

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 9 月 26 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592088

研究課題名(和文) 生体・脳死肺移植におけるメモリー細胞と制御性T細胞/T_HT_H17バランスの解析

研究課題名(英文) Balance between memory T cell and regulatory T cell in lung transplant recipients

研究代表者

青山 晃博 (Aoyama, Akihiro)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：60379047

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：当施設では2012年から2014年の3年間で、生体26例、脳死33例の肺移植を行ない、現在51例が生存中である。8例の死因は感染4例、PTLD 2例、慢性拒絶反応、術後移植肺機能不全であった。急性拒絶反応として34例にステロイドパルスが行なわれ、速やかに反応した。今回の評価予定であった慢性拒絶反応の一型である閉塞性細気管支炎B0、BOSを発症は認めず、B0(BOS)の早期発見を可能とする新規モニターは行なえていないが、引き続き患者の胸部CTや換気シンチグラフィで慢性拒絶反応の有無を続行し、BOS症例は末梢血リンパ球の分析(表面抗原、FoxP3発現、ELISPOT)を行なっていく予定である。

研究成果の概要(英文)：From 2012 through 2014, 26 living donor lobar lung transplantations and 33 deceased donor lung transplantations were performed at our institution. As of June 2015, 51 recipients are alive. The causes of deaths of 8 recipients include infection in 4, PTLD in two, and early or chronic graft dysfunction in 2. Thirty-four recipients (58%) were successfully treated with one or more courses of steroid pulse under the diagnosis of possible acute rejection. No recipient developed bronchiolitis obliterans syndrome (BOS), which is the very object of the present study. We will continue to follow up recipients, using spirometry, CT scan or ventilation scintigraphy, and will analyze lymphocytes obtained from BOS recipients in view of surface markers, expression of FoxP3, and ELISPOT in future.

研究分野：呼吸器外科 肺移植

キーワード：肺移植 拒絶 モニター

1. 研究開始当初の背景

肺移植後の成績は 5 年生存率約 50%と肝臓、腎臓、心臓移植と比べて不良であり、その原因は移植片機能不全(急性期)、感染症、慢性期拒絶反応である。周術期管理が改善し、急性期成績は改善しているが、慢性期死亡は依然大きな課題である。また拒絶反応の診断は、肺においては腎移植後の Cre や肝移植後の AST/ALT のような血液学的マーカーに乏しく、最終的には生検組織診断が必要である。しかし経気管支肺生検では十分な検体が得られず、正確な拒絶の診断は困難である。以上の背景から、**肺移植後に、いかに非侵襲的に免疫学的モニターを行うか**が大きな課題である。

移植された固形臓器に対する拒絶反応は主に3つの機構を介している。すなわち、1. 非特異的な自然免疫: NK 細胞、マクロファージなどが関与、獲得免疫のうちの 2. T 細胞性拒絶: 抗原提示細胞(ドナー由来もしくはレシピエント由来)がドナー抗原を T 細胞に提示し T 細胞を活性化、3. 液性拒絶: 感作された T 細胞により、B 細胞・形質細胞の抗体産生を誘導、である。臨床的には術後早期に約 50%が急性細胞性拒絶を経験し、慢性拒絶反応の病理病態とされる閉塞性細気管支炎(bronchiolitis obliterans syndrome、以下 B0)が遠隔機死亡の大きな要因である。B0 が獲得免疫だけでなく、炎症や感染など種々の要因があると考えられているが詳細は明らかにされていないが、急性細胞性拒絶の event は B0 のリスクであることは分かっており、適切に患者の免疫学的状態を把握することは、適切なタイミングと方法で拒絶反応を治療もしくは予防することを可能にする

という点で本研究は臨床的に有意義と考えている。

また生体肺移植は通常、2名のドナーから肺葉の提供を受けるため、レシピエントは2つの異なるアロ抗原を有することになる。レシピエントの免疫がこれらのアロ抗原にどのように振る舞い、臨床的にどのような経過をたどるかを prospective に追跡することは世界に類を見ない研究となりうる。なお、脳死ドナーの発生が日本より圧倒的に多い米国では、2008年以降生体肺移植はほとんど行われていない。(The Organ Procurement and Transplantation Network: <http://optn.transplant.hrsa.gov/>) 分担研究者である伊達洋至は 2011年6月までに 67例の生体肺移植を行い、5年生存率 88.8%と良好な成績を示しており、(Date H. Curr Opin Organ Transplant 16:453-7, 2011)、今後も症例の集積が見込まれる。

2. 研究の目的

生検検体採取困難な状況での非侵襲的な慢性拒絶反応の早期診断・早期予測の開発。

本研究では、Memory T 細胞の役割、CD4+細胞の中で細胞障害性の Th1 系、慢性炎症や自己免疫疾患に寄与する Th17 系細胞、免疫寛容に関与する制御性 T 細胞の關係に着目する。もう一つの背景として、生体肺移植は二人のドナーから肺の提供を行うため、肺**レシピエント内に異なるアロ抗原が存在する**という他の臓器移植ではみられない免疫学的に特殊な状態であることである。この免疫学的状態を研究することは、一方のアロ抗原がコントロールとなりうるという点で、他の臓器移

植では行えないきわめて特徴的な研究が可能である点にも着目したい。

3. 研究の方法

末梢血をレシピエント、ドナーからヘパリン加スピッツで採血ののち、Ficoll を用いてリンパ球を分離し、一部を flow cytometry にて phenotype 解析、一部を responder, stimulator とする。これらを用いて ELISPOT アッセイ、制御性 T 細胞/Th1/Th17 バランスを評価する CFSE-MLR を行う。臨床データは、急性期は胸部レントゲン、胸部 CT、動脈血液ガス分析、移植後 1 ヶ月以降は、毎日スパイロメトリーによる FVC/FEV1.0 の測定も行われ BOS の検出につとめ、必要に応じて胸部 CT や換気シンチグラフィで拒絶反応の有無を評価する。原則として肺生検は行わない。

4. 研究成果

当施設では 2012 年から 2014 年の 3 年間で、生体 26 例、脳死 33 例の肺移植を行ない、現在 51 例が生存中である。8 例の死因は感染 4 例、PTLD 2 例、慢性拒絶反応、術後移植肺機能不全であった。急性拒絶反応として 34 例にステロイドパルスが行なわれ、速やかに反応した。今回の評価予定であった慢性拒絶反応の一型である閉塞性細気管支炎 B0, BOS を発症は認めず、B0(BOS)の早期発見を可能とする新規モニターは行なえていないが、引き続き患者の胸部 CT や換気シンチグラフィで慢性拒絶反応の有無を続行し、BOS 症例は末梢血リンパ球の分析(表面抗原、FoxP3 発現、ELISPOT)を行なっていく予定である。従って目的であった非侵襲的免疫モニタリングはまだ確立できておらず、引き続き検討

を行なって行く。

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 3 件)

Effect of hypogammaglobulinemia after lung transplantation: a single-institution study. Ohsumi A, Chen F, Yamada T, Sato M, Aoyama A, Bando T, Date H. Eur J Cardiothorac Surg. 2014 Mar;45

Plasmin administration during ex vivo lung perfusion ameliorates lung ischemia-reperfusion injury. Motoyama H, Chen F, Hijiya K, Kondo T, Ohsumi A, Yamada T, Sato M, Aoyama A, Bando T, Date H. J Heart Lung Transplant. 2014 Oct;33(10):1093-

Unilateral chronic lung allograft dysfunction is a characteristic of bilateral living-donor lobar lung transplantation. Miyamoto E, Chen F, Aoyama A, Sato M, Yamada T, Date H. Eur J Cardiothorac Surg. 2014 Dec 2.

[学会発表](計 1 件)

青山晃博、山田洋平、Svjetlan Boskovic、Joren C. Madsen、A. Benedict Cosimi、Gilles Benichou、霊長類における低用量 IL-2 の CD4+・CD8+制御性 T 細胞への in vivo 効果 . 第 48 回日本移植学会総会 . 愛知 . 2012 年 9 月 21 日

青山晃博、頓所展、Soyoung Lee、山田洋平、
Svjetlan Boskovic、Jim Allan、河合達郎。
霊長類における ATG/抗 IL-6 受容体抗体によ
る制御性 T 細胞増殖と移植肺グラフトの生存
延長効果 . 第 48 回日本移植学会総会 . 愛知 .
2012 年 9 月 21 日 .

青山晃博、山田洋平、頓所展、Boskovic S、
Nadazdin O、Madsen JC、Cosimi AB、Benichou
G、河合達郎 . 霊長類腎移植寛容モデルにお
けるドナー特異的制御性 T 細胞の役割 (シン
ポジウム)
第 49 回日本移植学会総会、京都、2013 年 9
月 6 日

〔図書〕(計 0 件)

〔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 :

出願年月日 :

取得年月日 :

国内外の別 :

〔その他〕

ホームページ等

なし

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

青山 晃博 (AOYAMA, Akihiro)

京都大学大学院医学研究科・助教

研究者番号 : 60379047

(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

板東 徹 (BANDO, Toru)

京都大学大学院医学研究科・准教授

研究者番号 : 20293954

陳 豊史 (CHIN, Toyofumi)

京都大学大学院医学研究科 助教

研究者番号 : 00452334

佐藤 雅昭 (SATO, Masaaki)

京都大学大学院医学研究科・助教

研究者番号 : 00623109