

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K09587

研究課題名(和文)腎移植患者における感作状態を評価するB細胞系マーカーの探索と臨床的応用

研究課題名(英文)Clinical Application of B Cell Lineage Markers for Assessing Sensitization in Kidney Transplant Recipients

研究代表者

角田 洋一 (Kakuta, Yoichi)

大阪大学・大学院医学系研究科・講師

研究者番号：40710116

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：レシピエントが感作されるとドナー特異的抗体(DSA)が産生される。この状態で腎移植を行うと、移植腎廃絶するリスクが高い。我々はラット抗体関連型拒絶反応(ABMR)モデルを用いて、感作によってドナー反応性メモリーB細胞(DMBC)が誘導され、さらに腎移植を行うとshort-lived plasma cellに分化し、DSAが産生されることを証明した。また、ヒトの検体を用いて脱感作療法を施行した後もDMBCが陽性である症例は、ABMRが発生するリスクがあり、これはDSAとは独立したABMRのリスクファクターになることが判明した。これによって脱感作療法の効果をより詳細に評価することが可能となった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

2019年からDSA陽性腎移植の脱感作療法に対する免疫グロブリンの使用が保険収載された。これによって、従来は禁忌とされていたハイリスクな腎移植が施行可能となった。しかし、経過が良好であってもDSA陽性が持続したり、病理学的にABMRを認める症例が多い。本研究の結果は、この原因を解き明かし、より最適な脱感作療法を確立するために有用であると考えられた。

研究成果の概要(英文)：Donor-specific antibodies (DSA) are produced after recipients are sensitized. Performing a kidney transplant in this condition significantly increases the risk of graft failure. We have demonstrated using a rat antibody-mediated rejection (ABMR) model that sensitization induces donor-reactive memory B cells (DMBC), which differentiate into short-lived plasma cells after transplantation, leading to the production of DSA. Furthermore, in human samples, recipients that remained DMBC positive after desensitization therapy were found to have an increased risk of ABMR, independent of DSA, establishing DMBC as a separate risk factor for ABMR. This finding allows for a more detailed assessment of the effectiveness of desensitization therapy.

研究分野：泌尿器科

キーワード：腎移植 抗体関連型拒絶反応 脱感作療法 感作 メモリーB細胞

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

献腎移植が少ない我が国は、慢性的なドナー不足の状態が続いている。そのため、日本では ABO 血液型不適合生体腎移植や高齢ドナーといったマージナルドナーといったように、レシピエントまたはドナーの適応拡大が試みられてきた歴史があり、また良好な成績を誇っている。近年、抗ドナー抗体 (DSA) 陽性レシピエントに対する腎移植が、新たな適応拡大として行われている。DSA とは輸血、妊娠・出産、移植などによってレシピエントが感作されることによって B 細胞から産生される。

腎移植レシピエントが血液中に抗ドナー特異的抗体 (DSA) を有する場合、移植後早期に抗体関連型拒絶反応 (ABMR) を効率的に発症し移植腎廃絶に至るリスクがある。2019 年に DSA 陽性腎移植における脱感作療法において、免疫グロブリンの使用が保険収載されてから現在まで、それまでは禁忌とすら考えられていた DSA 陽性腎移植が我が国でも多く行われるようになった。現時点では短期成績しか出ていないが、その成績は非常に良好である。しかし、脱感作療法を行った後に DSA が陰性化したにも関わらず病理学的に抗体関連型拒絶反応 (ABMR) を認める症例や、逆に DSA が持続しているにも関わらず抗体関連型拒絶が発生しない症例が多く施設で認められている。このような現象が意味するところは不明であるが、脱感作療法には改善の余地が残されていると考えられ、そのためには脱感作療法の効果を判定する方法が必要となる。

2. 研究の目的

腎移植レシピエントの感作状態を評価する B 細胞系マーカーを同定し、患者個々に応じた適切な脱感作療法と免疫抑制療法の戦略を立てることを目的とした。

3. 研究の方法

当初はメモリー B 細胞に発現する分子をマーカーとして利用することを目指していたが、その分子の特定ができなかったため、ドナー反応性メモリー B 細胞自体をマーカーとして利用することに変更した。しかし、研究の方法は当初から大きな変更はなかった。

(1) **B 細胞系マーカーの同定**：皮膚移植を行い感作させたラットに腎移植を行い (ラット腎移植 ABMR モデル)、感作の程度におうじた B 細胞系の活性化の段階を評価し、その過程においてマーカーの候補を同定する。

(2) **メモリー応答の評価**：ELISPOT を用いてメモリー B 細胞が ABMR を証明することの証明とメカニズムの解明を行う。

(3) **ヒトへの応用**：脱感作療法を実施したレシピエントの B 細胞を用いてマーカーの有用性を評価する。

4. 研究成果

(1) B 細胞系マーカーの同定

ラット腎移植 ABMR モデルの作成は順調に成功した。しかし、当初、移植する皮膚の面積によって感作の程度を段階的に強くする方法を用いたが、いずれにおいても感作が強すぎたため、ドナーペプチド皮下注入による方法に変更したが、それでも感作はされているが、DSA が陰性 (メモリー B 細胞は産生されている) というモデルを作成することが困難であった。そのため、当初予定していたマーカーを同定することはできなかったが、メモリー B 細胞のマーカーを評価することができ、次の実験につながった。

(2) メモリー応答の評価

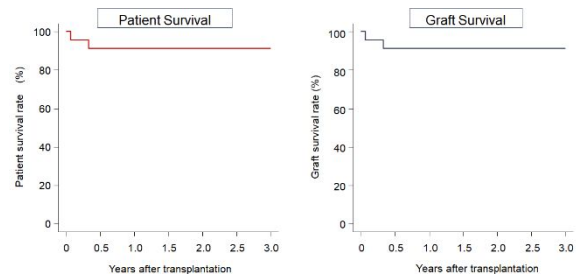
ドナーラットの皮膚を移植したレシピエントラットから PBMC を採取し、(1) でのメモリ

ーB 細胞のマーカーを用いて、フローサイトメトリーによってメモリー B 細胞を分離した。それに放射線を照射し抗原提示能だけを残したドナーラットの PBMC を加えて、サイトカインを加えるとドナーラットに特異的な抗体が産生された。またフローサイトメトリーによって B 細胞を評価すると short-lived plasma cell への分化が認められた。我々はこのメモリー B 細胞をドナー反応性メモリー B 細胞 (DMBC) と名付けた。分離したメモリー B 細胞のうち DMBC は一部を占めるのみであったが、DMBC はマーカーとして利用可能であると考えた。

(3) ヒトへの応用

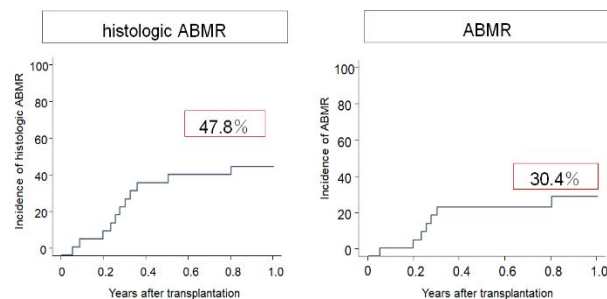
DSA 陽性レシピエントの腎移植後の血液を用いて DMBC の評価を行った。

我々は 25 例の DSA 陽性レシピエントに対して脱感作療法を行った。現在は免疫グロブリン、血漿交換、リツキシマブを用いた脱感作療法を行っているが、B 細胞の影響を考慮しリツキシマブを使用しなかった 8 例を解析の対象とした。



DSA 陽性レシピエント 25 例の成績

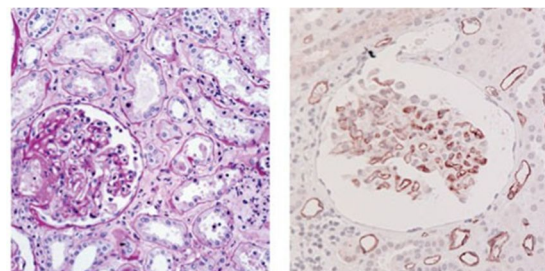
全 25 例における ABMR の発生率は 30.4% であり DSA の有無を問わない histologic ABMR の発生率は 47.8% であった。リツキシマブ不使用例における ABMR の発生率は 25.0% であったが、histologic ABMR の発生率は 50% であった。つまり、25% は DSA が陰性であるが、病理組織学的に ABMR の所見を認めた症例である。逆に ABMR 陰性であった 4 例のうち 2 例は DSA 陽性であった。



これらの症例を対象として DMBC を評価したところ、ABMR 陽性 DSA 陰性の症例においては DMBC 陽性であった。ABMR 陽性 DSA 陽性の症例においても DMBC 陽性

であった。DMBC は DSA とは独立した ABMR のリスクファクターとなる可能性が示唆された。

我々の研究結果から、感作によって DMBC が産生され、そこに腎移植によって second hit が生じることによって、short-lived plasma cell に分化し、DSA を産生することが証明された。また、DSA が陰性であっても、DMBC が陽性であれば、ABMR を発症することがあり、ABMR の有用なマーカーとして使用できる



ABMR の病理学的所見

可能性が見いだされた。しかし、DMBC 陽性でも ABMR 陰性の症例もあり、今後さらなる検討が必要であると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Wakita Teppei, Tsutahara Koichi, Miki Airi, Horibe Yuki, Tani Masaru, Kakuta Yoichi, Takao Tetsuya	4. 巻 ahead of print.
2. 論文標題 Upside-Down Kidney Transplantation in a Recipient with Severe Arteriosclerosis: A Case Report	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Transplantation Proceedings	6. 最初と最後の頁 ahead of print.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.transproceed.2023.03.015	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Shuji Miyagawa, Tasuku Kodama, Rei Matsuura, Pei-Chi Lo, Rieko Sakai, Chiyoshi Toyama, Yuichi Takama, Yoshiyuki Ihara, Yoichi Kakuta, Kazuaki Yamanaka, Katsuyoshi Matsunami, Hiroshi Eguchi, Akira Maeda, Hiroomi Okuyama	4. 巻 70
2. 論文標題 A study of the mechanisms responsible for the action of new immunosuppressants and their effects on rat small intestinal transplantation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Transpl Immunol .	6. 最初と最後の頁 101497
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.trim.2021.101497.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Tanaka Ryo, Tsutahara Koichi, Inoguchi Shunsuke, Horitani Hiromu, Asakura Toshihisa, Kawamura Norihiko, Kakuta Yoichi, Nakagawa Masahiro, Takao Tetsuya	4. 巻 11
2. 論文標題 Clinical effect of rabbit anti-thymocyte globulin for chronic active antibody-mediated rejection after kidney transplantation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 CEN Case Reports	6. 最初と最後の頁 79 ~ 83
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s13730-021-00633-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ueki K, Tsuchimoto A, Matsukuma Y, Nakagawa K, Tsujikawa H, Masutani K, Tanaka S, Kaku K, Noguchi H, Okabe Y, Unagami K, Kakuta Y, Okumi M, Nakamura M, Tsuruya K, Nakano T, Tanabe K, Kitazono T; Japan Academic Consortium of Kidney Transplantation investigators.	4. 巻 25
2. 論文標題 Development and validation of a risk score for the prediction of cardiovascular disease in living donor kidney transplant recipients	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nephrol Dial Transplant .	6. 最初と最後の頁 365-374
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/ndt/gfaa275.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Unagami K, Ishida H, Furusawa M, Kitajima K, Hirai T, Kakuta Y, Toki D, Shimizu T, Omoto K, Okumi M, Nitta K, Tanabe K.	4. 巻 36
2. 論文標題 Influence of a low-dose tacrolimus protocol on the appearance of de novo donor-specific antibodies during 7 years of follow-up after renal transplantation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nephrol Dial Transplant .	6. 最初と最後の頁 1120-1129
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/ndt/gfaa258.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Inomata Y, Kuroha M, Handa T, Shimoyama Y, Moroi R, Shiga H, Kakuta Y, Ichikawa S, Fukuhara N, Sato Y, Takahashi T, Masamune A.	4. 巻 14
2. 論文標題 Long-term endoscopic remission in Crohn's disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for diffuse large B cell lymphoma: case report and literature review	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Clin J Gastroenterol .	6. 最初と最後の頁 1108-1114
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12328-021-01389-4.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nakagawa K, Tsuchimoto A, Ueki K, Matsukuma Y, Okabe Y, Masutani K, Unagami K, Kakuta Y, Okumi M, Nakamura M, Nakano T, Tanabe K, Kitazono T; Japan Academic Consortium of Kidney Transplantation Investigators.	4. 巻 21
2. 論文標題 Significance of revised criteria for chronic active T cell-mediated rejection in the 2017 Banff classification: Surveillance by 1-year protocol biopsies for kidney transplantation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Am J Transplant .	6. 最初と最後の頁 174-185
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ajt.16093.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Unagami Kohei, Ishida Hideki, Furusawa Miyuki, Kitajima Kumiko, Hirai Toshihito, Kakuta Yoichi, Toki Daisuke, Shimizu Tomokazu, Omoto Kazuya, Okumi Masayoshi, Nitta Kosaku, Tanabe Kazunari	4. 巻 ahead of print
2. 論文標題 Influence of a low-dose tacrolimus protocol on the appearance of de novo donor-specific antibodies during 7-years of follow-up after renal transplantation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nephrology Dialysis Transplantation	6. 最初と最後の頁 ahead of print
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/ndt/gfaa258	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Yamanaka Kazuaki、Imamura Ryoichi、Nakazawa Shigeaki、Kato Taigo、Kakuta Yoichi、Abe Toyofumi、Okumi Masayoshi、Nonomura Norio	4. 巻 52
2. 論文標題 Therapeutic Effects and Functional Mechanism of Intravenous Immunoglobulin in Preclinical Rat Renal Transplant Model of Antibody-Mediated Rejection	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Transplantation Proceedings	6. 最初と最後の頁 1901 ~ 1905
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.transproceed.2020.01.137	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計10件 (うち招待講演 6件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 角田洋一
2. 発表標題 Management of Antibody-Mediated Rejection in Osaka University: Current Status and Novel Approaches
3. 学会等名 第111回日本泌尿器科学会総会 (招待講演)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 角田洋一
2. 発表標題 抗ドナー抗体陽性腎移植における術前脱感作療法 DSA陽性腎移植に対する脱感作療法の治療戦略と今後の展望
3. 学会等名 第57回日本臨床腎移植学会 (招待講演)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 角田洋一
2. 発表標題 Efficacy of Early Steroid Withdrawal Using Everolimus in De Novo Kidney Transplantation: A single center cohort study
3. 学会等名 Asian Transplant Week 2023 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 角田洋一
2. 発表標題 免疫グロブリンを用いた脱感作療法の成績
3. 学会等名 第59回日本移植学会総会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 角田洋一
2. 発表標題 腎移植と抗HLA抗体
3. 学会等名 腎代替療法としての腎移植を考える会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 角田洋一
2. 発表標題 IVIgを用いた腎移植術前脱感作療法 IVIgを用いた腎移植術前脱感作療法の実際
3. 学会等名 第55回日本臨床腎移植学会 2022年10月（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 角田洋一
2. 発表標題 IVIgを用いた脱感作療法の実際
3. 学会等名 第55回日本臨床腎移植学会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 角田洋一
2. 発表標題 腎移植前脱感作における免疫グロブリン療法とその実際
3. 学会等名 第56回日本移植学会総会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 角田洋一
2. 発表標題 The Effect of Desensitization Therapy on Sex Disparity in Living Kidney Transplantation
3. 学会等名 American Transplant Congress 2020（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 角田洋一
2. 発表標題 Incidence of Antibody Mediated Rejection in Living Kidney Transplant Recipients with Sensitizing History
3. 学会等名 American Transplant Congress 2020（国際学会）
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担 者	奥見 雅由 (Okumi Masayoshi) (60512978)	大阪大学・医学系研究科・招へい教員 (14401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------