

令和元年6月24日現在

機関番号：11401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K10637

研究課題名(和文) 免疫学的ハイリスク腎移植における抗CD20抗体投与後のB細胞免疫応答機構の解明

研究課題名(英文) Mechanisms of B cell response after anti-CD20 antibody administration in immunologically-high risk kidney transplantation

研究代表者

齋藤 満 (Saito, Mitsuru)

秋田大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：80400505

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：2004年7月から2014年12月の期間に当科で腎移植療法を行った204症例のうち、明らかな拒絶反応を伴わない181例を対象に3次リンパ組織の検討を行った。移植後1か月、6か月、12か月後の定期腎生検標本を用いて3次リンパ組織を形成している症例について、その移植腎機能、拒絶反応との関連性、危険因子などについて検討した。

移植腎に3次リンパ組織形成があり且つその成熟度が高い症例では、3次リンパ組織形成が無い、もしくはあってもその成熟度が低い症例と比較して、移植後5年までの移植腎機能が有意に低いことが判明した。これはRituximab (RIT) 投与の有無にかかわらず結果であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

RIT投与した症例ではB細胞が著明に減少しているため、理論的には3次リンパ節形成は起こりにくいはずである。免疫学的リスクが高い症例のみならず、これまで通常の免疫抑制プロトコルで腎移植を行っていた症例も、RITを術前に投与しておいた方が移植腎予後が改善する可能性が示唆された。

このことは固形臓器移植における、拒絶反応とは異なる炎症反応が発生するメカニズムを明らかにするための一助となる可能性があり、このことが明らかとなれば移植腎予後の更なる改善が期待できるものと思われる。

研究成果の概要(英文)：Of the 204 patients who underwent kidney transplant in our hospital between July 2004 and December 2014, we examined the presence of tertiary lymphoid organ in 181 cases without rejection. The graft function, correlation with rejection, risk factors, etc. were investigated for cases with tertiary lymphoid organ using protocol biopsy specimens at 1 month, 6 months and 12 months after transplantation.

The graft function up to 5 years after transplantation was significantly worse in the patients with tertiary lymphoid organ compared to those in the patients without tertiary lymphoid organ. This results did not depend on Rituximab administration.

研究分野：腎移植学

キーワード：腎移植 リンパ節 B細胞 BAFF rituximab 抗体関連型拒絶反応

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

## 1. 研究開始当初の背景

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(ドナー特異的抗 HLA 抗体(DSA)陽性例や ABO 血液型不適合例)に対しても積極的に適応拡大がなされている。免疫学的ハイリスク移植ではレシピエントが保有する抗体が液性拒絶反応(抗体関連型拒絶反応と同義。重篤な拒絶反応で graft loss または移植腎機能が低下する)を起し易く移植成績は不良であったが、近年、強力な B 細胞減少効果を有する抗 CD20 抗体、リツキシマブ(Rituximab, RIT)が使用されるようになってからは液性拒絶の発症率が減少し移植成績が向上したと報告されている(Ejaz NS et al, Am J Transplant 2014)。しかし一方では RIT 投与にも関わらず 29-45%も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 2006, Vo AA et al, Transplantation 2010)、RIT の効果は必ずしも一様ではない。

腎移植レシピエントにおいて RIT は低用量(200 mg/body)投与でも血中、脾臓中の CD20 陽性細胞をほぼ完全に消失させ得ることが報告されている(Toki D et al, Transplant Int 2008)。しかし、動物実験(Schröder S et al, Transplant Immunol 2003, Gong Q et al, J Immunol 2005)や肝移植(Egawa H et al, Liver Transplant 2007)では RIT 投与後のリンパ節中の CD20 陽性細胞は血中、脾臓中と比較して残存しやすいとの報告もある。

一方で近年、液性拒絶反応と、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・生存に関わるサイトカインとして知られるが、BAFF やその受容体が液性免疫反応に促進的にはたらき、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 2002, Ye Q et al, Eur J Immunol 2004, Parsons RF et al, Transplantation 2012)が数多く見受けられる。一般に RIT 投与後は B 細胞数が減少しポジティブフィードバックで血清 BAFF 濃度が増加するが、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(Thaumat O et al, Transplantation 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。

我々は RIT 投与後に 2 次リンパ組織(リンパ節、脾臓)に残存する、BAFF を高発現した B 細胞の population が液性拒絶の発症に関与すると仮説を立て研究を行った(文部科学省科学研究費研究課題 課題番号 25861408 研究課題名「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」)。移植前に RIT(200 mg/body、移植 3 週前、1 回投与)を投与した腎移植レシピエント 52 例に対し、腎移植時に骨盤内リンパ節を廓清し、DSA 陽性例では脾摘も追加した。Ramos らの報告(Ramos EJ et al, Am J Transplant 2007)を参考にし、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)の免疫組織染色を施行し、その染色強度をスコア化した。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。

そこで我々は今までの結果から、「DSA 陽性などの免疫反応が活発な個体では 2 次リンパ組織中の形質細胞が多数存在し、RIT を投与しても B 細胞系のホメオスターシスが維持されて BAFF 分泌が亢進せず、そのような症例で液性拒絶反応が発症し易い」という仮説を立てた。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は上記仮説を動物実験で検証し、腎移植における抗 CD20 抗体投与後の B 細胞免疫応答機構を動物実験で明らかにすることである。

## 3. 研究の方法

しかし、当初予定していた動物実験では思う様な結果が得られなかったため、ヒト検体（移植腎病理標本）での再検証を行うこととした。近年、移植腎内の 3 次リンパ節形成という概念がある。移植腎間質の線維化は単に線維化のみでは移植腎予後に影響しないが、そこに炎症細胞浸潤を伴った場合に移植腎の予後を悪化させるという報告（Park WD et al, J Am Soc Nephrol 2010）もある。そこで 2004 年 7 月から 2014 年 12 月の期間に当科で腎移植療法を行った 204 症例のうち、明らかな拒絶反応を伴わない 181 例を対象に 3 次リンパ節の検討を行った。移植後 1 か月、6 か月、12 か月後の定期腎生検標本を用いて 3 次リンパ節形成を伴っている症例について、その移植腎機能、拒絶反応との関係性、危険因子、などについて検討した。3 次リンパ節の定義は Sato Y et al, JCI insight 2016 の基準を参照した。

## 4. 研究成果

これまでに得られた結果では、移植腎に 3 次リンパ節形成があり且つその成熟度が高い症例では、3 次リンパ節形成が無い、もしくはあってもその成熟度が低い症例と比較して、移植後 5 年までの移植腎機能が有意に低いことが判明した。これは RIT 投与の有無にかかわらず、もともとの免疫学的リスクが高い場合も低い場合も同様の結果が得られた。

3 次リンパ節の定義上、理論的には、RIT 投与を受けている場合、3 次リンパ節形成は起こりにくいはずである。RIT 投与した症例では B 細胞が著明に減少しているため、3 次リンパ節を形成しにくい。従って、免疫学的リスクが高い症例のみならず、これまで通常の免疫抑制プロトコルで腎移植を行っていた症例も、RIT を術前に投与しておいた方が移植腎予後が改善する可能性が示唆された。

今後は RIT 投与症例における 3 次リンパ節形成が症例によって異なる原因は何か、3 次リンパ節形成後に何らかの治療介入を行うことで移植腎予後が改善するのか否かなどについて、更に研究を行っていく予定である。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 5 件)

齋藤 満、佐藤 滋、井上高光、鶴田 大、前野 淳、成田伸太郎、土谷順彦、羽瀨友則  
「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 103 回  
日本泌尿器科学会総会（金沢、2015）

Mitsuru Saito, Ryohei Yamamoto, Shigeru Satoh, Hiroshi Tsuruta, Susumu Akihama, Takamitsu Inoue, Shintaro Narita, Norihiko Tsuchiya, and Tomonori Habuchi [Serum BAFF Levels and B Cell Subsets in Secondary Lymphoid Organs after Rituximab Administration: Its Association with Clinical Outcomes] EAU 2015 | 30th Annual European Association of Urology Congress

Mitsuru Saito, Shigeru Satoh, Kazuyuki Numakura, Takamitsu Inoue, Hiroshi Tsuruta, Susumu Akihama, Shintaro Narita, Norihiko Tsuchiya, and Tomonori Habuchi [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)

Mitsuru Saito, Shigeru Satoh, Kazuyuki Numakura, Takamitsu Inoue, Hiroshi Tsuruta, Susumu Akihama, Shintaro Narita, Norihiko Tsuchiya, and Tomonori Habuchi [Serum BAFF Levels and B Cell Subsets in Different Lymphoid Organs after Rituximab Administration: Its Association with Clinical Outcomes] American Urological Association Annual Meeting 2014 (Orland, 2014)

齋藤 満、佐藤 滋、井上高光、沼倉一幸、鶴田 大、秋濱 晋、成田伸太郎、土谷順彦、羽瀨友則 「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 細胞レパトリーと臨床事象との関連」 第 102 回日本泌尿器科学会総会(神戸、2014)

〔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

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

研究協力者氏名：羽瀨友則、佐藤滋、南条博、井上高光、山本竜平、水戸部陽子

ローマ字氏名：Tomonori Habuchi, Shigeru Satoh, Hiroshi Nanjo, Takamitsu Inoue, Ryohei Yamamoto, Yoko Mitobe

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。