

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 22 日現在

機関番号：11401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25861408

研究課題名(和文) 腎移植における抗CD20抗体投与後の残存B細胞の臨床的意義

研究課題名(英文) Serum BAFF Levels and B Cell Subsets in Secondary Lymphoid Organs after Rituximab Administration: Its Association with Clinical Outcomes

研究代表者

齋藤 満 (Saito, Mitsuru)

秋田大学・医学部・講師

研究者番号：80400505

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)：Rituximabを投与した免疫学的ハイリスク症例52例を対象とし、リンパ節中のCD20、27、79a、138の免疫染色を施行した。またELISA法を用いて周術期の血清BAFF濃度を測定した。ABMR発症例におけるリンパ節中のCD138陽性細胞の免疫強度は非ABMR症例と比較して有意に高く、ABMR症例の血清BAFF濃度は非ABMR発症例のそれと比較して有意に低下していた。低血清BAFF濃度(Day -7)、CD138陽性細胞免疫強度はABMRの有意な危険因子であった。RIT投与後のリンパ節中に形質細胞が残存し、B細胞系の恒常性が保たれている症例でABMRを起こしやすい可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：<Introduction and Objective> Although CD20+ cells in peripheral blood and spleen are consistently depleted in patients receiving Rituximab (RIT), the clinical effects are heterogeneous, probably related to differences in the depleting effects of lymph node(LN)s. <Methods> 52 patients with immunological high risks received a single dose of RIT at 3 weeks before kidney transplant. Immunohistochemical intensity of B cell subsets (CD20, CD27, CD79a, and CD138) in LN was scored. Serum BAFF levels post-transplant were measured by ELISA. <Results> The intensity score of CD138 in LNs was significantly higher in ABMR patients ($p<0.01$) than those in non-ABMR. The intensity score of CD138 in LNs, and low serum BAFF level at 7 days before transplant were significantly associated with the occurrence of ABMR. <Conclusion> In immunological high risk kidney transplant recipients receiving RIT before transplant, the plasma cell intensity in LNs and low serum BAFF level were risk factors of ABMR.

研究分野：泌尿器科学

キーワード：腎移植 免疫学的ハイリスク Rituximab 二次リンパ組織 抗体関連型拒絶反応 B A F F B細胞レパートリー

1. 研究開始当初の背景

近年、抗 CD20 抗体であるリツキシマブ (Rituximab; RIT) は慢性関節リウマチ (Edwards JC et al, N Eng J Med 350, 2004) や全身性エリテマトーデス (Looney RJ et al, Arthritis Rheum 50, 2004) などの自己免疫疾患において有意に病状を改善する効果を認めたと報告されている。CD20 抗原 (プレ B 細胞から活性型 B 細胞に発現) 陽性細胞は形質細胞への分化、抗原提示、抗体・サイトカイン分泌などの機能を有することから、RIT 投与は特に液性免疫が関わる病態に対する抑制効果が期待されている。その後、RIT は移植領域にも応用され、ABO 血液型不適合 (ABO-I) やドナー特異的抗 HLA (DSA) 抗体陽性などの免疫学的ハイリスク (約 20% が移植腎廃絶に陥る、極めて重篤な拒絶反応である液性拒絶が発症しやすい) 腎移植において、本邦では脱感作療法の一部として RIT の投与が広く普及している。献腎移植が少ない我が国特有の現状から、以前は禁忌とされた免疫学的ハイリスク移植に対しても積極的に適応拡大がなされ、2010 年の我が国の移植統計では全症例の約 1/4 が ABO-I となっている (移植 46, 2011)。RIT 導入後はそれ以前と比較して免疫学的ハイリスク移植の成績は向上したと報告されている (Shirakawa H et al, Clin Transplant 25, 2011)。しかし一方では RIT を投与したにも関わらず 29-45% の症例が液性拒絶を発生したとも報告されており (Stegall MD, et al, Am J Transplant 6, 2006, Vo AA et al, Transplantation 89, 2010)、RIT の投与効果は必ずしも一様ではない。

自己免疫疾患では RIT 投与後の血中 (Dass S et al, Arthritis Rheum 58, 2008, Vital EM et al, Arthritis Rheum 63, 2011)、滑膜中 (Teng YK et al, Arthritis Rheum 56, 2007) の残存 B 細胞数が病勢を反映すると

報告されており、腎移植でも ABO-I において RIT 投与後の脾臓中の CD20 陽性細胞の残存が液性拒絶の発症と関与した可能性を示唆する報告もある (Toki D et al, Transplant Int 22, 2009)。これまでに血中、脾臓中の CD20 陽性細胞に対する RIT の投与効果についての報告は多数散見され、低用量 (200 mg/body) でも血中、脾臓中の CD20 陽性細胞はほぼ完全に消失することが分かっている。しかし、動物実験 (Schröder S et al, Transplant Immunol 12, 2003, Gong Q et al, J Immunol 174, 2005) や肝移植 (Egawa H et al, Liver Transplant 13, 2007) では RIT 投与後のリンパ節中の CD20 陽性細胞は脾臓と比較して残存しやすいとの報告もある。また B 細胞の成熟や抗体産生などが行われるのは脾臓だけではない。リンパ節も脾臓と同様に 2 次リンパ組織であるにも関わらず、腎移植領域でのリンパ節中 CD20 陽性細胞に対する RIT の投与効果についての報告はほとんどない。

秋田大学腎泌尿器科では慢性腎不全患者に対する腎移植療法を年間約 20 例施行しており、その累積症例数も 250 例を超え日本でも有数の移植施設となっている。Preliminary ではあるが、すでに当科の臨床データから、免疫学的ハイリスク症例における RIT 投与後のリンパ節中の CD20 陽性細胞の残存は症例によって異なることが分かっており、この成果は海外の学会でも高い評価を得た (米国移植学会 2007; ポスター受賞)。我々はリンパ節中の CD20 陽性細胞における RIT への反応性に注目しており、その差異が RIT 投与後の臨床イベント (特に液性拒絶) の発生に関与している可能性があると考えている。

一方で近年、液性免疫が関わる病態と、サイトカインの一つである B cell Activation Factor belonging to the TNF family (BAFF) との関連が注目されている。

BAFFはB細胞の活性化・成熟・生存に関わる因子として知られるが、BAFFやその受容体(BAFF-R)が液性免疫反応に促進的に働き、自己免疫疾患や移植後の拒絶反応の病状を悪化させるとの報告(Groom J et al, J Clin Invest 109, 2002, Ye Q et al, Eur J Immunol 34, 2004, Parsons RF et al, Transplantation 93, 2012)が数多く見受けられる。腎移植ではRIT投与後に液性拒絶が起きた症例において、移植腎組織に浸潤したB細胞におけるBAFFの発現が高かったことが報告(Thaunat O et al, Transplantation 85, 2008)されており、B細胞がBAFFを高発現してRIT抵抗性となる可能性が示唆されている。

2. 研究の目的

本研究の目的は免疫学的ハイリスク腎移植において、抗CD20抗体であるリツキシマブ(Rituximab; RIT)投与後のリンパ節中のCD20陽性細胞の残存が液性拒絶の発症と関与するか否かを明らかにすることである。

3. 研究の方法

免疫学的ハイリスクレシピエントにおいて、移植3週前にlow dose RIT (200 mg/body)を1回投与する。移植日に移植腎動脈と吻合する内または外腸骨動脈周囲の骨盤内リンパ節を数個廓清する。

廓清したリンパ節の周囲組織を摘除し、直ちに10%ホルマリン液で固定。24時間以上固定したのち、2次リンパ組織に対しCD20(プレB細胞から活性型B細胞)、CD27(記憶B細胞)、CD79a(B細胞全般)、CD138(形質細胞)の免疫染色を行う。作成標本中、最も大きなリンパ節の断面を対象として顕微鏡で観察。顕微鏡下での目視による

免疫染色強度の評価(5段階評価; absent-0, weak-1, low moderate-2, high moderate-3, or intense-4. Ramos EJ et al, Am J Transplant 7, 2007)を行い、臨床イベント(特に液性拒絶)発生との相関性を検討する。

4. 研究成果

RIT投与後のリンパ節中の残存CD20陽性細胞(プレB細胞から活性型B細胞)は脾臓中のそれと比較して多い印象であったが有意差は無く、また液性拒絶発症例と非発症例との間で有意差は無かった。しかしリンパ節中のCD138陽性細胞(形質細胞)のpopulationが多い症例で、また予想に反してRIT投与後の血清BAFF濃度が低い症例で液性拒絶反応が有意に高頻度で発症し、それぞれが液性拒絶発症の独立した危険因子であることが判明した。この成果は海外の学会でも高い評価を得た(米国移植学会2013;ポスター賞受賞)。

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 件)

[学会発表](計 5 件)

第103回日本泌尿器科学会総会(金沢、2015)

「Rituximab投与後の血清BAFF濃度は抗体関連型拒絶反応の予測因子である」

第102回日本泌尿器科学会総会(神戸、2014)

「免疫学的ハイリスク腎移植におけるRituximab投与後のBAFF発現、リンパ節中B細胞レポートリーと臨床事象との関連」

EAU 2015 | 30th Annual European Association of Urology Congress
[Serum BAFF Levels and B Cell Subsets in Secondary Lymphoid Organs after Rituximab Administration: Its Association with Clinical Outcomes]

American Urological Association
Annual Meeting 2014 (Orland, 2014)
[Serum BAFF Levels and B Cell Subsets in
Different Lymphoid Organs after
Rituximab Administration: Its
Association with Clinical Outcomes]

World Transplant Congress 2014 (San
Francisco, 2014)
[Serum BAFF Levels and B Cell Subsets in
Different Lymphoid Organs after
Rituximab Administration: Its
Association with Clinical Outcomes]

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 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 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

齋藤 満 (SAITO, Mitsuru)
秋田大学・医学部・講師
研究者番号：80400505

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：