

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 21 日現在

機関番号：14301  
 研究種目：挑戦的萌芽研究  
 研究期間：2015～2016  
 課題番号：15K15516  
 研究課題名(和文) 血液型不適合やクロスマッチ陽性肺移植の実現を目指す、各種抗体に関する多角的研究  
  
 研究課題名(英文) Multilateral investigation on various antibodies aiming at realization of ABO incompatible and/or crossmatch positive lung transplantation  
  
 研究代表者  
 陳 豊史 (CHEN, Fengshi)  
  
 京都大学・医学研究科・講師  
  
 研究者番号：00452334  
 交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：肺移植におけるHLA抗体、とくにDSA産生およびAMRを、生体肺移植および脳死肺移植患者において、網羅的に解析した。術前後にHLA抗体のスクリーニングと各種バイオマーカーの測定を行った症例は、2017年3月末までで134例となった。そのうち、17例がDSA陽性となった。内訳は、生体肺移植3例(5%)、脳死肺移植14例(20%)で、脳死肺移植が有意に多かった。脳死肺移植の方が生体肺移植より早期にDSAが出現する傾向にあった( $p=0.12$ )。HSCT後の障害肺を用いて、キメリズムの割合を検討した。

研究成果の概要(英文)：Recently, the importance of donor-specific anti-HLA antibodies (DSAs) has been pointed out in lung transplantation. We investigated various characteristics of DSAs in living-donor lobar lung transplantation (LDLLT) and cadaveric lung transplantation (CLT). Anti-HLA antibodies have been prospectively screened periodically in 134 patients undergoing lung transplantation. Anti-HLA antibodies were screened in 64 patients with LDLLT and 70 patients with CLT before and after lung transplantation. Postoperatively, 17 patients (13%) had de novo DSAs. There were 3 patients in LDLLT (5%) and 14 patients in CLT (20%,  $p=0.001$ ). In LDLLT, DSAs vanished in 1 out of 3 patients, while, in CLT, DSAs were detected within 3 months postoperatively in 10 out of 14 patients ( $p=0.12$ ). We confirmed that de novo DSAs were detected less frequently in LDLLT than in CLT. Furthermore, we investigated chimerism of the lungs using injured lungs after hematopoietic stem cell transplantation.

研究分野：呼吸器外科

キーワード：HLA抗体 肺移植

## 1. 研究開始当初の背景

本邦では生体肺移植の占める役割は大きいですが、血液型不適合やクロスマッチ陽性のために実現できない場合も多い。腎臓や肝臓移植では、ドナー特異的抗体 (DSA: donor specific antibody) や抗体関連拒絶 (AMR: antibody-mediated rejection) などの様々な研究結果をもとに、術前処置を行うことで、血液型不適合やクロスマッチ陽性移植が行われている。しかしながら、血液型不適合やクロスマッチ陽性の肺移植は、一般的に行われてない。

京都大学では、肝臓移植で、約 400 例の血液型不適合移植の経験があり、また DSA についても長年検討が行われてきた。また、申請者らは、血液型のマイナー抗原の不適合肺移植の経験について検討を行い、溶血の頻度やその対処法について研究してきた (Ohsumi, Chen. Surg Today 2013)。さらに、世界初の生体肺移植後の AMR を経験し (Chen Surg Today 2012 and Transplant Int 2014)、その後、京都大学における全ての肺移植患者において、術前および術後、定期的に HLA 抗体の有無の精査を、前向き研究として行ってきた。

そこで、申請者らは、世界に先駆けた、血液型不適合やクロスマッチ陽性生体肺移植の実現を目指し、京都大学の肺移植症例において、肺移植前後の HLA 抗体の推移、肺における血液型抗原の発現や抗原抗体反応、肺の AMR の頻度や治療に関して多角的に検討を行うことを考案した。

## 2. 研究の目的

脳死ドナー不足のために、本邦では生体肺移植の占める役割が大きいですが、血液型不適合やクロスマッチ陽性のために実現できない場合が多い。したがって、腎臓や肝臓移植で行われているような血液型不適合やクロスマッチ陽性肺移植の実現が、本邦で

の喫緊の課題である。また、肺移植後の抗体関連型拒絶 (AMR) が世界的に注目されているが、治療を含め確立したガイドラインはない。

そこで、本研究は、血液型不適合やクロスマッチ陽性生体肺移植の世界に先駆けた実施と AMR のさらなる理解を目指し、肺移植前後の HLA 抗体の推移、肺における血液型抗原と抗体反応、肺の AMR につき、多角的に検討することを目的とする。本研究を通して、肺移植における「抗体」の意義を再確認し、「抗体」という観点から生体肺移植と脳死肺移植の違いを解き明かす。

## 3. 研究の方法

以下の検討 (A) (B) を行う。

### (A) 肺移植患者を対象にした HLA 抗体とバイオマーカーの測定

(1) 基本的に、術前および術後 3 カ月毎に、LABScreen Mixed Class I and II を用いて HLA 抗体のスクリーニングを行う。AMR が疑われる場合にも HLA 抗体のスクリーニングを行う。種々のバイオマーカーの測定も行う。

(2) HLA 抗体陽性であったものに対し、class I は LABScreen Single Antigen Class I Combikit、class II は LABScreen Single Antigen Class II を用いて、DSA の確認を行う。DSA 陰性の場合、そのまま 3 カ月ごとの経過観察となる。DSA 陽性の場合、生体肺移植では、ダイレクトクロスマッチと C4d 染色を含む肺生検を行う。脳死肺移植では C4d 染色を含む肺生検のみを行う。

(3) ダイレクトクロスマッチ、C4d 染色を含む肺生検組織の検討から、AMR を強く疑う際には、ガンマグロブリン大量療法 (±リツキシマブ) による治療を行う。レシピエントに感染症の存在を疑う場合、ガンマグロブリン (1g/kg) のみを投与する。そうでない場合、リツキシマブ (375mg/m<sup>2</sup>)

を追加投与する。その後、毎月ガンマグロブリン投与(0.5g/kg)を行う。DSAを3カ月ごとに検索し、陽性のままなら、ガンマグロブリン投与を続行する。

(4)年に2回(8月、2月)全登録移植患者のデータを集積し、DSA、AMRの頻度、その対処策の効果、移植肺機能の経過、DSAの消失率、予後、さらに種々のバイオマーカーとの関係につき検討する。

#### (B) 造血幹細胞移植後の肺移植患者の摘出肺を用いた ABO 抗原およびキメリズムの検討

(1)京都大学でこれまで行われた、造血幹細胞移植後の肺移植患者21例に対して、摘出自己肺を用いて、ABO抗原の発現を免疫組織化学的に確認する。肺におけるABO抗原の染色自体は、ほとんど行われていないため、種々の文献から、最適の条件や抗体を見つけ出す。同意のとれた正常肺癌患者の切除標本を用いて、正常肺の非癌部位でどのように染色されるのかも確認しておく。

(2)ABO抗原が肺のどの部位に発現しているかを確認する。さらに、正常肺(肺癌患者の手術標本)や摘出肺の健常部位と傷害部位で発現の強さや範囲がどのように異なるのかを確認する。

(3)造血幹細胞移植時に血液型不適合移植を行っている肺移植症例7例、および、剖検例9例の計16肺組織について、ABO抗原で染色を行う。これらの正常肺と障害肺部位でのABO抗原を用いたキメリズム(ドナー骨髄細胞がどのようにレシピエント肺組織内で発現しているのか、について)の部位とその割合を確認する。

(4)血液型不適合肺移植における肺障害に対して、最も障害の場となる部位の同定を試みる。さらに障害肺全般に対しての肺修復・再生反応について検討を行う。

## 4. 研究成果

### (A) 肺移植患者を対象にした HLA 抗体とバイオマーカーの測定

肺移植におけるHLA抗体、とくにDSA産生およびAMRという状況を、生体肺移植および脳死肺移植患者において、同一施設、同一基準で診断、治療し、経過を観察し、網羅的に解析していくという研究をおこなった。術前および術後3-6カ月毎、又は必要時に、HLA抗体のスクリーニングと各種バイオマーカーの測定を行った症例は、2017年3月末までで134例となった。そのうち、17例がDSA陽性となった。内訳は、生体肺移植3例(5%)、脳死肺移植14例(20%)であり、脳死肺移植が有意に多かった。脳死肺移植の方が生体肺移植より早期にDSAが出現する傾向にあった( $p=0.12$ )。なお、バイオマーカーの候補がほぼ確定できたため、今後、これまでストックしている検体を用いて測定を開始する。

### (B) 造血幹細胞移植後の肺移植患者の摘出肺を用いた ABO 抗原やキメリズムの検討

ABOを抗原が肺のいろいろな部位に発現していることを確認した。なお、血管内皮の発現を用いた検討ができることが判明したため、以下のキメリズムの検討に用いることにした。

キメリズムの割合がある一定あることがわかった。本結果を用いて、今後、障害肺に対する肺修復・再生を含めた検討を行う方向とした。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 5件)

1. Yamagishi H, Chen-Yoshikawa TF, Date H. Basiliximab for Posterior Reversible Encephalopathy Syndrome after Lung Transplantation. *Eur J Cardiothorac Surg* 2017 May 12. doi: 10.1093/ejcts/ezx151. [Epub ahead of print]
2. Miyamoto E, Motoyama H, Sato M, Aoyama A, Menju T, Shikuma K, Sowa T, Yoshizawa A, Saito M, Takahagi A, Tanaka S, Takahashi M, Ohata K, Kondo T, Hijiya K, Chen-Yoshikawa TF, Date H. Association of Local Intrapulmonary Production of Antibodies Specific to Donor Major Histocompatibility Complex Class I with the Progression of Chronic Rejection of Lung Allografts. *Transplantation*. 2017 May;101(5):e156-e165.
3. 陳 豊史、伊達洋至。肺移植におけるドナー特異的抗体と抗体関連型拒絶。移植 51(6): 101-5, 2016.
4. Miyamoto E, Chen F, Aoyama A, Sato M, Yamada T, Date H. Unilateral chronic lung allograft dysfunction is a characteristic of bilateral living-donor lobar lung transplantation. *Eur J Cardiothorac Surg* 2015 Sep;48(3):463-9.
5. Takeuchi Y, Miyagawa-Hayashino A, Chen F, Kubo T, Handa T, Date H, Haga H. Pleuroparenchymal fibroelastosis and non-specific interstitial pneumonia: frequent pulmonary sequelae of hematopoietic stem cell transplantation. *Histopathology*. 2015

Mar;66(4):536-44.

〔学会発表〕(計 10件)

1. 陳 豊史、濱路政嗣、土屋恭子、本山秀樹、青山晃博、伊達洋至。肺移植における組織適合性検査の現状と今後 CWS1-4 第52回日本移植学会総会 2016.10.1 東京
2. 陳 豊史、濱路政嗣、土屋恭子、本山秀樹、青山晃博、梶谷康子、磯見真希、伊達洋至。肺移植におけるchronic lung allograft dysfunction (CLAD)の検討 SWS5-4 第52回日本移植学会総会 2016.10.1 東京
3. Chen-Yoshikawa TF, Sugimoto S, Shiraishi T, Minami M, Matsuda Y, Chida M, Aoyama A, Okada Y, Okumura M, Iwasaki A, Miyoshi S, Oto T, Date H. Prognostic Factors in Lung Transplantation after Hematopoietic Stem Cell Transplantation. 37th Annual Meeting of the International Society for Heart and Lung Transplantation, San Diego, April 7, 2017.
4. 合地史明、陳 豊史、岡部 亮、山岸弘哉、高萩亮宏、齊藤正男、大畑恵資、濱路政嗣、土屋恭子、本山秀樹、青山晃博、伊達洋至。交差反応抗原群 (CREG) による抗体関連拒絶が疑われた脳死片肺移植の1例。P2-4 第25回日本組織適合性学会大会 北海道 2016.10.23。
5. 陳 豊史、合地史明、岡部 亮、山岸弘哉、高萩亮宏、齊藤正男、大畑恵資、土屋恭子、本山秀樹、青山晃博、万木紀美子、菱田理恵、前川 平、伊達洋至。肺移植におけるドナー特異的抗体についての検討。O2-1 第25回日本組織適合性学会大会 北海道 2016.10.23。
6. Toyofumi F, Chen-Yoshikawa, Takeshi

- Kondo, Akihiro Ohsumi, Masao Saito, Akihiro Takahagi, Satona Tanaka, Ei Miyamoto, Mamoru Takahashi, Keiji Ohata, Hideki Motoyama, Kyoko Hijiya, Akihiro Aoyama, Hiroshi Date. Comparison of De Novo Donor-Specific Anti-HLA Antibodies (DSAs) Between Living-Donor Lobar Lung Transplantation and Cadaveric Lung Transplantation. Abstract#828, 36th Annual Meeting of the International Society for Heart and Lung Transplantation, Washington DC, April 28, 2016.
7. 近藤健、陳 豊史、高萩亮宏、齊藤正男、田中里奈、宮本英、高橋守、大畑恵資、土屋恭子、本山秀樹、青山晃博、伊達洋至。生体肺移植と脳死肺移植におけるHLA mismatchとドナー特異抗体の検討。RO-3-2 第51回日本移植学会 2015.10.2 熊本
8. 張吉天、陳 豊史、土屋恭子、本山秀樹、青山晃博、毛受暁史、佐藤寿彦、園部誠、伊達洋至。肺移植における抗ヒト胸腺細胞ウサギ免疫グロブリンの使用経験。O-118 第51回日本移植学会総会 2015.10.3 熊本
9. 陳 豊史、近藤 健、高萩亮宏、齊藤正男、田中里奈、宮本英、高橋 守、大畑恵資、土屋恭子、本山秀樹、青山晃博、伊達洋至。生体肺移植と脳死肺移植におけるドナー特異的抗体の相違についての検討。シンポジウムS1-1 第23回日本組織適合性学会大会 2015.9.10-11 水戸。
10. Kondo T, Chen F, Ohsumi A, Takahashi M, Ohata K, Hijiya K, Motoyama H, Tanaka S, Miyamoto E, Yamada T, Sato M, Aoyama A, Date H. Characteristics of *de novo*

donor-specific anti-HLA antibodies (DSAs) in living-donor lobar lung transplantation might be different from those in cadaveric lung transplantation. Abstract#704, 35th Annual Meeting of the International Society for Heart and Lung Transplantation, Nice, April 15 - 18, 2015.

〔図書〕(計 2件)

1. 陳 豊史、伊達洋至。肺移植における抗体関連型拒絶反応。今日の移植。東京。日本医学館, Vol 28, No.1, 113-121, 2015.
2. 陳 豊史 造血幹細胞移植後の肺障害による呼吸不全に対する肺移植。先端医療シリーズ 46 杉山幸比古、近藤 丘、中西洋一、奥村明之進、他編集。「呼吸器疾患の最新医療」(株)寺田国際事務所 / 先端医療技術研究所 196-199, 2015.

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

陳 豊史 (CHIN, Toyofumi)  
京都大学・大学院医学研究科・講師  
研究者番号：00452334

### (2) 研究分担者

伊達 洋至 (DATE, Hiroshi)  
京都大学・大学院医学研究科・教授  
研究者番号：60252962