

令和元年6月7日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10575

研究課題名(和文) 調節性B細胞機能解明による肝移植後個別化免疫抑制療法の開発

研究課題名(英文) Analyses of regulatory B cell functions for tailor-made immunosuppression after liver transplantation

研究代表者

内山 秀昭 (UCHIYAMA, hideaki)

九州大学・医学研究院・共同研究員

研究者番号：70380425

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：肝移植後の調節性B細胞の機能解明を目的とした。当科で生体肝移植を受けた18人を対象とし、この18人を免疫抑制剤を減量できている患者4人(TOL群)と減量できていない患者14人(STA群)に分けた。また健常者の5人をコントロールとした(HV群)。この合計23人の血液からリンパ球を抽出し、フローサイトメトリーを用いてB細胞分画の測定を行った。調節性B細胞の割合は、HV群が最も高く、TOL群、STA群の順に低下していた。この結果から調節性B細胞は肝移植後の免疫寛容状態の形成に重要な役割を持つことが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肝臓は他の臓器と比較して、免疫寛容状態を作りやすいことが、動物実験や実臨床で証明されており、その寛容形成に調節性T細胞やB細胞が大きく関与していることが示唆されている。臓器移植後の免疫抑制剤の長期使用は悪性腫瘍の発生、糖尿病や高血圧の発症、易感染性など様々な不利益をもたらす。免疫寛容状態の機序が解明されれば、臓器移植患者は長期の免疫抑制剤使用から開放され、さらなる生活の質の向上に役立つことが期待される。本研究では、健常者と比較して肝移植を受けた患者の調節性B細胞の割合が低下していることを明らかにした。本研究から、肝移植後のさらなる調節性B細胞の機能解明に繋がることが期待される。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to reveal the functions of regulatory B cells after liver transplantation. Eighteen patients who underwent living donor liver transplantation were divided into the tolerant (TOL) group (in which an intentional reduction of immunosuppressants was successfully achieved; n = 4) and the stable (STA) group (in which a certain amount of immunosuppressants was needed in order to prevent rejection; n = 14). Five healthy volunteers participated in this study (HV group). Lymphocytes were extracted from blood of these 18 patients and 5 healthy volunteers. Then, the percentages of regulatory B cells were compared among the 3 groups by flowcytometry. The percentage of regulatory B cells was the highest in the HV group, and the lowest in the STA group. The result suggested that regulatory B cells had an important role for immune tolerance after liver transplantation.

研究分野：肝移植

キーワード：肝移植 免疫寛容 調節性B細胞

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

1. 研究開始当初の背景

臓器移植後は通常一生涯の免疫抑制療法を必要とする。この維持免疫抑制療法の問題として悪性腫瘍の発生があり、臓器移植後の長期予後を悪化させている一因となっている。近年、自己免疫、移植免疫の分野で調節性B細胞の役割が注目されており、この細胞が自己免疫疾患の緩和、移植片に対する拒絶反応に対して中心的防御の役割を担っていることが報告されるようになった。

2. 研究の目的

この研究では、肝移植後の調節性B細胞の機能を解明することにより、臓器移植後の個別化免疫抑制療法開発(免疫抑制剤の減量あるいは離脱)の基盤となる研究を行うことを目的とする。調節性B細胞の機能や発現を解明することにより、安全に免疫抑制剤を減量、離脱することが可能となれば、臓器移植後患者の長期予後はさらに改善することが期待される。

3. 研究の方法

本研究では、臓器移植後の調節性B細胞の機能を解明し、その結果に基づく個別化免疫抑制療法の開発の基盤となる研究を目的として、以下を当初の計画とした。

- (1) 肝移植後長期免疫抑制状態にある患者の調節性B細胞を同定する。
- (2) これらの調節性B細胞を含む肝移植後患者B細胞の *in vitro* における免疫調節機能を調べる。
- (3) 肝移植後段階的に免疫抑制剤を減量している患者において、継時的に調節性B細胞の発現率の変化を調べる。
- (4) 免疫抑制剤減量を到達できた患者とできなかった患者の調節性B細胞の発現に差があるのか、またB細胞の増殖調節遺伝子や、サイトカイン産生遺伝子に差があるのかどうかを検討する。

4. 研究成果

平成28年度、29年度は調節性B細胞の同定を行うために、リンパ球の抽出方法の確立、FACSで用いる抗体の選定に時間を要した。調節性B細胞は全リンパ球分画の中で数が少なく、その同定が困難であった。平成30年度になりようやく本来の目的である調節性B細胞の測定にとりかかることができるようになった。当科で生体肝移植術を施行したレシピエントの内、3年以上経過し外来通院中の患者18名からサンプリングを行った(免疫抑制剤を減量できている患者群: tolerant patients(TOL)4名、減量できていない患者群: stable patients(STA)14名)。また対照となる healthy volunteer(HV)として当科の医局員のうち持病のない者5名からサンプリングを行った。サンプリングした全血からリンパ球を抽出し、MACS、FACSを用いてB細胞分画の測定を行った。調節性B細胞(CD20+CD24^{hi}CD38^{hi})はHV(n=5)で $3.90 \pm 1.05\%$ 、TOL(n=4)で $0.87 \pm 0.44\%$ 、STA(n=14)で $0.30 \pm 0.12\%$ の発現であった。ナイーブB細胞(CD20+CD24^{lo}CD38^{lo})はHVで $55.4 \pm 0.97\%$ 、TOLで $30.2 \pm 13.0\%$ 、STAで $19.2 \pm 5.4\%$ であった。形質細胞(CD20-CD38+CD138+)はHVで $1.57 \pm 0.40\%$ 、TOLで $2.07 \pm 1.52\%$ 、STAで $3.67 \pm 0.92\%$ であった。これは2014年にAmerican Journal of transplantationに報告された腎移植後患者での検討とHVにおいてほぼ同等の値であった。当科で免疫抑制剤を使用している患者ではTOL、STAともに既報と比べて調節性B細胞、ナイーブB細胞は少なく、形質細胞は多く存在した。既報と免疫抑制剤の量と種類が異なることが関係していると思われる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1件)

Uchiyama H, Shirabe K, Bekki Y, Toshima T, Harimoto N, Ikegami T, Yoshizumi T. Peritransplant kinetics of Mac-2-binding protein glycosylation isomer levels in living donor liver transplantation: its implication of posttransplant small-for-size syndrome. Transl Gastroenterol Hepatol (in press)

〔学会発表〕(計 1件)

Uchiyama H, Yoshizumi T, Ikegami T, Harimoto N, Itoh S, Okabe H, Kimura K, Maehara Y. Living donor liver transplantation for hepatocellular carcinoma: results of prospective patient selection by Kyushu University Criteria. 第71回日本消化器外科学会総会(2016年7月14日~16日、徳島)ワークショップ「Preventive management for recurrence after curative treatment of hepatocellular carcinoma」

〔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：調 憲

ローマ字氏名：SHIRABE, ken

所属研究機関名：群馬大学

部局名：大学院医学系研究科

職名：教授

研究者番号（8桁）：70264025

研究分担者氏名：吉住 朋晴

ローマ字氏名：YOSHIKUMI, tomoharu

所属研究機関名：九州大学

部局名：医学研究院

職名：准教授

研究者番号（8桁）：80363373

研究分担者氏名：池上 徹

ローマ字氏名：IKEGAMI, toru

所属研究機関名：九州大学

部局名：大学病院

職名：講師

研究者番号（8桁）：80432938

研究分担者氏名：播本 憲史

ローマ字氏名：HARIMOTO, norifumi

所属研究機関名：群馬大学

部局名：医学部附属病院

職名：講師

研究者番号（8桁）：00419582

研究分担者氏名：伊藤 心二

ローマ字氏名： ITOH shinji
所属研究機関名：九州大学
部局名：大学病院
職名：助教
研究者番号（8桁）：90382423

研究分担者氏名：副島 雄二
ローマ字氏名：SOEJIMA, yuji
所属研究機関名：九州大学
部局名：大学病院
職名：准教授
研究者番号（8桁）：30325526

(2)研究協力者
研究協力者氏名：
ローマ字氏名：

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。