

令和 2 年 6 月 8 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10512

研究課題名(和文) 抗ドナーHLA特異的抗体陽性症例に対する新規脱感作療法の開発

研究課題名(英文) The development of novel desensitization therapy for transplant patients with donor specific HLA antibody.

研究代表者

井手 健太郎 (Ide, Kentaro)

広島大学・病院(医)・講師

研究者番号：50511565

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)：高感作マウスに抗CD20抗体を投与し、投与前後における抗ドナーT細胞応答を解析したところ、投与後では、抗サードパーティーT細胞応答と比べ、抗ドナーT細胞応答が有意に亢進していることを明らかにした。さらに抗CD20抗体投与後のMLR培養系に感作マウスの脾臓B細胞を添加すると、CD4陽性T細胞の抗ドナー応答は減弱すること、またMLR培養上清中にはIL-10が増加しており、感作マウスの脾臓B細胞にはIL-10陽性細胞数が有意に増加していることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高感作移植患者は抗体関連型拒絶反応のハイリスク群であるため、移植適応が厳しく制限されている。我々はこのような患者に対する脱感作療法を独自に考案し、DSAの産生を制御し移植を可能とさせたが、本脱感作療法施行後には抗ドナーT細胞応答の亢進を来し、細胞性拒絶反応発症の危険性を高めるため、プロトコールの更なる改良が望まれている。本研究により抗ドナーT細胞応答亢進の機序が解明されたため、従来移植困難とされていた患者への適応拡大や移植後の生着率向上に貢献できる

研究成果の概要(英文)：In this study, we investigated the effect of anti-CD20 mAb-mediated B-cell depletion on anti-donor T-cell responses and the inhibitory role of B-cells in a highly sensitized transplant model. The average stimulation index values for CD4+ T-cell responses to donor stimulation were significantly higher in the desensitization group than those in the control group. When co-cultured with various B-cells in the CFSE-MLR assay of the desensitization group, the addition of whole CD19+ B-cells and B1-cells significantly suppressed the anti-donor CD4+ T-cell responses. However, the addition of non B1-cells did not suppress the anti-donor CD4+ T-cell responses. These findings demonstrate that B-cell depletion with anti-CD20 mAb exacerbates anti-donor CD4+ T-cell responses in a highly sensitized transplant model. It might be possible that the sensitized CD5+ CD19+ B1-cells have an ability to inhibit anti-donor CD4+ T-cell responses.

研究分野：臓器移植

キーワード：臓器移植 抗体関連型拒絶反応

### 1. 研究開始当初の背景

移植前の時点でレシピエント血清中に抗ドナーHLA 特異的抗体(DSA)が高度に存在する場合、移植後に抗体関連型拒絶反応を発生し、移植臓器が廃絶する危険性が非常に高いため移植は禁忌とされている。我々はこのように高度に感作した移植希望患者に対して、B 細胞分化様式に即した脱感作療法を独自に考案し、DSA の産生を制御し移植を可能とさせた<sup>1)</sup>。しかし長期の脱感作期間を要し、中には脱感作困難な症例も存在する。また本脱感作療法施行後には抗ドナーT 細胞応答の亢進を来し、細胞性拒絶反応発症の危険性を高めるため、プロトコルの更なる改良が望まれている。

### 2. 研究の目的

本研究では高感作マウスモデルで我々が臨床応用している各種薬剤の最適な投与時期を明らかにすることで、高感作 DSA 陽性症例に対する脱感作療法の改良と新薬の可能性について検証し、今後の実臨床へ応用することを目的とした。

### 3. 研究の方法

抗ドナーMHC 抗体を産生する感作マウスモデルを作製し、感作マウスに抗 CD20 抗体を投与し脱感作を行う。経時的に抗ドナー抗体を測定するとともに、抗 CD20 抗体投与前後における抗ドナーT 細胞応答の解析およびサイトカイン測定を行い、脱感作療法中の免疫応答を解析する。

### 4. 研究成果

(1)最も効率よく安定的に抗ドナーMHC 抗体を有する感作マウスモデルの作製方法は、Balb/c マウス(class I H-2K<sup>d</sup>)に C57/BL6 マウス(class I H-2K<sup>b</sup>)の皮膚を2回移植する方法であった(図1)。

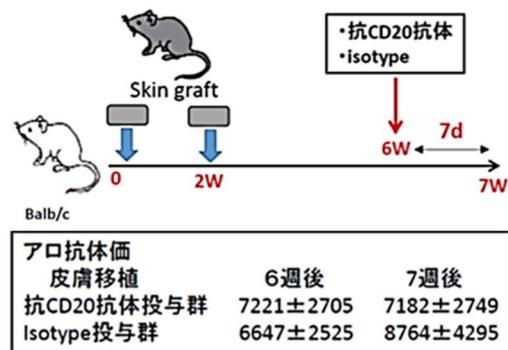


図1：感作マウスモデルの作製

Balb/c マウス(class I H-2K<sup>d</sup>)にC57/BL6 マウス(class I H-2K<sup>b</sup>)の皮膚を2回移植する方法が最も効率よく安定的に抗ドナーMHC抗体を有する感作マウスモデルの作製方法であった。

(2)高感作マウスに抗 CD20 抗体を投与すると、抗ドナー抗体価は若干低下するものの完全に消失することは不可能であった(図2)。

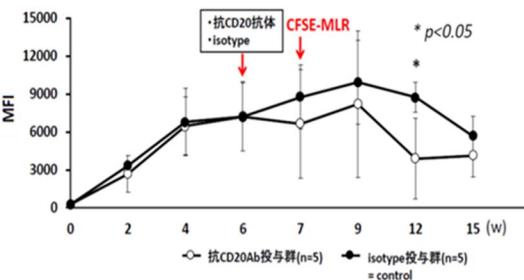


図2：抗ドナー抗体価(IgG)の推移

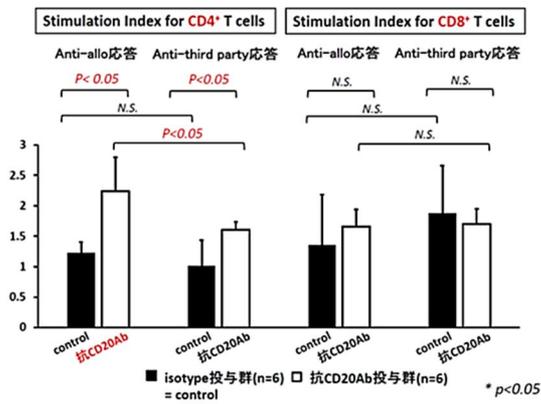
感作マウスに抗CD20抗体を投与すると、抗ドナー抗体価は若干低下するものの完全に消失することは不可能であった。

(3)また投与前後における抗ドナーT 細胞応答を解析したところ、投与後では、抗サードパーティーT 細胞応答と比べ、抗ドナーT 細胞応答が有意に亢進していることを明らかにした(図3)。

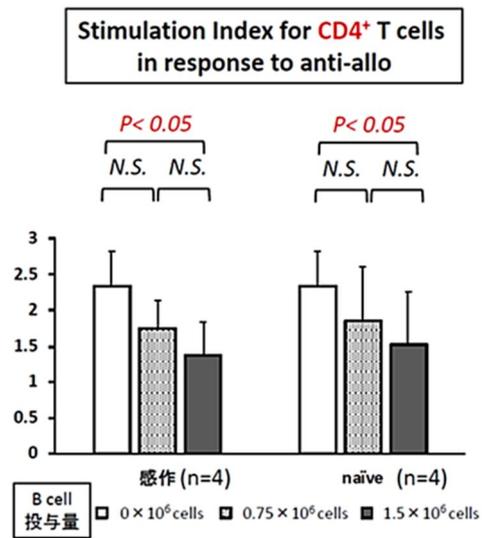
(4)さらに抗 CD20 抗体投与後の MLR 培養系に感作マウスの脾臓 B 細胞を添加すると、CD4 陽性 T 細胞の抗ドナー応答は減弱すること(図4) また MLR 培養上清中には IL-10 が増加しており、感作マウスの脾臓 B 細胞には IL-10 陽性細胞数が有意に増加していることを明らかにした。

制御性 B 細胞は同種異型抗原に反応する CD4 陽性 T 細胞の応答を鎮静化するが、抗 CD20 抗体投与により消失する可能性がある。

我々が実臨床で経験する抗ドナーT 細胞応答亢進の機序には、制御性 B 細胞 (Breg) の欠落が影響しているのではないかと知見を得た。今後は高感作マウスモデルで Breg 機能を保持しつつ DSA 産生を制御する、新規抗体関連型拒絶反応治療薬の可能性について検証し、実臨床への応用を目指す。



**図3：抗CD20抗体投与前後における抗ドナーT細胞応答の解析**  
 投与前後における抗ドナーT細胞応答を解析したところ、投与後では抗サードパーティT細胞応答と比べ、抗ドナーT細胞応答が有意に亢進していた。



**図4：B細胞除去感作マウスのT細胞応答に対するB細胞の影響**  
 抗CD20抗体投与後のMLR培養系に感作マウスの脾臓B細胞を添加すると、CD4陽性T細胞の抗ドナー応答は減弱した。

< 引用文献 >

1) Ide K, et al. A Phased Desensitization Protocol With Rituximab and Bortezomib for Highly Sensitized Kidney Transplant Candidates. Transplant Direct. 2015 Jun 5;1(5):e17.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 0件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 濱田 隆志、江口 晋、田中 飛鳥、井手 健太郎、大段 秀樹	4. 巻 54
2. 論文標題 クロスマッチ陽性時における肝腎同時移植の適応に関するコンセンサスミーティング報告	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 移植	6. 最初と最後の頁 45～49
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） <a href="https://doi.org/10.11386/jst.54.1_45">https://doi.org/10.11386/jst.54.1_45</a>	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 井手健太郎 大段秀樹	4. 巻 80
2. 論文標題 移植と免疫update	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 外科	6. 最初と最後の頁 114-118
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計12件（うち招待講演 4件／うち国際学会 2件）

1. 発表者名 井手健太郎、大平真裕、田原裕之、清水誠一、田中飛鳥、坂井寛、石田伸樹、柳川泉一郎、中野亮介、秋本修志、田口和浩、中島一記、本明慈彦、今岡祐輝、濱岡道則、黒田慎太郎、小林剛、大段秀樹。
2. 発表標題 既存抗体陽性肝移植症例に対する脱感作療法後のT細胞応答の解析
3. 学会等名 第118回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 井手健太郎、大平真裕、田原裕之、清水誠一、田中飛鳥、秋本修志、田口和浩、中島一記、本明慈彦、今岡祐輝、濱岡道則、黒田慎太郎、小林剛、田中友加、大段秀樹
2. 発表標題 当院におけるドナー特異的抗HLA抗体陽性肝移植症例に対する基本戦略
3. 学会等名 第36回日本肝移植研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kentaro Ide, Yuka Tanaka, Hiroyuki Tahara, Masahiro Ohira, Seiichi Shimizu, Asuka Tanaka, Hideki Ohdan.
2. 発表標題 B-cell depletion with rituximab exacerbates anti-donor CD4+ T-Cell responses in patients with donor-specific anti-human leukocyte antigen antibodies.
3. 学会等名 27th International Congress of The Transplantation Society. (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 井手健太郎
2. 発表標題 腎移植におけるDSAの評価と治療
3. 学会等名 移植と腎臓を考えるセミナー (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 井手健太郎
2. 発表標題 先行的腎移植の現状
3. 学会等名 第9回広島腎移植検討会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 井手健太郎、大平真裕、田原裕之、橋本慎二、清水誠一、田中飛鳥、秋本修志、田口和浩、本明慈彦、今岡祐輝、黒田慎太郎、小林剛、田中友加、大段秀樹
2. 発表標題 当院における既存抗体陽性肝移植症例に対する基本戦略
3. 学会等名 第54回日本移植学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 井手健太郎、田原裕之、大平真裕、橋本慎二、清水誠一、田中飛鳥、秋本修志、田中友加、大段秀樹
2. 発表標題 既存抗体陽性腎移植症例に対する脱感作療法における注意点
3. 学会等名 第52回日本臨床腎移植学会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kentaro Ide, Yuka Tanaka, Hiroyuki Tahara, Masahiro Ohira, Seiichi Shimizu, Hideki Ohdan
2. 発表標題 Effect of desensitization with rituximab on anti-donor T-cell responses in HLA-sensitized liver transplant recipients
3. 学会等名 Asian Transplantation Week 2017（国際学会）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 井手健太郎
2. 発表標題 広島大学における前感作肝移植症例に対する脱感作療法
3. 学会等名 第1回肝移植HLA研究会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 井手健太郎、田中友加、田原裕之、大平真裕、清水誠一、田中飛鳥、坂井寛、石田伸樹、柳川泉一郎、中野亮介、秋本修志、今岡祐輝、大段秀樹
2. 発表標題 既存抗体陽性腎移植症例に対する脱感作療法の実際
3. 学会等名 第53回日本移植学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 井手健太郎、田中友加、田原裕之、大平真裕、清水誠一、田中飛鳥、坂井寛、石田伸樹、柳川泉一郎、中野亮介、秋本修志、今岡祐輝、大段秀樹
2. 発表標題 肝移植・腎移植における既存抗体陽性症例に対する脱感作療法
3. 学会等名 第44回日本臓器保存生物医学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 井手健太郎、田中友加、田中飛鳥、田原裕之、大平真裕、清水誠一、坂井寛、石田伸樹、柳川泉一郎、中野亮介、秋本修志、田口和浩、中島一記、本明慈彦、今岡祐輝、大段秀樹
2. 発表標題 既存抗体陽性腎移植症例における脱感作療法後のT細胞応答の解析
3. 学会等名 第51回日本臨床腎移植学会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----