

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 9 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24591879

研究課題名(和文) 血液型不適合肝移植術後患者の免疫寛容状態の解析

研究課題名(英文) The analysis of immunological status against ABO blood type antigens after ABO incompatible liver transplantation

研究代表者

吉澤 淳(Yoshizawa, Atsushi)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：60457984

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：ABO血液型不適合肝移植後の血液型抗原に対する抗体反応が低下すること、また、そのメカニズムを明らかにするために臨床経過および実験による検証を行った。

臨床経過では、血液型不適合肝移植を行ったのちには、当該の血液型に対する抗体は有意に減少することが明らかになった。再移植症例を検討することによって、血液型抗体の減少は肝臓に対する吸着によるものではなく、反応の低下によることが判明した。

次に、患者血液を免疫不全マウスに注入し、血液型抗原に対する免疫応答の再現実験を行ったが、血液型不適合肝移植後の患者においては血液型抗原に対する抗体反応が健常人と比べ低下し、ほとんど、反応しないことが判明した。

研究成果の概要(英文)：The aim of this project is to prove that immunological response against blood groups antigens has decreased after ABO-incompatible (ABO-i) liver transplantation. We analyzed this phenomenon in the aspect of clinical findings and in-vitro examination.

Through the clinical findings, we have found that antibody titers against ABO antigens significantly decreased after ABO-i liver transplantation. We analyzed the re-transplantation across ABO-i cases and found that the decrease of antibody titer was not the result of absorption of antibodies in allograft liver but the result of immunological unresponsiveness against ABO blood group antigens. To prove the immunological unresponsiveness, the response of PBMC, peripheral blood mononuclear cells from the ABO-i liver transplant recipients was examined. The response was examined through immune-deficient mice. The result shows that PBMC from ABO-i liver transplant recipients have lost the responsibility against ABO blood type antigens.

研究分野：肝移植

キーワード：移植免疫 肝移植 抗体

1. 研究開始当初の背景

臓器移植における抗体関連型拒絶反応の制御は臓器移植の成績の向上および、異種間臓器移植における最大の障壁である超急性拒絶反応の克服につながる。

ABO 血液型不適合肝移植は、周術期の脱感作療法と強化免疫抑制療法により抗体関連型拒絶反応の制御が行われている。現在、血液型不適合肝移植後、遠隔期において、抗体関連型拒絶反応は発生せず、抗体に対する反応が低下していることが知られている。

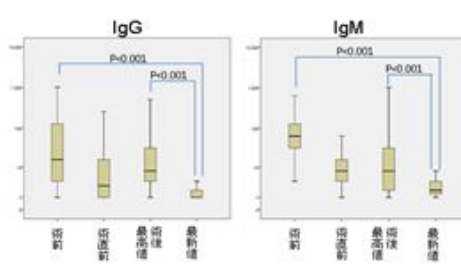


図 抗ドナー血液型抗体価の周術期と遠隔期の推移 (中央値)

この現象が、肝移植後に血液型抗原に対して免疫応答の消失 (いわゆる免疫寛容状態) によるものであるのか、もしくは、免疫応答は残存しているが、それが、抗体関連型拒絶反応を引き起こさない状態 (いわゆる accommodation) によるものかは判明していない。

2. 研究の目的

本研究では、ABO 不適合肝移植後の血液型抗原に対する抗体反応の消失が免疫寛容または accommodation であるかどうかを臨床的および実験的に実証を行う。

さらに、免疫寛容状態につながる因子を解析することによって、液性免疫における免疫寛容状態を成立させる免疫抑制剤の導入方法や、年齢などの要因があるかどうかを検証し、そのメカニズムを明らかにする。

抗体が存在するにもかかわらず、抗体関連型拒絶反応が生じないメカニズムとして移植肝における抗原の発現の有無について検証を行う。

3. 研究の方法

(1) 臨床経過からの解析

(i) 血液型不適合肝移植の術後遠隔期における血清中の血液型抗体価について検討を行った。患者年齢、術後年数、周術期 Rituximab の使用の有無などで群別を行い、遠隔期の血液型抗体価を検討した。

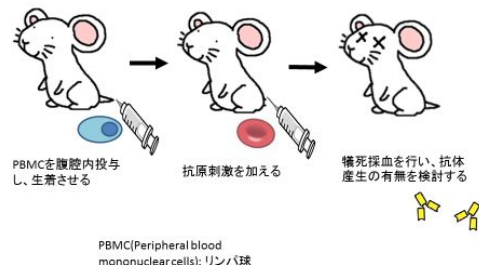
(ii) 再肝移植を行った症例について、血液型適合肝移植 血液型不適合肝移植、血液型不適合肝移植 血液型一致・適応肝移植、血液型不適同肝移植 血液型不適合肝移植、を行った患者についても同様に抗体価の推移

について検討を行った。

(2) 血液型抗原に対する免疫応答の解析

血液型不適合肝移植後の患者の血液から単核球を採取して免疫不全マウスに注入した。その後、血液型不適合の赤血球を注射し免疫反応を引き起こす。そのマウス中に発生する抗体価を測定することで、細胞レベルでの免疫反応の測定を行った。

図：免疫不全マウスを用いた免疫応答試験

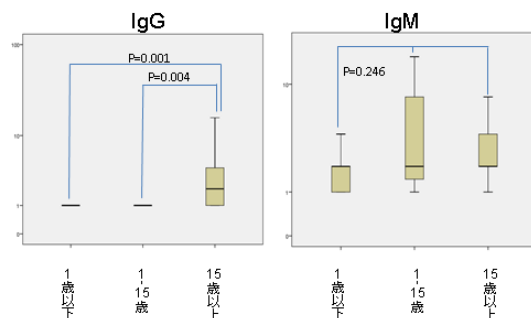


4. 研究成果

(1) 血液型不適合肝移植後の抗体価については、血液型一致/適合患者と比較して、血液型不適合の標的抗原となる血液型に対する抗体が有意に低くなっていることが明らかになった。

Rituximab の使用、脾的の有無、術後年数の経過、周術期の免疫抑制療法における、遠隔期の血液型抗体価の有意差は認めなかった。術後遠隔期に抗体価は減少するが、その減少は年少者が有意に低下することが判明した。

図：年齢による血液型抗体価 (中央値) 15 歳以下の症例では有意に抗体価が低かった。



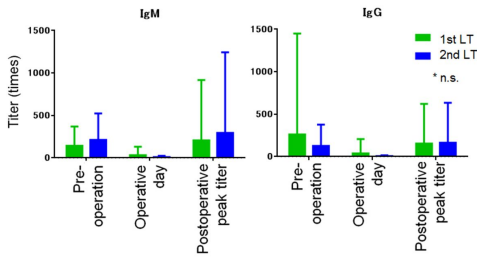
再移植症例の検討において、

(i) 適合移植 不適合移植症例において、再移植においても血液型抗体が産生されることが判明した。

(ii) 不適合肝移植 適合肝移植症例では術後に血液型抗体の上昇は認めなかった。このことから、血液型抗体の減少は移植肝にお

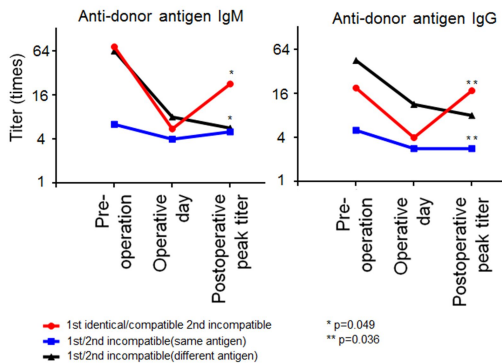
る吸着が原因でないことが判明した。

図：初回血液型不適合肝移植症例と再移植時血液型不適合症例における抗ドナー血液型抗体価



(iii)不適合肝移植 不適合移植症例の検討において、初回、不適合肝移植の術後に抗体価の上昇を認めたが、再移植後には、不適合抗体の上昇を認めなかった。このことから、初回、不適合肝移植後に血液型抗原に対する免疫反応が低下していることが推察され、更に、2度目の血液型不適合肝移植後には抗体関連型拒絶反応も認めなかった。

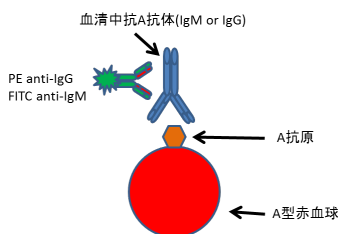
(図)再移植症例の血液型抗体価の推移



(2)血液型抗原に対する免疫応答の解析について

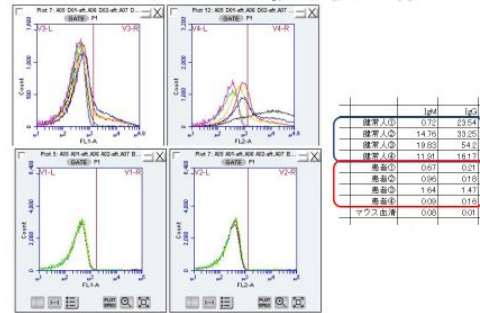
健常人において、末梢血 PBMC を免疫不全マウスに注入し、その後、赤血球によって免疫を行ったところ、マウス中に移入したリンパ球からの血液型抗原に対する抗体産生を認めた。一方、血液型不適合肝移植後患者においては、マウス血清中に血液型抗原に対する抗体産生を認めていない。(健常人 10人、肝移植後患者 4人)

図：FACSによる抗A抗体測定の実験原理



(図)マウス血清中の血液型抗体を FACS で測定を行った。

ABO不適合移植後患者
マウスPBMC投与後血清



まとめ：

本研究を通じて、血液型不適合肝移植後に血液型に対する抗体反応が低下していることが明らかになった。

この知見から、血液型不適合再移植後の免疫抑制療法について再検討をおこない、抗体関連型拒絶反応なく血液型不適合再肝移植を行った。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 0 件)

[学会発表](計 4 件)

1. 上田 大輔, 吉澤 淳 他 血液型不適合肝移植におけるB細胞免疫寛容成立の検討 第49回日本移植学会総会 2013.9.6-7 京都

2. D.Ueda A.Yoshizawa et al Six cases of ABO-incompatible liver re-transplantation from donors with the same ABO-incompatible antigens as the first donor 第13回アジア移植学会 2013.9.8-10 京都

3. 上田 大輔, 吉澤 淳 他 ABO不適合再肝移植症例の検討 第114回日本外科学会総会 2014.4.3-5 京都

4. D.Ueda A.Yoshizawa et al Isohemagglutinins titer of ABO-incompatible liver re-transplantation in perioperative period World Transplant Congress 2014 2014.7.26-31 サンフランシスコ(米国)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

吉澤 淳 (Atsushi Yoshizawa)
京都大学医学研究科 特定助教
研究者番号：60457984

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

上田 大輔 (UEDA Daisuke)
京都大学大学院 医学研究科 大学院生