

令和元年9月7日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10418

研究課題名(和文)肺移植後慢性拒絶反応の病態解明とIL-17を介した新規治療法の開発

研究課題名(英文)Elucidation of pathophysiology of chronic rejection after lung transplantation and development of a novel therapeutic method through IL-17 pathway.

研究代表者

松田 安史(MATSUDA, YASUSHI)

東北大学・大学病院・助教

研究者番号：00455833

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：IL-17を産生するTh17細胞を抑制するものとしてabataceptを用い慢性拒絶反応のマウスモデルである肺内気管移植モデルを用いて実験した。移植気管の閉塞、lymphoid neogenesisの状態を検討し、IL-17阻害剤がBOSに対する新たな治療薬となりえるか検討した。移植気管周囲のlymphoid neogenesisを計測したところ、control群に比較してIL-17阻害剤による治療を行なった群で有意に抑制された。したがって、BOSによる気管支周囲のリンパ新生lymphoid neogenesisを抑制し、IL-17阻害剤が新たなBOSの治療薬の候補となることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脳死肺移植の現状では、肺移植後5年生存率が約55%と限られている。日本での肺移植後の長期生存症例では、慢性拒絶反応としての閉塞制気管支炎(bronchiolitis obliterans syndrome:BOS)によって、呼吸機能が低下し死亡に至る。肺移植後の予後を改善するためBOSの治療およびコントロールが必須となっている。今回の実験結果によりIL-17がBOSの病態悪化の原因の一つとなっていることが判明し、IL-17の発現を抑制することでBOSの病勢コントロールが可能となることが示唆された。これは今後増加する肺移植の予後を改善するものであり、今後実臨床に役立てられると考えられる。

研究成果の概要(英文)：We used abatacept to suppress Th17 cells that produce IL-17, and intrapulmonary tracheal transplantation as a model of bronchiolitis obliterans syndrome. We examined the obstruction of transplanted trachea, lymphoid neogenesis. The treatment of IL 17 suppression attenuated the area of lymphoid neogenesis around transplanted trachea in the lung and obstruction ratio of inner of transplanted trachea, compared to control. According to the results, Suppression of IL-17 with the inhibitor should be one of novel treatment of bronchiolitis obliterans syndrome, which is one of major complication after lung transplantation.

研究分野：肺移植

キーワード：慢性拒絶反応 肺移植 IL-17 肺内リンパ新生

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

肺移植後の予後は非常に限定されている。東北大学では脳死肺移植後最長 18 年の生存例を得ているが、世界の脳死肺移植の現状では肺移植後 5 年生存率がおよそ 55% である。また、10 年生存率はおよそ 30% しかなく、増加する肺移植手術に対して肺移植後の長期予後を改善することは急務となっている。

肺移植後の死因を検討した国際心肺移植学会のデータでは、移植後 1 年以上経過したレシピエントの死因の第 1 位は閉塞性細気管支炎 (bronchiolitis obliterans) であり、肺移植後閉塞性細気管支炎の罹患割合は移植後 3 年未満でおよそ 25%、3 年以上 5 年未満で 30% と、およそ 4 人に 1 人が移植後閉塞性細気管支炎となっている。閉塞性細気管支の病態としては、細気管支における炎症とそれに引き続く線維化により末梢気道にエアトラッピングを生じるため肺の過膨張が起き、呼吸機能が低下し、呼吸不全に陥って死亡に至る。この末梢気道の線維化は慢性拒絶反応によると考えられ、肺移植後の慢性拒絶反応による閉塞性細気管支炎は bronchiolitis obliterans syndrome (BOS) と呼ばれている。慢性拒絶反応である BOS を制御することは肺移植後の長期予後の改善に必須である。

BOS により再移植を受けた患者から摘出された肺の病理標本を検討した結果、BOS の初期には lymphocytic bronchiolitis の像を示し、それが進展して active bronchiolitis obliterans となり、末期には線維化を生じ BOS が完成すると報告している。線維化を生じた肺は肺の構築のリモデリングが生じているため不可逆的であるが、lymphocytic bronchiolitis あるいは active bronchiolitis obliterans の状態では肺の構築が破壊されておらず可逆的な状態であるため、この段階で何らかの治療を行い、BOS を治療できる可能性がある。Lymphocytic bronchiolitis あるいは active bronchiolitis obliterans の状態では、肺内に通常は存在しない De Novo のリンパ組織 (リンパ新生: lymphoid neogenesis) が存在することが示された。我々はこの lymphoid neogenesis の制御が BOS を治療するための標的となると考えた。Lymphoid neogenesis を伴った慢性炎症ではこれら cytokine および chemokine に加えて IL-17 の関与が考えられている。CD4+ helper T cell の一つである Th17 cell が、Naïve CD4+ T cell から産生される IL-23 により活性化し、IL-17 を産生する。産生された IL-17 は慢性炎症の場において、好中球、マクロファージなどの immune responsive cell や、肺胞上皮細胞、血管内皮細胞、繊維芽細胞などの stromal resident cell からの cytokine および chemokine の産生を誘導し、炎症の加速と組織の繊維化作用を発揮する。この IL-23/IL-17 cascade が lymphoid neogenesis を伴った慢性炎症の活性化を促進する要因となっている可能性が示唆される。

### 2. 研究の目的

ヒト肺移植後慢性拒絶反応である bronchiolitis obliterans syndrome (BOS) の病態は、肺内で生じるリンパ新生 (lymphoid neogenesis) と細気管支の線維化による気道閉塞である。IL-17 を制御することにより、BOS の肺内で起きる lymphoid neogenesis を抑制し、慢性拒絶反応の本態である気道の繊維化による閉塞を抑制することを目的とする。

### 3. 研究の方法

ドナーマウスの気管を摘出し、レシピエントマウスの肺内に挿入する肺内気管移植モデル (intrapulmonary tracheal transplantation: IPTT) を作成し、移植後 28 日後犠牲死して結果を観察した。MHC (Major Histocompatibility Complex) の違うマウス同士の肺内気管移植モデルでは、移植気管支の内腔での線維化 fibrosis とその周囲の lymphoid neogenesis を確認できる (control)。ドナーマウスは Balb/c、レシピエントは C57BL/6IL-17 として、蛋白を阻

害する効果のある CTLA4-Ig を用いて、マウスの IL-17 を抑制し (treatment 群) 結果を検討した。

1. Scott M krummery, Jennifer A. Cheeseman, Jason A. Conger, et. al. High CTLA-4 Expression on Th17 cells Results in increased Sensitivity to CTLA-4 Coinhibition and Resistance to Belatacept. *Am J Transplant*. 2014 March; 14(3):607-614.
2. Haiyan Ying, Lifen Yang, Guilin Qiao, et.al. Cutting Edge:CTLA-4-B7 Interaction Suppresses Th17 Cell Differentiation. *J Immunol*. 2010 August 1; 185(3): 1375-1378.

#### 4 . 研究成果

Allograft を用いたマウス気管をレシピエントマウスに移植する IPTT を行い、28 日で犠牲死して移植気管周囲の lymphoid neogenesis についての検討を行った。lymphoid neogenesis の大きさを計測したところ、control 群に比較して IL17 阻害剤による治療を行った群では有意にその大きさが抑制されていた (control vs. treatment; 1.00 vs. 0.23,  $p < 0.01$ , respectively) (Figure 1)。Treatment 群では、control 群に比較して lymphoid neogenesis の大きさが 23% となっており、およそ 75% の抑制であった。HE 染色による検討でも、明らかな lymphoid neogenesis の抑制が認められた (Figure 2)。

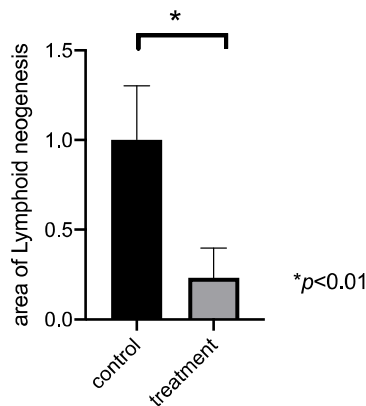


Figure 1: 移植気管周囲の lymphoid neogenesis の大きさ

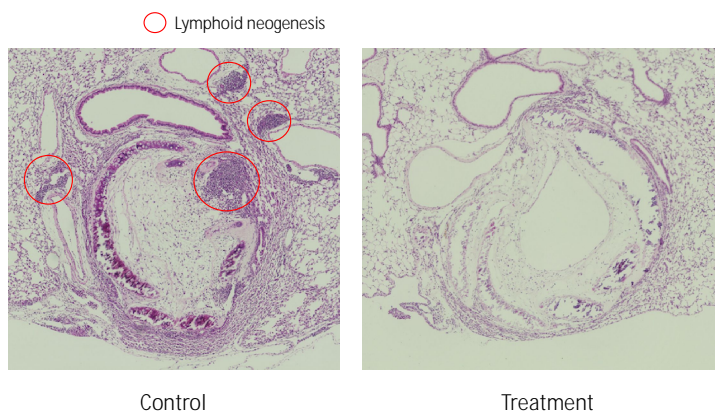


Figure 2: 移植気管内の閉塞

肺移植後慢性拒絶反応を抑制するためには、IL17 の抑制を行うことが有効であることが有効であり、長期予後改善のためには IL17 の modulation を行い末梢細気管支内に発症する繊維化による閉塞を抑制することができる可能性が考えられた。肺移植待機患者は予後が限定されており、肺移植を受けることを希望している。しかし、肺移植を受けても予後は 5 年で 55% と非常に限定的である。肺移植後の予後を改善し肺移植の長期生存を得ることは、慢性呼吸不全に

よって苦しんでいる多くの患者の希望となることと考えられる。

## 5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計 4 件)

1. Koshizuka T, **Matsuda Y**, Suzuki H, Kanno R, Ikuta K, Kobayashi T, Kondo T, Okada Y, Suzutani T. Detection of engraftment of donor-derived antibody producing cells in a lung transplant recipient by anti-cytomegalovirus IgG avidity test. *Transpl Immunol.* 2019 Apr; 53: 34-37. (査読あり)
2. **Matsuda Y**, Eba S, Hoshi F, Oishi H, Sado T, Noda M, Sakurada A, Watanabe T, Niikawa H, Akiba M, Okada Y. Sustained-Release Tacrolimus Stabilizes Decline of Forced Expiratory Volume in Second Trough Decreasing Fluctuation of Its Trough Level. *Transplant Proc.* 2018 Nov; 50(9): 2768-2770. (査読あり)
3. Suzuki H, **Matsuda Y**, Noda M, Oishi H, Watanabe T, Sado T, Yamada M, Tamada T, Okada Y. Management of De Novo Mycobacterial Infection After Lung Transplantation without Rifampicin: Case Series of a Single Institution. *Transplant proc.* 2018 Nov; 50(9): 2764-2767. (査読あり)
4. Suzuki H, Oishi H, Noda M, Watanabe T, **Matsuda Y**, Tominaga J, Sakurada A, Kurosawa H, Takase K, Okada Y. Correlation between the native lung volume change and postoperative pulmonary function after single lung transplantation for lymphangiomyomatosis: Evaluation of lung volume by three-dimensional computed tomography volumetry. *ProS One.* 2019 Feb 11;14(2):10. 1371. (査読あり)

[学会発表](計 2 件)

1. Suzuki Yamato, Hisashi Oishi, Masahiko Kanehira, **Yasushi Matsuda**, Tetsu Sado, Jun-ichi Funahashi, Akira Sakurada, Yoshinori Okada. CTLA4-Ig Therapy attenuates bronchiolitis obliterans after mouse intrapulmonary tracheal transplantation model through possibility of effect LAG-3 Tregs. ISHLT, 2019
2. **Yasushi Matsuda**, Hisashi Oishi, Fumihiko Hoshi, Shunsuke Eba, Tetsu Sado, Masafumi Noda, Akira Sakurada, Yoshinori Okada. Sequential single lung transplantation after contra-lateral single lung transplantation. ECCTA, 2018

## 6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：桜田 晃

ローマ字氏名：SAKURADA, akira

所属研究機関名：東北大学

部局名：加齢医学研究所 呼吸器外科学分野

職名：准教授

研究者番号(8桁)：60360872

研究分担者氏名：野田 雅史  
ローマ字氏名：NODA, masafumi  
所属研究機関名：東北大学  
部局名：病院 呼吸器外科  
職名：講師  
研究者番号（8桁）：70400356

研究分担者氏名：岡田 克典  
ローマ字氏名：OKADA, yoshinori  
所属研究機関名：東北大学  
部局名：加齢医学研究所 呼吸器外科学分野  
職名：教授  
研究者番号（8桁）：90323104

研究分担者氏名：星川 康  
ローマ字氏名：HOSHIKAWA, yasushi  
所属研究機関名：藤田医科大学  
部局名：医学部 呼吸器外科学講座  
職名：教授  
研究者番号（8桁）：90333814

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。