

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 29 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2012～2014

課題番号：24249078

研究課題名(和文)血液型不適合腎移植ではどのようにして免疫学的順応が誘導・成立するのか

研究課題名(英文)How is immunological accommodation induced in ABO incompatible kidney transplantation?

研究代表者

高橋 公太 (TAKAHASHI, KOTA)

新潟大学・医歯(薬)学総合研究科・客員研究員

研究者番号：90101857

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 33,400,000円

研究成果の概要(和文)：ABO血液型不適合腎移植における脱感作療法・免疫学的順応成立機構の解明研究の集大成としての英文単行本を共同研究者と共著で執筆・刊行した。わが国におけるABO血液型不適合腎移植の歴史をReviewし、われわれが先鞭をつけた脱感作療法の変遷と現在の到達点、ABO血液型糖鎖抗原・抗体の多様性、すなわち既存の自然抗体・細菌感染によって誘導される糖鎖抗体、移植後に産生されるDeNovo抗体の相違と対応する抗体の多様性と脱感作療法によって誘導される免疫学的順応の機構の解明過程を詳細に解説した。われわれが臨床病理学的に証明したこの理論により移植成績は飛躍的に向上した。

研究成果の概要(英文)：We have published many articles and books on elucidation of the mechanism of induction of "immunological accommodation" in ABO-incompatible kidney transplantation. In the manuscript, we have reviewed the history of ABO incompatible kidney transplantation worldwide and in Japan, our pioneership and destination in the role and importance of "desensitization therapy" in the field. The most ultimate goal is the elucidation of the induction mechanism of immunological accommodation in which we have clarified the variety of ABO carbohydrate antigens and antibodies in biomimicry to those of bacteria, RBC and vascular endothelial cells that closely related to the immunological accommodation induction in ABO incompatible kidney transplantation. Our hypothesis and evidence verified by clinical and experimental approach may lead to the improved patient and graft survival not only in kidney but also in other organ transplantation fields.

研究分野：泌尿器科学

キーワード：腎移植 的順応 ABO血液型不適合 抗原抗体反応 糖鎖抗原 血管内皮細胞 交差抗原性 脱感作療法 免疫学

1. 研究開発当初の背景

われわれは、1989年1月19日にわが国で最初の ABO 血液型不適合腎移植（以下 ABO 不適合腎移植）を成功させ、2004年にはリツキシマブ併用・脾摘回避脱感作免疫抑制療法により飛躍的に成績を向上させるなど、世界のリーダーとして本領域を開拓してきた。

ABO 不適合腎移植では、自然抗体である抗 A 抗 B 抗体が移植腎血管に発現する ABO 組織血液型抗原に結合し、抗体関連型拒絶反応 (Antibody mediated rejection : 以下 AMR) から高率に移植腎機能喪失に至るとされてきた。しかし適切な脱感作療法を行えば多くの患者で安定した生着状態、すなわち抗原と抗体が存在するにもかかわらず、抗原抗体反応による臓器障害がおこらない「免疫学的順応」が達成される。しかしこの現象の成立機構は全く不明であった。

2. 研究の目的

本研究の目的は、ABO 不適合腎移植における免疫学的順応成立機構の解明である。

3. 研究の方法

- (1)わが国の ABO 不適合腎移植の臨床成績の詳細な調査
- (2)AMR 発症と移植腎喪失に関与する抗 A 抗 B 抗体の性質
- (3)AMR の分類
- (4)高抗体価で AMR を発症しない症例の解析
- (5)腎血管内皮細胞の血液型糖鎖抗原
- (6)抗体除去を要しない抗体価の検討
- (7)免疫学的順応機構解明のための

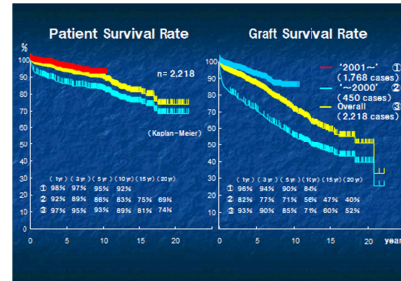
In Vitro Study 系の構築

- (8)免疫学的順応機構の解明

4. 研究成果

- (1)わが国の ABO 不適合腎移植の臨床成績の詳細な調査

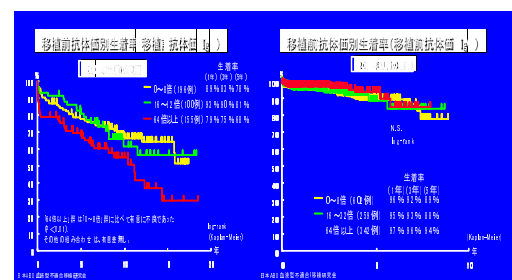
われわれが 1998 年に設立した日本 ABO 血液型不適合移植研究会が集計した 2011 年末日までに行われた腎移植 2,218 例の成績を示す。



(図 1) ABO 不適合腎移植の患者生存率 (左) と移植腎生着率 (右)

全症例の生存率、生着率は、1年、97%、93%、3年、95%、90%、5年、93%、85%、10年、89%、71%、15年、81%、60%、および20年、74%、52%であった。

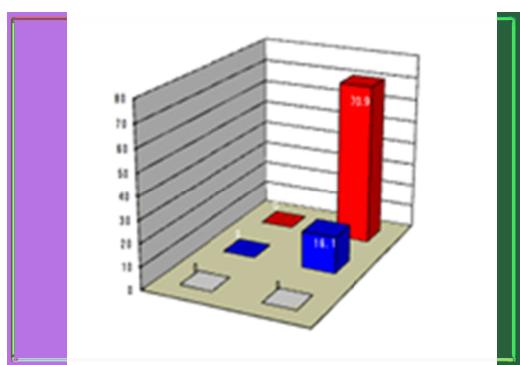
これを 1989 年～2000 年と 2001 年～2011 年に分けると、前期は、1年、92%、82%、3年、89%、77%、5年、86%、71%、10年、83%、56%、15年、75%、47%、および20年、69%、40%であり、後期は、1年、98%、96%、3年、97%、94%、5年、95%、90%、および10年、92%、84%であった。後期の成績は前期に比べて飛躍的に向上した。前期は抗血液型 IgG 抗体価 64 倍以上は 64 倍未満に比して有意に成績不良だったが後期にはこの差は消失した。



(図 2)移植前 IgG 抗血液型抗体価と移植腎生着率 (左：2000 年以前, 右：2001 年以降)

- (2)AMR 発症と移植腎喪失に関与する抗 A 抗 B 抗体の性質

移植腎生検の国際 Banff 分類では傍尿管毛細血管 C4d 沈着を AMR の指標とする。われわれの調査では 31 例の ABO 不適合腎移植の 1 時間腎生検 C4d 陽性率は 16.1%、1 か月後生検 67.2% だった(図 3)。AMR は 4 例のみで、全例 1 時間生検は C4d 陰性だった。以上より自然抗体で移植腎に組織障害をきたすものは少なく、移植後に産生された抗体が AMR を起こすこと、多くは免疫学的順応の成立により臓器障害が進行しないことが判明した。



(図 3) ABO 不適合腎移植における 0 時間、1 時間、プロトコール腎生検の PTC-C4d 陽性率の推移。対照群は ABO 適合移植。

(3) AMR の分類

われわれは細菌表面の糖鎖抗原と ABO 組織血液型糖鎖抗原の生物学的同一性に着目し、ABO 不適合腎移植の AMR を臨床病理学的免疫学的観点から 2 群に分類した。(表 1)

Type I は術前の脱感作が不十分な場合、既感作 B リンパ球が免疫二次応答により血管内皮細胞 ABO 組織型抗原に対する IgG 型抗 A 抗 B 抗体を爆発的に産生し、AMR により移植腎機能が廃絶する。

Type II は細菌感染症により細菌表面の糖鎖抗原に対する免疫一次応答の B 細胞活性化に際し、移植腎血管内皮細胞に発現する血液型組織糖鎖抗原と交差抗原抗体反応性をもつ IgM 型抗 A 抗 B 抗体が産生されて起こる。発

症は緩徐で、感染治療で制御可能である。

	Type I	Type II
Occurrence of critical period	Early phase	Late phase
Recipient immunosuppression	Immunological high-risk Inadequate	Immunocompromised host Possible over-immunosuppression
Antigen	ABO histo group antigens	ABO histo-blood group associated antigens
Sensitization	Secondary sensitization	Primary sensitization
Response	Severe	Less than type I
Antibody production	Explosive	Slow
Antibody titer	IgG↑ > IgM↑	IgG→ IgM↑
B cell	B-1a cell	B-1b cell
Clinical course	Rapid	Slow
Treatment	Almost unresponsive	Responsive in early period
Prophylaxis	Desensitization	Prevention of infection
Prognosis	Almost graft loss	Possible graft survival

(表 1) ABO 不適合腎移植の AMR の分類

(4) 高抗体価で AMR を発症しない症例の解析

われわれは処置前抗体価が 1024 倍～2028 倍と高値で、治療後も 256～512 倍と高値のままでも AMR を起こさない症例を報告した。これらの症例では赤血球標的抗体検査で検出される抗体は腎血管の組織血液型抗原への細胞障害能は低いと考えられる。

(5) 腎血管内皮細胞の血液型糖鎖抗原

われわれは赤血球表面と腎血管内皮細胞の血液型糖鎖抗原の分子構造の違いに着目した。ABO 抗原の抗原性は、A 型は N-acetyl-glucosamine、B 型は Galactose により規定される。しかし、糖鎖抗原の細胞膜結合部位にはアンカー蛋白が存在する。田崎らは、プロテオーム解析により、赤血球表面の ABO 血液型抗原のアンカー蛋白は従来の報告通り Band3・Band 4.5 だが、腎血管では PECAM1(platelet endothelial cell adhesion molecule), PLVAP(plasmalemmal vesicle associated protein), vWf(von Willebrand factor)など、血管内皮細胞機能関連分子であることを世界で初めて示し、赤血球と腎血管内皮細胞の血液型抗原の抗原性の相違と抗体の多様性から免疫応答が異なる可能性を示した(図 4)。Liu らはマイクロナノビーズ灌流法

により腎血管内皮細胞表面の蛋白分子を効率よく回収し、さらに未知の多くの蛋白質を分離同定した。(図5)。

ABO 組織血液型抗原には以下の4つの core structure が存在する。

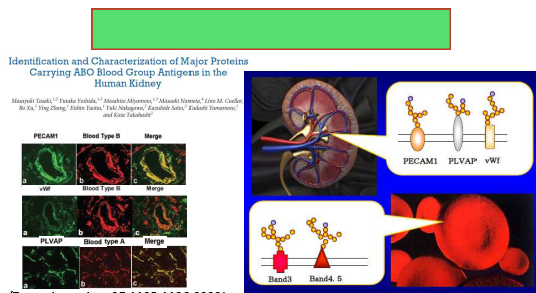
Type1: Galβ1→3GlcNAcβ1→

Type2: Galβ1→4GlcNAcβ1→

Type3: Galβ1→3GalNAcα1→

Type4: Galβ1→3GalNAcβ1→

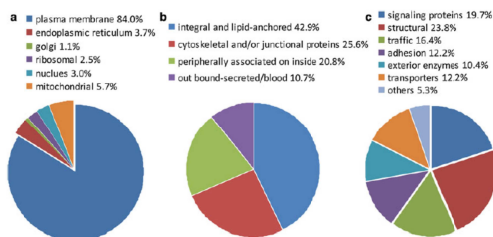
われわれはヒト腎血管内皮細胞には Type1 と Type2 が、赤血球には Type1-4 全てが発現していることを突き止めた。赤血球標的抗 A 抗 B 抗体が、どの core structure を認識するかは未だ不明である。(図6)



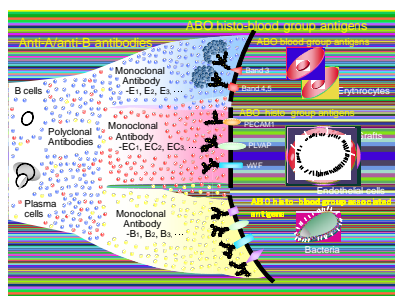
(Transplantation '07;1125-1133,2009)

- ①腎血管内皮細胞の血液型糖鎖抗原の Anchor 蛋白は赤血球とは全く異なっていることを世界で初めて報告した。(腎臓・構造病理学分野との共同研究)
- ②免疫学的順応成立メカニズムの解明に向けて、合成血液型糖鎖Subtype糖鎖アレイを作成し、抗原・抗体の多様性についての研究を進めている。

(図4)血管内皮細胞と赤血球の血液型抗原



(図5)腎血管内皮細胞膜特異蛋白質の解析



(図6) ABO 組織血液型抗原 (右) の多様性と対応する抗 A 抗 B 抗体の多様性 (左)

(6)抗体除去を要しない抗体価の検討

抗 A 抗 B 抗体価(IgG 値)が 64 倍以下の症例のうち抗体非除去(NRA:n=14)群と対照抗体除去群(RA:n=18)間の生存・生着率、AMR 発症率を比較すると有意差はなかった。(表3) 抗体除去が不要になれば患者への侵襲は軽減され、貴重な医療資源を節約できる。

	ABO 抗体価<64	ABO 抗体価>64	P-value*
生存率	0.442	0.643	0.442
生着率	0.561	0.772	0.772
AMR 発症率	0.353	0.218	0.353
移植後生存率	0.971	0.739	0.971
移植後生着率	0.428	0.603	0.428
移植後 AMR 発症率	0.428	0.428	0.428
移植後生存・生着率	0.002	0.442	0.442
移植後 AMR 発症率	0.442	0.218	0.442

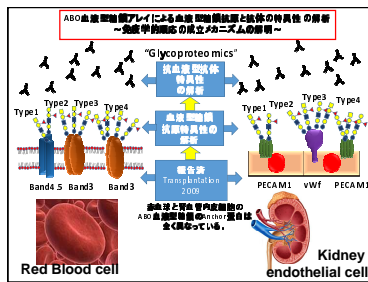
(表3) 抗体非除去群 (NRA) と除去群 (RA) の成績の比較

(7)免疫学的順応機構解明のための In Vitro Study 系の構築

現在、ABO 血液型 Type1、Type2 の糖鎖アレイを人工的に合成し、PECAM-1 を結合させた糖鎖蛋白分子を作成し、臓器障害特異的抗体の検出系の確立を進めている(図7)。

(8)免疫学的順応機構の解明

本研究では ABO 組織血液型糖鎖抗原の多様性と対応する抗体の多様性が免疫学的順応成立の重要な要素であることを突き止めることができた。免疫学的順応を誘導する適切な脱感作療法の開発と腎血管内皮に特異的な血液型糖鎖抗原と対応する抗体のより詳細な分析と識別法の開発により、ABO 不適合腎移植は名実ともに「標準治療」として定着する。



(図 7)組織血液型糖鎖抗原とアンカー蛋白による抗原の多様性と、それぞれの抗原に特異的な抗体の検索

5. 主な論文発表等

(雑誌論文 計 51 件)

1. Aikawa A, Saito K, Takahashi K. Trends in ABO-incompatible kidney transplantation. *Exp Clin Transplant* 13(S1):22-25, 2015. (査読あり)
2. 田崎正行, 齋藤和英, 中川由紀, 今井直史, 高橋公太. 新潟大学における ABO 血液型不適合腎移植の基礎研究. *今日の移植* 28(1): 73-83, 2015. (査読あり)
3. Aikawa A, Kawamura T, Shihido S, Saito K, Takahashi K. ABO-incompatible living donor pediatric kidney transplantation in Japan. *Clinics* 69(S1) : 22-27, 2014 doi.org/10.6061/clinics/2014(Sup01)05 (査読あり)
4. Tasaki M, Saito K, Nakagawa Y, Ikeda M, Imai N, Narita I, Takahashi K. Effect of donor-recipient age difference on long-term survival in living kidney transplantation. *Int Urol Nephrol* 46 : 1441-1446, 2014. 10.1007/s11255-014-0655-8, Epub2014Feb13 (査読あり)
5. Tasaki M, Saito K, Nakagawa Y, Ikeda M, Ito Y, Takahashi K.

20-Year Analysis of Kidney Transplantation : A Single Center in Japan. *Transplant Proc.* 46 : 437-441, 2014. 10.1016/J.transproceed.2013.10.052. (査読あり)

6. 齋藤和英, 高橋公太

わが国における ABO 血液型不適合腎移植の統計調査 2013. *今日の移植* 27(2):124-136, 2014. (査読あり)

7. Takahashi K, Saito K.

ABO-incompatible Kidney Transplantation. *Transplantation Reviews.* 27:1-8, 2013. 10.1016/j.trre.2012.07.003. Epub 2012 Aug 15. (査読あり)

8. Zan Liu, Bo Xu, Masaaki Nameta, Ying Zhang, Sameh Magdeldin, Yutaka Yoshida, Keiko Yamamoto, Hidehiko Fujinaka, Eishin Yaoita, Masayuki Tasaki, Yuki Nakagawa, Kazuhide Saito, Kota Takahashi, Tadashi Yamamoto. Profiling of kidney vascular endothelial cell plasma membrane proteins by liquid chromatography-tandem mass spectrometry *Clin Exp Nephrol.* 17:327-337,2013.

10.1007/s10157-012-0708-1 (査読あり)

9. Saito K, Takahara S, Nakagawa Y, Yagisawa T, M Naka Mieno, Takahashi K. Obstacles of Non-heart-beating Donor Kidney Transplantation in Japan to Date and Future Perspectives. *Transplant Proc.* 45 : 2866-2870, 2013. (査読あり) 10.1016/j.transproceed.2013.08.06210.

10. 高橋公太

ABO 血液型不適合腎移植への挑戦～免疫学的禁忌への挑戦と臨床への普及～

日本医師会雑誌 141(10) : 2243-2247, 2013.
(査読あり)

(学会発表 計 95 件)

1. Saito K, Aikawa A, Takahara S, Takahashi K, et al. Present Status of ABO-Incompatible Kidney Transplantation in Japan. -Lessons From More than 2,400 cases To Date - World Transplant Congress 2014. 2014年7月26日-31日. San Francisco, Moscone Convention Center, CA, USA.

2. Nakagawa Y, Saito K, Tasaki M, Takahashi K. Examination of ABO-incompatible kidney transplantation without removing method of anti-ABO antibodies pretransplantation. World Transplant Congress 2014. 2014年7月26日-31日 San Francisco, Moscone Convention Center, CA, USA.

3. Saito K, Takahashi K. The role of Rituximab in ABO-incompatible Kidney Transplantation in JAPAN. ASN Kidney Week 2014. 2014年11月11日-16日 Pennsylvania Convention Center, Philadelphia, PA, USA.

4. 高橋公太 特別講演 ABO 血液型不適合腎移植への挑戦～コペルニクスの発想の転換～第101回 日本泌尿器科学会総会(招請講演) 2013年4月28日札幌芸術文化の館(札幌市)

5. 高橋公太 ABO 血液型不適合腎移植への挑戦 免疫学的禁忌の克服と臨床応用の普及 第65回 日本医師会設立記念医学大会 日本医師会医学賞受賞講演 2012年11月1日 日本医師会館(東京都)

(図書 計 7 件)

1. Takahashi K, Saito K, Nakagawa Y,

Tasaki M. ABO-INCOMPATIBLE KIDNEY TRANSPLANTATION.

-Moving Toward A Comprehensive and Sound Approach To Kidney Transplantation- Elsevier, 2015. p1-p45.

2. Takahashi K. ABO-INCOMPATIBLE KIDNEY TRANSPLANTATION.

-Overcoming Hyperacute Rejection and Establishing Clinical Strategies- Elsevier, 2013. p1-p120.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高橋 公太 (TAKAHASHI, Kota)
新潟大学・医歯(薬)学総合研究科・
客員研究員

研究者番号 90101857

(2) 研究分担者

齋藤 和英 (SAITO, Kazuhide)
新潟大学・医歯学総合病院・講師
研究者番号 20262438

成田 一衛 (NARITA, Ichiei)
新潟大学・医歯学系・教授
研究者番号 20272817

山本 格 (YAMAMOTO, Tadashi)
新潟大学・医歯学系・教授
研究者番号 30092737

今井 直史 (IMAI, Naofumi)
新潟大学・医歯学総合病院・臨床検査技師
研究者番号 50599165

中川 由紀 (NAKAGAWA, Yuki)
新潟大学・医歯学総合病院・助教
研究者番号 70422607