



TITLE:

Dual inhibition of the MEK/ERK and PI3K/AKT pathways prevents pulmonary GVHD suppressing perivenulitis and bronchiolitis(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Muranushi, Hiroyuki

CITATION:

Muranushi, Hiroyuki. Dual inhibition of the MEK/ERK and PI3K/AKT pathways prevents pulmonary GVHD suppressing perivenulitis and bronchiolitis. 京都大学, 2023, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2023-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k24513>

RIGHT:

京都大学	博士 (医 学)	氏 名	村 主 啓 行
論文題目	Dual inhibition of the MEK/ERK and PI3K/AKT pathways prevents pulmonary GVHD suppressing perivenulitis and bronchiolitis (MEK/ERK 経路と PI3K/AKT 経路の阻害は血管周囲炎や細気管支炎を抑制し、肺 GVHD の発症を抑制する)		
(論文内容の要旨)			
<p>【緒言】同種造血幹細胞後の肺移植片対宿主病 (GVHD) の予後は不良である。ヒト肺 GVHD の病態、特にリンパ球内 MEK/ERK と PI3K/AKT 経路の意義は不明である。</p> <p>【方法】2008 年から 2018 年に造血幹細胞移植後の肺 GVHD に対して肺移植を受けた 45 症例の肺標本を病理組織学的に解析した。肺 GVHD のマウスモデルとして B10.BR (H2K^b) にシクロホスファミド投与と全身放射線照射を行い、C57BL/6 (H2K^b) の骨髄と脾臓の細胞を輸注した。治療薬として vehicle (methocel/polysorbate buffer)、タクロリムス (Tac)、トラメチニブ (Tra、MEK 阻害薬)、コビメチニブ (Cobi、別の MEK 阻害薬)、タセリシブ (Tase、PI3K 阻害薬) を移植後 0-28 日目に投与した。ヒト細胞を用いた混合リンパ球試験、抗 CD40 抗体と IL-4 による B 細胞活性化実験、リポポリサッカライド (LPS) による単球活性化実験における同薬剤の機能解析を行った。イメージングマスサイトメトリー (IMC) を用いてヒト肺 GVHD 標本における ERK1/2 および AKT のリン酸化を解析した。</p> <p>【結果】ヒト肺 GVHD では閉塞性細気管支炎 (BO)、胸膜肺実質線維弾性症 (PPFE)、気管支周囲へのマクロファージの集簇を認めた。PPFE を認めた症例では胸膜直下に細血管周囲炎を認め、これにより循環不全に陥り線維化を来したと考えられた。細気管支周囲に浸潤したリンパ球は B 細胞が T 細胞よりも優位であった。よって T 細胞だけでなく B 細胞や単球の活性化が細気管支炎や細血管周囲炎を惹起し、BO や PPFE の病因となる可能性が示唆された。</p> <p>マウス肺 GVHD モデルにおいて、Tac と Tra は vehicle と比較して生存率を改善しなかったが、Cobi は改善した。Cobi は細気管支炎、細血管周囲炎および細気管支周囲への単球集簇を抑制した。細気管支周囲への T 細胞浸潤の抑制は Tra と Cobi で同程度であったが、Cobi は Tra よりも有意に B 細胞浸潤を抑制した。</p> <p>放射線照射した樹状細胞と HLA 不一致の T 細胞を混合するとアロ反応により T 細胞が増殖するが、Cobi と Tra は同等に T 細胞の増殖を抑制した。B 細胞を抗 CD40 抗体と IL-4 で刺激すると活性化した CD23⁺CD69⁺ B 細胞が出現するが、Cobi は Tra よりも B 細胞の活性化を抑制した。単球を LPS で刺激すると TNF-α を産生するが、Cobi は Tra と Tac よりも TNF-α の産生を抑制した。Cobi は ERK1/2 に加えて AKT のリン酸化も抑制し、その結果 B 細胞や単球の活性化が抑制されると考えられた。抗 CD40 抗体と IL-4 による刺激に対して Tra と Tase を併用すると、Tra 単剤、Tase 単剤と比較して B 細胞の活性化抑制が相対的に増強された。Tra 単剤、Tase 単剤はマウス肺 GVHD の発症を抑制しなかったが、Tra と Tase の併用は抑制した。</p> <p>IMC を用いてヒト肺 GVHD 検体を解析すると、細気管支周囲に浸潤する T 細胞はリン酸化 ERK1/2 陽性、B 細胞はリン酸化 AKT 陽性であり、これら 2 経路の肺 GVHD 発症への関与が示唆された。</p> <p>【結論】分子標的薬を用いて B/T 細胞の MEK/ERK と PI3K/AKT の両経路を阻害することで肺 GVHD の発症が抑制される可能性が示唆された。本研究はヒト標本を用いた臨床研究と in vitro/in vivo 実験を含んだ橋渡し研究で、今なお難治のヒト肺 GVHD に対する新規予防・治療法の開発に貢献する可能性を持つ。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

同種造血幹細胞移植後の肺移植片対宿主病 (GVHD) の予後は不良で新たな予防・治療法の開発が求められるが、その病態と治療標的の多くは明らかでない。まず、肺 GVHD に対して肺移植を受けた 45 例の摘出肺標本を病理組織学的に検討した。閉塞性細気管支炎、胸膜肺実質線維弾性症、気管支周囲炎が主な所見で、細気管支周囲に T 細胞、B 細胞やマクロファージの浸潤を認めた。細気管支周囲の T 細胞はリン酸化 ERK1/2 陽性、B 細胞はリン酸化 AKT 陽性で、MEK/ERK 経路と PI3K/AKT 経路の病態への関与が示唆された。次にマウスモデルにおいて MEK 阻害薬トラメチニブは細気管支周囲への B 細胞浸潤を抑制せず、肺 GVHD を抑制しなかったが、別の MEK 阻害薬であるコビメチニブは B 細胞浸潤を抑制し、肺 GVHD を抑制した。In vitro でトラメチニブは B 細胞の活性化を抑制しなかったが、コビメチニブは MEK/ERK 経路だけでなく PI3K/AKT 経路も阻害し、T 細胞、B 細胞の活性化を抑制した。トラメチニブに PI3K 阻害薬タセリシブを併用すると、in vitro で B 細胞の活性化を抑制し、マウスモデルにおいて肺 GVHD を抑制した。

本研究はヒト検体を用いた臨床研究と in vitro/in vivo 実験を含んだ橋渡し研究であり、肺 GVHD の病態の解明に貢献し、肺 GVHD に対する新規予防・治療法につながる可能性がある。

したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、令和 5 年 1 月 31 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降