

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 26 日現在

機関番号：11401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K18915

研究課題名(和文)腎移植患者血清中の抗HLA抗体発現は免疫抑制剤のコントロールにより回避できるか？

研究課題名(英文)Can anti-HLA antibody in sera of kidney transplant recipients be avoided by immunosuppressant control ?

研究代表者

藤山 信弘 (Fujiyama, Nobuhiro)

秋田大学・医学部・助教

研究者番号：90603275

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：慢性拒絶による移植腎喪失の主要因であるドナー特異的抗HLA抗体(DSA)産生を回避するためには免疫抑制剤を上手にコントロールする必要がある。本研究ではDSA産生と移植腎予後の関連性と、免疫抑制剤の与える影響を評価した。移植後1年において160例中15例でDSAが検出され、preformedDSA(移植前及び1年後のDSA陽性群)は7例、de novoDSA(移植後1年のみDSA陽性群)は6例、両DSA検出は1例であった。いずれも移植腎予後の不良因子であった。また、de novoDSA産生はTacトラフ値の低値経験者(カットオフ値3.2ng/mL)及びMPA服薬中止との強い相関性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：One of the major factors for the graft loss is antibody-mediated rejection caused by the production of donor-specific HLA antibody (DSA). In this study, we evaluated the influence of DSA in graft survival and the relation of clinical variants including immunosuppressant levels to the prediction of DSA production in post-renal transplantation. As a result, DSA production was observed in 15 patients including 7 preformed DSA, 6 de novo DSA and 1 both preformed +de novo DSA out of 180 patients. It was exhibited that all DSA are poor prognostic factors, and De novo DSA production was more likely to observed in patients who experienced the low serum Tac level (cut-off value: 3.2 ng/mL), and in patients who ceased MMF medication within one-year post-transplantation.

研究分野：移植免疫学、薬物動態学

キーワード：腎移植 移植免疫 ドナー特異的抗HLA抗体 免疫抑制剤 薬物治療モニタリング 個別化医療

1. 研究開始当初の背景

免疫抑制剤の発展は急性期拒絶リスクを大幅に改善させたが、抗体関連拒絶を主とする慢性拒絶の回避はまだ十分にできていない。これまで抗体関連拒絶にドナー抗 HLA 抗体の発現が強く関与することが知られているが、その産生リスク因子の解析において、免疫抑制剤の血中濃度との関連については未だ不十分であった。

2. 研究の目的

ドナー特異的 HLA 抗体 (DSA) 産生と移植腎予後への影響を評価すると共に、免疫抑制剤を中心に DSA 産生に関与するリスク因子を明らかにすること。

3. 研究の方法

対象は 2004 年 7 月以降に当院で施行された生体腎移植患者 179 名。標準免疫抑制療法としてバシリキシマブ、タクロリムス (Tac)、ミコフェノール酸 (MPA)、プレドニゾロン、が用いられた患者を対象とした。移植後 1 年の血清中抗 HLA 抗体を固相ビーズ法で測定し、検出された平均蛍光強度 (MFI) が約 1000 以上を陽性とした。さらに、ドナー及びレシピエントの HLA タイピングデータから DSA 判定を行い、移植前に検出された DSA が移植後 1 年でも検出された場合を Preformed DSA、移植前に検出されなかったが移植後 1 年で DSA が検出された場合を de novo DSA と定義した。

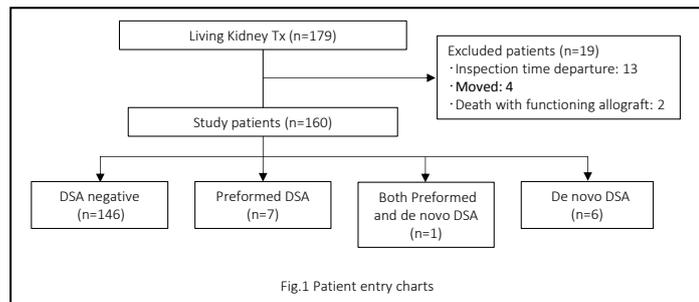


Fig.1 Patient entry charts

(解析 1) DSA (または抗 HLA 抗体) と移植腎予後への影響をカプラン・マイヤー解析にて評価した。

(解析 2) 腎移植回数、ABO 適合性、HLA マッチ・ミスマッチ数、Tac 及び MPA の投与量と TDM データ、感染症などを要因変数として単変量及び多変量解析を行った。

4. 研究成果

(結果 1) 解析患者は、Death with functioning graft や転居などで、最終的に 160 例で DSA 測定がなされた (Fig.1)。抗 HLA 抗体検査の結果は、陰性 133 例、自然抗体または nonDSA 群 13 例、Preformed DSA 陽性群 7 例、de novo DSA 群 6 例、両 DSA 陽性 1 例であった。それぞれの詳細を Table1 に記した。DSA の特異性はクラス I 陽性 6 例、クラス II 陽性 6 例、両方陽性 2 例であった。患者毎の DSA の MFI は中央値 4500 [最高 14000、最低 1000] であった (Table1)。これら DSA 陽性患者のうちグラフトロスとなったのは 5 名で、慢性抗体関連拒絶が原因となったのは 4 名だった。

Table1. DSA data in one year after kidney transplantation

Patient No.	DSA	HLA ClassI		HLA ClassII		Days until Graft loss	Reasons
		locus	MFI	locus	MFI		
1	preformed	Cw7	14000			2345	cABMR
2	preformed			DQ5,6	5000	-	-
3	preformed	Bw4	10000			-	-
4	preformed	A3	3000			644	cABMR
5	preformed	Cw9	3500			-	-
6	preformed			DR9	1000	-	-
7	preformed	Cw9	3500			-	-
8	preformed de novo			DQ5,6 DR14	6000 2000	2025	cABMR+BKV
9	de novo	Cw1	1500	DP5	2000	2862	meningitis
10	de novo	A11,Cw7	6000, 1500			3107	cABMR
11	de novo	A26	4000	DR9	3500	-	-
12	de novo			DQ8	7500	-	-
13	de novo			DR52	1000	-	-
14	de novo			DQ7	5500	-	-

MFI, mean fluorescence intensity.

cABMR, chronic antibody mediated rejection.

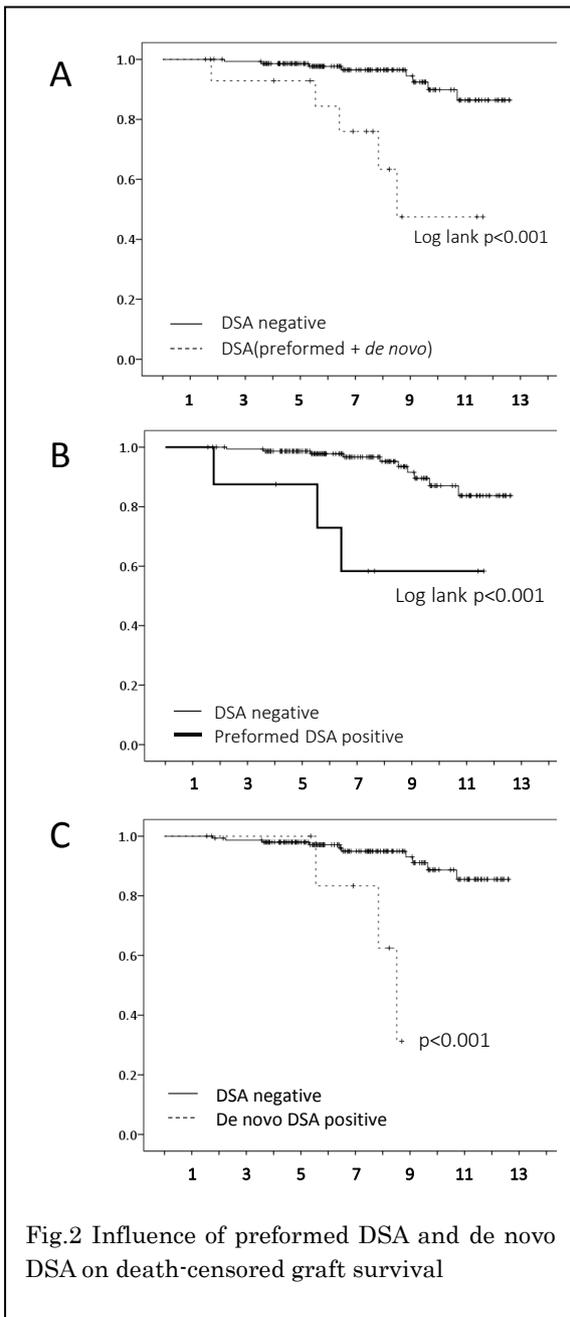


Fig.2 Influence of preformed DSA and de novo DSA on death-censored graft survival

(結果 2) カプラン・マイヤー解析から、グラフト生着に対する preformed DSA 及び de novo DSA の影響を評価した。いずれの群においても DSA negative 群と比較して有意な生着率の低下が見られた (各  $p < 0.001$ ) (Fig.2)。

また、DSA の検出強度を 1 つの抗体力価の指標として、その強度の違いによるグラフト生着率への影響を評価した (Fig.3)。MFI の強さは 3000 をカットオフ値として用いたが、3000 以上と 3000 未満に統計学的な違いは見られなかった。すなわち、DSA 陽性であることが、MFI 強度に依存せずに腎移植予後に対する不良因子であると考えられた。

続いて、産生された DSA の標的別に移植腎予後に影響するか評価した。すなわち、抗 Class I 抗体と抗 Class II 抗体それぞれの影響を評価したところ、前者では有意に生着率を低かつ

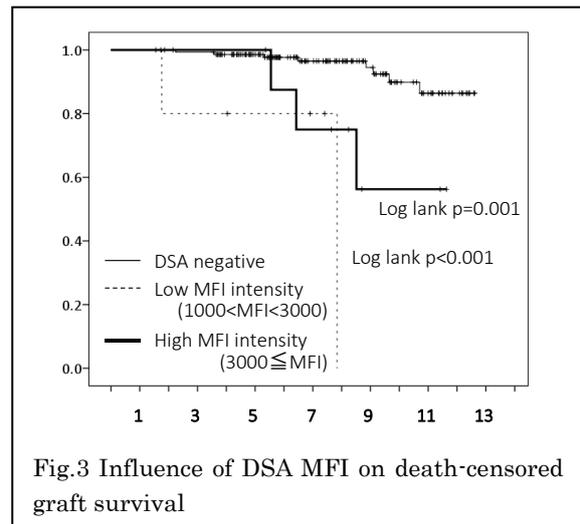


Fig.3 Influence of DSA MFI on death-censored graft survival

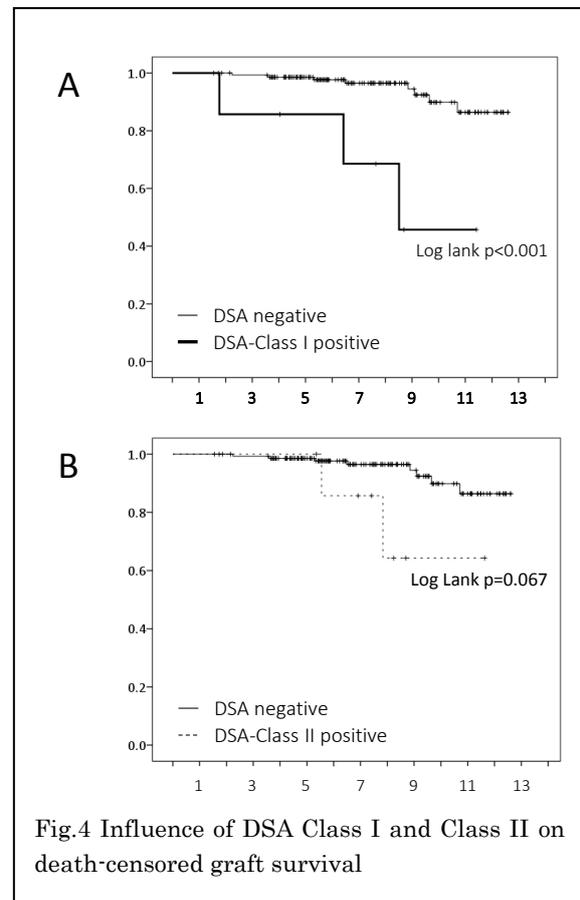


Fig.4 Influence of DSA Class I and Class II on death-censored graft survival

た (Fig.4A)。一方、後者では有意な影響は見られなかったが、同様な傾向は認められた (Fig.4B)。過去の報告では DR 抗体や DQ 抗体が重要とされていることから、更なる症例の追加をもって評価する必要がある。

(結果 3) De novo DSA の発現リスク因子を明らかにするために単変量解析を行った。結果として、レシピエント年齢、レシピエント性別、ドナー年齢、ドナー性別、腎移植回数、ABO 適合性、HLA マッチ・ミスマッチ数、透析歴の有無、透析期間、BMI の影響は統計学的に示されなかった。一方で、免疫抑制剤

Table2 Univariate analysis of immunosuppressant drug on de novo DSA in one year at after kidney transplantation

		Patinet number	Dn DSA(-)	Dn DSA(+)	Fisher's test
Steroid intake at 1Y post-KTx	On	(144)	137	7	$p=0.413$
	Off	(19)	19	0	
MMF intake at 1Y post-KTx	On	(156)	152	4	$p=0.002$
	Off	(10)	7	3	
Tacrolimus	Prograf	(89)	85	4	$p=0.602$
	Graceptor	(74)	71	3	

服用の有無による影響を評価したところ、1年後のステロイドの服用やタクロリムス製剤の違いによる影響は見られなかったが、MMFの服用中止群において有意に de novo DSA 産生リスクが高かった ( $p=0.002$ ) (Table2)。また、Tac TDM データを用いて同様に評価したところ、de novo DSA 発現は平均値や変動係数との関連性は見られなかったが、トラフ値ミニマムデータにおいては de novo DSA 発現群で有意に低値であることが明らかになった (カットオフ値 3.2 ng/mL,  $p=0.030$ ) (Fig.5)。

さらに、多変量解析を行ったところ、単変量解析の結果と同様なファクターがリスク因子であることが示された。すなわち、Tac トラフ

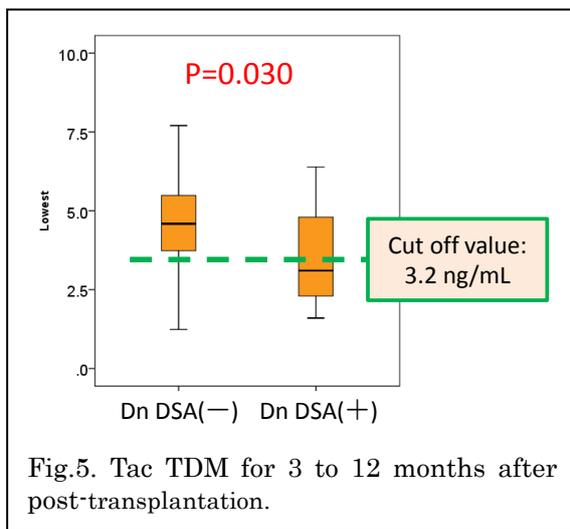


Fig.5. Tac TDM for 3 to 12 months after post-transplantation.

値ミニマムデータが低値である患者 (カットオフ値 3.2ng/mL)、ミコフェノール酸モフェチルの中止患者であるほど de novo DSA 発現との有意な関連が示された (それぞれ 0.008 及び  $p=0.003$ ) (Table3)。

(考察・まとめ)

腎移植時の DSA の存在、腎移植後の DSA 産生獲得は移植腎予後を明らかに低下させる。これは海外データとしては比較的多く存在するが、日本人データはこれまで少なかった。本研究で得られた結果では、日本人においても結論が得られ、DSA マネジメントが重要であることが改めて示された。これまで日本における DSA 検査は保険適応を受けておらず各施設の自助努力によるところが大きかったが、今後の充実した検査を進めるためにも、当局への働きかけが急務である。

移植後 1 年の目標 Tac トラフ値は 5-8 ng/mL とされることが多い。本研究によると de novo DSA 産生を回避するためには 1 年間は Tac トラフ値をおおよそ 3 ng/mL を下回らないようにする必要があると考えられた。これまでの目標 Tac 血中濃度は de novo DSA を指標としたものではなく、新たな知見として提唱するものである。

また、移植後ウイルス感染症例ではしばしば免疫抑制剤の減量中止を伴うリスクが生じる。特にミコフェノール酸服用患者においてサイトメガロウイルス感染は高い罹患率を示す。今回の結果では、ミコフェノール酸中止

例で de novo DSA 産生しやすかったことから、ハイリスク患者では感染予防や早期治療にも注力する必要があると考えられた。

Table3. Multivariate analysis in de novo DSA risk at post-kidney transplantation

	P value	Odds ratio (95%CI)
Re-transplantation	0.798	0.46 (0.02-137.52)
HD history until transplantation	0.946	0.82 (0.03-242.19)
HLA mismatch (>4,3≥)	0.870	2.59 (0.27-25.10)
BMI (>25,25≥)	0.688	0.57 (0.04-7.64)
Steroids intake at 1Y post-KTx	0.998	1.19 (0.21-6.88)
MMF intake at 1Y post-KTx	0.003	0.01 (0.01-0.25)
Tac trough minimum values at 1Y post-KTx (Cutoff: under 3.2 ng/mL)	0.008	25.61 (2.53-259.55)

## 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 1 件)

藤山信弘 (2015) HLA 情報の読み方、臨床泌尿器科、69 (13) 1083-1092

[学会発表] (計 17 件)

藤山信弘、奥山 慎、齋藤 満、井上高光、加賀谷英彰、新岡丈典、三浦昌朋、羽瀧友則、佐藤 滋 (2015) 腎移植後 1 年の DSA 発現が与えるグラフト生着への影響とそのリスク因子の検討、第 25 回日本組織適合性学会大会、9 月、水戸

藤山信弘、奥山 慎、齋藤 満、井上高光、新岡丈典、三浦昌朋、羽瀧友則、佐藤 滋 (2015) 腎移植後 1 年の DSA 発現に対するタクロリムス血中濃度の影響、第 51 回日本移植学会総会、10 月、熊本

高橋 寛、齋藤 伸、八代佳子、後藤敏晴、斉藤拓哉、寺山雅子、藤山信弘 (2015) あきた CKD シール事業に向けた秋田県薬剤師会の取り組み、第 9 回日本腎臓病薬物療法学会学術集会、10 月、仙台

藤山信弘、奥山 慎、小松田敦、佐藤 滋 (2015) 腎臓内科医を対象とした CKD 患者家族の病状理解度に関する調査、第 9 回日本腎臓病薬物療法学会学術集会、10 月、仙台

藤山信弘、奥山 慎、齋藤 満、井上高光、新岡丈典、三浦昌朋、羽瀧友則、佐藤 滋 (2015) 腎移植後 1 年の DSA 発現に対するタクロリムス血中濃度の影響、第 24 回日本医療薬学会年会、11 月、横浜

藤山信弘 (2016) 移植前後の DSA 検査と治療、日本移植学会主催 HLA 抗体検査講演会、1 月、秋田

藤山信弘、奥山 慎、佐藤 滋、齋藤 満、井上高光、山本竜平、楠木靖史、田中秀則、佐治博夫、羽瀧友則、佐藤 滋 (2016) 腎移植後 1 年における抗 HLA 抗体の検出と DSA 判定、第 35 回北海道腎移植懇話会、1 月、札幌

藤山信弘、奥山 慎、齋藤 満、井上高光、山本竜平、楠木靖史、小島裕人、田中秀則、佐治博夫、羽瀧友則、佐藤 滋 (2016) 腎移植後 1 年の抗 HLA 抗体産生状況と移植腎予後への影響、第 49 回日本臨床腎移植学会、3 月、米子

齋藤 満、佐藤 滋、奥山 慎、藤山信弘、山本竜平、井上高光、沼倉一幸、成田伸太郎、鶴田 大、前野 淳、羽瀧友則 (2016) 臓器横断的シンポジウム 2 長期生着に向けて

秋田大学における長期生着に向けての取り組みと治療戦略、第 49 回日本臨床腎移植学会、3 月

Nobuhiro Fujiyama, Shin Okuyama, Mitsuru Saito, Takamitsu Inoue, Ryuhei Yamamoto, Yasushi Kusunoki, Hiroto Kojima, Hidenori Tanaka, Hiroo Saji, Tomonori Habuchi, Shigeru Sato (2016), Anti-HLA antibody productions at one-year after kidney transplantation and its influence, The Transplantation Science Symposium Asian Regional Meeting 2016, 4 月, Tokyo

藤山信弘、齋藤 満、井上高光、山本竜平、沼倉一幸、奥山 慎、楠木靖史、小島裕人、田中秀則、佐治博夫、羽瀧友則、佐藤 滋 (2016) 腎移植予後に与える KIR リガンドミスマッチの影響、第 52 回日本移植学会総会、9 月、東京

藤山信弘、三浦アヤ子、水戸部陽子、奥山 慎、佐藤 滋、齋藤 満、山本竜平、沼倉一幸、井上高光、羽瀧友則、佐藤 滋 (2016) 秋田大学における免疫学的リスク別プロトコルについて、第 8 回北東北腎移植勉強会、9 月、盛岡

藤山信弘、三浦アヤ子、水戸部陽子、奥山 慎、佐藤 滋、齋藤 満、山本竜平、沼倉一幸、井上高光、羽瀧友則、佐藤 滋 (2016) 秋田大学における免疫学的リスク別減感作療法、第 19 回東北移植研究会、10 月、仙台

五十嵐龍馬、井上高光、土谷順彦、藤山信弘、本間直子、成田伸太郎、齋藤 満、鶴田 大、前野 淳、沼倉一幸、佐藤 滋、三浦昌朋、羽瀧友則 (2016) 進行性腎癌患者の遺伝子多型とアキシチニブ血中濃度および有害事象との関連解析、第 54 回日本癌治療学会学術集会、10 月、横浜

藤山信弘、奥山 慎、齋藤 満、井上高光、沼倉一幸、山本竜平、新岡丈典、三浦昌朋、羽瀧友則、佐藤 滋、(2016) 腎移植後ドナー特異的抗 HLA 抗体産生に与える免疫抑制剤の影響、第 10 回日本腎臓病薬物療法学会学術集会、11 月、横浜

藤山信弘、齋藤 満、井上高光、沼倉一幸、山本竜平、奥山 慎、楠木靖史、小島裕人、田中秀則、佐治博夫、羽瀧友則、佐藤 滋 (2016) HLA アリルタイピングによる腎移植後 BK ウイルス腎症発症リスクの検討、第 25 回日本組織適合性学会大会、11 月、札幌

藤山信弘、大西亨美、赤嶺由美子、新岡丈典、三浦昌朋、佐藤 朗、寺田幸弘、安達裕行、高橋 勉、齋藤 満、奥山 慎、佐藤 滋 (2017) 胎児及び授乳中新生児へのタクロリムス移行

性、第 50 回日本臨床腎移植学会、3 月、神戸

三浦康子、高須賀緑、吉川諒子、今野めぐみ、  
三浦広志、佐藤朗、寺田幸弘、藤山信弘 (2017)  
当院で経験した腎移植後妊娠症例～経時的モニタリングによる児への免疫抑制剤移行の検討～、第 143 回東北連合産婦人科学会総会・  
学術講演会、6 月、秋田

〔図書〕 (計 0 件)

なし

〔産業財産権〕

なし

〔その他〕

ホームページ等

なし

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

藤山信弘 (FUJIYAMA, Nobuhiro)

秋田大学医学部附属病院・助教

研究者番号：90603275

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

なし

### (4) 研究協力者

なし