

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 25 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22591409

研究課題名（和文）肝移植における免疫抑制個別化に向けた、抗ドナーHLA抗体産生意義の検証

研究課題名（英文）Assessment of donor specific anti-HLA antibody production after liver transplant recipient for establishment of tailored immunosuppression

研究代表者

猪股 裕紀洋（INOMATA YUKIHIRO）

熊本大学・大学院生命科学研究部・教授

研究者番号：50193628

研究成果の概要（和文）：

生体肝移植術前保存血清と術後血清のLABScreen single antigen 検査を行い、抗HLA抗体、Donor Specific Antibody（以下DSA）の有無を測定した。術前の抗HLA抗体、および術前DSAの有無と、移植肝生着率、患者生存率との統計学的相違はなかった。術後血清でのDSA陽性はclass I 0/66（0%）、class II 6/66（9.1%）であった。生体肝移植での術前後DSA動態が明らかとなり、今後の肝移植における抗体関連型拒絶反応探索の基礎データを得た。

研究成果の概要（英文）：

Anti-HLA antibody (a-HLA Ab) and donor specific antibody (DSA) in recipients were measured before and after the living donor liver transplantation (LDLT), using LAB Screen single antigen examination. Both titers of a-HLA Ab and DSA did not show significant correlation with the post-transplant survival. Prevalence of post-transplant DSA was 0% in class I and 15% in class II. This study showed the dynamics of anti-donor antibody in LDLT, and presented the basic data for the research of antibody-mediated immunoreaction in liver transplantation.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
2012年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科学一般

キーワード：肝移植、抗ドナー抗体、HLA、LAB Screen 法

1. 研究開始当初の背景

肝臓は他臓器に比べ免疫寛容性の高い臓器とされ、初期の報告では液性拒絶は非常にまれであるとされてきた。その後の報告でも HLA ミスマッチやリンパ球クロスマッチ陽性は移植後成績に大きく影響しない、という成績が示され、当施設での生体肝移植症例でも、HLA ミスマッチ数と患者生存率との有意な相関は見られていない。一方、近年、肝移植の領域でもリンパ球クロスマッチ陽性例では、術後肝生検所見で、液性免疫関与を示す補体 C4d が高頻度に陽性、との報告や(1)、術前のDSA産生と術後拒絶反応が関係している可能性、なども示唆されはじめた。申請者らは、前任施設で、Flow cytometry を用いたリンパ球クロスマッチ (FCXM) を用いて、術前抗T細胞 FCXM 陽性者 (被験者の8%) が術後1ヶ月以内の比較的早期の急性拒絶反応発症と有意な相関を示す一方、抗B細胞 FCXM は術後比較高頻度で検出されるが拒絶反応との相関は薄いことを示した。しかし、個別症例での、移植肝機能や生検病理所見などとの長期経過での検討、あるいは慢性拒絶反応との関係はいまだ未解明である。通常の治療に反応しにくい難治性拒絶反応や、慢性拒絶反応の病態については、肝移植領域でも未だ不明な点が多い。このような拒絶反応の頻度は3-5%程度と少ないものの、治療に難渋して貴重な移植片を失う結果になることも少なくない。個別の症例で、抗体が産生されているのか、またどう産生されるのか、あるいは、その産生が移植肝機能や生検病理所見などにどう影響するのか、あるいは、治療に難渋する拒絶反応と関係しているのか、はなお未解明であった。

2. 研究の目的

そこで、肝移植での液性免疫の関与を明らかにする全体構想の中で、まず、レシピエントにおける donor specific anti-HLA antibody (DSA) の術前後の変化とその臨床的意義について解明し、抗ドナー

HLA 抗体産生状態を肝移植後至適免疫抑制個別化の一指標として確立することを本研究の目的とした。

3. 研究の方法

すでに生体肝移植を試行した、術後患者を対象に、移植前の保存血清と、術後多様な時期の血清を用いて、Luminex の xMAP technology による抗HLA抗体の測定を行い、この結果と、各症例における術後の臨床経過との関連を検討した。

4. 研究成果

術前保存血清 (症例数 103) と術後血清 (症例数 66)

	Class I	Class II
測定		
positive	2/29 (6.9%)	2/9 (22%)
negative	28/74 (38%)	28/94 (30%)

(1) 術

前抗体の有無の頻度、および有無と術後の経過

図1に、術前抗体の有無の頻度を示す。これらの有無と、移植後拒絶反応の発症率には相関はみられなかった (表1-1, 2)。class I、class IIともに、術前の抗HLA抗体の有無によつてのグラフトサバイバル、患者生存率との統計学的相違はみられなかった (図2)。術前DSAの有無についても同様に抗体の有無とグラフトサバイバル (図3)、患者生存率との統計学的相違はみられなかった。

測定できた64例の患者で、同一人の移植前後検体をペアで解析しており、class IIでは、術後新たに抗体が形成されたのは14%であった。

移植前の抗体測定に関しては現時点ではその測定意義は低く、脱感作療法などの導入は不要であろうと考えている。

図1 術前抗体の保有率

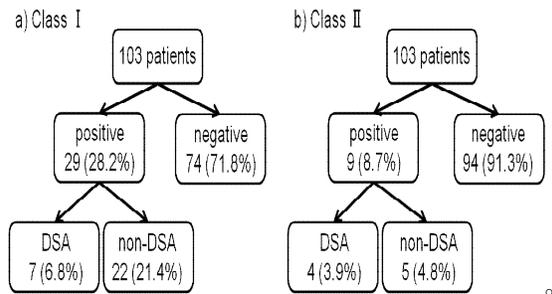


図2 術前抗HLA抗体の有無と、術後移植肝生着率

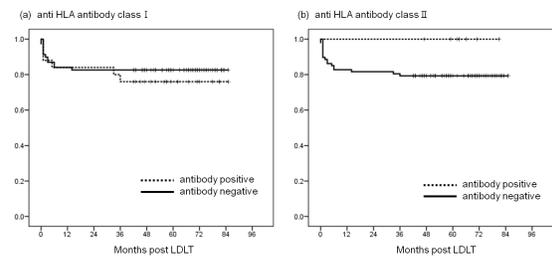


表1-1 術前抗HLA抗体の有無と拒絶反応発症頻度

	Class I	Class II
positive	2/29 (6.9%)	2/9 (22%)
negative	28/74 (38%)	28/94 (30%)

表1-2 術前DSAの有無と拒絶反応発症頻度

	DSA class I	DSA class II
positive	0/7 (0%)	0/4 (0%)
negative	30/96 (31%)	30/92 (33%)

図3 術前DSAと移植後移植肝生着率

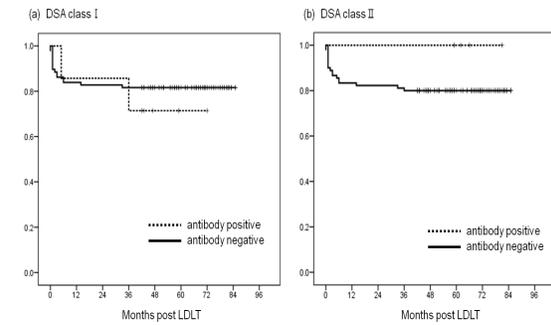


表2 移植前後の抗HLA抗体消長頻度

	-/-	+/-	-/+	+/+
Class I	45/48	15/16	3/48	1/16
Class II	49/57	5/7	8/57	2/7

(2) 術後抗体の有無の頻度と臨床経過

術後血清における抗HLA抗体陽性者は、class I で7%、class II で15%、DSA では、class I 0、class II で9%であった(表2)。移植後のDSA陽性となった患者は全てclass II抗体であり、他の臓器移植、特に腎移植の慢性拒絶にみられる抗体関連型拒絶と似たような特徴を示していた。なお症例数が少ないため、生存率や生着率に関して統計的な相関は示し得なかったが、HLA class I 陽性の2症例で、術後1週間程度の早期に、トランスアミナーゼが500 IU/Lに上昇する強い拒絶反応を認めており、抗ドナー抗体の存在が、移植肝障害に寄与する可能性を示唆した。最近、いわゆる、「7days syndrome」といわれる、肝移植後早期の強い移植肝障害が報告されているが、その原因として液性免疫の関与が示唆されており、今回の検討でもその一部が示されたのではないかと推定している。ごく最近、米国から700例以上の肝移植患者における移植後ドナー特異抗体の新規出現と臨床意義をみた報告がなされ、1年後までに8.1%の患者で移植後陽性が確認され、多くはclass IIに対するものであったとされ、我々のデータと非常に近い結果がでている。また、この報告では、新規抗体産生患者の、患者あるいは移植肝生着率が

低い傾向が示されている。一方で、抗体の上昇があったとしても無症状で経過する症例も少なくなく、なお、抗体産生の臨床評価は一様ではない。さらに最近、長期経過症例での移植肝線維化にも液性免疫の関与を指摘する報告が出てきている。多数症例の解析が出始めた現在、肝臓でも、短期のみならず長期の臨床意義を十分検討し続ける姿勢が必要と思われる、今後の研究課題である。

術後の臨床経過や、肝生研所見との関係とこの抗ドナー抗体の関与をより正確に推計するためには、今後さらに母集団の拡大が統計検討上必要である。日本では、生体肝移植がほとんどであるため、血縁者間での抗体産生率を検討できることが多い。また、ドナーが生存しているために、種々の免疫パラメーターの評価に有利な条件である。現在、当施設で新規に生体肝移植術を施行する患者は抗 HLA 抗体の測定もルーチンで行い、術後 DSA 陽性となった患者においてその要因、肝機能、病理所見などを、症例数の増加とともに詳細に追跡して検討し、国内での肝移植における術後 DSA 産生の臨床的意義とその基礎的機構について明らかにする予定である

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 4 件)

- ① Takeichi T, Asonuma K, Yamamoto H, Ohya Y, Okumura K, Lee KJ, Inomata Y. Liver Transplant From an ABO-Incompatible and Hepatitis C Antibody-Positive but an HCV-RNA Negative Living Donor in a Familial Amyloid Polyneuropathy Patient. *Exp Clin Transplant*. (査読あり) 2012, 11:182-185
- ② Asonuma K, Ohya Y, Isono K, Takeichi T, Yamamoto H, Lee KJ, Okumura K, Ando Y, Inomata Y. Current state of domino transplantation in Japan in terms of surgical procedures and de novo amyloid neuropathy. *Amyloid*. (査読あり) 2012 Jun;19 Suppl 1:75-7
- ③ Honda M, Yamamoto H, Hayashida S, Suda H, Ohya

Y, Lee KJ, Takeichi T, Asonuma K, Inomata Y. Factors predicting persistent thrombocytopenia after living donor liver transplantation in pediatric patients. *Pediatr Transplant*. (査読あり) 2011 Sep;15(6):601-5

- ④ Yoneyama T, Asonuma K, Okajima H, Lee KJ, Yamamoto H, Takeichi T, Nakayama Y, Inomata Y. Coefficient factor for graft weight estimation from preoperative computed tomography volumetry in living donor liver transplantation. *Liver Transpl*. (査読あり) 2011 Apr;17(4):369-72

[学会発表] (計 2 件)

- ① 林田信太郎、生体肝移植における抗HLA抗体の意義。第48回日本移植学会 2012年9月20日-22日 愛知県産業労働センター
- ② 林田信太郎、生体肝移植における Donor Specific Antibody の長期的な推移。第47回日本移植学会 2011年10月8日 仙台国際会議場

[その他]

ホームページ

<http://www2.kuh.kumamoto-u.ac.jp/ishoku/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

猪股 裕紀洋 (INOMATA YUKIHIRO)

熊本大学・大学院生命科学研究部・教授

研究者番号：50193628

(2) 研究分担者

阿曾沼 克弘 (ASONUMA KATSUHIRO)

熊本大学・医学部附属病院移植医療学寄付講座・教授

研究者番号：40202626

(3) 連携研究者 なし

(4) 研究協力者

林田 信太郎 (HAYASHIDA SINNTAROU)

熊本大学・医学部附属病院・医員

(研究者番号なし)