

令和元年6月21日現在

機関番号：82612

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K16508

研究課題名(和文) Fc 受容体の遺伝子多型が臓器移植における抗体依存性細胞傷害に及ぼす影響

研究課題名(英文) Influence of Fc gamma receptor gene polymorphisms on antibody dependent cellular cytotoxicity in organ transplantation

研究代表者

清水 誠一 (Seiichi, Shimizu)

国立研究開発法人国立成育医療研究センター・臓器移植センター・医師

研究者番号：90781021

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：術前から存在するドナー特異的抗体(prefomed DSA)およびドナー非特異的抗体(non DSA)のIgGサブクラス解析については、血清中に含まれる有意なサブクラスをフローサイトメトリーで同定することは可能であった。この方法を用いて、腎移植においてクロスマッチ陽性症例および高感作症例に対する脱感作療法後のサブクラスの確認を行って、腎移植を施行し得た。しかしながら、Luminex法の検出抗体をIgGサブクラスに分類することが困難であり、各抗HLA抗体がどのサブクラスかを同定するには至らなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

FCGR2A, FCGR3Aの一塩基多型と、肝臓及び腎臓移植後の抗体関連拒絶反応(AMR)による移植臓器機能障害の進行度および組織傷害の程度との関連を解明することで、prefomed DSA症例や術前クロスマッチ陽性症例においてAMRを引き起こす移植臓器傷害の高危険症例が同定され、肝および腎移植術後におけるAMRの予防・治療の個別化医療が可能となることが期待される。

研究成果の概要(英文)：With respect to the IgG subclass analysis of pre-existing donor specific antibody (prefomed DSA) and donor non-specific antibody (non DSA), it is possible to identify the dominant subclass which contained in serum by flow cytometric analysis. By Using this method, kidney transplantation could be performed after desensitization for cross-match positive cases and highly sensitized cases. However, it was difficult to identify the subclass of DSA by luminex detection method.

研究分野：臓器移植

キーワード：抗体関連拒絶反応 遺伝子多型

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 免疫抑制剤と手術技術の進歩によって、臓器移植の成績は向上した一方で、難治性の拒絶反応に DSA が引き起こす AMR が関与することが報告されている。術前クロスマッチ陽性症例や preformed DSA の high titer 症例では、術後早期の AMR が引き起こされるため、従来臓器移植は禁忌とされてきた。

(2) 我々は、臓器移植において従来禁忌であった術前クロスマッチ陽性症例や術前から存在するドナー特異的抗体(preformed DSA)の high titer 症例において、リツキシマブやボルテゾミブを用いて減感作療法を行うことで、腎移植が可能であることを報告した。

(3) AMR 発症には、DSA を含む抗 HLA 抗体による補体の活性化、内皮細胞への直接傷害、Fc γ R を介した ADCC が関与する。ADCC に関係する Fc R の遺伝子には SNP が存在する。FCGR2A [131 H/R]および FCGR3A [158 F/V]では SNP の違いによって IgG の Fc 部分に対する結合能に変化が生じ、IgG サブクラスでその差が異なることが報告されている。

(4) 我々は、肝移植レシピエントの NK 細胞などの自然免疫細胞に表出する Fc R 遺伝子の SNP が術後早期の重症感染症と深く関連する事を明らかにした。これによって、肝移植レシピエントの FCGR3A の SNP は、肝移植術後早期の BSI 発症のリスク因子としてのバイオマーカーとなり、予後にも影響を与えることが初めて証明された。

(5) 臓器移植の拒絶反応においては、FCGR2A の SNP が、T 細胞介在性拒絶反応に関する報告 6)や内皮細胞に接着した IgG による monocyte の誘導に影響する報告 7)を認める。しかしながら両者の結論は異なっており、Fc γ R 遺伝子の SNP と拒絶反応の関係について一定した見解が得られていない。本研究により、preformed DSA 症例や術前クロスマッチ陽性症例において AMR を引き起こす移植臓器傷害の高危険症例が同定され、肝および腎移植において術前減感作の適応や AMR の予防・治療といった個別化医療が可能となることが期待される。

2. 研究の目的

本研究では、in vitro での細胞傷害試験を確立し、Fc R 遺伝子の SNP が DSA による臓器傷害と如何に関連するか解明する。さらに肝移植及び腎移植患者におけるクロスマッチ陽性症例、抗 HLA 抗体存在症例において、抗 HLA 抗体のサブクラス解析および定量的評価に加えて、FCGR2A, FCGR3A の SNP が移植臓器機能障害および組織傷害に及ぼす影響を解明することを目的とする。またクロスマッチ陽性症例や DSA 陽性症例のリンパ球と血清を用いて行い、Fc γ R 遺伝子の SNP が移植臓器に与える影響を解明する。さらに DSA ではない抗 HLA 抗体(non DSA)や交差反応抗原群(CREG)を有する症例の細胞傷害性が、DSA 症例と異なるかについても検討し、non DSA や CREG において注意すべき症例を明らかにする。

3. 研究の方法

この研究計画では、Fc γ R 遺伝子の SNP が移植臓器に対する機能障害および組織傷害に与える影響を解明する。最終的にはクロスマッチ陽性症例および preformed DSA 症例において術前減感作が不要、もしくは減感作後に臓器移植可能な症例を同定する。研究計画の進め方として、

(1) preformed DSA および non DSA の IgG サブクラス解析

存在する抗 HLA 抗体の IgG サブクラスについては、luminex 法の検出抗体を抗 IgG1 抗体-抗 IgG4 抗体にすることで定量的に測定する

(2) HLA ClassI・ClassII 抗原を target とした細胞傷害性試験

ADCC による臓器傷害を評価するために、HLA ClassI および ClassII 抗原を標的にし、Fc γ R IIa および IIIa を表出している NK 細胞・Monocyte を使用した細胞傷害性試験を確立する。

(3) Fc γ R 遺伝子の SNP が移植臓器に対する機能障害および組織傷害に与える影響の解明

抗 HLA 抗体のサブクラス解析と細胞傷害性試験の結果をもとに、補体および抗体結合性の高い IgG1/3 有意の DSA 抗体陽性症例と、結合性の低い IgG2/4 有意の DSA 抗体陽性症例と分類し、FCGR2A, FCGR3A SNP の移植臓器傷害に与える影響を解析する。

4. 研究成果

(1) 術前から存在するドナー特異的抗体(preformed DSA)およびドナー非特異的抗体(non DSA)の IgG サブクラス解析については、血清中に含まれる有意なサブクラスをフローサイトメトリーで同定することは可能であった。

(2) この方法を用いて、腎移植においてクロスマッチ陽性症例および高感作症例に対する脱感作療法後のサブクラスの確認を行って、腎移植を施行し得た。

(3) luminex 法の検出抗体を IgG サブクラスに分類することが困難であり、各抗 HLA 抗体がどのサブクラスかを同定するには至らなかった。

(4) 血液型不適合腎移植レシピエントにおける術後の腎機能に Fc γ R IIIa の SNP 影響は今回の検討では見いだせなかった。

(5) 既存抗体陽性症例に対する脱感作後の腎移植レシピエントにおける術後の腎機能に FcγRIIIa の SNP 影響は今回の検討では見いだせなかった。

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 16 件)

- (1) Takeda M, Shimizu S, et al. Technical considerations in liver transplantation for biliary atresia with situs inversus: A single center experience and a literature review. *Liver Transpl.* 2019 doi: 10.1002/lt.25484.
- (2) Ono K, Shimizu S, et al. Successful Resection of Solitary Abdominal Wall Metastasis of Sarcomatous Intrahepatic Cholangiocarcinoma. *Case Rep Gastroenterol.* 2019 13(1):66-72.
- (3) Sato K, Shimizu S, et al. Risk Factors for Refractory Ascites After Living Donor Liver Transplant. *Transplant Proc.* 2019 51(5):1516-1519.
- (4) Imaoka Y, Shimizu S, et al. Polymorphisms in TRAIL predict long-term survival and extrahepatic recurrence following initial hepatectomy for hepatocellular carcinoma. *J Hepatobiliary Pancreat Sci.* 2018 25(8):370-376.
- (5) Imaoka Y, Shimizu S, et al. Impact of Abdominal Aortic Calcification Among Liver Transplantation Recipients. *Liver Transpl.* 2019 25(1):79-87.
- (6) Nakano R, Shimizu S, et al. Hepatectomy versus stereotactic body radiotherapy for primary early hepatocellular carcinoma: A propensity-matched analysis in a single institution. *Surgery.* 2018 164(2):219-226.
- (7) Sato K, Shimizu S, et al. A case report on the successful perioperative management of hepatectomy for hepatocellular carcinoma in a patient with von Willebrand disease. *Int J Surg Case Rep.* 2018;44:131-134.
- (8) Verma S, Shimizu S, et al. Significant association between FOXP3 gene polymorphism and steroid-resistant acute rejection in living donor liver transplantation. *Hepatol Commun.* 2017 1(5):406-420.
- (9) Yamamoto M, Shimizu S, et al. Utility of hepatobiliary scintigraphy for recurrent reflux cholangitis following choledochojejunostomy: A case report. *Int J Surg Case Rep.* 2018;42:104-108.
- (10) Nakano R, Shimizu S, et al. Acute Graft Rejection and Formation of De Novo Donor-Specific Antibodies Triggered by Low Cyclosporine Levels and Interferon Therapy for Recurrent Hepatitis C Infection After Liver Transplant Proc. 2017 49(7):1634-1638.
- (11) Sato K, Shimizu S, et al. Aggressive angiomyxoma of the liver: a case report and literature review. *Surg Case Rep.* 2017 3(1):92. doi: 10.1186/s40792-017-0365-4.
- (12) Sakai H, Shimizu S, et al. Effect of Fc- Receptor Polymorphism on Rituximab-Mediated B Cell Depletion in ABO-Incompatible Adult Living Donor Liver Transplantation. *Transplant Direct.* 20173(6):e164.
- (13) Abe T, Shimizu S, et al. Application of endobronchial ultrasonography in laparoscopic liver segmentectomy in an animal model. *Hepatol Res.* 2015; 45(10): E150-155.
- (14) Saito R, Shimizu S, et al. Biliary-duodenal anastomosis using magnetic compression following massive resection of small intestine due to strangulated ileus after living donor liver transplantation: a case report. *Surg Case Rep.* 2017 3(1):73.
- (15) Okimoto S, Shimizu S, et al. Prediction of recurrence following hepatectomy in patients with hepatitis C virus infection-related hepatocellular carcinoma who achieved a sustained virological response. *Hepatol Res.* 2017 47(11):1186-1195.
- (16) Das LK, Shimizu S, et al. Fc-gamma receptor 3A polymorphism predicts the incidence of urinary tract infection in kidney-transplant recipients. *Hum Immunol.* 2017 78(4):357-362.

[学会発表] (計 31 件)

- (1) 大平真裕、清水誠一、他、隣移植後の晩期合併症克服に向けた取り組み、第 31 回日本外科感染症学会総会、(大阪府) 2018/12/5-8
- (2) 田原裕之、清水誠一、他、隣移植後の晩期合併症克服に向けた取り組み、第 54 回日本移植学会総会、(東京都) 2018/10/3-5
- (3) 黒田慎太郎、清水誠一、他、当科における生体肝移植ドナーの長期成績、第 54 回日本移植学会総会、(東京都) 2018/10/3-5

- (4) 清水誠一、他、KM-CARTによる腹水全量濃縮還元療法は肝移植術前の血液製剤使用量を減少させる、第73回日本消化器外科学会総会、(鹿児島県、鹿児島市) 2018/7/11-13
- (5) 田原裕之、清水誠一、他、肝臓移植の成績向上における precision medicine の役割、第73回日本消化器外科学会総会、(鹿児島県、鹿児島市) 2018/7/11-13
- (6) 大平真裕、清水誠一、他、肝臓癌治療における肝内在性NK細胞の可能性、第73回日本消化器外科学会総会、(鹿児島県、鹿児島市) 2018/7/11-13
- (7) 小林剛、清水誠一、他、消化器外科手術に応用可能な肝移植手術の工夫、第73回日本消化器外科学会総会、(鹿児島県、鹿児島市) 2018/7/11-13
- (8) Akimoto S, Shimizu S, et al. Predictive factors analysis of osteoporosis and fragility fractures after liver transplantation. 27th International Congress of the Transplantation Society, madrid, Spain, 2018/6/30-7/5
- (9) Ide K, Shimizu S, et al. B-cell depletion with rituximab exacerbates anti-donor CD4+ T-Cell responses in patients with donor-specific anti-human leukocyte antigen antibodies. 27th International Congress of the Transplantation Society, madrid, Spain, 2018/6/30-7/5
- (10) Shimizu S, et al. The current management for bile duct stenosis after liver transplantation and possibility of the novel treatment、第30回日本肝胆膵外科学会学術集会、(神奈川県、横浜市) 2018/6/7-9
- (11) Imaoka Y, Shimizu S, et al. Polymorphisms in TRAIL predict long-term survival and extrahepatic recurrence following liver resection for primary hepatocellular carcinoma、第30回日本肝胆膵外科学会学術集会、(神奈川県、横浜市) 2018/6/7-9
- (12) Tanaka A, Shimizu S, et al. B-cell depletion with rituximab exacerbates anti-donor CD4+ T-Cell responses in patients with donor-specific anti-human leukocyte antigen antibodies. ATC 2018, Seattle, USA, 2018/6/2-6
- (13) Imaoka Y, Shimizu S, et al. Impact of Aortic Abdominal Calcification among Living Donor Liver Transplant Recipients; A retrospective study. ATC 2018, Seattle, USA, 2018/6/2-6
- (14) 清水誠一、他、肝移植後C型肝炎に対するDAA併用療法の成績と免疫学的評価、第36回日本肝移植研究会(東京都) 2018/5/25-26
- (15) 小林剛、清水誠一、他、生体肝移植ドナー手術、レシピエント手術の工夫、第36回日本肝移植研究会(東京都) 2018/5/25-26
- (16) 大平真裕、清水誠一、他、腹水濃縮還元療法(KM-CART)を用いた肝移植周術期管理、第36回日本肝移植研究会(東京都) 2018/5/25-26
- (17) 今岡祐輝、清水誠一、他、生体肝移植における腹部大動脈石灰化の臨床的意義、第36回日本肝移植研究会(東京都) 2018/5/25-26
- (18) 秋本修志、清水誠一、他、広島大学における肝移植後 de novo 悪性腫瘍に関する検討と対策、第36回日本肝移植研究会(東京都) 2018/5/25-26
- (19) 田口和浩、清水誠一、他、肝移植後レシピエントにおけるアルコール摂取に関する調査、第36回日本肝移植研究会(東京都) 2018/5/25-26
- (20) 清水誠一、他、ドナー肝臓由来活性化ナチュラルキラー細胞を用いた細胞移入療法による肝臓移植後重症感染症予防(第I/II相試験) 第118回日本外科学会定期学術集会(東京都) 2018/4/5-7
- (21) 井手健太郎、清水誠一、他、既存抗体陽性肝移植症例に対する脱感作療法後のT細胞応答の解析、第118回日本外科学会定期学術集会(東京都) 2018/4/5-7
- (22) 今岡祐輝、清水誠一、他、肝細胞癌再発予後因子としてのTRAIL遺伝子一塩基多型の役割、第118回日本外科学会定期学術集会(東京都) 2018/4/5-7
- (23) 清水誠一、他、iPS細胞由来リモデリングNK細胞によるHCV感染抑制および制癌効果の可能性、第53回日本移植学会総会(北海道、旭川市) 2017/9/7-9
- (24) 田中飛鳥、清水誠一、他、腎移植後3ヶ月からのエベロリムス導入症例におけるMLRによる免疫学的評価、第53回日本移植学会総会(北海道、旭川市) 2017/9/7-9
- (25) 中野亮介、清水誠一、他、広島大学における肝移植後 de novo 悪性腫瘍に関する検討と対策、第53回日本移植学会総会(北海道、旭川市) 2017/9/7-9
- (26) 今岡祐輝、清水誠一、他、腹部大動脈石灰化が生体肝移植後の長期予後に与える影響についての検討、第53回日本移植学会総会(北海道、旭川市) 2017/9/7-9
- (27) 井手健太郎、清水誠一、他、既存抗体陽性症例に対する脱感作療法の実際、第53回日本移植学会総会(北海道、旭川市) 2017/9/7-9
- (28) 清水誠一、他、肝移植後血流感染におけるCNIトラフと自然免疫遺伝子多型の影響、第2回TDM-QC研究会(東京都) 2017/8/5
- (29) Shimizu S, et al. The management for portal vein thrombosis / stenosis in liver transplantation、第6回アジア太平洋肝胆膵学会・第29回日本肝胆膵外科学会学術集会(神奈川県、横浜市) 2017/6/7-10
- (30) Sakai H, Shimizu S, et al. Fcγ receptor polymorphism influences the effect of rituximab on B-cell depletion in ABO-incompatible adult living donor liver

transplantation、第6回アジア太平洋肝胆膵学会・第29回日本肝胆膵外科学会学術集会
(神奈川県、横浜市) 2017/6/7-10
(31) 清水誠一、他、術後血流感染における自然免疫遺伝子多型の関与とドナー肝由来活性化NK細胞療法の有用性、第35回日本肝移植研究会(大阪府) 2017/6/1-2

〔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：
国内外の別：

取得状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者 なし

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号(8桁)：

(2)研究協力者 なし

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。