

課題番号 53

## ワイン由来ポリフェノールを添加した新たな肺灌流・保存液の開発

### 〔1〕組織

代表者：兼平 雅彦

(山梨大学総合分析実験センター)

対応者：岡田 克典

(東北大学加齢医学研究所)

分担者：大河内 真也

(東北大学大学院医学系研究科産業医学分野)

研究費：物件費13万0千円

### 〔2〕研究経過

肺移植は、有効な治療法のない難治性肺疾患に対する最終的な治療法である。しかし、肺移植後の5年生存率は80%程度であり、他臓器の移植に比べて現状は厳しい。その理由の1つに、肺が外界に曝露された臓器であるため、非常に精緻な免疫システムが備わっていることが挙げられる。肺移植後は、拒絶反応抑制のため、通常の臓器移植より多量の免疫抑制剤を長期間投与するが、このことが逆に感染症のリスクを高めるというジレンマが存在する（図1）。このことから、病原体や異物に対する免疫応答は残しつつ、移植肺への過剰な免疫応答のみを抑制することができれば、肺移植後の生存率は格段に上昇するものと思われる。

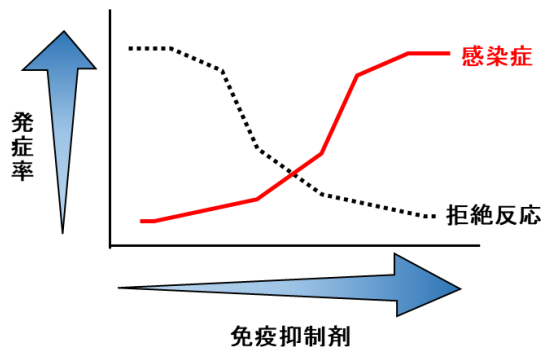


図1 多量の免疫抑制剤は拒絶反応を軽減するが感染症のリスクを増大させる。

申請者らは過去に、ラットを用いた肺移植実験を用いて、骨髄間葉系幹細胞 (Bone Marrow-derived Mesenchymal Stem Cells ; BMMSCs) と呼ばれる

細胞を投与することで、移植肺への拒絶反応を軽減できることを明らかにしてきた。そして、BMMSCsによる急性拒絶の軽減が、移植肺へのPD-L1という分子の発現によるものであることを明らかにした。PD-L1は過剰な免疫応答を抑制する免疫チェックポイント分子の1つとして知られている。このことから、移植肺へPD-L1を発現させることで、通常の免疫応答を残しつつ、移植肺特異的に拒絶反応を抑制できると予想した（図2）。以下、活動状況の概要を記す。

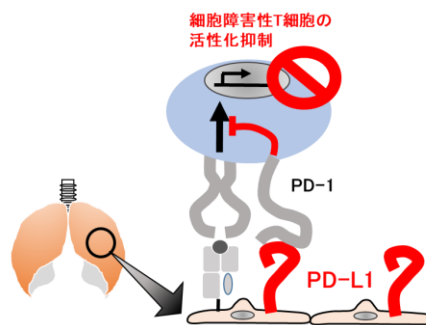


図2 移植肺へPD-L1を発現させることで移植肺特異的に拒絶反応の抑制を試みる

研究に関する打合せは、3～4ヶ月に1回の頻度でWeb上で行った。その際、肺の灌流方法、保存時間、サンプルの調整方法等を打ち合わせた。また、得られたデータについての解釈、ならびに今後の方針について綿密に議論した。分担者は、病理組織学的解析、ならびに遺伝子解析用に肺サンプルを摘出し、保存液中に保存した状態で代表者のもとへ送付した。サンプル調整ならびに解析は代表者のもとで行われた。

### 〔3〕成果

#### （3-1）研究成果

PD-L1発現を誘導するにあたり、ウイルスベクターや非ウイルス性キャリアを用いた遺伝子発現は、炎症や肺塞栓の危険性があるために除外した。代わりに、PD-L1発現を誘導できる化合物を同定し、肺灌流・保存液へ添加するという戦略を採用した。この方法の利点は、①ドナー肺の灌流・摘出、②保存・運搬、③レシピエントへの移植 とい

う一連の作業の間に PD-L1 発現を誘導できることである。数 100 種類の化合物ライブラリーを用いてスクリーニングを行った結果、ワイン由来成分の 1 つである「物質 A」（特許の関係で名称は非公開）を同定した。実際に物質 A を添加した肺灌流・保存液でマウス肺を灌流・保存したところ、予想通り PD-L1 の発現上昇を認めた（図 3）。

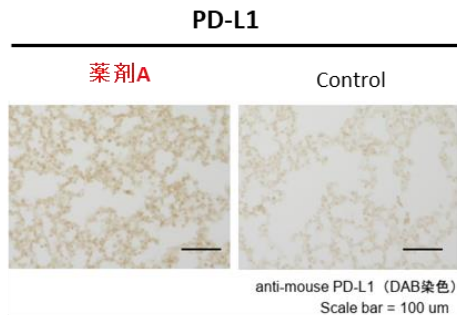


図3 薬剤AはPD-L1の発現を誘導した。

次に、物質 A による PD-L1 発現誘導効果をラット肺を用いて検証した。灌流直後（0 h）、2 時間後（2 h）、24 時間後（24 h）の PD-L1 mRNA 発現を定量 RT-PCR で測定したところ、マウスで得られた結果と同様に、PD-L1 mRNA の発現上昇を認めた（図 4）。

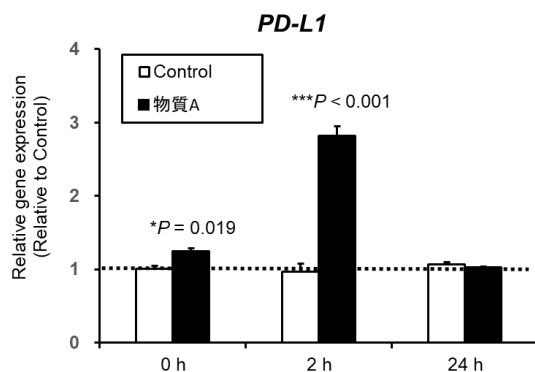


図4 物質Aはラット肺においてPD-L1 mRNAの発現を誘導する

### （3－2）波及効果と発展性など

近年、免疫チェックポイント機構は、腫瘍が宿主の免疫監視を逃れるメカニズムの 1 つとして注目されている。特に、免疫チェックポイント分子を阻害する治療法は、新たながん治療として脚光を浴びている。本研究は、これらの治療とは真逆のアプローチであることから、類似の研究は少ない。近年、T 細胞の CD28 を介した活性化を遮断する CTLA4-Ig が慢性関節リウマチの治療や腎移植へ応用されているが、本研究は安全かつ容易に入手可

能な化合物を用いている点で優位と考えられる。今後、実際にラット肺移植実験を行い、物質 A を添加した肺灌流・保存液の効果を検証する予定である。

本研究は、ワイン研究のメッカである山梨大学の「伝統・知識」と、肺移植の国内拠点病院の 1 つである東北大学病院呼吸器外科の「技術」がタッグを組んだ研究であり、今後も更なる発展が期待される。

〔4〕 成果資料  
該当なし。