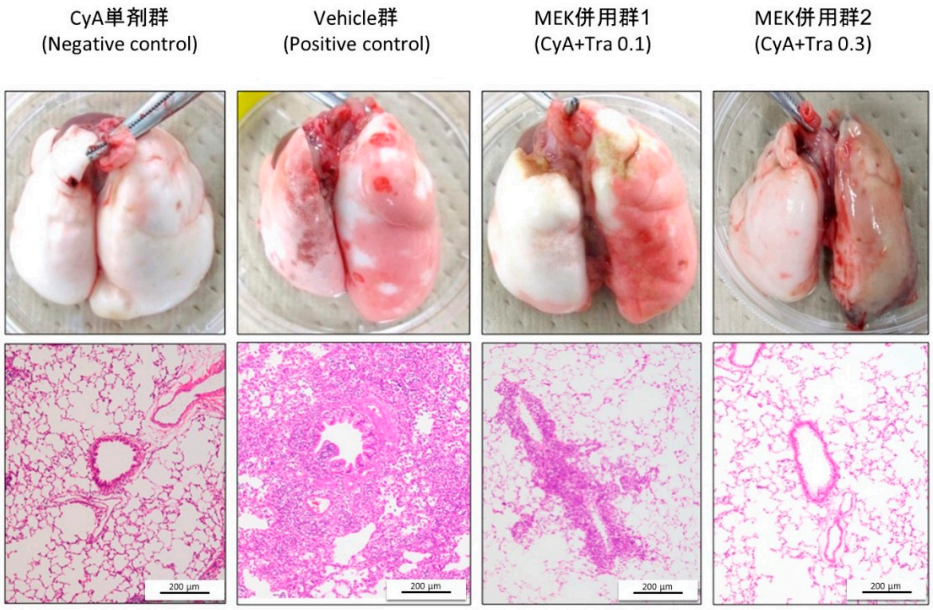
| 79　肺移植後の慢性拒絶に対する新規治療法の開発 | 陳　豊史 |
|---|---|

**【目的】**肺移植後慢性期の最大の死因は慢性拒絶であるが、拒絶を防ぐための免疫抑制は、感染を惹起する諸刃の剣である。肺は、外界と直接通じる固形臓器であるため、免疫力が強く拒絶を起こしやすい一方、感染源との接触のリスクも高い。したがって、肺移植において、免疫力を低下させない免疫抑制が重要である。今回、自然免疫を低下させないMEK阻害剤を用いた新規免疫抑制法を開発する。

**【方法】**Lewis Rat をレシピエントに Brown norway Rat をドナーにした左片肺移植モデルを用いた。肺移植後 2 週間のサイクロスポリン（CyA）を用いた免疫抑制を行い、その後 2 週間、種々の設定で薬剤投与を行った。CyA 単剤群（残りの 2 週間も CyA を投与）、MEK 阻害剤を 4 週間、CyA と併用して投与する群（MEK 併用群）と Vehicle 群（DMSO のみを投与）での比較実験を行った。

**【結果】**CyA 単剤群に対して、MEK 併用群で、病理学的には肺血管周囲のリンパ球浸潤を有意に抑制していた。MEK 阻害剤の量については、0.3 mg/kg/day の方が、0.1 mg/kg/day よりも移植肺の拒絶反応が抑制されており、CyA 単剤投与と同等であった。この結果は、その後の追加実験においても再現性をもって示された。

MEK 阻害剤を用いた肺移植実験結果



# 79. 肺移植後の慢性拒絶に対する新規治療法の開発

陳　豊史

京都大学 医学部 呼吸器外科

Key words：chronic lung allograft dysfunction, chronic rejection, immunosuppression, lung transplantation

## 緒　言

肺移植は、末期呼吸不全に対する最終手段としての医療として確立し、保存液の開発や虚血再灌流障害の緩和、体外肺潅流（EVLP: ex vivo lung perfusion）技術の開発などにより、1 年生存率は 85%を越えるようになった［1］。一方、長期予後は未だ厳しく、5 年生存率は 50%程度である［2］。長期予後を阻む原因は、いわゆる「慢性拒絶」である。慢性拒絶の病因としては、免疫学的因子から非免疫学的因子まで、さまざまであるが、病理学的特徴として閉塞性細気管支炎（bronchiolitis obliterans: BO）を認める。現在、慢性拒絶に対する有効な治療法はなく、BO の進行を遅らせるという意味で azithromycin の有効性が最近報告された程度で［3］、喫緊の課題である。本邦での肺移植の成績は、国際平均より高いが、なす術がない慢性拒絶で肺移植患者を失うことは実際に多数経験しており、臨床医としての無力感は大きい。

慢性拒絶を起こさないようにするために、また起こった後の治療法として、現行の免疫抑制療法の強化を行わざるを得ないが、外界と通じる「肺」という臓器にとっては、両刃の刃である。つまり、肺は、外界と直接通じる固形臓器であるため、もとより免疫力が強い臓器であり、拒絶を起こしやすい。一方、外界と直接通じるがために、さまざまな感染源との接触のリスクも高く、肺炎などの感染症を併発する可能性が高い臓器でもある。したがって、肺移植において、いわゆる「免疫力」を低下させない「免疫抑制」が非常に重要である。

近年、造血幹細胞移植領域で、抗腫瘍免疫や感染免疫を温存しつつ、宿主対移植片病（graft-versus-host disease: GVHD）を生じる T 細胞だけを選択的に抑制するという概念に基づいた研究が、共同研究者らのグループから報告された［4］。本研究では、GVHD を起こす T 細胞である naïve T/ central memory T 細胞を選択的に抑制し、抗ウイルス免疫や抗腫瘍免疫を担う effector memory T 細胞を温存することをコンセプトにした。種々の基礎実験から、MAPK の経路の一つ、RAS/MEK/ERK 経路のうち、ERK1/2 蛋白の発現は、naïve/central memory/effector memory の順に低下すること、そのため、これらの細胞が活性化されたとき、CD4/8 T 細胞の ERK1/2 は、naïve/central memory T 細胞で強くリン酸化されるが、effector T 細胞ではほとんどリン酸化されないことが示された。よって、MEK 阻害剤でこの経路を遮断した時、naïve/central memory T 細胞の活性化は抑制されるが、effector memory T 細胞の活性化は影響を受けない、つまり、温存されることが推測された。そこで、共同研究者らは、細胞レベルのみならずマウス造血幹細胞移植モデルで、この選択的抑制について、Selmetinib を用いて証明した。さらに、2016 年に、Selmetinib より MEK 阻害作用が強い Trametinib を用いて、これまでの T 細胞に対する選択的抑制のみならず、GVT 効果を温存したことも、世界で初めて証明した［5］。

こうした一連の成果は、造血幹細胞移植のみならず、固形臓器移植における新しい免疫抑制剤としての可能性も示唆するものである。したがって、今回、同薬剤を肺移植において、「免疫力を低下させない免疫抑制剤」として使用することを考案し、その基礎実験を開始するに至った。つまり、本研究の目的は、自然免疫を低下させない MEK 阻害剤を用いた、肺移植における新規免疫抑制法を開発する、ことである。

# 方　法

## 1. 慢性拒絶モデルの確立

安定した慢性拒絶モデルを確立するために、ラットを用いた肺移植モデルを用いた。モデルとしては、これまでに報告された、Lewis Rat をレシピエントに Brown norway Rat をドナーにした、ラット左片肺移植モデルを用いた[6]。

肺移植後約 4 週間のサイクロスポリン（CyA）を用いた免疫抑制を行い、その後 4 週間経過をみて犠牲死させて、移植肺の状態の検討を多角的に行うという実験モデルを安定的に作製した。

## 2. MEK 阻害剤を用いた比較実験

上述のラット左片肺移植モデルが安定して作成できることを確認した後、本実験を行った。

本実験の内容を、図 1 に示す。詳しくは、以下のようになる。

全群で、肺移植後 2 週間のサイクロスポリン（CyA）を用いた免疫抑制を行い、その後 2 週間、種々の設定で薬剤投与を行い、4 週間目に犠牲死させた。CyA 単剤群（残りの 2 週間も CyA を投与する Negative control 群）、MEK 阻害剤（Trametinib を 4 週間、CyA と併用して投与する群（MEK 併用群として、0.1 mg/kg/day と 0.3 mg/kg/day の 2 群作成）と Vehicle 群（DMSO のみを投与する Positive control 群）での、移植肺の状態について、比較実験を行った。

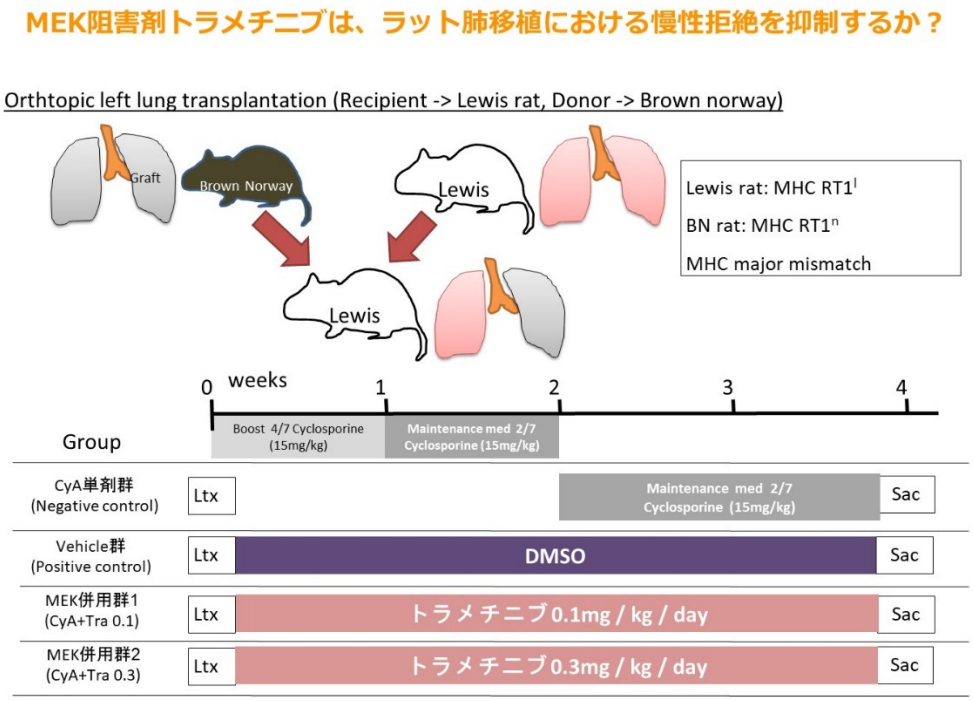



図 1. MEK 阻害剤を用いたラット肺移植実験

## 結　果

CyA 単剤群に対して、MEK 併用群で、病理学的には肺血管周囲のリンパ球浸潤を有意に抑制していた。つまり、CyA に加えて Trametinib を併用することにより、明らかに移植肺の拒絶反応が抑制されていることが分かった。

Trametinib の量については、0.3 mg/kg/day の方が、0.1 mg/kg/day よりも移植肺の拒絶反応が抑制されており、CyA 単剤投与の Negative control 群と同等であった。

この結果は、その後の追加実験においても再現性をもって示された。

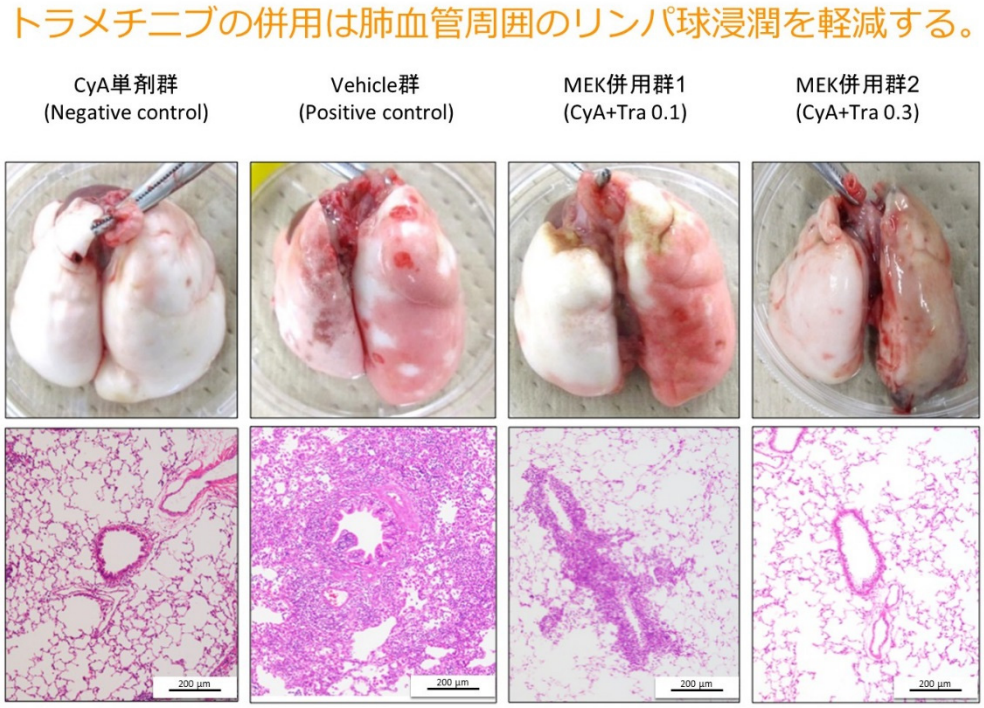



図 2.　MEK 阻害剤を用いた肺移植実験結果（マクロ所見とミクロ所見）
スケールバーは、200 μm

## 考　察

肺移植後慢性期の最大の死因は慢性拒絶であるが、免疫抑制の強化は、とくに肺においては、感染を惹起する諸刃の剣である。したがって、肺移植において、感染症などに対する免疫力を低下させない免疫抑制療法が重要である。今回、自然免疫を低下させない MEK 阻害剤を用いた新規免疫抑制法を開発することをテーマに研究を行うが、本研究によって、さまざまな効果が期待できる。

まず、造血幹細胞移植のみならず、固形臓器移植でも、その免疫抑制の主体は、カルシニューリン阻害剤である。しかしながら、固形臓器移植における慢性拒絶は、現行の免疫抑制剤の使用でも防ぎきれない合併症である。固形臓器移植の中でも、外界と通じる臓器である肺移植は、感染と拒絶に対するバランスをとった最適な免疫抑制は難しく、とくに、慢性拒絶を起こした状態においては至難の業である。そのために、移植後の 5 年生存率は、50%程度と、固形臓器移植の中では最も悪い。そういった中、感染に対する免疫力を温存したうえで、allogenic reaction としての慢性拒絶をのみを抑制する MEK 阻害剤の利用は、肺移植における免疫抑制の protocol を刷新する可能性がある、という点で非常に期待できる治療である。もちろん、現状の免疫抑制剤には、腎機能障害など種々の重篤な副作用があり、MEK 阻害剤は副作用が少ない点でも有利であり、現行の免疫抑制剤に付加的に投与するだけでも、様々な観点から実臨床に寄与する点は大きい。

現時点では、安定した肺移植慢性拒絶モデルの作成を完了し、MEK 阻害剤と CyA の併用による免疫抑制効果をしめすにとどまっているが、今後、本研究の再現性を確認していく予定である。その後、本実験における MEK 阻害剤のメカニズムを考慮したより詳細な検討を進めていく方針である。

また、本研究における肺移植における知見は、腎臓、肝臓、心臓などの他の固形臓器移植にも、応用できる可能性が高い。つまり、肺移植だけでなく、全臓器移植における新しい免疫抑制療法としての可能性が広がり、基礎研究ならびに臨床応用への発展性が期待される。

## 共同研究者・謝辞

本研究の共同研究者は、京都大学大学院血液内科の進藤岳郎、京都大学呼吸器外科の高萩明宏らである。

## 文　献

1) Chen F, Date H. Update on ischemia-reperfusion injury in lung transplantation. Curr Opin Organ Transplant. 2015 Oct;20(5):515-20. doi: 10.1097/MOsT.0000000000000234.
2) Yusen RD, Edwards LB, Dipchand AI, et al. The registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Thirty-third Adult Lung and Heart-Lung Transplant Report-2016; Focus Theme: Primary Diagnostic Indications for Transplant. J Heart Lung Transplant 2016; 35(10): 1170-84. PMID:27772669.
3) Ruttens D, Verleden SE, Vandermeulen E, et al. Parametric Response Mapping of Bronchiolitis Obliterans Syndrome Progression After Lung Transplantation. Am J Transplant. 2016 Nov;16(11):3262-3269. doi: 10.1111/ajt.13945.
4) Shindo T, Kim TK, Benjamin CL, Wieder ED, Levy RB, Komanduri KV. MEK inhibitors selectively suppress alloreactivity and graft-versus-host disease in a memory stage-dependent manner. Blood. 2013 Jun 6;121(23):4617-26. doi: 10.1182/blood-2012-12-476218.
5) Itamura H, Shindo T, Tawara I, et al. The MEK inhibitor trametinib separates murine graft-versus-host disease from graft-versus-tumor effects. JCI Insight. 2016 Jul 7;1(10):e86331. DOI: 10.1172/jci.insight.86331.
6) Miyamoto E, Motoyama H, Sato M, et al. 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. doi: 10.1097/TP.0000000000001665.