

博士論文

肺移植免疫寛容導入は CD8 T 細胞の PD-1 発現に関連する

高橋 剛史

論文タイトル：肺移植免疫寛容導入は CD8 T 細胞の PD-1 発現に関連する

所属：呼吸器外科

指導教員：中島 淳

申請者名：高橋 剛史

-目次-

略語一覽

第1章 要旨

第2章 序論

第3章 方法

第4章 結果

第5章 考察

引用文献

謝辞

## 略語一覽

CM; central memory

EM; effector memory

PD-1; programmed cell death protein 1

ISHLT; International Society for Heart and Lung Transplantation

PGD; primary graft dysfunction

COPD; chronic obstructive pulmonary disease

IIP; idiopathic interstitial pneumonia

ILD; interstitial lung disease

CF; cystic fibrosis

LAM; lymphangioleiomyomatosis

PAH; pulmonary artery hypertension

A1ATD; alpha-1-antitrypsin deficiency

BO; bronchiolitis obliterans

CTD; connective tissue disease

UNOS; United Network for Organ Sharing

HLA; human leukocyte antigen

ECMO; extracorporeal membrane oxygenation

BOS; bronchiolitis obliterans syndrome

TBLB; transbronchial lung biopsy

CLAD; chronic lung allograft dysfunction

RAS; restrictive allograft syndrome

GERD; gastroesophageal reflux disease

EVLP; Ex Vivo lung perfusion

MHC; major histocompatibility complex

TCR; T cell receptor

ITIM; immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif

ITSM; immunoreceptor tyrosine-based switch motif

NOD; Non-obese diabetic

## 第1章 要旨

拒絶や免疫寛容の導入に必要な免疫学的要件は臓器によって異なる。多くの組織や臓器にとって memory CD8<sup>+</sup> cell が免疫抑制剤を用いた免疫寛容導入にとっての障害と考えられているが、肺移植では central memory (CM) CD8<sup>+</sup> cell が重要である。我々は免疫抑制剤と共に PD-1 をブロックすることで移植後肺の免疫寛容誘導が障害されることを発見した。特にレシピエントの CD8<sup>+</sup> cell での PD-1 の発現が拒絶を防ぐのに重要である。PD-1 (programmed cell death protein 1) の発現が欠如すると CD8<sup>+</sup> cell は CD11c<sup>+</sup> cell との接触時間が増し、effector memory (EM) CD8<sup>+</sup> cell へ分化が誘導されると考えられる。これらの知見は肺移植後の免疫寛容の誘導に必要な条件が他の臓器とは異なることを示している。従って肺移植において免疫抑制剤の使用に関しては他の臓器と異なった戦略が必要である。

## 第2章 序論

### 肺移植の概要

#### 1. 肺移植の歴史と海外の肺移植の現状

世界で初めて肺移植の報告が1963年に Hardy らによってなされた。しかし18日間生存した後、拒絶反応による腎機能不全と栄養失調により死亡し、長期生存は得られなかった[1]。その後も肺移植実施報告が世界中からなされてきたがその予後は非常に厳しく、いずれの症例においても長期生存は得られなかった。この理由として気管支吻合部の縫合不全などの外科的手技の問題やレシピエントの適切な選択が出来ていなかったこと、そして拒絶反応を克服するための免疫抑制剤が存在しなかったことがある。1978年以降に Calne らによって肝臓、腎臓、膵臓移植へのシクロスポリンの臨床応用が報告された[2]。Cooper らによって1983年肺線維症の患者に対して片肺移植が施行され、またシクロスポリンの導入によって、長期生存を得ることが出来たと1986年に報告がなされた[3]。また、1988年には Cooper らによって両肺移植が報告され、その中で気管遠位部での吻合、肺動脈を主肺動脈レベルで吻合、ドナー左房カフを用いて肺静脈を吻合するといった外科的手技の改善方法や、適切なレシピエントの選択について報告した[4]。シクロスポリンの導入以後、肺移植件数は増加しており、ISHLT (International Society for Heart and Lung Transplantation)による registry における世界の脳死肺移植件数では、2014年に3973件が登録されたと報告されている[5]。

#### 2. 日本の肺移植の現状

1997年に臓器移植法が日本で制定され、初の脳死ドナーからの肺移植が2000年に東北大学と大阪大学で行われた[6,7]。日本初の肺移植は1998年に2人のドナーから提供された下葉を用いて岡山大学で行われた生体肺移植である[8]。その後、脳死ドナーからの臓器提供の数が伸び悩み2010年7月に臓器移植法の改正が行われ、本人の同意が得られていない場合であっても家族の同意が得られれば臓器提供が行われるようになった。この結果、脳死ドナーからの臓器提供が増加した[9]。2016年12月現在、日本国内では9施設（東北大学、獨協医科大学、東京大学、千葉大学、大阪大学、京都大学、岡山大学、福岡大学、長崎大学）で移植認定施設として肺移植が行われている。1998年から2016年までに行われた肺移植件数は530件であり（心肺同時移植は除く）このうち、生体肺移植が198件で、脳死肺移植が332件（片肺移植が174件、両側肺移植が158件）であった[9]。

## 肺移植の適応疾患

肺移植は進行性の肺疾患で、最大限の内科的もしくは外科的治療を施行してもその改善の見込みがなくかつ、日常生活が制限され、その予後が2年以内に限定される患者が対象となる[10,11,12]。また、レシピエント候補の患者は肺以外の臓器障害がないものが理想である。ISHLTの2016年レジストリーレポートによると1995年1月から2015年6月までの集計では肺移植の適応疾患として全体ではCOPD (chronic obstructive pulmonary disease)が最も多く全体の3割を占めており次いでIIP (idiopathic interstitial pneumonia)、CF (cystic fibrosis)と続いておりこれら3つの疾患で7割以上を形成している (Table 1)。脳死片肺移植ではCOPDが最も多く41%、次いでIIPが35%と2つの疾患で占められている。脳死両側肺移植ではCOPDが27%と最も多いが、2番目はCFで23%、3番目はIIPで19%となっている[13]。

一方、日本における肺移植適応疾患をみると、欧米の脳死移植における適応疾患の傾向と異なっており、脳死片肺移植ではLAM (lymphangioleiomyomatosis)が36%と最も多く、IIP、COPDが28、13%とそれぞれと続く (Table 2-1)。また、脳死両側肺移植ではPAH (pulmonary artery hypertension)が39%と最も多く、気管支拡張症、BO (bronchiolitis obliterans)、LAMがそれぞれ14、11、8%と続く (Table 2-2) [9]。

Table 1 脳死移植適応疾患(ISHLT ホームページ <http://www.ishlt.org/>

6/21/2018 より引用)

<b>Diagnosis</b>	<b>SLT (N=17,213)</b>	<b>BLT (N=32,789)</b>	<b>TOTAL (N=50,002)</b>
<b>COPD</b>	<b>6,999 (40.7%)</b>	<b>8,674 (26.5%)</b>	<b>15,673 (31.3%)</b>
<b>IIP</b>	<b>5,979 (34.7%)</b>	<b>6,264 (19.1%)</b>	<b>12,243 (24.5%)</b>
<b>CF</b>	<b>209 (1.2%)</b>	<b>7,686 (23.4%)</b>	<b>7,895 (15.8%)</b>
<b>ILD-not IIP</b>	<b>977 (5.7%)</b>	<b>1,608 (4.9%)</b>	<b>2,585 (5.2%)</b>
<b>A1ATD</b>	<b>784 (4.6%)</b>	<b>1,784 (5.4%)</b>	<b>2,568 (5.1%)</b>
<b>Retransplant</b>	<b>874 (5.1%)</b>	<b>1,174 (3.6%)</b>	<b>2,048 (4.1%)</b>
<b>IPAH</b>	<b>87 (0.5%)</b>	<b>1,348 (4.1%)</b>	<b>1,435 (2.9%)</b>
<b>Non CF-bronchiectasis</b>	<b>64 (0.4%)</b>	<b>1,293 (3.9%)</b>	<b>1,357 (2.7%)</b>
<b>Sarcoidosis</b>	<b>307 (1.8%)</b>	<b>941 (2.9%)</b>	<b>1,248 (2.5%)</b>
<b>PH-not IPAH</b>	<b>129 (0.7%)</b>	<b>648 (2.0%)</b>	<b>777 (1.6%)</b>
<b>LAM/tuberous sclerosis</b>	<b>141 (0.8%)</b>	<b>359 (1.1%)</b>	<b>500 (1.0%)</b>
<b>OB</b>	<b>75 (0.4%)</b>	<b>354 (1.1%)</b>	<b>429 (0.9%)</b>
<b>CTD</b>	<b>122 (0.7%)</b>	<b>240 (0.7%)</b>	<b>362 (0.7%)</b>
<b>Cancer</b>	<b>7 (0.0%)</b>	<b>27 (0.1%)</b>	<b>34 (0.1%)</b>
<b>Other</b>	<b>459 (2.7%)</b>	<b>389 (1.2%)</b>	<b>848 (1.7%)</b>

COPD; chronic obstructive pulmonary disease, IIP; idiopathic interstitial pneumonia

CF; cystic fibrosis, ILD; interstitial lung disease, A1ATD; alpha-1-antitrypsin

deficiency, IPAH; idiopathic pulmonary artery hypertension, LAM;

lymphangioleiomyomatosis, OB; obliterans bronchiolitis, CTD; connective tissue

disease

Table 2-1 脳死片肺移植(日本肺および心肺移植研究会ホームページ

<http://www2.idac.tohoku.ac.jp/dep/surg/shinpai/pg185.html> 6/21/2018 より引

用)

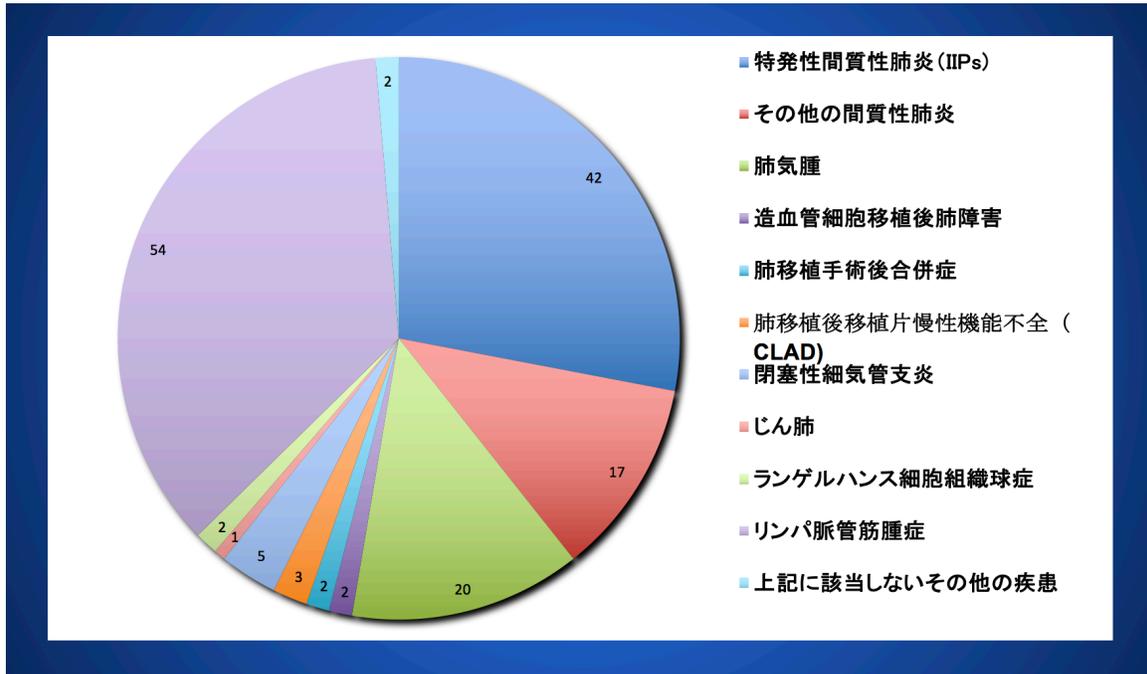
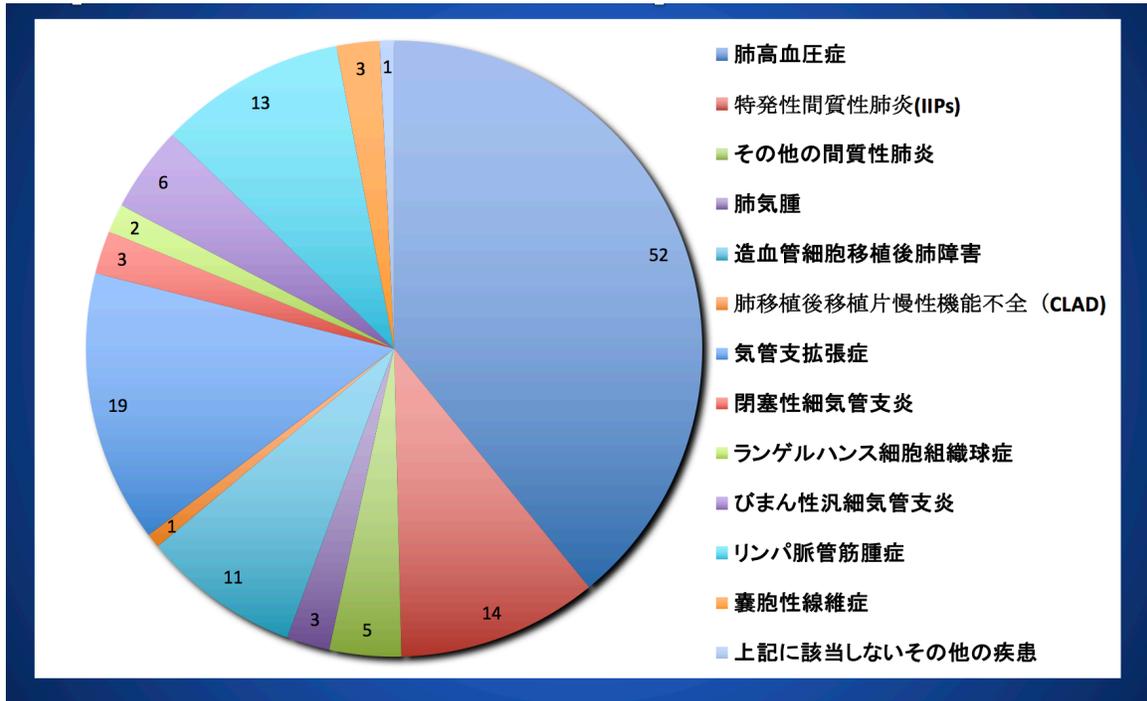


Table 2-2 脳死両側肺移植(日本肺および心肺移植研究会ホームページ

<http://www2.idac.tohoku.ac.jp/dep/surg/shinpai/pg185.html> 6/21/2018 より引

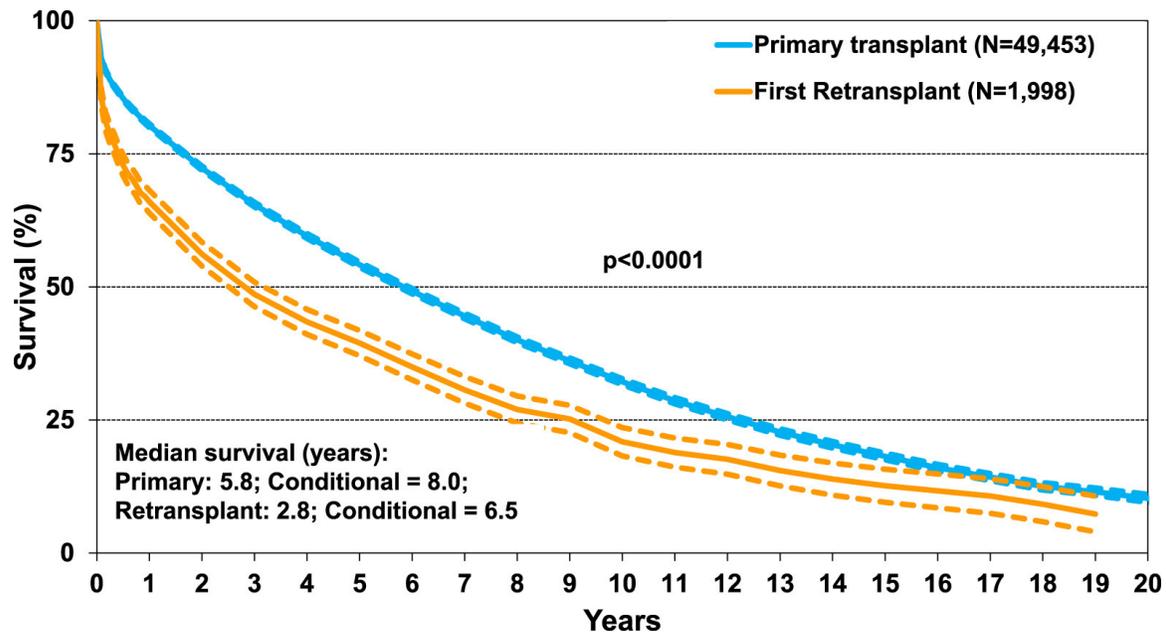
用)



## 肺移植後成績

肺移植は他の固形臓器移植と比較しその予後が悪い。これは肺が他の臓器と異なり気道が外界と接しており、また免疫抑制剤を使用していることから易感染性であることや肺独自の複雑な免疫機構によると考えられる。ISHLTにおける2016年の報告によると脳死肺移植後の5年生存率は、54%、10年生存率は32%である(Figure 1)[13]。一方、日本における肺移植後の予後については、日本肺および心肺移植研究会による2016年レポートによれば、脳死肺移植後の5年生存率、10年生存率はそれぞれ72、59%で、生体肺葉移植後の5年生存率、10年生存率はそれぞれ72、66%と欧米の肺移植後の予後と比較し良好である(Figure 2)[13]。

Figure 1 脳死肺移植後生存曲線(ISHLT ホームページ <http://www.isHLT.org/>)

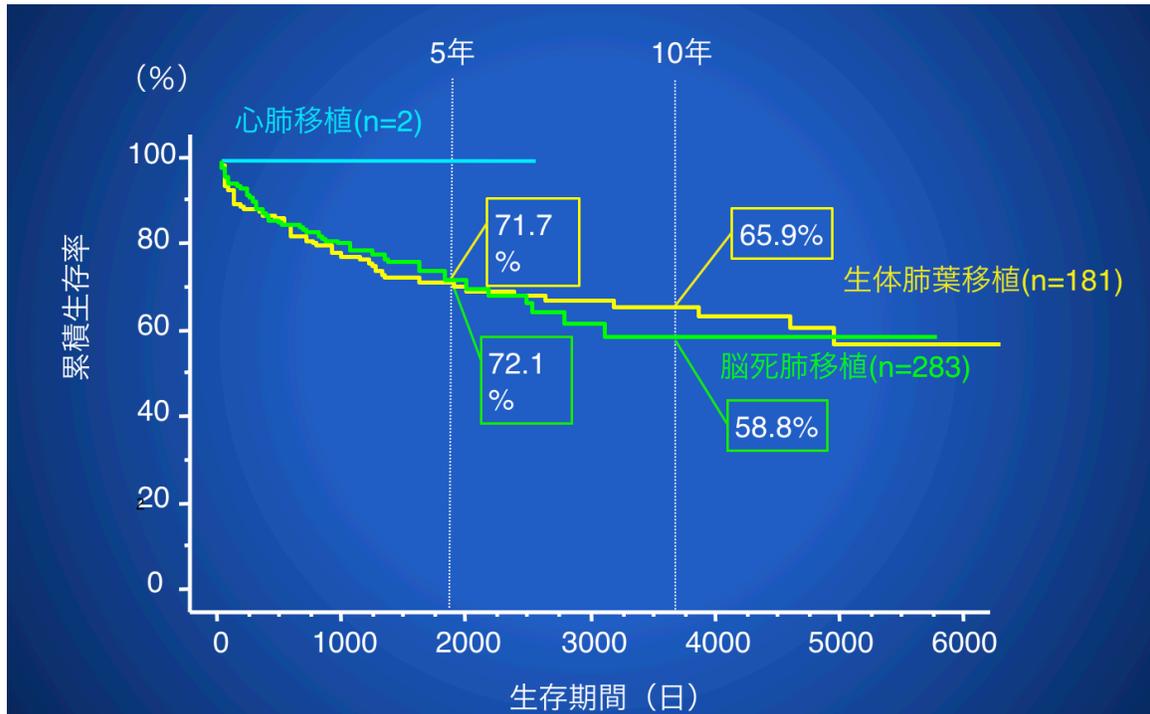


6/21/2018 より引用)

Figure 2 肺移植後生存曲線(日本肺および心肺移植研究会ホームページ

<http://www2.idac.tohoku.ac.jp/dep/surg/shinpai/pg185.html> 6/21/2018 より引

用)



## 肺移植後合併症

### 1. 外科手技に伴う合併症

肺移植には3つの吻合部位（気管支、肺動脈、肺静脈）が存在し、それぞれに術後合併症が起こり得る。気管支狭窄は施設によって7-18%と様々であるが、大部分が術後1年以内に起こる[14,15,16]。また、血管系の合併症としては肺動脈狭窄[17]、肺動脈のよじれ[18,19]、肺静脈血栓[20,21,22]が知られている。また他の起こり得る合併症としては乳糜胸、横隔神経麻痺などがある[23,24]。

### 2. 移植肺機能不全 (Primary Graft Dysfunction)

Primary graft dysfunction は虚血再灌流障害、移植反応、primary graft failure として急性肺障害などと様々な名称で呼ばれていたが、2005年に ISHLT のワーキンググループによって PGD という呼称で統一されるようになった[25]。PGD は肺移植における合併症や死亡率に関連する重要な因子である[26]。PGD のリスク因子としては脳死、誤嚥、呼吸器関連肺障害、移植時点での虚血再灌流障害の期間、innate immune response の活性化などが知られている[27]。PGD は術後72時間までの早期に起こる肺障害である[27]。PGD には酸素化の一時的な低下から graft failure まで程度に幅があり、また以下のような重症度分類が存在する[28]。

Grade 0: X 線上の浸潤影なし

Grade 1: X 線上の浸潤影あり、 $P / F \text{ ratio} > 300$ 、経鼻酸素または  $FiO_2 < 0.3$

Grade 2: X 線上の浸潤影あり、 $300 > P / F \text{ ratio} > 200$

Grade 3: X 線上の浸潤影あり、P / F ratio < 200,ECMO (extracorporeal membrane oxygenation)または FiO<sub>2</sub> > 0.5+NO 添加

これらの分類は移植後の異なるタイミングで評価をすることが求められている。これらには、T0; 移植後 6 時間以内、T24; 24 時間以内、T48; 48 時間以内、T72; 72 時間以内といったタイムポイントでの設定がある[29]。PGD と診断するためには、hyperacute rejection、静脈による吻合部狭窄、心原性肺水腫、細菌性もしくはウイルス性肺炎などを除外しなければならない[28]。

### 3. 急性拒絶

急性拒絶は肺移植において重要な問題である。導入療法や維持免疫療法の進歩にも関わらず移植後 1 年以内に約 1 / 3 のレシピエントが急性拒絶により何らかの治療を受けている[30,31,32]。また、移植後 30 日以内の約 4 %の死因となっている[31,32]。急性拒絶の診断は病理学的検査によってなされ、肺組織内での血管周囲もしくは気道周囲のリンパ球浸潤の存在が重要である。急性拒絶は無症状である場合もあるが、軽度であれば発熱、低酸素そして呼吸音の異常などで見つかる場合がある。急性拒絶が高度の場合はより重度の症状を呈し、呼吸困難、咳、痰などがより多くみられる[30,33]。急性拒絶の診断は気管支鏡下肺生検による組織診断が重要である。ISHLT ワーキンググループによって以下の病理学的分類が作成された[34]。

Grade A0: None (正常肺組織)

Grade A1: Minimal (軽度の小単核球浸潤が認められる)

Grade A2: Mild (弱拡大でも認められる血管周囲の炎症性細胞及び好酸球)

**Grade A3: Moderate** (血管周囲に多数の単核球が認められ、間質へ浸潤し、血管内皮の炎症、好酸球と好中球が存在し得る)

**Grade A4: Severe** (びまん性に血管周囲、間質、気腔内への炎症性細胞の浸潤と好中球の存在が認められる)

急性拒絶のリスク因子としては、HLA mismatching、免疫抑制、感染、レシピエント要因、多臓器移植そして生体葉移植が挙げられている[31,35,36,37,38]。急性拒絶の治療は更なる免疫抑制剤の使用である。特に、Grade A2 以上では治療が必要である。Grade A1 に関して治療の必要性に関しては議論のあるところではあるが、Grade A1 拒絶が BOS (bronchiolitis obliterans syndrome)のリスク因子になり得ることから治療を行うほうが賢明であると考えられる[31,39]。治療の主流はステロイドパルス療法であり、用量に関してコンセンサスは無いものの、標準的な量としては 500 mg の methylprednisolone の経静脈投与である[31,39]。

#### 4. 慢性移植肺機能不全 (Chronic lung allograft dysfunction )

以前は“慢性拒絶”という用語が使用されて来たが、近年では使用が避けられるようになり、代わりに CLAD (Chronic lung allograft dysfunction )という呼称が導入された[40]。CLAD には厳密な定義は存在していないが、肺移植後患者の進行性慢性的呼吸機能低下を意味している[41]。術式の工夫や免疫抑制剤の進歩などによって肺移植の予後は改善してきているが、依然、CLAD は ISHLT registry によると移植後 5 年以内に 53.4%、10 年以内に 63.4%に発症すると報告されていて予後規定因子である[32]。

以前は、閉塞性細気管支炎（BO）が“慢性拒絶”の病理像とされ、BOの所見の有無により以下の様な慢性気道性拒絶反応（chronic air way rejection）の病理学的分類がなされた[34]。

Grade C0: Absent (気道腔内に BO の所見なし)

Grade C1: Present (気道腔内に BO の所見あり)

しかし TBLB (transbronchial lung biopsy)のみで BO の診断を行うことには限界があり、採取される組織量などの問題もありしばしば確定診断をつけることに困難が生じる。そこで、1993年に Cooper らによって臨床所見で診断を行う、臨床的な診断として BOS (bronchiolitis obliterans syndrome)という概念が提唱された[42]。臨床症状によらず日常的に行える呼吸機能検査によって早期に BOS を発見し、治療介入を行い重症化するのを予防することと、客観的な基準を設けることにより施設間でのばらつきを無くし患者を分類、比較することを目的に、BOSの重症度が呼吸機能検査によって分類がなされた。[43]。

BOS 0:  $FEV_1 > 90\%$  and  $FEF_{25-75\%} > 75\%$

BOS 0-p (potential):  $FEV_1 81-90\%$  and / or  $FEF_{25-75\%} \leq 75\%$

BOS 1:  $FEV_1 66-80\%$

BOS 2:  $FEV_1 51-65\%$

BOS 3:  $FEV_1 \leq 50\%$

BOSのリスク因子としては、PGD、急性拒絶、リンパ球性気管支炎、液性拒絶、GERD (gastroesophageal reflux disease)、誤嚥、感染（ウイルス、細菌、真菌）、persistent neutrophil influx and sequestration (bronchioalveolar lavage

neutrophilia)そして自己免疫性(collagen V sensitization)が挙げられている[44,45,46,47,48,49]。BOSの治療に関して、高容量のステロイドの使用は副作用と効果が低いという理由のために進められていない[50]。予防が現在のところ最も重要な治療の選択肢であり、通常の免疫抑制剤にアジスロマイシンを足した群でBOSを予防としたという報告があった[51]。

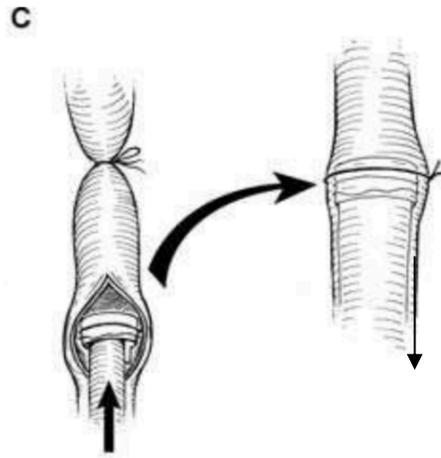
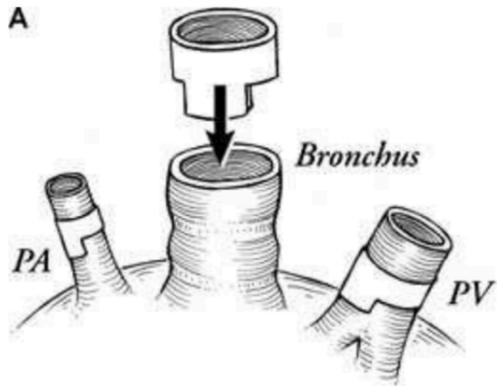
CLADのなかに拘束性障害を呈し、予後不良な一群をSatoらはRAS (restrictive allograft syndrome)と定義した[52]。RASは両側肺移植を施行された患者の中で他の拘束性障害を呈する原因を認めず、全肺活量がbaselineの80%以下となるグループである。RASは病理所見でdiffuse alveolar damageとpleuroparenchymalを呈し急速に進行する[52]。画像所見では間質性肺疾の特徴を有し、41%で上肺野優位に線維化を認めた[52]。RASはBOSより、CLAD発症後の予後が不良であった。RASに対する効果的治療の開発が望まれるが現在のところ確立されたものは存在しない。再肺移植が治療の可能性のある選択肢として考えられるが、BOSと比較し、RASは1年、3年生存率共に予後不良である[53]。

## マウス同所性肺移植モデルを使用した拒絶メカニズムについて

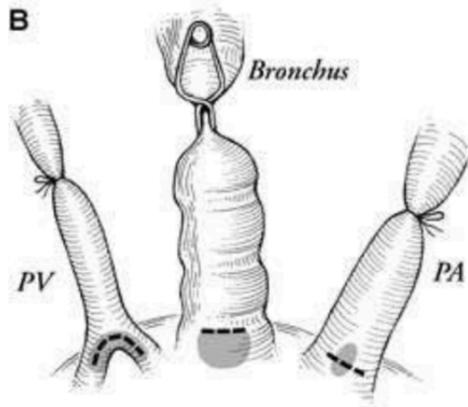
拒絶メカニズムの詳細な病態解明と有効な治療法の開発が今後の重要な課題の一つである。様々な動物モデルを用いた基礎研究が行われてきたが未だ十分に解明されたとは言えない[54]。2007年に Okazaki らによってカフテクニックを用いたマウス同所性肺移植モデルが世界で初めて報告された(Figure 3) [55]。血流や換気などが維持されていて、BAL が可能で、CT や MRI を用いた解析なども出来るようになり臨床に近い所見が得られるようになった[55]。これまで行われてきた大動物やラットの肺移植モデルと比較するとコストがかからず主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) などの遺伝学的、免疫学的背景を揃えることが容易で、かつノックアウトマウスなどの遺伝子改変種を用いた実験も可能であることから拒絶メカニズムの解明には非常に適したモデルであると考えられる。特に急性細胞性拒絶のメカニズムに関してはマウスモデルを用いた報告が複数なされている[56,57,58,59,60]。外因性の組織や感染によって局所性に innate immune が活性化されることで allorecognition の過程が始まり、adaptive cellular immunity へと繋がる[61]。急性細胞性拒絶の common pathway はレシピエントのリンパ球（主に effector T cells）の移植肺の組織への反応で組織障害、機能障害に繋がる[61]。また最近ではこれまでは不可能とされてきたマウスの右肺移植や再肺移植が Li らによって報告されるようになった[62,63]。現在まで種々の拒絶メカニズムについての報告がなされているが十分とは言えない。マウスモデルを有効に用いることで更なる拒絶メカニズムの病態解明や治療法の開発につながる事が期待される。

Figure 3 カフ法を用いたマウス同所性左肺移植モデル(文献 55 から引用)。

ドナー



レシピエント



## 免疫反応における PD-1

T cell は獲得免疫において重要な役割を担っており、病原の除去などがその機能の1つである。これらは自己免疫性疾患や移植された臓器においても重要である。それゆえ、effector cell がどのように制御されているのかを理解することは移植免疫のメカニズムを知る上で必須である。T cell は活性化するのに3つのシグナルが必要である[64]。1つめはT cell receptor と抗原ペプチド-MHC 複合体との接触による抗原提示シグナルである。2つめは抗原とは独立した co-stimulatory もしくは co-inhibitory または両方のシグナルであり、これらは抗原提示細胞によって T cell へ伝えられる。これらのシグナルによって T cell クローナル増殖やサイトカイン産生そして effector 機能の増進もしくは抑制が引き起こされる。第2のシグナルがない場合、抗原特異的な T cells は効果的に反応することが出来ず、機能的に不活性化されるか、アナジー状態もしくは抗原による刺激に不応になる。3つめのシグナルは IL-2 などのサイトカインによるもので、T cell の増殖を促す[65]。しかし、このシンプルな概念は同時に TCR シグナルを装飾しているかもしれない co-signaling 分子ネットワークの同定によりより複雑になった。これらの co-stimulatory もしくは co-inhibitory または両方のシグナルの相互作用は最終的には T cell との相互作用の結果を決定し、その運命は非常に様々である[66]。

Isobe らは、マウス心臓移植モデルを用いて当時、接着分子の1つであり、後に co-signaling 分子とされる ICAM-1 と LFA-1 の同時投与による免疫寛容誘導に成功し graft の長期生存を得たと発表した[67]。この発表以降、動物モデルを用い

た co-stimulatory の移植免疫における重要性が多数報告されるようになった。免疫制御は peripheral self-tolerance の維持や免疫活性の暴走やそれらの副作用を防ぐための免疫抑制において非常に重要である[68,69]。

B7:CD28 co-stimulatory family は CD28 と CTLA-4 から構成され、両方ともに B7-1 (CD80)そして B7-2 (CD86)分子と結合する[70]。CD28 は強力な co-stimulatory receptor として、一方 CTLA-4 は co-inhibitory receptor として機能する。PD-1:PD-L1 経路はもう 1 つの重要な co-inhibitory シグナルをもたらす receptor-ligand ネットワークである。PD-1:PD-L1 相互作用によって、腫瘍及び慢性感染を引き起すウイルスに対する免疫細胞の除去作用が抑制され、また peripheral tolerance が維持される。この経路は免疫反応の増強もしくは抑制に関与しており、今後、治療の標的になり得る。

抑制系の receptor である PD-1 は細胞表面分子であり、細胞内領域にチロシン残基を含むシグナル伝達モチーフである ITIM と ITSM を有している[71,72,73]。

PD-1 は 2 つの ligand がり、PD-L1 (B7-H1; CD274)と PD-L2 (B7-DC; CD273)であり両方ともに Ig-V や Ig-C 様の細胞外ドメインと短い細胞内ドメインを有している[73,74,75]。PD-1 は活性化後の T cell や B cell によって発現を誘導される。また、NKT cell、NK cell、活性化された単球そして dendritic cell によっても誘導される。PD-1 の発現は naïve lymphocytes の TCR や BCR の関与によって増強し、持続的な抗原からの刺激によって高い PD-1 レベルを維持出来る。IL-2、IL-7、IL-15、IL-21、TLRs そしてインターフェロンなども PD-1 の発現を増強出来る[76,77]。シクロスポリン A は著明に NFATc の影響を通して PD-1 の発現を低下

させる[78]。PD-1 の ligand である PD-L1 は hematopoietic cell だけでなく endothelium、placental trophoblast そして islet cell などの non-hematopoietic cell でも広く発現している[73,79]。一方、PD-L2 の発現は限定していて活性化された樹状細胞、マクロファージ、骨髄由来 mast cell、腹腔内 B 1 細胞の 50%以上で発現している[80]。胸腺内では PD-L1 が皮質内の細胞に発現しているのに対し、PD-L2 の発現は髄質内の細胞に限局されている[80]。PD-L1 は成熟 T cell、B cell、dendritic cell、マクロファージ、mesenchymal stem cell そして骨髄由来 mast cell 上で発現しており、炎症によって発現が増強する[73,79]。

PD-1 は末梢での免疫寛容に関与しており、PD-1 遺伝子 knock-out 動物モデルとして自己免疫性糖尿病 NOD マウス、ループスマウス、拡張型心筋症モデルがある[81,82,83]。

近年特に PD-1 に関して腫瘍免疫での研究が盛んに行われている。腫瘍や慢性感染を引き起こす病原は腫瘍特異的もしくは病原特異的な T cell 関連の免疫反応を回避するメカニズムに PD-1 が関与している。PD-1 抗体の開発に伴い免疫チェックポイントに対する治療としてがん領域での臨床研究が広く行われている[84,85,86]。悪性腫瘍による宿主免疫反応を制限している鍵となるメカニズムは腫瘍微少環境下での腫瘍特異的 CD8<sup>+</sup> T cell での PD-1 のリガンドの増加である[87]。腫瘍細胞での PD-1 のリガンドの発現増加は様々なメカニズムによる。

EGFR、MAPK、PI 3 K-AKT 経路の変異や STAT 3 や HIF-1 転因子の発現増加は様々な悪性腫瘍において PD-L1 を増加させる[87]。また、腫瘍微少環境下では interferon- $\gamma$  のような炎症性サイトカインによって PD-L1、PD-L2 の発現を増加

させる。最近では、この PD-1 のリガンドに注目した PD-L1 抗体を用いた臨床研究も行われている[88]。

また、PD-1:PD-L1 経路は移植免疫においても重要な役割を担っており、この分子メカニズムを理解することは新しい治療介入法の開発や移植 graft の長期生存などにおいて重要である。PD-1、PD-L1 そして PD-L2 mRNA 発現が拒絶された心臓 allograft 内において有意に増加していたと報告されている[89]。同様の報告はマウス肝臓移植モデルを用いた研究でも報告されており、allogeneic graft の肝臓では sinusoidal と parenchymal 領域において PD-L1 が強発現していた[90]。この様に PD-1:PD-L1 経路は免疫寛容導入に重要な役割を担っていると考えられているが、肺移植においてこれらの役割を検討した報告は今までに存在しない。

## Memory T cell と PD-1

ウイルスや癌細胞などの抗原に暴露し活性化された Effector T cell は持続的な抗原暴露がない場合、1-2週間後には大部分が死滅する。一部の残存した T cell はその後大きく分けて2つの細胞集団へと分かれていく[91]。Central memory (CM) T cell と Effector memory (EM) T cell である。CM T cell は CD45RO、CCR7、CD62L、CD44 を発現し、一方 EM T cell は CD45RO、CD44 の発現のみで CCR7、CD62L を欠いている[91]。これら Memory T cell は同様の抗原に再度暴露された際、迅速かつ強い免疫反応を引き起こすことによって抗原を除去する。

Krupunick らは、同所性マウス左肺移植モデルを用い、移植グラフト肺の免疫寛容導入には CM CD8<sup>+</sup> T cell が重要であることを報告した[92]。一方、拒絶された肺内では EM CD8<sup>+</sup> T cell が増加していた。この免疫寛容導入のメカニズムとして CM CD8<sup>+</sup> T cells 上の CCR7 の発現が抗原提示細胞とのシナプス形成に特に重要であり、結果として interferon- $\gamma$  の産生、NO (Nitric oxide) を介した免疫寛容導入のメカニズムを提唱した。

また、Krupunick らは、移植肺グラフ内での CD8<sup>+</sup> T cell と CD11c<sup>+</sup> 抗原提示細胞との相互接触の時間が移植後の結果に影響を及ぼすということを示した[92]。T cell 上の PD-1 の発現が T cell と抗原提示細胞との相互作用を制御しているということが報告されており [93,94]、PD-1 の発現によって T cell の遊走速度を制御していると言われている。CM CD8<sup>+</sup> T cell から EM CD8<sup>+</sup> T cell に分化することが報告されており[95]、また PD-1 が CM から EM へ分化のチェックポイントになっているのではないかという報告もなされている[96]。

拒絶反応メカニズムの解明及び治療法の開発が移植後の予後を改善するために必須である。特に前述したように軽度の急性拒絶であっても BOS のリスク因子となることが知られている。本研究の目的は、肺移植後の拒絶反応において、PD-1-PD-L1 経路の果たす役割を明らかにし、同経路が肺グラフト内で Central memory から Effector memory CD8<sup>+</sup> T cell への分化に果たす役割を検証することである。我々は、PD-1 - PD-L1 経路の抑制により移植した種々の臓器が拒絶されやすくなるという報告に基づいて、マウス同所性左肺移植モデルを用いて免疫寛容導入時に PD-1 - PD-L1 経路を障害することにより、移植グラフト肺が拒絶されるのではないかと考えた。また、肺グラフト内で PD-1 が Central memory から Effector memory CD8<sup>+</sup> T cell への分化に関与しているのか、また CD8<sup>+</sup> T cell の動的な振る舞いを制御しているのかどうかを評価するための実験を施行した。

### 第3章 方法

全ての手術、手技は Institutional Animal Studies Committee で認められた方法を用いた。

#### 実験 1、2

実験 1 : Balb/c の左肺をドナーとし、B6 に同所性左肺移植を行った。PD-1 抗体群には co-stimulatory blockade に追加し、anti-PD-1 抗体 (Bio X Cell, West Lebanon, NH) 250 $\mu$ g を術前 2 日と術後 2 日目に腹腔内投与した。

実験 2 : Balb/c の肺をドナーとして Pepboy に移植後、B6 もしくは PD-1 knockout マウスの脾臓から分離した  $5 \times 10^6$  の CD8<sup>+</sup> T cell を経静脈注入した。

いずれの実験においてもマウスは術後、co-stimulatory blockade (MR1\* 250 $\mu$ g を術当日、CTLA4-Ig\*\* 200 $\mu$ g を術後 2 日目)を腹腔内投与した (Bio X Cell, West Lebanon, NH)。

\*CD40L (CD154)L に対する抗体、リンパ球の活性化を抑制する。

\*\*B7-1, B7-2 と結合することによりリンパ球の活性化を抑制する。

\*\*\*C57BL/6J (B6)、BALB/cJ (Balb/c)、B6. SJL-Ptprca Pepcb/BoyJ (CD45.1) は Jackson Laboratories (Bar Harbor, ME)から購入した。PD-1 knockout マウスは A. Ayala (Brown University, Providence, RI)から入手した。

#### 肺移植

マウス同所性左肺移植は以前に報告された方法で行った[55]。ドナー肺を摘出する際にはケタミン (0.1 mg/g Fort Dodge Animal Health, Fort Dodge, IA)、ザイラジン (0.01mg/g VEDOCO Inc., St. Joseph, MO)を腹腔内投与し麻酔導入 20G カテーテ

ルで気管内挿管した。0.5 mL で 120/min の換気を行った。胸骨正中切開後、100 単位のヘパリンを静注後、心尖部を切開し脱血、肺動脈主幹から 4°C の 2 mL の low-potassium dextran glucose solution で flush した。心臓と肺をブロックで摘出後、左肺静脈、動脈、気管支をそれぞれ周囲結合組織から剥離し切断、ドナー肺の肺静脈、動脈、気管支にそれぞれ 20G、24G、20G のカテーテルを 10-0 ナイロン糸にて結紮固定した。レシピエントの手術の際にもドナーと同様の方法で麻酔を導入し、左第 3 肋間で開胸した。肺門部で左肺静脈、動脈、気管支をそれぞれ周囲結合組織から剥離し、肺動脈と肺静脈は 8-0 絹糸を使用し slip knot で遮断、気管支は微小血管クリップで遮断した。1/3 周程度血管壁および気管支壁を切開し、ドナー肺のカフを挿入し、10-0 ナイロン糸にて結紮固定した。

#### 病理組織像

移植後 7 日目に sacrifice した左肺はフォルムアルデヒドで固定した後、ヘマトキシリンとエオジンで染色した。急性拒絶の grading は standard criteria[34]を用いて 1 人のワシントン大学病理科医師(Jon H. Ritter)により行われた。

**Grade A0: None** (正常肺組織)

**Grade A1: Minimal** (軽度の小単核球浸潤が認められる)

**Grade A2: Mild** (弱拡大でも認められる血管周囲の炎症性細胞及び好酸球)

**Grade A3: Moderate** (血管周囲に多数の単核球が認められ、間質へ浸潤し、血管内皮の炎症、好酸球と好中球が存在し得る)

**Grade A4: Severe** (びまん性に血管周囲、間質、気腔内への炎症性細胞の浸潤と好中球の存在が認められる)

### Flow cytometry

移植後 7 日目に sacrifice した左肺を使用した。肺を 2 mm 程度に細かく切断し、Type 2 collagenase (0.5 mg/mL) (Washington Biomedical Corporation, Lakewood, NJ) と RPMI 1640 solution で 90 分間培養した。70- $\mu$ m cell strainer でさらに肺を粉砕し、ACK lysing buffer で赤血球を除去した。肺内の T lymphocyte を CD16/CD32 抗体で 15 分間反応させた後、蛍光染色した。使用した抗体は、CD90.2 (clone 30-H12)、CD62L (clone MEL-14)、CD 44 (clone IM7)、CD8a (clone 53-6.7)、FoxP3 (clone FJK-16s)、CD4 (clone RM4-5)、CD11c (clone N418)、CD45.2 (clone 104) and CD45.1 (clone A20) (ebioscience, San Diego, CA)、PD-L1 (clone MIH5)、PD-1 (clone J43) (BD pharmingen, San Jose, CA) である。

### 実験 3、4

実験 3 :  $3 \times 10^5$  の T cell-depleted Balb/c 脾臓細胞 (stimulators) と B6 もしくは PD-1 knockout マウスの脾臓から CD90 magnetic beads (Miltenyi Biotec, Auburn, CA) を用い、分離した  $3 \times 10^5$  CD8 T<sup>+</sup> cell (responders) を complete medium を入れた 96-well plates で 48 時間培養した。

全ての肺の RNA は TRIzol reagent (Thermo Fisher Scientific, Carlsbad, CA) を用いて分離した。RNA を cDNA に変換し、cDNA (30ng) は Perforin (pfr-1) について iTaq Universal Probes Supermix (Bio-Rad, Hercules, CA) を用いて Roche Light-Cycler 480 で解析した。

Primer sequences (pfr-1):

5'-AGCACAAGTTCGTGCCAGG-3' (forward)

5'-GCGTCTCTCATTAGGGAGTTTTT-3' (reverse)。

実験 4 : Balb/c をドナーとして左肺を CD11c-EFYP (CD11c に結合した YFP は GFP の genetic mutant であり励起すると 蛍光発色する) B6 に移植し co-stimulatory blockade を投与後、術後 3 日目に CMTMR (Thermo Fisher Scientific, Carlsbad, CA) をラベルした B6 また、Celltrace Violet (Molecular Probes, Eugene, OR) でラベルした、PD-1 knockout マウスから分離した  $10^7$  個の CD8 T cell を経静脈注入した。注入 24 時間後ケタミン (0.1mg/g Fort Dodge Animal Health, Fort Dodge, IA) を腹腔内投与し麻酔導入、20G カテーテルで気管挿管、左第 3 肋間で開胸し移植した左肺を露出、リング状のカバーガラスで左肺を圧迫し time-lapse imaging を two photon microscope で記録した(Figure 4)。記録した画像は ImageWarp version 2.1 acquisition software (A&B Software, New London, CT) で解析した。

\*CD11c-enhanced yellow fluorescent protein (CD11c-EFYP<sup>+</sup>) B6 は M.

Nussenzweig (Rockefeller University, New York, NY) から譲渡してもらい、自施設で飼育した。

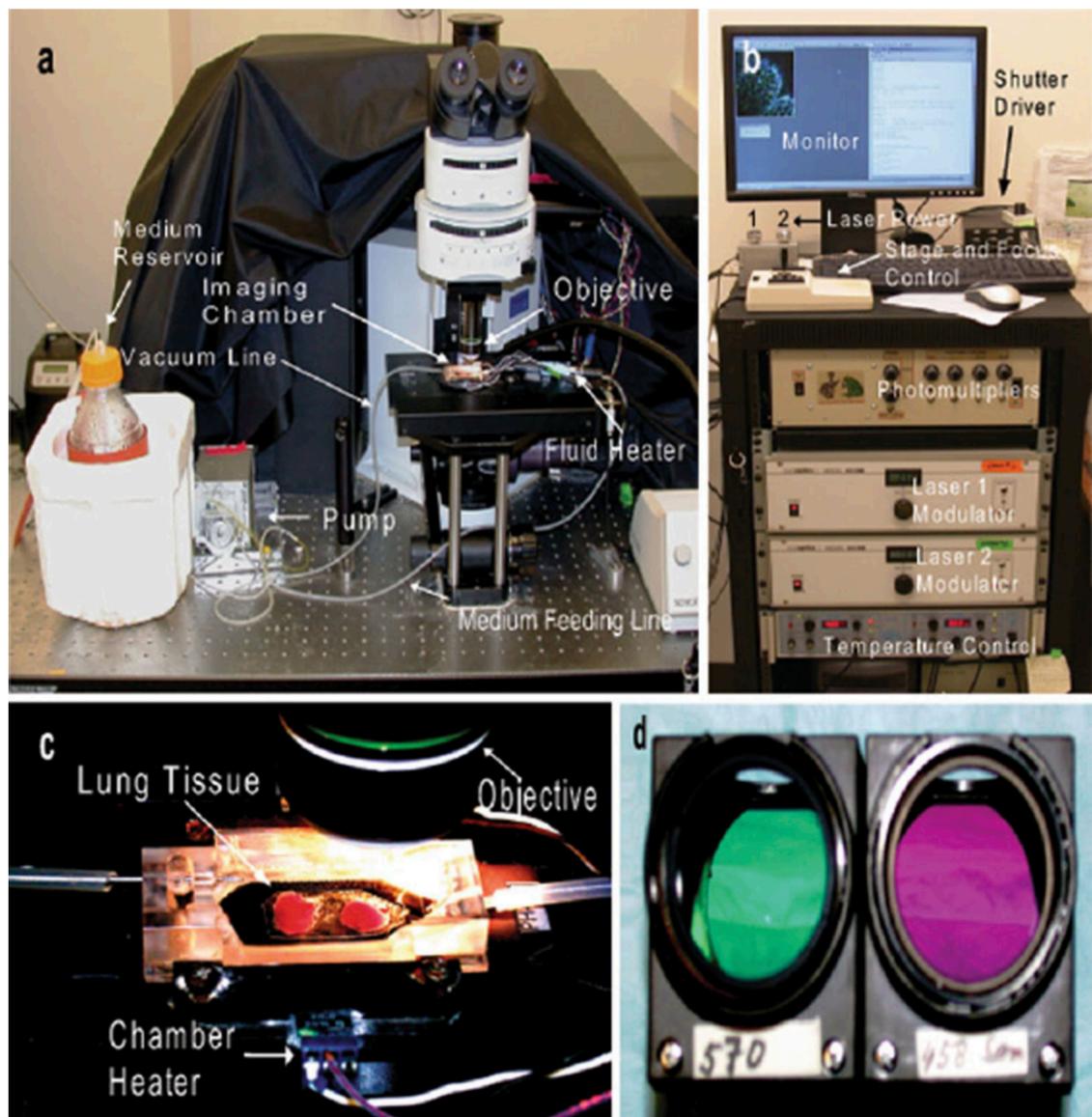


Figure 4: a. カスタム two photon microscope のセットアップ。 b. microscope のイメージはレーザーの強度を調節しながら対象物の焦点などを変えながらその動きをリアルタイムで観察出来る。 c. 肺組織はメEDIUMで満たされたスライドガラスを通して観察する。 d. 2種類のフィルター(570、458 nm)を通して肺組織内の蛍光色素をラベルされた細胞から発せられる蛍光色素をトレースする。フィルターは実験計画によって変更される(文献 97 から引用)。

## 統計

データは平均 $\pm$ SEM で示した。Two-way ANOVA と unpaired student t test を GraphPad Prism version 7.0 (GraphPad Software, La Jolla, CA)で行った。P<0.05 を有意とした。\* $P<.05$ , \*\*  $P<.01$ , \*\*\*  $P<.0001$ 。

## 第4章 結果

### 結果 1

PD-1 抗体を投与したところ肺グラフトは拒絶された(Figure 5A、 B)。

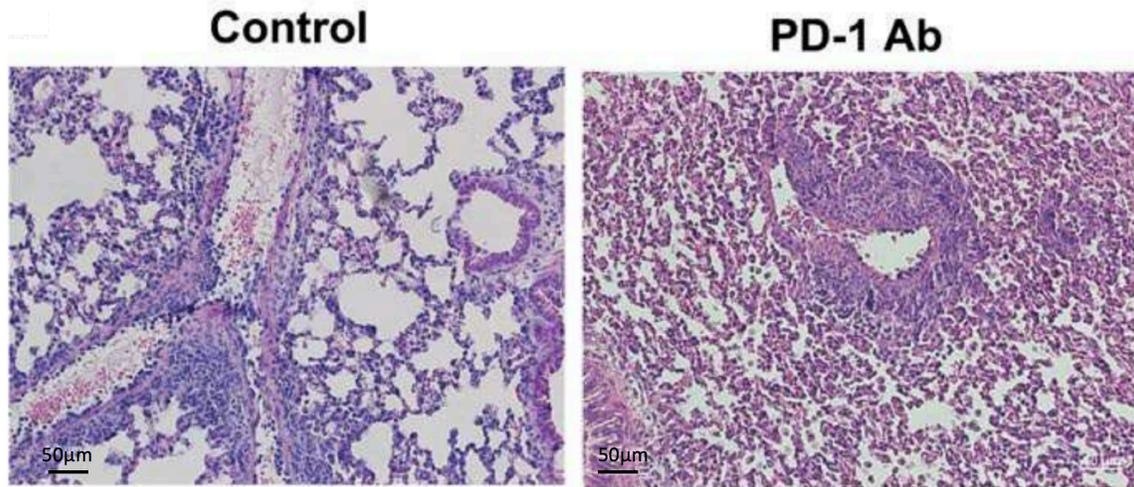


Figure 5A: 移植後 7 日目に摘出した肺の病理所見。control と比較すると抗 PD-1 抗体を使用したグループでは血管、気道周囲にリンパ球の集簇を認めた(control; A0, PD-1 ab; A2)。

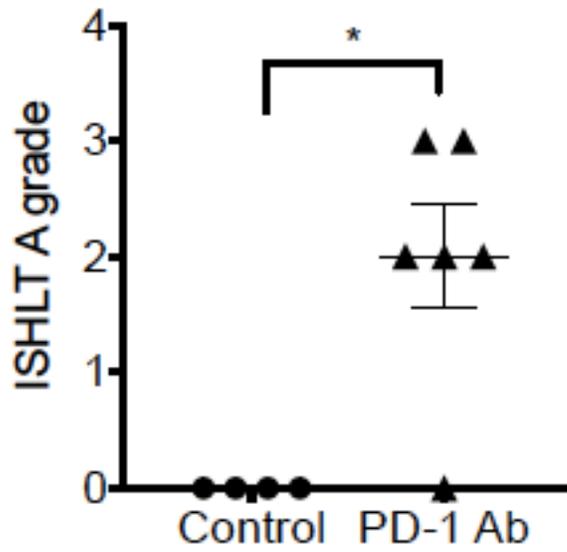


Figure 5B: Acute cellular rejection の grading は有意に PD-1 抗体群で高かった。

グラフトが拒絶されている PD-1 抗体群では肺グラフト内での CD8<sup>+</sup> T cell と CD4<sup>+</sup> T cell の比率が有意に高かった(Figure 5C)。

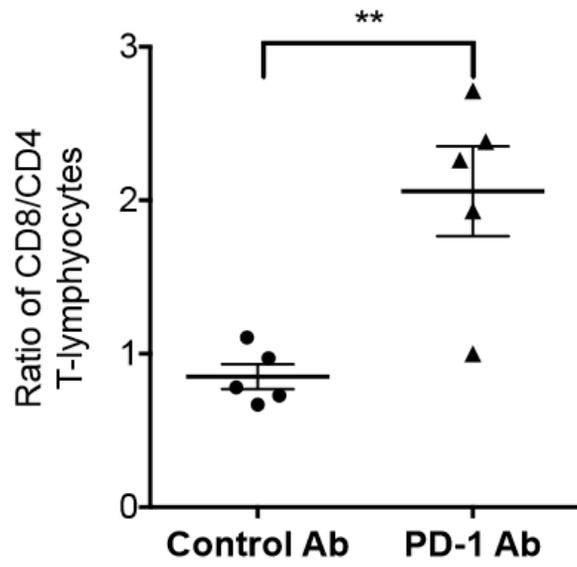


Figure 5C: Control 群と PD-1 抗体群を比較した場合、CD8 / CD4 T cell の比率が PD-1 抗体群で有意に高かった。

PD-1 抗体群では CD8<sup>+</sup>と CD4<sup>+</sup>の両方とも細胞が増殖していたが、より CD8<sup>+</sup>で  
顕著であった(Figure 5D)。

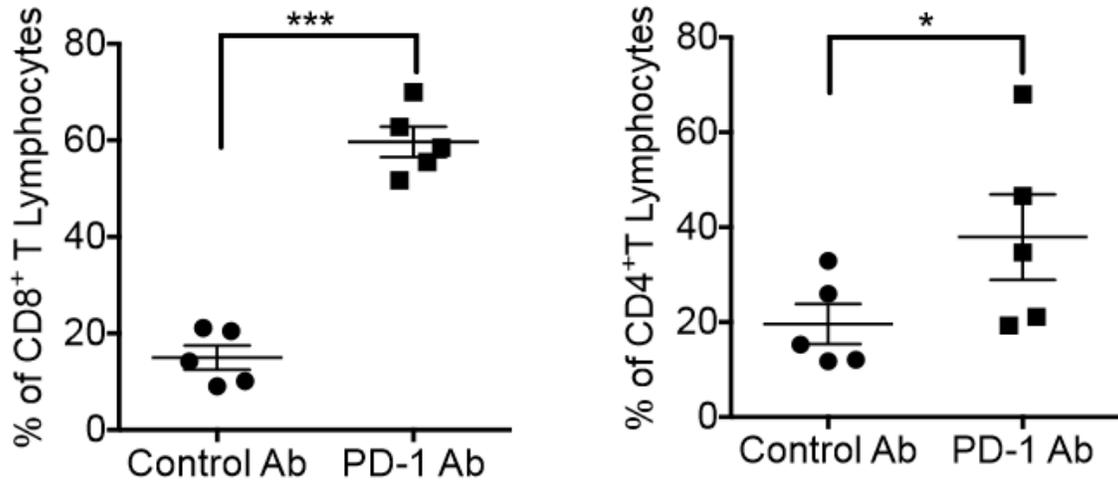


Figure 5D: PD-1 抗体群では control 群と比較し有意に CD8<sup>+</sup>と CD4<sup>+</sup>の両方ともに増加していたが、CD8<sup>+</sup> cell でその傾向がより顕著に認められた。

PD-1 抗体群ではアログラフト内での相対的な effector memory  
CD4<sup>+</sup>CD44<sup>hi</sup>CD62L<sup>low</sup> と CD8<sup>+</sup>CD44<sup>hi</sup>CD62L<sup>low</sup> T cell の増加と naïve  
CD4<sup>+</sup>CD44<sup>low</sup>CD62L<sup>hi</sup> と CD8<sup>+</sup>CD44<sup>low</sup>CD62L<sup>hi</sup> T cell の減少を認めた(Figure 5E、  
F、 G)。

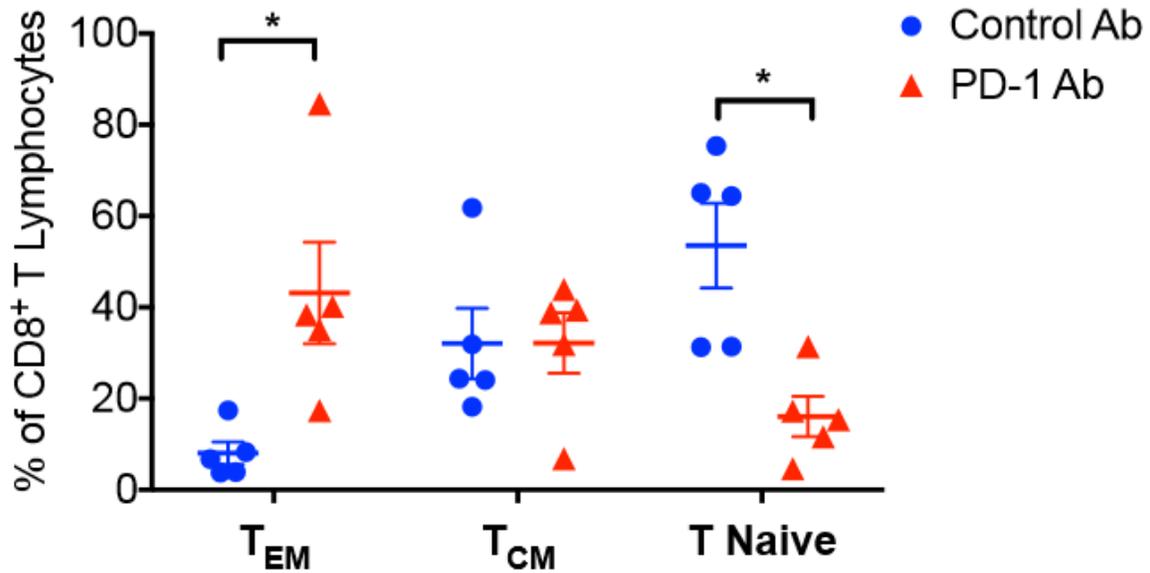


Figure 5E: PD-1 抗体群では effector memory CD8<sup>+</sup> cell が増加し、naïve CD8<sup>+</sup> cell の減少がみられた (EM; effector memory, CM; central memory)。

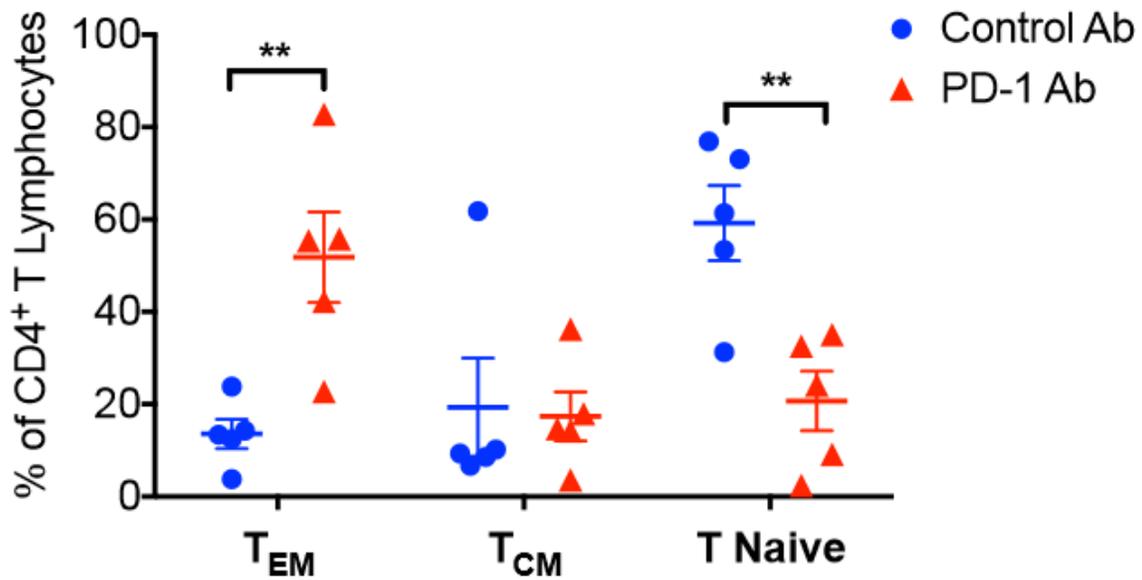


Figure 5F: CD8<sup>+</sup>と同様の所見が CD4<sup>+</sup> T cell でも認められた。effector memory CD4<sup>+</sup> cell が増加し、naïve CD4<sup>+</sup> cell の減少がみられた (EM; effector memory, CM; central memory)。

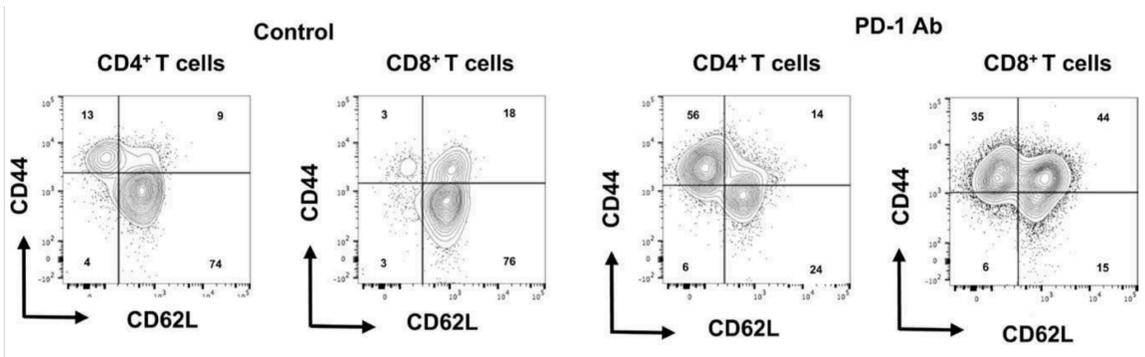


Figure 5G: Figure 5E、F における代表的プロット。

## 結果 2

Wild-type の B6 CD8<sup>+</sup> T cell を注入した群では軽度の炎症反応が認められた一方で、PD-1 deficient の CD8<sup>+</sup> T cell を投与した群ではグラフトが著明に拒絶された (Figure 6A)。

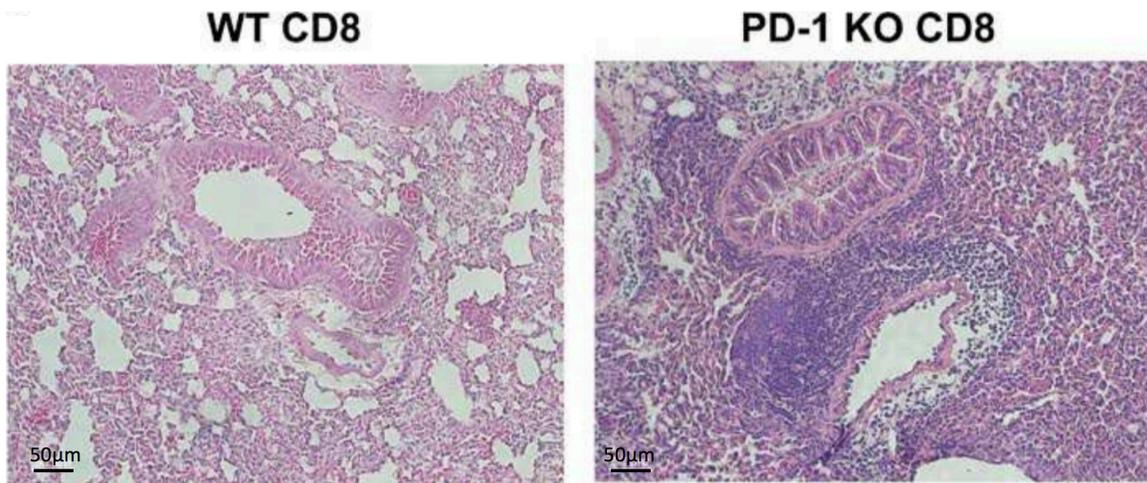


Figure 6A: Wild-type と PD-1 deficient の CD8<sup>+</sup> T cell を投与した群を比較すると PD-1 deficient の CD8<sup>+</sup> T cell を投与した群で血管、気道周囲のリンパ球の集簇を認めた(control; A0, PD-1 KO; A2)。

実験 1 の結果で認められた所見と同様に、PD-1 deficient の CD8<sup>+</sup> T cell を投与した群で CD8<sup>+</sup> / CD4<sup>+</sup> の比率が高かった(Figure 6B)。

## CD8/CD4 Ratio

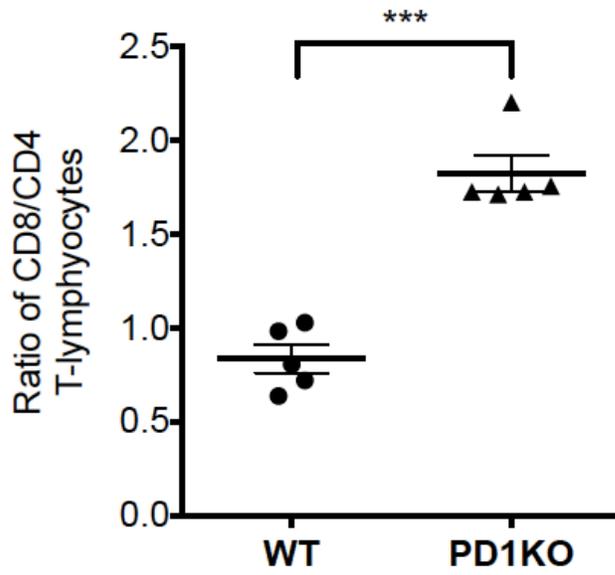


Figure 6B: Wild-type と PD-1 deficient の CD8<sup>+</sup> T cell を投与した群の CD8<sup>+</sup> / CD4<sup>+</sup> の比率を比較すると PD-1 KO 群で有意に高かった。

肺移植後に経静脈的に PD-1 deficient CD8<sup>+</sup> T cell を注入した群では注入した CD8<sup>+</sup> T cell(CD45.2)だけでなくレシピエント由来である CD8<sup>+</sup> T cell (CD45.1)と CD4<sup>+</sup> T cell (CD45.1)でも Ki 67<sup>+</sup>陽性細胞の増加を認めた(Figure 6C)。

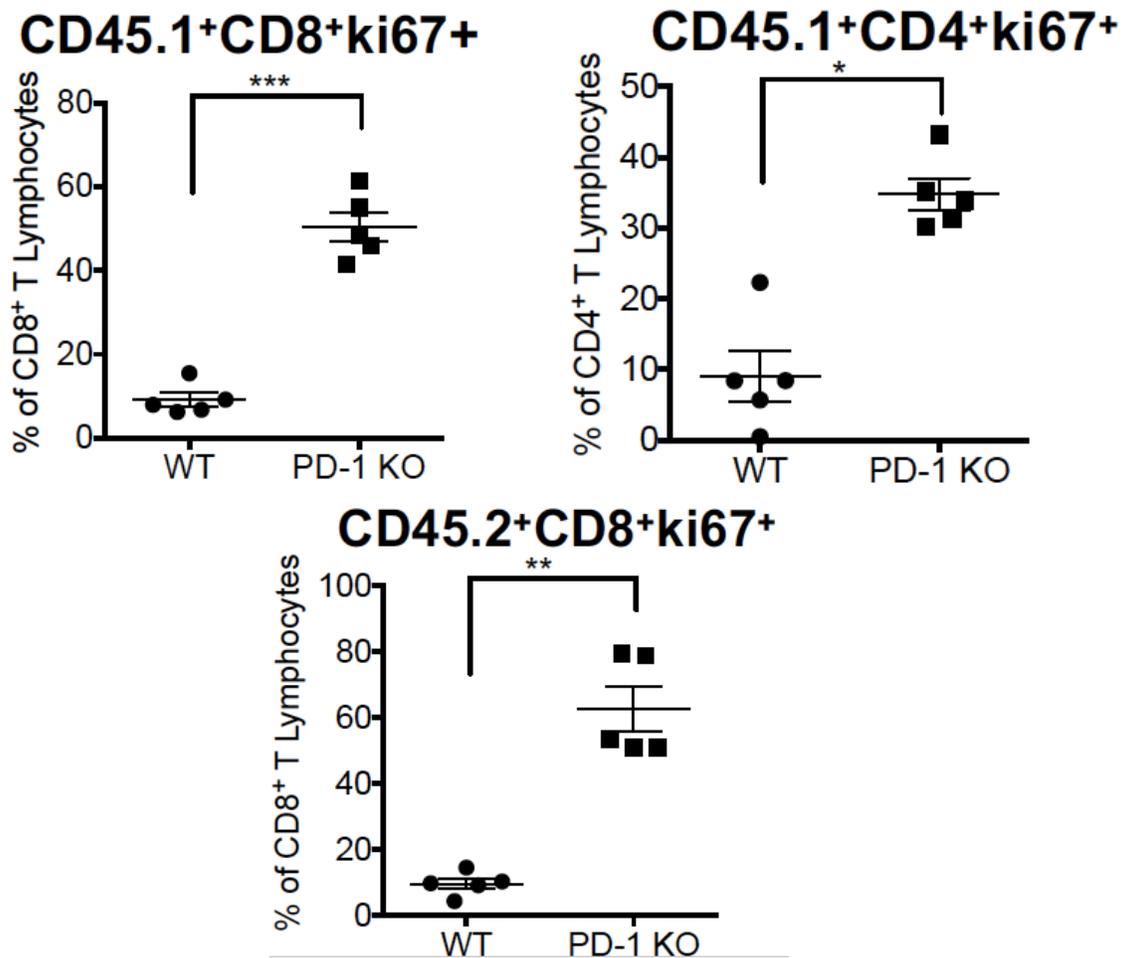


Figure 6C: Wild-type と PD-1 deficient の CD8<sup>+</sup> T cell を投与した群で比較した場合、PD-1 KO 群で有意に移植後に注入した CD8<sup>+</sup> T cell (CD45.2)、レシピエントの CD8<sup>+</sup> T cell (CD45.1) と CD4<sup>+</sup> T cell (CD45.1) でも Ki 67<sup>+</sup>陽性細胞の増加を認めた。

Ki 67<sup>+</sup>;細胞増殖のマーカ-

PD-1 KO 群では、レシピエント由来と注入した CD8<sup>+</sup> T cells とともに effector memory (CD44<sup>hi</sup>CD62L<sup>low</sup>) T cell の増加と naïve (CD44<sup>low</sup>CD62L<sup>hi</sup>) T cell の減少を認めた(Figure 6D、E、F、G)。

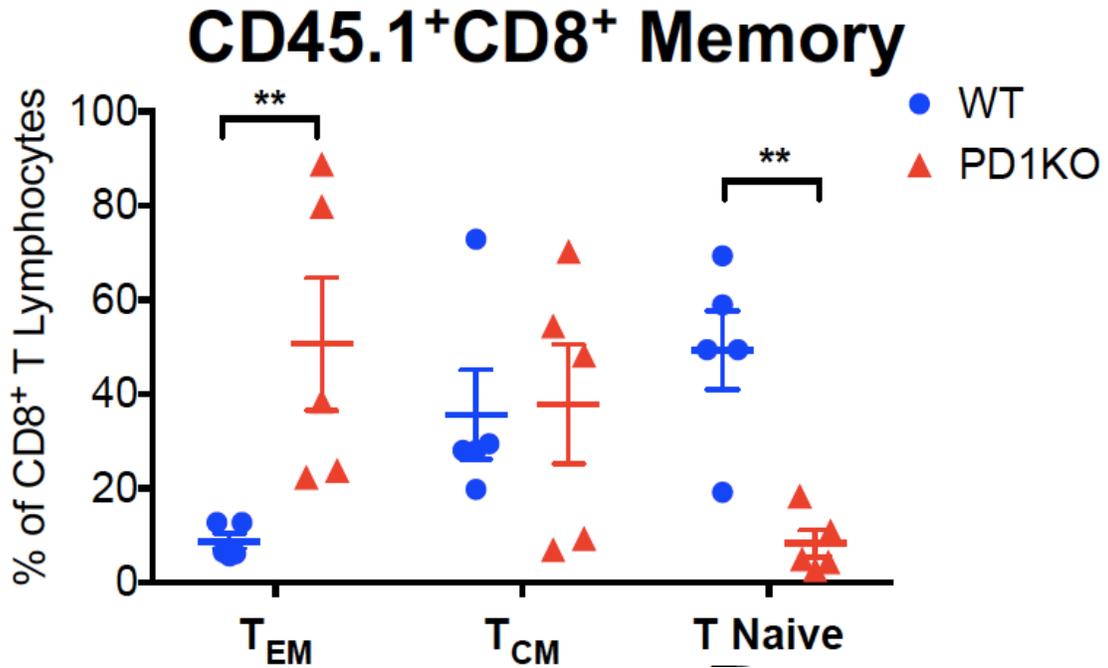


Figure 6D: Wild-type と PD-1 deficient の CD8<sup>+</sup> T cell を投与した群でそれぞれ比較した場合、PD-1 KO 群で有意に レシピエント由来の effector memory CD8<sup>+</sup> T cell の増加と naïve CD8<sup>+</sup> T cell (CD45.1)の減少を認めた (EM; effector memory, CM; central memory)。

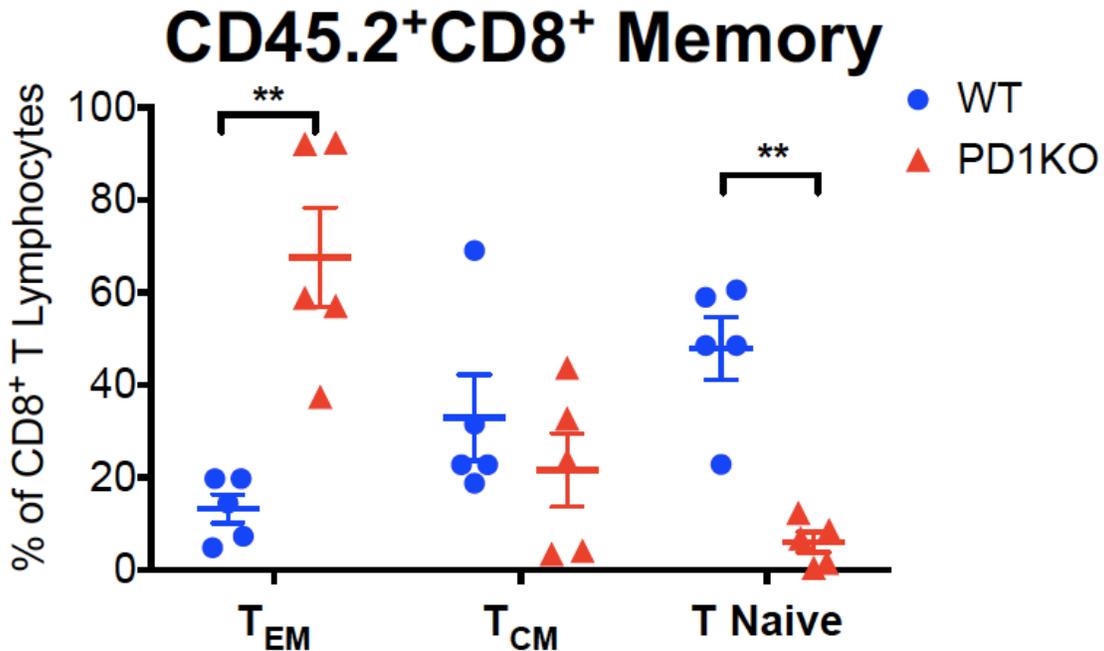


Figure 6E: Wild-type と PD-1 deficient の CD8<sup>+</sup> T cell を投与した群でそれぞれ比較した場合、PD-1 KO 群で有意に注入した細胞由来の effector memory CD8<sup>+</sup> T cell の増加と naïve CD8<sup>+</sup> T cell (CD45.2)の減少を認めた (EM; effector memory, CM; central memory)。

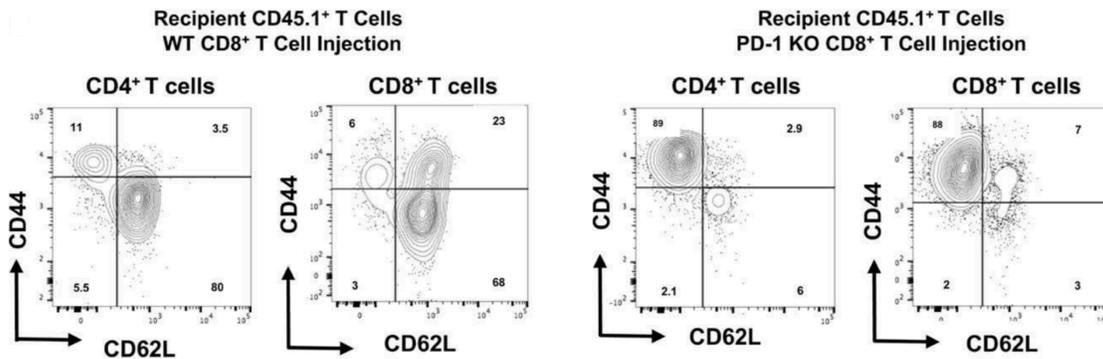


Figure 6F: Figure 6D の代表的プロット。

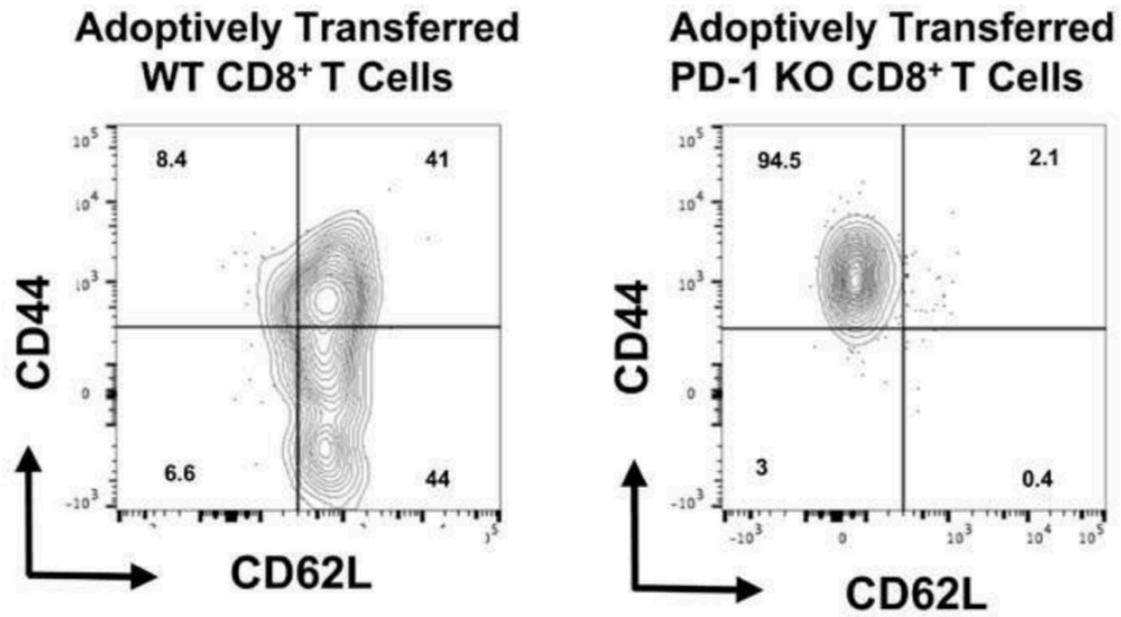


Figure 6G: Figure 6E の代表的プロット。

### 結果 3

Wild-type と PD-1 deficient マウスの脾臓から分離した CD8<sup>+</sup> T cell を解析したところ、naïve (CD44<sup>low</sup>CD62L<sup>hi</sup>) T cell、central memory (CD44<sup>hi</sup>CD62L<sup>hi</sup>) T cell そして effector memory (CD44<sup>hi</sup>CD62L<sup>low</sup>) T cell の割合に関して WT と PD-1 KO の間で差が無かった (Figure 7A、B)。

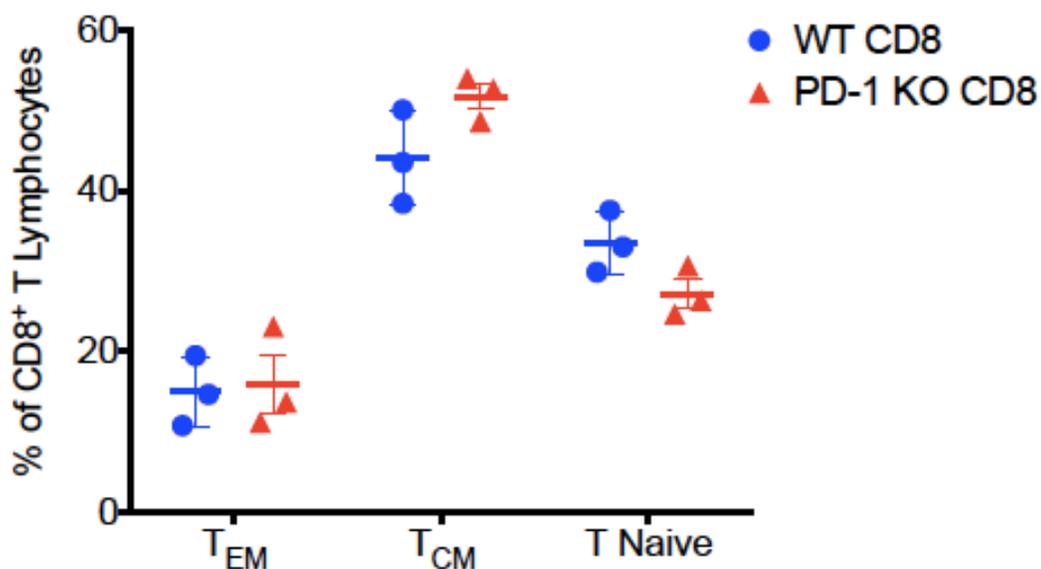


Figure 7A: naïve ( $CD44^{low}CD62L^{hi}$ ) T cell、central memory ( $CD44^{hi}CD62L^{hi}$ ) T cell  
 そして effector memory ( $CD44^{hi}CD62L^{low}$ )  $CD8^{+}$  T cell の割合に関して WT と PD-1  
 KO の間で差が無かった (EM; effector memory, CM; central memory)。

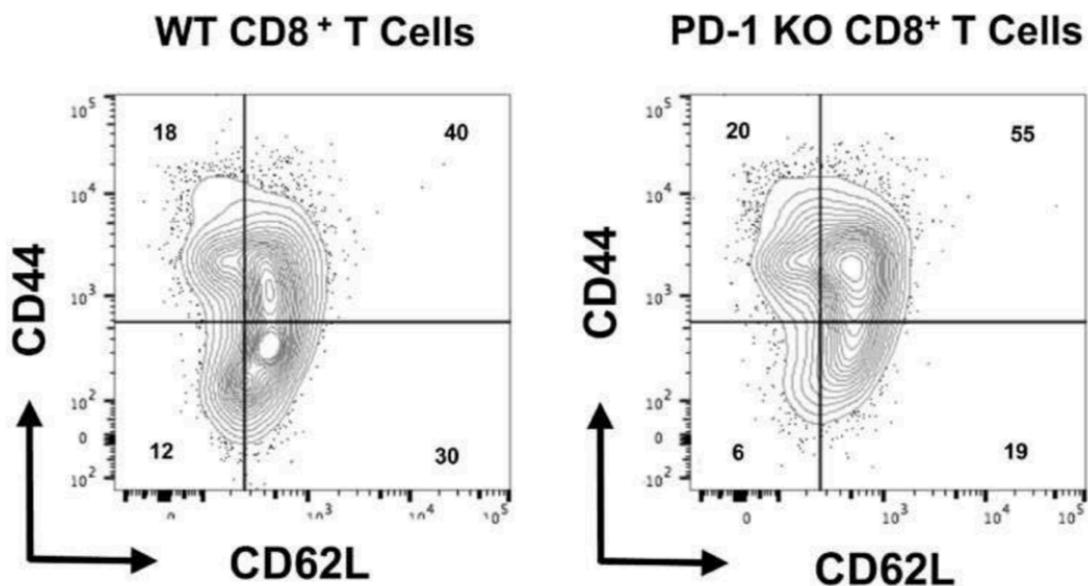


Figure 7B: Figure 7A の代表的プロット。

T cell を Balb/c の脾臓細胞と 2 日間 co-culture したところ、PD-1 KO 群では有意に effector memory T cell が増加した (Figure 7C、D)。

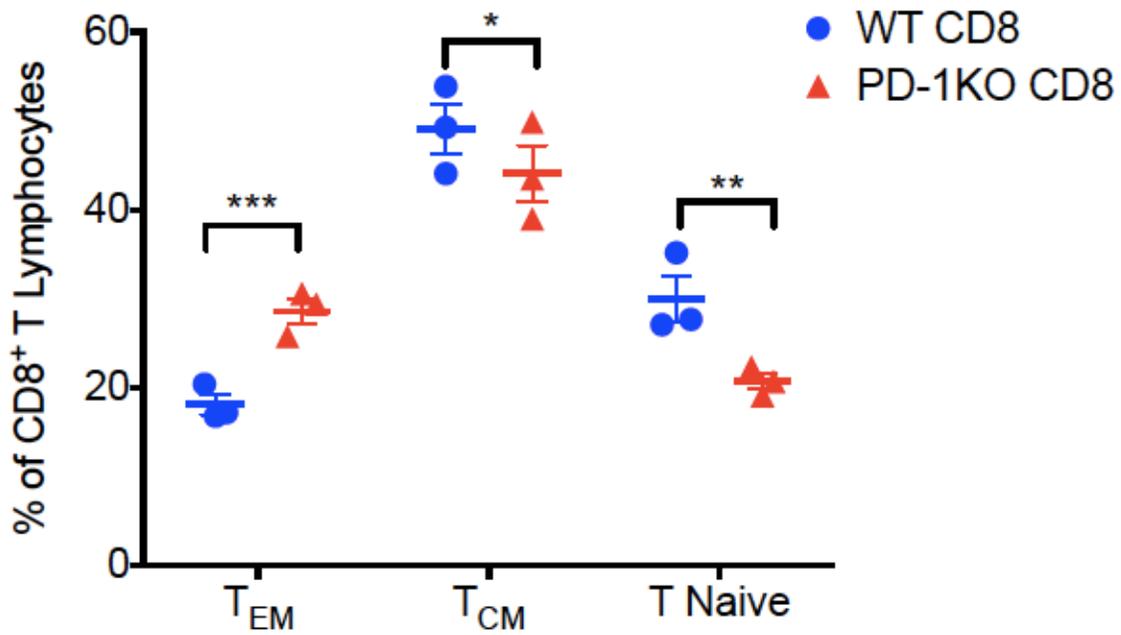


Figure 7C: PD-1 KO 群で有意に effector memory CD8<sup>+</sup> T cell が増加していた (EM; effector memory, CM; central memory)。

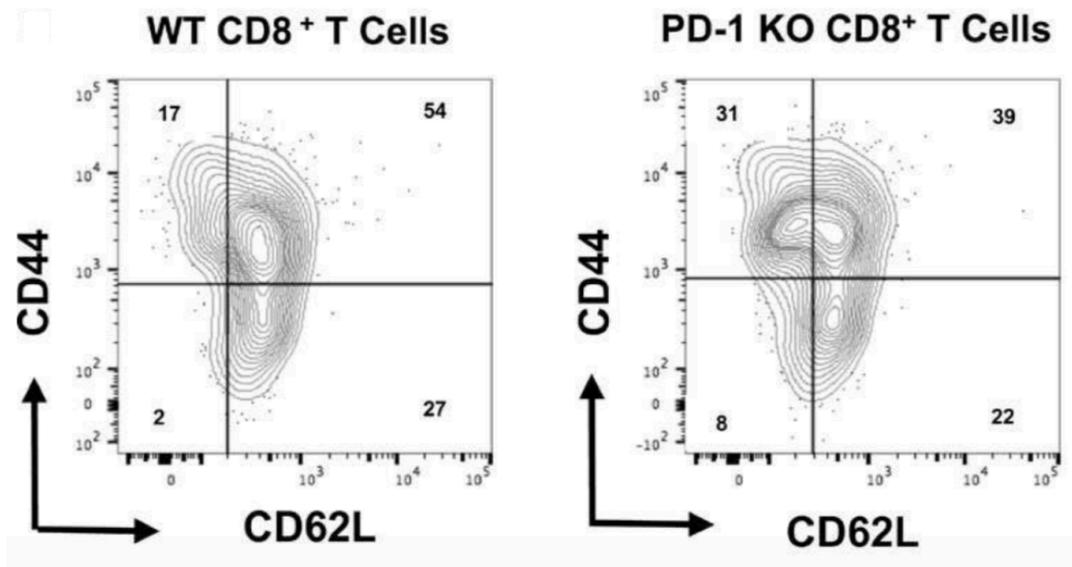


Figure 7D: Figure 7C の代表的プロット。

さらに、central memory T cell と比較し、wild-type と PD-1 deficient の effector memory T cell は Perforin RNA が高発現していた (Figure 7E)。

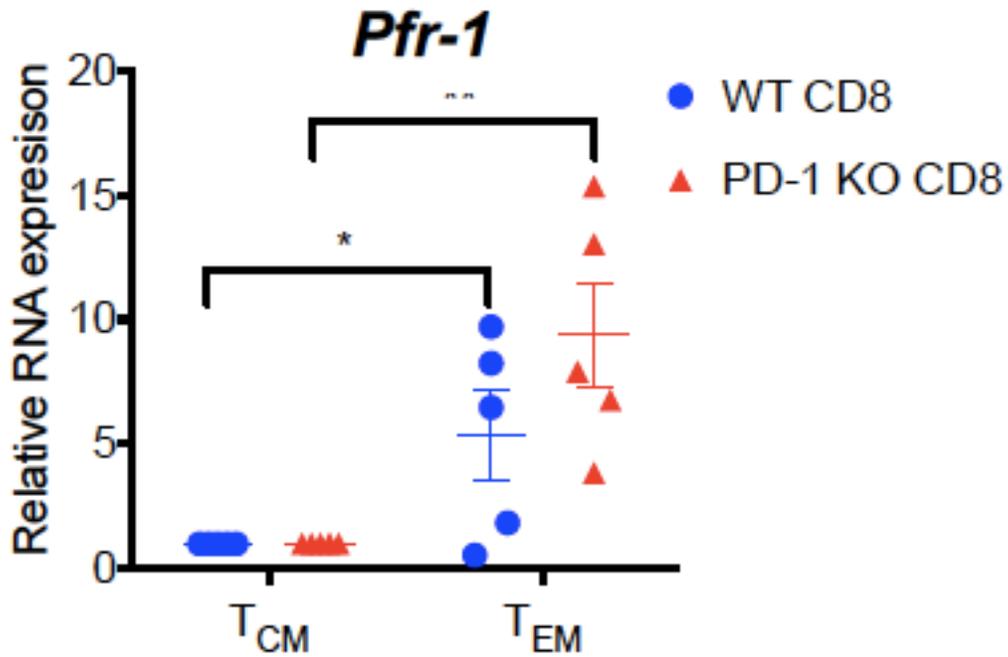


Figure 7E: Central memory T cell と比較し、wild-type と PD-1 deficient の effector memory T cell は Perforin RNA が高発現していた (EM; effector memory, CM; central memory)。

Perforin:標的細胞の膜に小孔を形成する因子

#### 結果 4

Two-photon microscopy を用いて肺のイメージを記録した。B6 wildtype と PD-1-deficient の CD8<sup>+</sup> T cell を比較した場合、PD-1-deficient の CD8<sup>+</sup> T cell は肺グラフ内での動きが遅くなり、CD 11c<sup>+</sup> 抗原提示細胞との相互接触の時間が有意に長かった(Figures 8A、B)。

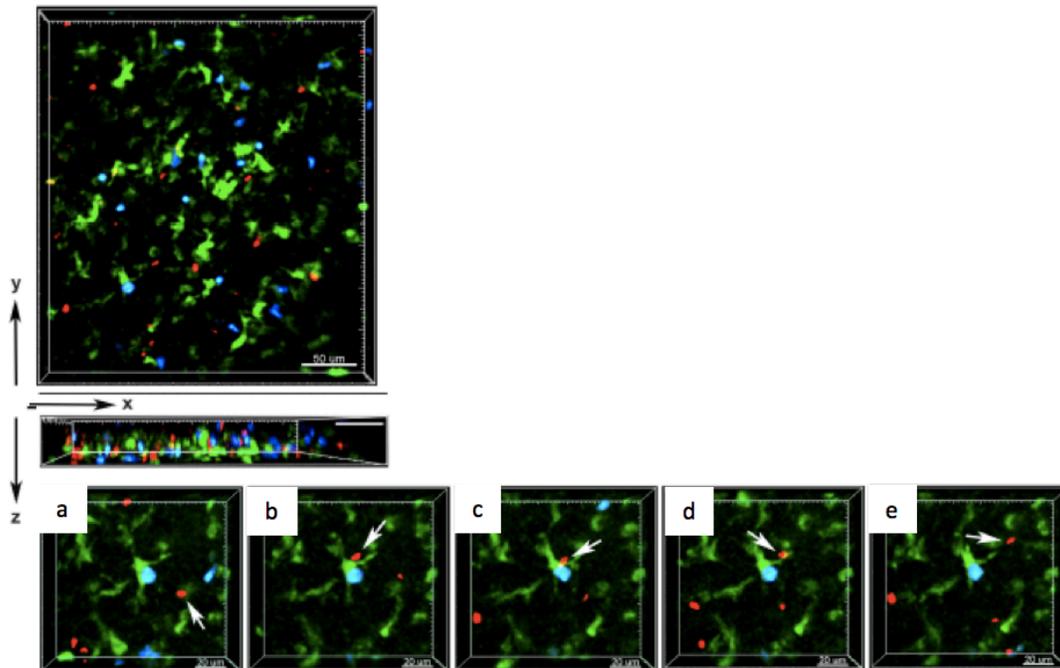


Figure 8A: 赤色の細胞は wild type B6 cell、青色の細胞は PD-1 KO CD8<sup>+</sup> T cell、緑色の細胞は CD11<sup>+</sup> cell である。Balb/c をドナー、B6-EYFP をレシピエントとし移植後 4 日目のグラフト内を生体内 2-photon 顕微鏡下を用いてリンパ球の動きを追跡、記録している。リンパ球は imaging の 24 時間前に移植後の B6-EYFP マウス内に注入された。スケールバーは上の図が 50 μm で下の図が 20 μm である。下の図の a から e は連続した一定の時間間隔で記録した個々のフレームである。細胞の動きをトレースした一連の下図において真ん中に位置する CD11<sup>+</sup> cell に対し、赤いリンパ球は左から b、c で CD11<sup>+</sup> cell に接していることが見える。そして d、e で画面右上方向に移動している。

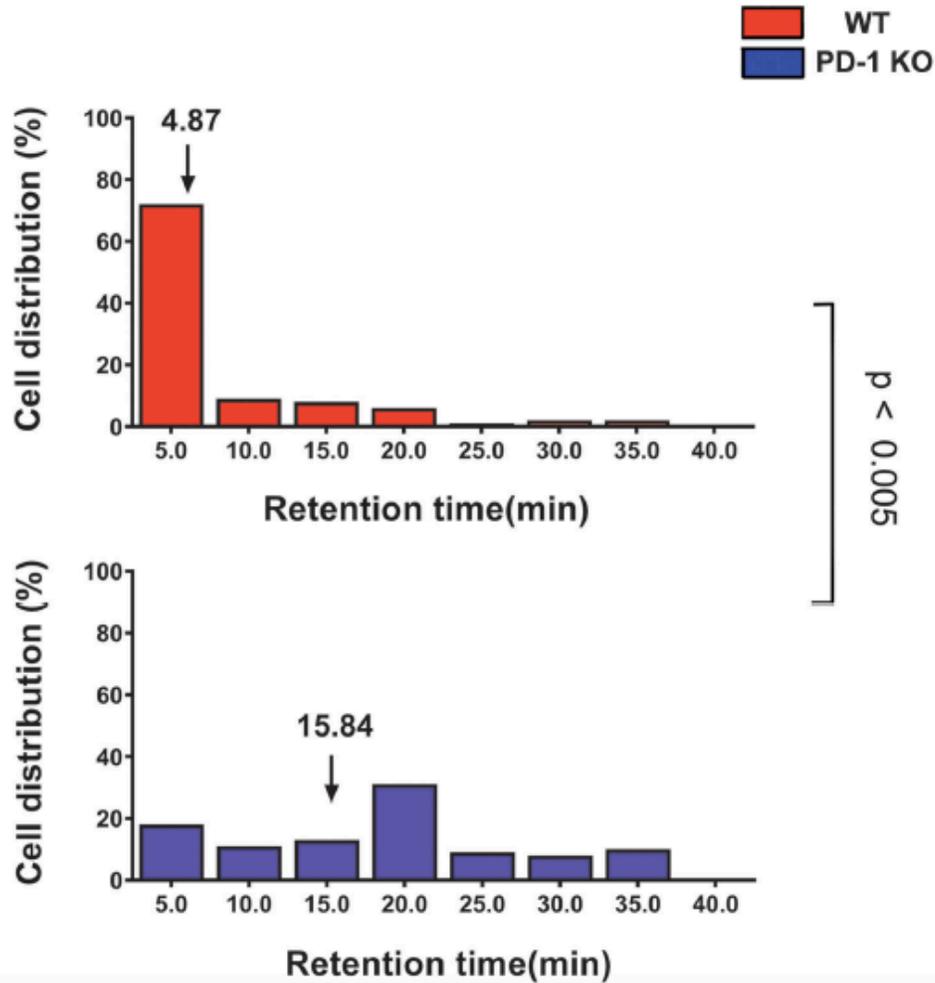


Figure 8B: Figure 8A で示したリンパ球の動きを各細胞 1 個ずつで記録したものをグラフにした。CD11c<sup>+</sup> 抗原細胞と接触していた平均時間を B6 wildtype と比較した場合、PD-1 deficient CD8<sup>+</sup> T cell のほうがグラフト内での動きが遅く、CD11c<sup>+</sup> 抗原細胞と有意に相互接触する時間が長かった。

## 第5章 考察

今回、我々は、PD-1 をブロックもしくは欠損した場合、肺 allograft が拒絶されることを発見した。特に CD8<sup>+</sup> T cell 上の PD-1 発現が免疫寛容導入の障害に関連していた。Krupunick らは以前、肺 allograft の免疫寛容の誘導には central memory CD8<sup>+</sup> T cell が重要であると報告した。一方で、effector memory CD8<sup>+</sup> T cell が増加すると肺は炎症性、細胞障害性分子の増加により拒絶された[92]。これらの結果を合わせて考えると、周術期の B7-CD28 と CD40-CD40L 経路のブロックにより免疫寛容が誘導された移植肺の CD8<sup>+</sup> T cell の PD-1 の発現により central memory の phenotype が維持されていることを示している。

また、PD-1 の発現がないと CD8<sup>+</sup> T cells は肺 graft 内の CD11c<sup>+</sup> cell との接触が長く起こり、effector memory cell の増加が引き起こされることを確認した。以前より central memory CD8<sup>+</sup> T cell が effector memory CD8<sup>+</sup> T cell に分化することが報告されている[95,100,101]。Co-stimulatory そして co-inhibitory 分子の発現が T cell の分化を T cell receptor からのシグナルの強さとともに制御しているという現在までに得られた知見と我々の研究結果は一致している[102]。T cell の motility 減少は、T cell receptor と抗原提示細胞表面のリガンドとの結合を引き起こし、T cell と抗原提示細胞の間に強い synapse を形成するが、この synapse 形成の時間が T cell の活性化に関与している[103]。T cell と抗原提示細胞の synapse 形成は細胞表面分子の発現によって制御されている可能性がある。例えば、成熟樹状細胞の ICAM-1 の発現は樹状細胞-T cell の synapse 形成を制御する[104]。今回の研究において我々は、CD8<sup>+</sup> T cell が PD-1 分子を欠損している場

合、CD8<sup>+</sup> T cell と CD11c<sup>+</sup> 抗原提示細胞の synapse が有意に長くなることを示した。その結果として effector memory phenotype へ分化が誘導され、免疫寛容を誘導出来なかった。現在までに PD-1 が T cell の motility を制御しているという報告が 2 つある。我々の結果と同様に、Fife らは自己免疫疾患モデルで PD-L1 のブロックが CD4<sup>+</sup> T cell の motility を制御し、抗原提示細胞との synapse 形成時間を延長させ、T cell の活性化と炎症性サイトカインの増加をもたらしたと報告している[94]。一方でこの報告と反対に、Zinselmeyer らは PD-1 が慢性ウイルス感染モデルで脾臓内の CD4<sup>+</sup> と CD8<sup>+</sup> T cell の motility を活性化したと報告している[93]。我々は、炎症性刺激の特性が一部でこれらの研究結果の違いに寄与しているのではないかと考えている。

Effector memory と central memory phenotype の分化に互換性があるのか、またこの制御に PD-1 分子が関与しているのかについては今後検討が必要である (Figure 9)。今回、我々は、PD-1- PD-L1 経路が肺移植免疫寛容の導入に関与していることを示した。今回、我々は CD8<sup>+</sup> T cell が PD-1 分子をブロックもしくは欠損した場合、移植グラフト肺が拒絶されること、また CD8<sup>+</sup> T cell と CD11c<sup>+</sup> 抗原提示細胞の synapse が有意に長くなり、effector memory phenotype へ分化が誘導されることを示した。PD-1- PD-L1 経路が免疫制御の標的として有望であり、移植後拒絶反応を抑制する目的で臨床応用できる可能性があるのではないかと考える。

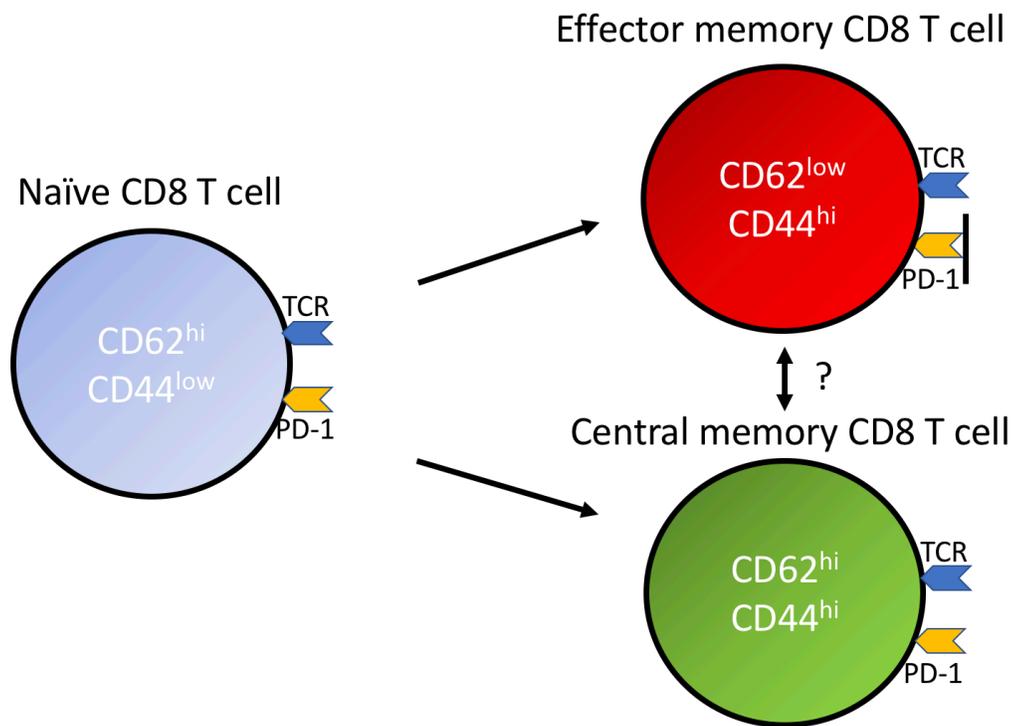


Figure 9: Central memory と effector memory phenotype の分化を制御しているものは？

## 引用文献

1. Hardy JD, Webb WR, Dalton ML Jr, Walker GR Jr. Lung homotransplantations in man. JAMA. 1963; 186: 1065.
2. Calne RY, White DJ, Thiru S, Evans DB, McMaster P, Dunn DC, Craddock GN, Pentolow BD, Rolles K. Cyclosporin A in patients receiving renal allografts from cadaver donors. Lancet. 1978; 2(8104-5): 1323-1327
3. Toronto Lung Transplant Group. Unilateral lung transplantation for pulmonary fibrosis. N Engl J Med. 1986; 314(18): 1140-1145
4. Cooper JD, Patterson GA, Grossman R, Maurer J. Double-lung transplant for advanced chronic obstructive lung disease. Am Rev Respir Dis. 1989; 139(2): 303-307
5. Chambers DC, Yusef RD, Cherikh WS, Goldfarb SB, Kucheryavaya AY, Khusch K, Levvey BJ, Lund LH, Mieser B, Rossano JW, Stehik J; International Society for Heart and Lung Transplantation. The registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: thirty-fourth adult lung and heart-lung transplantation report-2017: focus theme: allograft ischemic time. J Heart Lung Transplant. 2017; 36(10): 1047-1059
6. 三好新一郎. 本邦初の脳死肺移植. 今日の移植. 2000; 13: 412-417
7. 松村輔二, 岡田克典, 佐渡哲, 藤村重文, 近藤丘. 本邦初の脳死肺移植. 今日の移植. 2000; 13: 418-425
8. 小泉知展, 山本洋, 久保恵嗣. 本邦初の生体肺移植患者の臨床経過-気管支拡張症(primary ciliary dyskinesia)症例-. 呼吸. 2003; 22: 387

9.日本肺および心肺移植研究会ホームページ：レジストリーレポート

<http://www2.idac.tohoku.ac.jp/dep/surg/shinpai/pg185.html> (6/21/2018)

10. Weil D, Benden C, Corris PA, Dark JH, Davis RD, Keshavjee S, Lederer DJ, Mulligan MJ, Patterson GA, Singer LG, Snell GI, Verleden GM, Zamora MR, Glanville AR

A consensus document for the selection of lung transplant candidates: 2014-an update from the Pulmonary Transplantation Council of the International Society for Heart and Lung Transplantation. J Heart Lung Transplant. 2015; 34(1): 1-15.

11. Nathan SD. Lung transplantation: disease-specific considerations for referral. Chest. 2005; 127(3): 1006-1016

12. Tuppin MP, Paratz JD, Chang AT, Seale HE, Kermeeen FD, McNeil KD, Hopkins PM. Predictive utility of the 6-minute walk distance on survival in patients awaiting lung transplantation. J Heart Lung Transplant. 2008; 27(7): 729-734.

13.ISHLT ホームページ

<http://www.ishlt.org/> (6/21/2018)

14. Santacruz JF, Mehta AC. Airway complications and management after lung transplantation: ischemia, dehiscence, and stenosis. Proc Am Thorac Soc. 2009; 6(1):79-93

15. Van De Wauwer C, Van Raemdonck D, Verleden GM, Dupont L, De Leyn P, Coosemans W, Nafteux P, Lerut T. Risk factors for airway complications within the first year after lung transplantation. Eur J Cardiothorac Surg. 2007; 31(4): 703-710

16. Machuzak M, SantacruZ JF, Gildea T, Murthy SC. Airway complications after lung transplantation. Thorac Surg Clin. 2015; 25(1): 55-75

17. Anaya-Ayala JE, Loebe M, Davies MG. Endovascular management of early lung transplant-related anastomotic pulmonary artery stenosis. *J Vasc Interv Radiol.* 2015; 26(6): 878-882
18. Miyaji K, Nakamura K, Mauro T, Morita H, Saito H, Emori T, Goto K, Date H, Ohe T. Effect of a kink in unilateral pulmonary artery anastomosis on velocities of blood flow through bilateral pulmonary vein anastomosis in living-donor lobar lung transplantation. *J Am Soc Echocardiogr.* 2004; 17(9): 998-999
19. Chen F, Tazaki J, Shibata T, Miwa S, Yamazaki K, Ishii H, Shojij T, Fujinaga T, Bando T, Date H. Stent angioplasty for a kink in the pulmonary artery anastomosis soon after living-donor lung transplantation. *Ann Thorac Surg.* 2011; 92(5): 105-106
20. Uhlmann EJ, Dunitz JM, Fiol ME. Pulmonary vein thrombosis after lung transplantation presenting as stroke. *J Heart Lung Transplant.* 2009; 28(2): 209-210
21. Schulman LL, Anandarangam T, Leibowitz DW, Ditullio MR, McGregor CC, Galantowicz ME, Homma S. Four-year prospective study of pulmonary venous thrombosis after lung transplantation. *J Am Soc Echocardiogr.* 2001; 14(8): 806-812
22. Leibowitz DW, Smith CR, Michler RE, Ginsburg M, Schulman LL, McGregor CC, Li Mandori G, Weslow RG, Di Tullio MR, Homma S. Incidence of pulmonary vein complications after lung transplantation: a prospective transesophageal echocardiographic study. *J Am Coll Cardiol.* 1994; 24(3): 671-675
23. Maziak DE, Maurer JR, Kesten S. Diaphragmatic paralysis: a complication of lung transplantation. *Ann Thorac Surg.* 1996; 61(1): 170-173

24. Boehler A, Speich R, Russi EW, Weder W. Lung transplantation for lymphangiomyomatosis. *N Engl J Med.* 1996; 335(17): 1275-1280
25. Christie JD, Van Raemdonck D, de Perrot M, Barr M, Keshavjee S, Acrasoy S, Orens J; ISHLT Working Group on Primary Lung Graft Dysfunction. Report of the ISHLT Working Group on Primary Lung Graft Dysfunction part I: introduction and methods. *J Heart Lung Transplant.* 2005; 24(10): 1451-1453
26. Christie JD, Bavaria JE, Palevsky HI, Litzky L, Blumenthal NP, Kaiser LR, Kotloff RM. Primary graft failure following lung transplantation. *Chest.* 1998; 114(1): 51-60
27. de Perrot M, Liu M, Waddell TK, Keshavjee S. Ischemia-reperfusion-induced lung injury. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003; 167(4): 490-511
28. Christie JD, Carby M, Bag R, Corris P, Hertz M, Weill D; ISHLT Working Group on Primary Lung Graft Dysfunction. Report of the ISHLT Working Group on Primary Lung Graft Dysfunction part II: definition. A consensus statement of the International Society for Heart and Lung Transplantation. *J Heart Lung Transplant.* 2005; 24(10): 1454-1459
29. Oto T, Griffiths AP, Levvey BJ, Pilcher DV, Williams TJ, Snell GI. Definitions of primary graft dysfunction after lung transplantation: differences between bilateral and single lung transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2006; 132(1): 140-147
30. Martinu T, Chen DF, Palmer SM. Acute rejection and humoral sensitization in lung transplant recipients. *Proc Am Thorac Soc.* 2009; 6(1): 54-65
31. Martinu T, Pavlisko EN, Chen DF, Palmer SM. Acute allograft rejection: cellular and humoral processes. *Clin Chest Med.* 2011; 32(2): 295-310

32. Yusen RD, Edwards LB, Kucheryavaya AY, Benden C, Dipchand AI, Goldfarb SB, Levvey BJ, Lund LH, Meiser B, Rossano JW, Stehik J. The registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: thirty-second official adult lung and heart-lung transplantation report-2015: focus theme: early graft failure. *J Heart Lung Transplant.* 2015; 34(10): 1264-1277
33. De Vito Dabbs A, Hoffman LA, Iacono AT, Zullo TG, McCurry KR, Dauber JH. Are symptom reports useful for differentiating between acute and pulmonary infection after lung transplantation. *Heart Lung.* 2004; 33(6): 372-380
34. Stewart S, Fishbein MC, Snell GI, Berry GJ, Boehler A, Burke MM, Glanville A, Gould FK, Magro C, Marboe CC, McNeil KD, Reed EF, Reinsmoen NL, Scott JP, Studer SM, Tazelaar HD, Wallwork JL, Westall G, Zamore MR, Zeevi A, Yousem SA. Revision of the 1990 working formulation for the standardization of the nomenclature in the diagnosis of lung rejection. *J Heart Lung Transplant.* 2007; 26(12): 1229-1242
35. Girnita DM, Webber SA, Zeevi A. Clinical impact of cytokine and growth factor genetic polymorphisms in thoracic organ transplantation. *Clin Lab Med.* 2008; 28(3): 423-40
36. Zheng HX, Zeevi A, McCurry K, Schuetz E, Webber S, Ristich J, Zhang J, Iacono A, Dauber J, McDade K, Zaldonis D, Lamba J, Burckart GJ. The impact of pharmacogenomic factors on acute persistent rejection in adult lung transplant patients. *Transpl Immunol.* 2005; 14(1): 37-42
37. Colobran R, Casamitjana N, Roman A, Faner R, Pedrosa E, Arostegui JI, Pujol-Borrell R, Juan M, Palou E. Copy number variation in the CCL4L gene is associated

with susceptibility to acute rejection in lung transplantation. *Genes Immun.* 2009; 10(3): 254-9

38. Palmer SM, Burch LH, Trindade AJ, Davis RD, Herczyk WF, Reinsmoen NL, Schwartz DA. Innate immunity influences long-term outcomes after human lung transplant. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005; 171(7): 780-5

39. Levine SM, Transplant/Immunology Network of the American College of Chest Physicians. A survey of clinical practice of lung transplantation in North America. *Chest.* 2004; 125(4): 1224-38

40. Glanville AR. Bronchoscopic monitoring after lung transplantation. *Semin Respir Crit Care Med.* 2010; 31(2): 208-221

41. Verleden GM, Raghu G, Meyer KC, Glanville AR, Corris P. A new classification system for chronic lung allograft dysfunction. *J Heart Lung Transplant.* 2014; 33(2): 127-33

42. Cooper JD, Billingham M, Egan T, Hertz MI, Higenbottam T, Lynch J, Mauer J, Paradis I, Patterson GA, Smith C. A working formulation for the standardization of nomenclature and for clinical staging of chronic dysfunction in lung allografts. International Society for Heart and Lung Transplantation. *J Heart Lung Transplant.* 1993; 12(5): 713-716

43. Estenne M, Maurer JR, Boehler A, Egan JJ, Frost A, Hertz M, Mallory GB, Snell GI, Yousem S. Bronchiolitis obliterans syndrome 2001: an update of the diagnostic criteria. *J Heart Lung Transplant.* 2002; 21(3): 297-310

44. Keller CA, Cagle PT, Brown RW, Noon G, Frost AE. Bronchiolitis obliterans in recipients of single, double, and heart-lung transplantation. *Chest*. 1995; 107(4): 973-980
45. Chalermkulrat W, Neuringer IP, Schmitz JL, Catellier DJ, Gurka MJ, Randell SH, Aris RM. Human leukocyte antigen mismatches predispose to the severity of bronchiolitis obliterans syndrome after lung transplantation. *Chest*. 2003; 123(6): 1825-1831
46. Sumpter TL, Wilkes DS. Role of autoimmunity in organ allograft rejection: a focus on immunity to type V collagen in the pathogenesis of lung transplant rejection. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2004; 286(6): L1129-1139
47. Estenne M, Maurer JR, Boehler A, Egan JJ, Frost A, Hertz M, Mallory GB, Snell GI, Yousem S. Bronchiolitis obliterans syndrome 2001: an update of the diagnostic criteria. *J Heart Lung Transplant*. 2002; 21(3): 297-310
48. Xu X, Golden JA, Dolganov G, Jones KD, Donnelly S, Weaver T, Caughey GH. Transcript signatures of lymphocytic bronchitis in lung allograft biopsy specimens. *J Heart Lung Transplant*. 2005; 24(8): 1055-1066
49. Novick RJ, Stitt LW, Al-Kattan K, Klepetko W, Schäfers HJ, Duchatelle JP, Khaghani A, Hardesty RL, Patterson GA, Yacoub MH. Pulmonary retransplantation: predictors of graft function and survival in 230 patients. *Pulmonary Retransplant Registry*. *Ann Thorac Surg*. 1998; 65(1): 227-234
50. Whitford H, Walters EH, Levvey B, Kotsimbos T, Orsida B, Ward C, Pais M, Reid S, Williams T, Snell G. Addition of inhaled corticosteroids to systemic

immunosuppression after lung transplantation: a double-blind, placebo-controlled trial. *Transplantation*. 2002; 73(11): 1793-1799

51. Vos R, Vanaudenaerde BM, Verleden SE, De Vleeschauwer SI, Willems-Widyastuti A, Van Raemdonck DE, Schoonis A, Nawrot TS, Dupont LJ, Verleden GM. A randomised controlled trial of azithromycin to prevent chronic rejection after lung transplantation. *Eur Respir J*. 2011; 37(1): 164-172

52. Sato M, Waddell TK, Wagnetz U, Roberts HC, Hwang DM, Haroon A, Wagnetz D, Chaparro C, Singer LG, Hutcheon MA, Keshavjee S. Restrictive allograft syndrome (RAS): a novel form of chronic lung allograft dysfunction. *J Heart Lung Transplant*. 2011; 30(7): 735-742

53. Verleden SE, Todd JL, Sato M, Palmer SM, Martinu T, Pavilsko EN, Vos R, Neyrinck A, Van Raemdonck D, Saito T, Oishi H, Keshavjee S, Greer M, Warnecke G, Gottlieb J, Haverich A. Impact of CLAD phenotype on survival after lung retransplantation: a multicenter study. *Am J Transplant*. 2015; 15(8): 2223-2230

54. Lama VN, Belperio JA, Christie JD, El-Chemaly S, Fishbein MC, Gelman AE, Hancock WW, Keshavjee S, Kreisel D, Laubach VE, Looney MR, McDyer JF, Mohanakumar T, Shilling RA, Panoskaltsis-Mortari A, Wilkes DS, Eu JP, Nicolls MR. Models of Lung Transplant Research: a consensus statement from the National Heart, Lung, and Blood Institute workshop. *JCI Insight*. [Epub ahead of print]

55. Okazaki M<sup>1</sup>, Krupnick AS, Kornfeld CG, Lai JM, Ritter JH, Richardson SB, Huang HJ, Das NA, Patterson GA, Gelman AE, Kreisel D. A mouse model of orthotopic vascularized aerated lung transplantation. *Am J Transplant*. 2007; 7(6): 1672-1679

56. Prop J, Tazelaar HD, Billingham ME. Rejection of combined heart-lung transplantations in rats. Function and pathology. *Am J Pathol.* 1987; 127(1): 97-105
57. Hertz MI, Jessurun J, King MB, Savik SK, Murray JJ. Reproduction of the obliterative bronchiolitis lesion after heterotopic transplantation of mouse airways. *Am J Pathol.* 1993; 142(6): 1945-1951
58. Neuringer IP, Mannon RB, Coffman TM, Parsons M, Burns K, Yankaskas JR, Aris RM. Immune cells in a mouse airway model of obliterative bronchiolitis. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1998; 19(3): 379-386
59. Minamoto K, Harada H, Lama VN, Fedarau MA, Pinsky DJ. Reciprocal regulation of airway rejection by the inducible gasforming enzymes heme oxygenase and nitric oxide synthase. *J Exp Med.* 2005; 202(2): 283-294
60. Sato M, Hirayama S, Hwang DM, Lara-Guerra H, Wagnetz D, Waddell TK, Liu M, Keshavjee S. The role of intrapulmonary de novo lymphoid tissue in obliterative bronchiolitis after lung transplantation. *J Immunol.* 2009; 182(11): 7307-7316
61. Gelman AE, Li W, Richardson SB, Zinselmeyer BH, Lai J, Okazaki M, Kornfeld CG, Kreisel FH, Sugimoto S, Tietjens JR, Dempster J, Patterson GA, Krupnick AS, Miller MJ, Kreisel D. Cutting edge: Acute lung allograft rejection is independent of secondary lymphoid organs. *J Immunol.* 2009; 182(7): 3969-3973
62. Li W, Sugimoto S, Lai J, Patterson GA, Gelman AE, Krupnick AS, Kreisel D. Orthotopic vascularized right lung transplantation in the mouse. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2010; 139(6): 1637-1643
63. Li W, Goldstein DR, Bribriescio AC, Nava RG, Spahn JH, Wang X, Gelman AE, Krupnick AS, Kreisel D. Surgical technique for lung retransplantation in the mouse.

J Thorac Dis. 2013; 5(3): 321-325

64. Bretcher PA. A two-step, two-signal model for the primary activation of precursor helper T cells. Proc Natl Acad Sci U S A. 1999; 96(1): 185-190

65. Curtsinger JM, Mescher MF. Inflammatory cytokines as a third signal for T cell activation. Curr Opin Immunol. 2010; 22(3): 333-340

66. Chen L, Flies DB. Molecular mechanisms of T cell co-stimulation and co-inhibition. Nat Rev Immunol. 2013; 13(4): 227-242

67. Isobe M, Yagita H, Okumura K, Ihara A. Specific acceptance of cardiac allograft after treatment with antibodies to ICAM-1 and LFA-1. Science. 1992; 255(5048): 1125-1127

68. Fife BT, Bluestone JA. Control of peripheral T-cell tolerance and autoimmunity via the CTLA-4 and PD-1 pathways. Immunol Rev. 2008; 224: 166-182

69. Riella LV, Paterson AM, Sharpe AH, Chandraker A. Role of the PD-1 pathway in the immune response. Am J Transplant. 2012; 12(10): 2575-2587

70. Linsley PS, Brady W, Urnes M, Grosmaire LS, Damle NK, Ledbetter JA. CTLA-4 is a second receptor for the B cell activation antigen B7. J Exp Med. 1991; 174(3): 561-569

71. Ishida Y, Agata Y, Shibahara K, Honji T. Induced expression of PD-1, a novel member of the immunoglobulin gene superfamily, upon programmed cell death. EMBO J. 1992; 11(11): 3887-3895

72. Agata Y, Kawasaki A, Nishimura H, Ishida Y, Tsubata T, Yagita H, Honjo T. Expression of the PD-1 antigen on the surface of stimulated mouse T and B lymphocytes. Int Immunol. 1996; 8(5): 765-772

73. Liang SC, Latchman YE, Buhmann JE, Tomczak MF, Horwitz BH, Freeman GJ, Sharpe AH. Regulation of PD-1, PD-L1, and PD-L2 expression during normal and autoimmune responses. *Eur J Immunol.* 2003; 33(10): 2706-2716
74. Dong H, Zhu G, Tamada K, Chen L. B7-H1, a third member of the B7 family, co-stimulates T-cell proliferation and interleukin-10 secretion. *Nat Med.* 1999; 5(12): 1365-1369
75. Lee SJ, Jang BC, Lee SW, Yang YI, Shuh SI, Park YM, Oh S, Shin JG, Yao S, Chen L, Choi IH. Interferon regulatory factor-1 is prerequisite to the constitutive expression and IFN-gamma-induced upregulation of B7-H1 (CD274). *FEBS Lett.* 2006; 580(3): 755-762
76. Freeman GJ, Wherry EJ, Ahmed R, Sharpe AH. Reinvigorating exhausted HIV-specific T cells via PD-1-PD-1 ligand blockade. *J Exp Med.* 2006; 203(10): 2223-2227
77. Kinter AL, Godbout EJ, McNally JP, Sereti I, Roby GA, O'Shea MA, Fauci AS. The common gamma-chain cytokines IL-2, IL-7, IL-15, and IL-21 induce the expression of programmed death-1 and its ligands. *J Immunol.* 2008; 181(10): 6738-6746
78. Oestreich KJ, Yoon H, Ahmed R, Boss JM. NFATc1 regulates PD-1 expression upon T cell activation. *J Immunol.* 2008; 181(7): 4832-4839
79. Eppihimer MJ, Gunn J, Freeman GJ, Greenfield EA, Chermova T, Erickson J, Leonard JP. Expression and regulation of the PD-L1 immunohibitory molecule on microvascular endothelia cells. *Microcirculation.* 2002; 9(2): 133-145

80. Zhong X, Tumang J, Gao W, Bai C, Rothstein T. PD-L2 expression extends beyond dendritic cells/ macrophages to B1 cells enriched for V(H)11/V(H)12 and phosphatidylcholine binding. *Eur J Immunol.* 2007; 37(9): 2405-2410
81. Wang J, Yoshida T, Nakaki F, Hirai H, Okazaki T, Honjo T. Establishment of NOD-Pdcd 1-/- mice as an efficient animal model of type I diabetes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005; 102(33): 11823-11828
82. Nishimura H, Nose M, Hirai H, Minato N, Honjo T. Development of lupus-like autoimmune disease by disruption of the PD-1 gene encoding an ITIM motif-carrying immunoreceptor. *Immunity.* 1999; 11(2): 141-151
83. Nishimura H, Okazaki T, Tanaka Y, Nakatani K, Hara M, Matsumori A, Sasayama S, Mizoguchi A, Hirai H, Minato N, Honjo T. Autoimmune dilated cardiomyopathy in PD-1 receptor-deficient mice. *Science.* 2001; 291(5502): 319-322
84. Borghaei H, Paz-Ares L, Horn L, Spigel DR, Steins M, Ready NE, Chow LQ, Vokes EE, Felip E, Holgado E, Barlesi F, Kohlhäufel M, Arrieta O, Burgio MA, Fayette J, Lena H, Poddubskaya E, Gerber DE, Gettinger SN, Rudin CM, Rizvi N, Crinò L, Blumenschein GR Jr, Antonia SJ, Dorange C, Harbison CT, Graf Finckenstein F, Brahmer JR. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Nonsquamous Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med.* 2015; 373(17): 1627-39
85. Brahmer J, Reckamp KL, Baas P, Crinò L, Eberhardt WE, Poddubskaya E, Antonia S, Pluzanski A, Vokes EE, Holgado E, Waterhouse D, Ready N, Gainor J, Arén Frontera O, Havel L, Steins M, Garassino MC, Aerts JG, Domine M, Paz-Ares L, Reck M, Baudelet C, Harbison CT, Lestini B, Spigel DR.

Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Squamous-Cell Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med.* 2015; 373(2): 123-35

86. Herbst RS, Baas P, Kim DW, Felip E, Pérez-Gracia JL, Han JY, Molina J, Kim JH, Arvis CD, Ahn MJ, Majem M, Fidler MJ, de Castro G Jr, Garrido M, Lubiniecki GM, Shentu Y, Im E, Dolled-Filhart M, Garon EB.

Pembrolizumab versus docetaxel for previously treated, PD-L1-positive, advanced non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-010): a randomised controlled trial.

*Lancet.* 2016; 387(10027): 1540-50

87. Sheng J, Fang W, Yu J, Chen N, Zhan J, Ma Y, Yang Y, Huang Y, Zhao H, Zhang L.

Expression of programmed death ligand-1 on tumor cells varies pre and post chemotherapy in non-small cell lung cancer. *Sci Rep.* 2016; 6: 20090

88. Rittmeyer A, Barlesi F, Waterkamp D, Park K, Ciardiello F, von Pawel J, Gadgeel SM, Hida T, Kowalski DM, Dols MC, Cortinovis DL, Leach J, Polikoff J, Barrios C, Kabbinar F, Frontera OA, De Marinis F, Turna H, Lee JS, Ballinger M, Kowanetz M, He P, Chen DS, Sandler A, Gandara DR; OAK Study Group.

Atezolizumab versus docetaxel in patients with previously treated non-small-cell lung cancer (OAK): a phase 3, open-label, multicentre randomised controlled trial.

*Lancet.* 2017; 389(10066): 255-265

89. Tanaka K, Albin MJ, Yuan X, Yamamura K, Habicht A, Murayama T, Grimm M, Waaga AM, Ueno T, Padera RF, Yagita H, Azuma M, Shin T, Blazar BR, Rothestein DM, Sayegh MH, Najafian N. PD-L1 is required for peripheral transplantation tolerance and protection from chronic allograft rejection. *J Immunol.* 2007; 179(8): 5204-

5210

90. Morita M, Fujino M, Jiang G, Kitazawa Y, Xie L, Azuma M, Yagita H, Nagano S, Sugioka A, Kurosawa Y, Takahara S, Fung J, Qian S, Lu L, Li XK. PD-1/B7-H1 interaction contribute to the spontaneous acceptance of mouse liver allograft. *Am J Transplant.* 2010; 10(1): 40-46
91. Jameson SC, Masopust D. Diversity in T cell memory: An embarrassment of riches. *Immunity.* 2009; 31(6): 859-871
92. Krupnick AS, Lin X, Li W, Higashikubo R, Zinselmeyer BH, Hartzler H, Toth K, Ritter JH, Berezin MY, Wang ST, Miller MJ, Gelman AE, Kreisel D. Central memory CD8+ T lymphocytes mediate lung allograft acceptance. *J Clin Invest.* 2014; 124(3): 1130-1143
93. Zinselmeyer BH, Heydari S, Sacristan C, Nayak D, Cammer M, Herz J, Cheng X, Davis SJ, Dustin ML, McGavern DB. PD-1 promotes immune exhaustion by inducing antiviral T cell motility paralysis. *J Exp Med.* 2013; 210(4): 757-774
94. Fife BT, Pauken KE, Eagar TN, Obu T, Wu J, Tang Q, Azuma M, Krummel MF, Bluestone JA. Interactions between PD-1 and PD-L1 promote tolerance by blocking the TCR-induced stop signal. *Nat Immunol.* 2009; 10(11): 1185-1192
95. Marzo AL, Yagita H, Lefrancois L. Cutting edge: migration to nonlymphoid tissues results in functional conversion of central to effector memory CD8 T cells. *J Immunol.* 2007; 179(1): 36-40
96. Charlton JJ, Chatzidakis I, Tsoukatou D, Boumpas DT, Garinis GA, Mamalaki C. Programmed death-1 shapes memory phenotype CD8 T cell subsets in a cell-intrinsic manner. *J Immunol.* 2013; 190(12): 6104-6114

97. Nava RG, Li W, Gelman AE, Krupnick AS, Miller MJ, Kreisel D. Two photon microscopy in pulmonary research. *Semin Immunopathol.* 2010; 32(3): 297-304
98. Wang L, Han R, and Hancock WW. Programmed cell death 1 (PD-1) and its ligand PD-L1 are required for allograft tolerance. *Eur J Immunol.* 2007; 37(10): 2983-2990
99. Koehn BH, Ford ML, Ferrer IR, Borom K, Gangappa S, Kirk AD, Larsen CP. PD-1-dependent mechanisms maintain peripheral tolerance of donor-reactive CD8+ T cells to transplanted tissue. *J Immunol.* 2008; 181(8): 5313-5322
100. Huster KM, Koffler M, Stemberger C, Schiemann M, Wagner H, Busch DH. Unidirectional development of CD8+ central memory T cells into protective Listeria-specific effector memory T cells. *Eur J Immunol.* 2006; 36(6): 1453-1464
101. Bouneaud C, Garcia Z, Kourilsky P, Pannetier C. Lineage relationships, homeostasis, and recall capacities of central- and effector-memory CD8 T cells in vivo. *J Exp Med.* 2005; 201(4): 579-590
102. Mousavi SF, Soroosh P, Takahashi T, Yoshikai Y, Shen H, Lefrancois L, Borst J, Sugamura K, Ishii N. OX40 costimulatory signals potentiate the memory commitment of effector CD8+ T cells. *J Immunol.* 2008; 181(9): 5990-6001
103. Benvenuti F, Lagaudriere-Gesbert C, Grandjean I, Jancic C, Hivroz C, Trautmann A, Lantz O, Amigorena S. Dendritic cell maturation controls adhesion, synapse formation, and the duration of the interactions with naive T lymphocytes. *J Immunol.* 2004; 172(1): 292-301
104. Scholer A, Hugues S, Boissonnas A, Fetler L, Amigorena S. Intercellular adhesion molecule-1-dependent stable interactions between T cells and dendritic cells determine CD8+ T cell memory. *Immunity.* 2008; 28(2): 258-270

本研究の一部は”PD-1 expression on CD8<sup>+</sup> T cells regulates their differentiation within lung allografts and is critical for tolerance induction”として American Journal of Transplantation 2018; 18: 216-225 に掲載された。

## 謝辞

本研究にあたり、多大なる御高配と御指導、御鞭撻を賜りました、東京大学医学部附属病院呼吸器外科中島淳教授に心より感謝致します。

また、本研究の遂行にあたり、終始直接の御指導、御鞭撻を賜りました

Washington University in St. Louis, Department of Surgery Daniel Kreisel 教授に深く感謝致します。

終わりに、本研究に数々の御助言、御協力を賜りました Washington University in St. Louis, Department of Surgery , Thoracic Immunobiology Lab の諸氏に深く感謝申し上げます。