1186/cc9401>