

## 異種移植の現状と未来像：ブタが人の命を救う

中国・雲南農業大学獣医学部

原 秀孝

Hidetaka HARA



### 1. はじめに

2022年、世界は1つの画期的な出来事に驚愕した。日常の食卓に並ぶブタが、驚くべきことに、人間の命を救う役割を果たすこととなった。移植医療における深刻な問題であるドナー不足に対処するために、長らく検討されてきた「異種移植」が、この出来事を通じて新たな展開を迎えた。

本稿では、遺伝子組み換えブタ心臓のヒト患者への移植に関する最新の事例から、異種移植の課題と可能性について考察している。異種移植は医療の新たなフロンティアを切り開く重要な一歩であり、本稿はその未来像を探るうえで有益なものとなるであろう。

### 2. 異種心臓移植患者の治療経過の要約<sup>1)</sup>

患者は57歳の男性で、末期心不全に陥り、米国のメリーランド大学医療センターで機械的循環補助装置(VA-ECMO)による治療を受けていた。心臓移植が検討されたが、入院前の治療アドヒアランスが不十分であるため、移植適応とはみなされなかった。しかし、患者の希望も考慮し、米国食品医薬品局(FDA)にブタからの異種心臓移植の特別許可を申請し、承認を得た。

2022年1月7日、世界で初めて遺伝子改変ブタ心臓のヒトへの異種移植手術が実施された。この異種移植においては、拒絶反応を防ぐために10個の遺伝子が編集されたブタドナー〔トリプルノックアウト(TKO) /成長ホルモン受容体ノックアウト(GHRKO) /CD46/CD55/トロンボモジュ

リン(TBM) /血管内皮細胞プロテインC受容体(EPCR) /CD47/HO(ヘムオキシゲナーゼ)-1, Revivicor社<sup>1),2)</sup>が使用された。さらに、心臓保存療法としてSteen液を使用した<sup>3),4)</sup>。免疫抑制には抗胸腺細胞免疫グロブリン(ATG)、抗CD20抗体(リツキシマブ)、補体抑制剤[C1エステラーゼ阻害薬(ベリナート<sup>®</sup>)], 抗CD40抗体(KPL404<sup>5)</sup>、ステロイドが使用された。維持期にはミコフェノール酸モフェチル(MMF)、抗CD40抗体、ステロイドが使用された。移植後、心機能は保たれ、34日目の心内膜心筋生検では拒絶反応の徴候はみられなかった。

しかし、43日目から患者の状態が悪化し、感染症を合併した。低グロブリン血症に対処するために免疫グロブリン(IVIG)が投与され、その後、ドナー特異的抗体IgGおよびIgM値、心筋傷害のバイオマーカーである血清トロポニンI値が急激に上昇した。49日目には、移植心の機能低下に伴いVA-ECMOが再導入された。50日目の2回目の心内膜心筋生検では、抗体関連の拒絶反応や急性細胞性拒絶反応はみられなかったが、間質の赤血球漏出と浮腫による局所的な毛細血管損傷とが確認された。トロポニンI値は依然として上昇していた。抗体関連の拒絶反応(非典型)が疑われ、血漿交換、IVIG、リツキシマブ、補体抑制薬[ベリナート<sup>®</sup>と抗補体成分C5抗体(ソリリス<sup>®</sup>)]の投与による治療が開始された。

56日目に3回目の心内膜心筋生検にて、抗体関連の拒絶反応〔国際心肺移植学会(ISHLT)の診断基準のGrade 1〕が確認された。赤血球漏出と浮腫は前回の生検時に比べて軽度であったが、心筋細胞の40%が壊死していた。移植心に不可逆的な損傷が生じていると判断し、移植後60日目に生命維持管理装置が停止され、患者は永眠した。

解剖学的所見では、肉眼的に著しい心肥大(移植時328 gから剖検時600 g)が認められ、組織学的には広範囲の高度

#### ■ 著者連絡先

雲南農業大学獣医学部

(95 Jinhei Road, Panlong District, Kunming, Yunnan, 650202, China)

E-mail. harahjp@icloud.com

心筋壊死、高度な内皮細胞障害、および間質への赤血球漏出が確認された。

さらに、手術前の検査ではレシピエントとドナーの両方にブタサイトメガロウイルスは検出されなかったが、移植後20日目にブタサイトメガロウイルスDNAが検出され、その後、その値は急激に増加した。ブタの心臓内に存在していたブタサイトメガロウイルスが移植の機能不全に寄与した可能性が示唆された。

### 3. ブタ心臓移植片の機能低下に多数の要因が関与

前述のメリーランド大学のグループは、最終的に心不全を引き起こした原因について広範な調査を実施した<sup>6)</sup>。その結果、移植された心臓の機能低下には多くの要因が関与している可能性が示唆された。術後47日目までの心エコー検査などの画像検査により、心臓が良好に機能していることを実証し、急性拒絶反応の徴候が起らなかったことも確認された。移植前の健康状態の悪さや免疫不全状態など、いくつかの要因が患者に移植心不全を引き起こした可能性があり、患者が免疫系によって作られた抗体による臓器の拒絶反応に対して脆弱であったことが判明した。組織学、免疫組織化学的染色、および単一細胞RNA (ribonucleic acid) 分析に基づいて、抗体媒介拒絶反応の間接的な証拠も発見された。さらに、移植後2回にわたり患者に投与されたIVIGに含まれる抗ブタ抗体が心筋細胞の損傷に寄与した可能性があり、実際にブタの血管内皮細胞を標的とするIVIG抗体の結合反応も確認された。

IVIG内に含まれる抗ブタ抗体が抗体媒介性拒絶反応を誘発する可能性があるため、ブタ臓器移植を受けた患者にIVIGを投与する場合、慎重に検討する必要がある。移植後43日目にIVIGを投与した後、心臓移植片の肥大と拡張機能障害が発症したことから、IVIG中の抗ブタ抗体が抗体性拒絶反応に寄与した可能性が考えられる。我々が以前に行った5つの異なる市販のIVIGを用いた研究では、1種類を除いてTKOブタ細胞に対する抗体がほとんど含まれていないことが確認され、TKOブタ移植片のヒトレシピエントへのIVIG投与が安全であることが示唆された<sup>7)</sup>。ただし、IVIG内に含まれる抗ブタ抗体の存在はメーカーによって異なるため、Yamamotoらはブタ臓器移植を受けた患者にIVIGを投与するにはスクリーニングが必要だと述べている。

レシピエントにおけるブタサイトメガロウイルスの存在は、凝固異常および移植片における血栓性微小血管症の発症を引き起こす可能性が報告されており<sup>8)~12)</sup>、ブタの心臓内に存在する潜伏ウイルス(ブタサイトメガロウイル

ス)が移植の機能不全に寄与した可能性も調査された。移植前に行われた検査ではブタサイトメガロウイルスはドナーブタに検出されていなかったにもかかわらず、移植後20日目からのブタサイトメガロウイルスDNAの急激な増加により、ブタサイトメガロウイルス感染の可能性が懸念された。その後に行われたドナーブタの脾臓サンプルにおける定量的PCR (polymerase chain reaction) では、ブタサイトメガロウイルスの陽性反応が確認された。ブタサイトメガロウイルスの存在をより感度の高い方法で確認する必要があるため<sup>13)</sup>、それ以降の移植においてRevivacor社はその方法を用いてドナーブタのブタサイトメガロウイルス陰性を確認している。

我々のグループは追加事項といくつかの点を指摘した<sup>14)</sup>。異種移植の臨床応用において、患者の選択は極めて重要である。衰弱状態にある患者は、初期の臨床試験に含めるべきではない。前述の異種心臓移植患者は事前に副腎不全、胃腸出血、菌血症、薬剤性白血球減少症を発症し、46日間もVA-ECMOのサポートを必要とした。これにより、患者の生理的回復力が低下し、手術後の不良転帰の予測因子となった。移植手術中の合併症により急性腎不全を発症し、2か月間の透析が必要であった。また、腹膜炎の疑いで2回の開腹手術が行われた。患者は手術後に体調が急激に悪化し、血液検査でIVIGの低下、白血球数と血小板数の減少が確認され、術後2か月の入院中に体重が25%減少した。

異種移植を導入する際には、医学的推奨事項に従っている患者にブタの臓器移植を行うことが賢明であり、同種移植において不遵守歴のある患者は候補者から除外すべきである。感染性合併症を発症した患者がコンプライアンスに従わない場合、他の患者に危険を及ぼす可能性があることも考慮すべきである。

さらなる調査が必要な要因として、今回使用された免疫抑制薬であるヒト化抗CD40抗体(KPL-404)<sup>5)</sup>がブタ異種移植片におけるレシピエント免疫反応をどのように抑制するかについて試験されていないことが挙げられる。ブタからヒヒへの心臓移植モデル(抗CD40抗体の2C10を使用)<sup>3),15),16)</sup>では、報告された最長生存期間が9か月未満であり、これらの移植片は抗体媒介拒絶反応によって失われていることがわかっている。したがって、KPL-404が長期にわたる獲得免疫反応を抑制できるかについて調査する必要がある。

臨床で問題となるのは、心筋生検所見の解釈の難しさである。最初の生検(34日目)では、抗体媒介性または細胞性拒絶反応は認められなかった。しかし、2回目の生検(50

日目)の結果に注目し、ISHLTの基準に従うと、抗体媒介拒絶反応や細胞拒絶反応は確認されなかったが、「血管外に浸出した赤血球と浮腫を伴う局所毛細血管損傷」があったことが報告された。ISHLT診断基準は同種移植に関連するものであり、異種移植には適用されない可能性がある。実際、間質性出血と浮腫は、異種移植研究のごく初期に、野生型(遺伝子改変されていない)ブタの心臓を免疫抑制されたヒヒ、または免疫抑制されていないヒヒに移植したときに報告された超急性拒絶反応の顕著な特徴である<sup>17), 18)</sup>。さらに、ブタの心臓サンプルでは、抗体染色により毛細血管内にIgGおよびIgMの沈着が確認されたが、C4d染色は陰性であった。C1エステラーゼ阻害薬ソリリス<sup>®</sup>などの補体阻害薬も組み合わせて使用されていたが、心臓にC4d染色が存在しないことは、補体非依存性の抗体媒介性移植片損傷の役割を完全に排除するものではないことを示唆している。心筋虚血の特徴は最小であり、細胞浸潤もみられなかったが、間質性出血や浮腫、結合抗体の存在はやはり抗体媒介拒絶反応を強く示唆している。抗ブタ抗体の増加が48日目に観察され、心筋機能の障害により患者が49日目に再びVA-ECMOサポートを必要としたことから、抗体媒介拒絶反応の関与が示唆される。

抗ブタ抗体の力価が持続的に上昇したことから、IVIg投与のみの影響だけではなく、免疫抑制療法の失敗による誘発抗体の産生も考えられる。この患者では、拒絶反応を防ぎつつ感染症を発症させないバランスの取れた免疫抑制療法を提供することが非常に難しい状況であったと結論される。

#### 4. 異種ブタ心臓移植における電気伝導特性の異常

ブタの臓器が、ヒトレシピエント内で正常な機能を果たすことは異種移植において非常に重要である。メリーランド大学の電気生理学研究チームは、ブタの心臓をヒトに移植した場合、心電図(ECG)パラメータに大きな変化がみられることを報告した<sup>19)</sup>。ブタの心臓は、一般的にヒトの心臓と比べてECG測定(PR, QRSおよびQT間隔)が短い傾向があるが、ヒトに移植されたブタの心臓では、これらのパラメータが予想以上に延長されることが判明した。さらに、これらのパラメータは通常ヒトの心臓の範囲を超えており、電氣的または心筋疾患の徴候である可能性がある。たとえば、QRS間隔の延長は筋肉や電気システムの障害に関連している可能性があり、QT間隔の延長は異常な心拍リズムのリスクと関連している。心臓移植後のECG測定において、ブタの心臓と比較して電気伝導特性に違いが示されることから、ブタからヒトへの心臓移植では、拒

絶反応や感染のリスクだけでなく、移植心の生理的な異常(異常な心拍リズム)も重要な問題として考慮されるべきであることが示唆される。

#### 5. 脳死患者へのブタ心臓移植の試み

米国のニューヨーク大学ランゴーン医療センターでは、2022年6月と7月に、2人の脳死患者にRevivicor社の10個の遺伝子改変ブタ(CD59が追加されたが、虚血再灌流障害の懸念からヒトCD47導入遺伝子は含まれていない)の心臓を同所性に移植し、心機能、拒絶反応、人獣共通病原体などについて66時間にわたり観察した<sup>20)</sup>。脳死患者モデルの利点は、移植片機能と免疫モニタリングのための血液および移植片組織の頻繁なサンプリングが可能なことである。また、心臓以外にも脳死患者を用いた異種腎臓移植前臨床試験は米国のアラバマ大学(最長1週間)<sup>21)</sup>およびニューヨーク大学(最長2か月)<sup>22)</sup>で行われている。

どちらの異種移植片も移植直後に優れた心機能を示し、研究期間中も機能し続けたが、ドナーブタとレシピエントの心臓のサイズの不一致が原因で、1例目では観察期間中に心機能が徐々に低下した。2例目では、レシピエントのヒト腎臓移植片が脳死につながる事象により急性機能不全に陥り、そのため研究の開始時には継続的な透析療法が必要であった。

移植されたブタの心臓は両方の症例において細胞性または抗体媒介性の拒絶反応を認めず、ドナーブタからヒトレシピエントへの人畜共通感染の証拠も検出されなかった。

特筆すべき点は、ブタ心臓がRevivicor社の清潔施設で摘出され、ニューヨーク大学へ空輸される間、UW(University of Wisconsin)液中で静的冷蔵保管されたことである。ブタからヒヒへの同所性心移植モデルでは、Steen液での体外灌流ポンプの使用が即時ブタ心移植片機能の要件であると考えられており<sup>3), 4)</sup>、ヒトへの心臓異種移植には必須ではないように思われるが、これはさらなる研究で確認する必要がある。

連続ECG検査が実施されたが、最初のレシピエントでは心臓系薬剤との併用の影響により、完全な電気生理学的評価を行えなかった。2例目のレシピエントでは、以前にヒトへのブタ心臓移植で報告された連続ECGでのPR, QRSまたはQT間隔の延長は示せなかった<sup>1)</sup>。

課題としては、ここで報告された心臓異種移植2例では、FDAが承認した薬剤のみを使用し、すなわちCD40-CD154経路遮断薬を用いておらず、66時間の枠を超えた急性拒絶反応や適応免疫応答に関連する抗ブタ抗体の出現を防ぐための免疫抑制療法の有効性の評価が制限されてい

る。さらに、起立時での血行動態を測定できない点もこのモデルの欠点である。両方のブタ心臓に心内膜下出血があり、これは虚血再灌流損傷の指標となる可能性があるが、この臨床的意義と長期的な後遺症は不明のままである。

1例目におけるレシピエント心臓とドナー心臓のサイズの不一致は、最初の24時間後の乳酸値の上昇を伴う組織の灌流低下、低血圧、昇圧薬の必要量の増加を生じさせ、最終的に心臓の機能を低下させた可能性がある。成長ホルモン受容体ノックアウト (GHRKO) を有するブタがドナーとして使用されたが<sup>23),24)</sup>、最初のブタの心臓は、ブタの体長と体重から予測されるよりも若干小さく、このタイプのブタの心臓サイズの標準化が欠如していたため、さらなる調査が必要である。

また、人畜共通感染症に関して、66時間の観察期間では、ブタ由来の潜伏ウイルスの再活性化を評価することは難しいという側面も考慮される。実際に、メリーランド大学で行われたブタ心移植の患者からブタサイトメガロウイルスが検出されたのは術後20日目であった。

ヒトへの臨床試験に進むためには、ブタからヒトへの移植に関するさらなる研究が必要である。

## 6. 最後に

移植医学は、臓器不全の克服に向けた人類の夢を追求し、さまざまな挑戦と発展を経てきた分野である。その中でも、異種移植は、人間以外の動物から臓器や細胞を移植する画期的な技術であり、多くの研究者や臨床医の関心を集めている。移植のバイオニアである故Starzl氏は、移植医学の発展過程を歴史的な視点から分析し、その進化は段階的で、「一昨日までは夢物語だったことが昨日は可能性として現れ、今日は実現し、明日は常識となっていく」と述べている。

異種移植の権威であるハーバード大学のCooper氏は、「この流れこそまさに異種移植が辿ってきた道である」と指摘している。

異種移植が臨床に導入される可能性が高まるにつれ、免疫学的、生理学的、そして人畜共通感染症の問題だけでなく、倫理的、社会的、法的な問題にも直面するであろう。たとえば、移植後の患者のアイデンティティや社会的受容、移植の適格性や公平性、移植の規制や監督などが考慮される。しかし、異種移植が医療にもたらす影響を検討し、その技術の利点とリスクを評価し、論理的な判断を下すためには、多くの議論を行うことが不可欠である。

本稿の著者には規定されたCOIはない。

## 文 献

- 1) Griffith BP, Goerlich CE, Singh AK, et al: Genetically Modified Porcine-to-Human Cardiac Xenotransplantation. *N Engl J Med* **387**: 35-44, 2022
- 2) Porrett PM, Orandi BJ, Kumar V, et al: First clinical-grade porcine kidney xenotransplant using a human decedent model. *Am J Transplant* **22**: 1037-53, 2022
- 3) Långin M, Mayr T, Reichart B, et al: Consistent success in life-supporting porcine cardiac xenotransplantation. *Nature* **564**: 430-3, 2018
- 4) Långin M, Reichart B, Steen S, et al: Cold non-ischemic heart preservation with continuous perfusion prevents early graft failure in orthotopic pig-to-baboon xenotransplantation. *Xenotransplantation* **28**: e12636, 2021
- 5) Muralidharan S, Njenga M, Garron T, et al: Preclinical Immunopharmacologic Assessment of KPL404, a Novel, Humanized, Non-Depleting Antagonistic Anti-CD40 Monoclonal Antibody. *J Pharmacol Exp Ther* **381**: 12-21, 2022
- 6) Mohiuddin MM, Singh AK, Scobie L, et al: Graft dysfunction in compassionate use of genetically engineered pig-to-human cardiac xenotransplantation: a case report. *Lancet* **402**: 397-410, 2023
- 7) Yamamoto T, Cui Y, Patel D, et al: Effect of intravenous immunoglobulin (IVIg) on primate complement-dependent cytotoxicity of genetically engineered pig cells: relevance to clinical xenotransplantation. *Sci Rep* **10**: 11747, 2020
- 8) Mueller NJ, Barth RN, Yamamoto S, et al: Activation of cytomegalovirus in pig-to-primate organ xenotransplantation. *J Virol* **76**: 4734-40, 2002
- 9) Gollackner B, Mueller NJ, Houser S, et al: Porcine cytomegalovirus and coagulopathy in pig-to-primate xenotransplantation. *Transplantation* **75**: 1841-7, 2003
- 10) Mueller NJ, Kuwaki K, Dor FJ, et al: Reduction of consumptive coagulopathy using porcine cytomegalovirus-free cardiac porcine grafts in pig-to-primate xenotransplantation. *Transplantation* **78**: 1449-53, 2004
- 11) Yamada K, Tasaki M, Sekijima M, et al: Porcine cytomegalovirus infection is associated with early rejection of kidney grafts in a pig to baboon xenotransplantation model. *Transplantation* **98**: 411-8, 2014
- 12) Denner J: Reduction of the survival time of pig xenotransplants by porcine cytomegalovirus. *Virol J* **15**: 171, 2018
- 13) Halecker S, Hansen S, Krabben L, et al: How, where and when to screen for porcine cytomegalovirus (PCMV) in donor pigs for xenotransplantation. *Sci Rep* **12**: 21545, 2022
- 14) Cooper DKC, Yamamoto T, Hara H, et al: The first clinical pig heart transplant: Was IVIg or pig cytomegalovirus detrimental to the outcome?. *Xenotransplantation* **29**: e12771, 2022
- 15) Cleveland DC, Jagdale A, Carlo WF, et al: The Genetically Engineered Heart as a Bridge to Allotransplantation in Infants Just Around the Corner?. *Ann Thorac Surg* **114**: 536-44, 2022
- 16) Mohiuddin MM, Goerlich CE, Singh AK, et al: Progressive genetic modifications of porcine cardiac xenografts extend survival to 9 months. *Xenotransplantation* **29**: e12744, 2022
- 17) Rose AG, Cooper DK, Human PA, et al: Histopathology of hyperacute rejection of the heart: experimental and clinical observations in allografts and xenografts. *J Heart Lung*

- Transplant **10**: 223-34, 1991
- 18) Rose AG, Cooper DK: A histopathologic grading system of hyperacute (humoral, antibody-mediated) cardiac xenograft and allograft rejection. *J Heart Lung Transplant* **15**: 804-17, 1996
  - 19) Kagan C, Amara RS, Haq M, et al: EKG appearance and evolution of baseline EKG-characteristics in the worldwide first genetically modified porcine-to-human xenotransplant ("pig Heart-in-human body"). *Circulation* **146**(Suppl. 1): Abstract 12072, 2022
  - 20) Moazami N, Stern JM, Khalil K, et al: Pig-to-human heart xenotransplantation in two recently deceased human recipients. *Nat Med* **29**: 1989-97, 2023
  - 21) Locke JE, Kumar V, Anderson D, et al: Normal Graft Function After Pig-to-Human Kidney Xenotransplant. *JAMA Surg* **16**: e232774, 2023
  - 22) Pig kidney works a record 2 months in donated body, raising hope for animal-human transplants. AP News (by Neergaard L and Lum S), September 15, 2023. <https://apnews.com/article/pig-kidney-transplant-xenotransplant-83dfb5e6d022ca72039a821cc6bc00ef> Accessed 15 Sep 2023
  - 23) Hinrichs A, Riedel EO, Klymiuk N, et al: Growth hormone receptor knockout to reduce the size of donor pigs for preclinical xenotransplantation studies. *Xenotransplantation* **28**: e12664, 2021
  - 24) Goerlich CE, Griffith B, Hanna P, et al: The growth of xenotransplanted hearts can be reduced with growth hormone receptor knockout pig donors. *J Thorac Cardiovasc Surg* **165**: e69-81, 2023