

主 論 文

Single nucleotide polymorphism in a gene modulating glucocorticoid sensitivity is associated with decline in total lung capacity after lung transplantation (肺移植後の肺機能にグルココルチコイド感受性遺伝子が与える影響)

[緒言]

肺移植後の生存率は他の臓器移植と比べて低く、肺移植後慢性期に生じる CLAD (chronic lung allograft dysfunction) がその主因であると考えられる。

このため、肺移植後は通常、カルシニューリンインヒビター、ミコフェモール酸モフェチル、グルココルチコイド (ステロイド) の 3 剤の免疫抑制剤を使用し、これを予防している。このうち、前者 2 剤に関しては、血中濃度を測定し最適な投与量を決定しているが、ステロイドに関しては様々な因子の影響を受けるため、血中濃度で投与量を決定することが困難であり、急性期には体重や体表面積から投与量を決定し、慢性期にはこれを一律に 5-10 mg/日程度まで漸減している現状がある。このため、ステロイドへの感受性が低下した患者においては、移植後長期間においてステロイドが慢性的に不足し、CLAD 発症の原因となっている可能性が考えられる。

近年、喘息、COPD 患者において 530000 個の一塩基多型 (SNP) のスクリーニングが行われ、吸入ステロイドの治療効果とある特定の SNP との関連が報告された。この SNP (rs37972) は Glucocorticoid-induced transcript 1 gene (GLCCI1) にマッピングされ、ステロイドの感受性と相関し、肺や T リンパ球、B リンパ球に多く発現していることが示された。肺移植後の患者においても同様に移植後の肺機能に影響を及ぼしている可能性がある。しかしながら、これまでに GLCCI1 と肺移植後の肺機能に関する報告はなされていない。今回我々は GLCCI1 中のステロイド感受性と関連する同 SNP と肺移植後の肺機能、CLAD 発症リスクについて検討を行った。

[対象と方法]

対象

岡山大学病院にて 1998 年 10 月から 2014 年 6 月までに両側肺移植を施行した症例のうち、2016 年 9 月から 2017 年 8 月の期間に血液サンプルを回収しえた 71 例を対象とした (後ろ向きコホート研究)。このうち生体肺移植症例が 38 例、脳死肺移植症例が 33 例であった。この研究は岡山大学倫理委員会で承認された (No. 1610-037)。

SNP ジェノタイピング

GLCCI1 遺伝子中の SNP (rs37972) の解析は、まず全血サンプルより TaqMan® Sample-to-SNP™ kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) を使用し DNA を抽出、TaqMan genotyping assay、StepOne™ を使用しリアルタイム PCR 法で解析を行った。ジェノタイピングの結果により T アレル変異ホモ群 (TT 群)、ヘテロアレル群 (CT 群)、C アレルワイルドタイプホモ群 (CC 群) の 3 群に割り付けした。

呼吸機能検査

術後呼吸機能検査は術後 3、6、12、24、36 ヶ月に施行した。1 秒量 (FEV1 : 閉塞性 CLAD の診断指標)、努力肺活量 (FVC : (拘束性 CLAD (restrictive allograft syndrome, RAS) の診断指標)、全肺気量 (TLC : RAS のオリジナルな診断指標) について、術後のベースライン値 (術後の最高値と二番目の高値の平均値) に対する比率を 3 群間で比較した (術後ベースライン値に対する比率は ISHLT (International Society for Heart and Lung Transplantation) における CLAD の国際的な診断指標である)。加えてサブ解析として、生体肺移植症例と脳死肺移植症例、それぞれにおいて同様に解析を行った。CLAD は ISHLT の定義に則り診断した。CLAD 診断に際し、血液検査、胸部レントゲン、胸部 CT、肺換気血流シンチグラフィー、6 分間歩行、心電図、心エコー等の検査を呼吸機能検査のタイミングで施行した。3 群間における CLAD-free survival rates を比較、解析を行った。統計解析は GraphPad Prism 7.04 software program (San Diego, CA, USA) を使用し行った。P < 0.05 を統計学的有意差ありとした。

[結果]

GLCCI1 遺伝子の SNP の発現率は従来 of 報告と同頻度で認められた。3 群間における背景因子に有意差は認められなかった。HLA ミスマッチ数やサイトメガロウイルス感染の既往、急性拒絶反応の有無、術後逆流性食道炎の有無といった CLAD の発症因子としてこれまでに報告のある因子についても 3 群間で有意差は認められなかった。また術後 90 日以内に使用したステロイドの総量、術後慢性期のステロイド維持量についても有意差はなかった。術後 3 年間に CLAD は 9 例に認められた。術後 3 年目における TLC の比較では TT 群が CC 群と比較して有意に低下が認められた (P = 0.029)。一方で、FEV1、FVC においては有意差は認められなかった。注目すべき点として、脳死肺移植例のみでサブ解析を行ったところ、TLC のみならず、FEV1 においても TT 群で CC 群に比して有意に低下が認められた (TLC, P = 0.031; FEV1, P = 0.0074)。術後 3 年における CLAD-free survival rates の比較では、3 群間で有意差は認められなかった。しかしながら、脳死肺移植症例のみでのサブ解析では、TT 群が CC 群に比して有意に CLAD が生じていた (P = 0.016)。

[考察]

本研究において、ステロイドの感受性と関与する GLCCI1 遺伝子の SNP (rs37972) と肺移植後 3 年における TLC との間に関連が認められた。脳死肺移植症例のみでの検討では TLC のみならず、FEV1 の低下および CLAD-free survival rate の低下においても関連が認められた。本結果より、この SNP が肺移植後の TLC の低下、脳死肺移植後の TLC および FEV1 の低下および CLAD 発症のリスクファクターである可能性が示唆された。

これまで肺移植レシピエントにおけるステロイド感受性についてあまり注目されてこなかったが、本検討ではステロイド感受性が低下した患者において移植後 3 年での TLC の低下が示され、ステロイド感受性が低下した患者においては、従来の体重や体表面積で換算した一律の投与量ではステロイドの絶対量が不足し、TLC の低下につながった可能性がある。個々におけるステロイドの感受性に関してはこれまで、遺伝的因子、グルココルチコイドレセプターの数、グルココルチコイ

ド利用率など様々な報告がなされてきた。GLCCI1 は主に免疫細胞におけるアポトーシスに関与すると報告されている。作用する部分の違い（たとえば気管支壁周囲なのか、間質なのかなど）により、生じる表現型（拘束性または閉塞性）の異なりが生じた可能性がある。我々は、感受性が低下した肺移植後の患者において、肺の間質のリンパ球のアポトーシスの減少により慢性的な炎症が惹起され、結果として TLC 低下につながったのではないかと推察している。本研究においては、レシピエントの SNP に着目し、ドナー遺伝子については検討しなかった。これは、これまでに移植肺の拒絶におけるリンパ球等の免疫細胞がレシピエント骨髓由来であることが示されているからである。感受性が低下した患者において TLC が低下した詳しい機序の解明が今後必要である。

CLAD を診断する呼吸機能検査マーカーのうち、GLCCI1 は TLC 低下と関連を認めたが FEV1 や FVC においては認められなかった。しかし、脳死肺移植症例のみでのサブ解析では TLC、FEV1 が TT 群で CC 群に比して有意に低下が認められた。RAS は上肺有意の線維性変化と拘束性呼吸機能変化を示し、FEV1 ≤ ベースライン値に対して 80% かつ TLC ≤ ベースライン値に対して 90% が 3 週間以上持続する場合と定義される。FVC はより簡易な RAS 診断マーカーとして世界中で使用されている。しかし、我々の結果では、従来の報告同様に TLC が FVC より鋭敏に RAS を反映している可能性が示唆された。

脳死肺移植と生体肺移植で異なった結果を示した要因として、生体肺移植後の肺拡張性変化が結果に関連した可能性がある。生体肺移植は依然として深刻なドナー不足を解決する現実的な選択肢であり、通常 2 人のドナーから小さな 2 つの下葉を提供され大きなレシピエントの胸腔へ移植する。レシピエントの大きな胸腔に小さな肺葉を移植するため、生体肺移植後 2 年間は肺拡張に合わせて FEV1 と FVC が増加する可能性が報告されている。したがって、生体肺移植後の最初の 2 年間は移植肺の拡張により、TLC の減少がマスクされた可能性がある。さらに、2 つの異なるドナーから得られた移植肺は免疫原性が異なるため、生体肺移植後の拒絶反応は片側性に発生し、反対側の健側肺がリザーバーとして働くといった特徴がある。これらの特徴は、生体肺移植後の肺機能の維持を可能にし、GLCCI1 変異体が脳死肺移植後にのみより悪い CLAD-free survival rate と関連したことを裏付けている。生体肺移植後のレシピエントにおける GLCCI1 変異体の効果のより良い理解は、これらの患者の長期フォローアップから得られるかもしれない。本研究における limitations として、第 1 に、本研究が単一の移植センターで行われた後ろ向き研究であり、患者数が少なかったこと。第 2 に、フォローアップ期間は短く、CLAD の発生率のさらなる検証にはより長い追跡期間が必要であること。第 3 に、本研究では日本人患者のみを対象とし、結果の一般性を制限した可能性があることが挙げられる。

[結論]

GLCCI1 遺伝子多型調節性グルココルチコイド感受性の存在は、肺移植後 3 年目の TLC の低下と関連していた。特に、脳死肺移植のレシピエントでは、GLCCI1 変異体は、TLC および FEV1 の減少と関連し、脳死肺移植後 3 年間の CLAD-free survival rate の悪化を認めた。今後、この SNP の遺伝子型解析の結果を基にステロイド用量の調整することで、肺移植後の TLC の低下を防止し、脳死肺移植後の CLAD のリスクを低減することが可能となるかもしれない。