

令和 2 年 4 月 13 日現在

機関番号：32653

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11197

研究課題名(和文) 腎移植後抗体関連型拒絶反応における新規バイオマーカーの同定と治療戦略の確立

研究課題名(英文) Identification of new biomarker for antibody mediated rejection after kidney transplantation

研究代表者

角田 洋一 (Kakuta, Yoichi)

東京女子医科大学・医学部・講師

研究者番号：40710116

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)：我々はC3d結合能が腎移植後の抗体関連型拒絶反応に対するバイオマーカーになり得る可能性があることを同定した。腎移植前に存在するドナー特異的抗体の補体結合能と抗体関連型拒絶反応の発生率、および脱感作療法の効果との関連について検討したところ、ドナー特異的抗体のC3d結合能は腎移植2週間以内における抗体関連型拒絶反応の発生率と強く相関していた。さらには脱感作療法に対する反応性とC3d結合能の関連性も認められた。我々の結果からクロスマッチ陽性腎移植においてC3d結合能を測定することによって、脱感作療法の有効性、抗体関連型拒絶反応のリスクを評価することが可能となることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

腎移植前に存在するドナー特異的抗体における補体結合能の評価はほとんど報告がなく、さらには脱感作療法の効果の予測や判定は難しく統一された見解に至っていない。C3d結合能は抗体関連型拒絶反応のリスクのみならず脱感作療法の有効性のマーカーとしても使用できる可能性があるため、クロスマッチ陽性腎移植やドナー特異的抗体陽性腎移植における抗体関連型拒絶反応の発生率を十分に下げることが可能になると考えられた。

研究成果の概要(英文)：We identified that C3d binding capacity can become biomarker for antibody mediated rejection after kidney transplantation. We retrospectively analyzed the complement-binding activity of preexisting DSAs and the effect measurement of desensitization from 21 XM positive living kidney transplantations. In our study, C3d positive preexisting DSAs significantly had the risk of AMR, especially after post two weeks operatively. In addition, there was tendency but no significant difference in desensitization between non-responder C3d-binding activity and AMR. These results recommended that measuring C3d for XM positive transplant recipients before transplantation was effective to predict and prevent AMR.

研究分野：腎移植

キーワード：腎移植 抗体関連型拒絶反応 バイオマーカー 補体

1. 研究開始当初の背景

献腎移植が少ない我が国において慢性的なドナー不足は深刻な問題であり、高齢者ドナーなどドナーの適応拡大が試みられている。その1つとして抗HLA抗体陽性腎移植が挙げられるが、現時点でその成績は満足できるものではない。レシピエントの抗HLA抗体はドナーのHLA抗原と抗原抗体反応を起こし、抗体関連型拒絶反応(AMR)を発症するが、AMRが発症した場合、現在のところ治療法はない。献腎移植においても二次移植や待機中の輸血によって抗HLA抗体が産生され、20年以上という長い期間を待って献腎移植の候補に選ばれても、抗体陽性を理由に断念せざるを得ないケースが増えてきている。そのためAMRに対する治療法が確立されれば、慢性腎不全患者が腎移植を受けることができる機会が増え、また長期生着率の改善につながり予後は大きく改善すると考えられる。国外では抗体陽性腎移植やAMRに対して、日本で保険収載されていない大量免疫グロブリン(IVIG)やモノクローナル抗体などを用いているが治療成績は悪い。

現在AMRの診断は国内・国外ともにレシピエントの血液中からのドナー特異的抗体(DSA)の検出や移植腎生検における補体の沈着などによってなされる。しかし、いずれも現象を評価しているのみで、実際のB細胞の活性化や抗体産生能は評価されていない。新しい治療の開発や早期診断のためには新しいバイオマーカーが必須である。

2. 研究の目的

AMRの新規バイオマーカーを発見し新規治療戦略を確立することを目的とした。

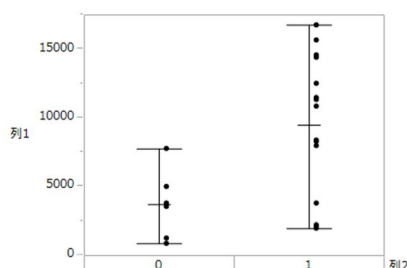
3. 研究の方法

本研究は「腎移植後AMRには抗体産生の前段階にB細胞の活性化状態が存在し、その段階が最もAMRの治療効果が高い」という仮説にもとづき、B細胞の活性化状態を評価する新たなバイオマーカーおよび治療標的の同定による新規治療方法の確立のみならず、個別化医療にも発展させるために以下の研究を行う。

- [1] 抗HLA抗体関連AMRにおけるB細胞のAMR関連遺伝子の特定と比較
- [2] ラットAMRモデルを用いたバイオマーカーの評価とメカニズムの解明
- [3] ラット抗HLA抗体関連AMRモデルを用いたAMR新規治療手段の探索

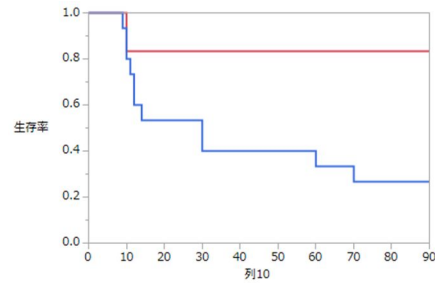
4. 研究成果

当初予定していた方法ではAMRの予測マーカーとなり得るB細胞関連遺伝子の同定は困難であった。しかし補体制御因子の発現が上昇していたことから、ラットAMRモデルにおける補体因子、補体制御因子の評価を行った。それらの中から今回はC3d結合能についてヒト検体を用いた評価を行った。

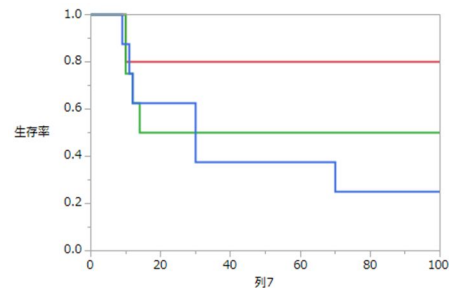


クロスマッチ陽性腎移植レシピエントの保存血清を用いて、ドナー特異的抗体(DSA)のC3d結合能と臨床経過について検討した。同じドナー特異的抗体であってもC3dに対する親和性には違いがありC3d結合能が高いDSA(左図1)C3d結合能が低いDSA(左図0)よりも蛍光強度が高いという結果であった。

Group0 (赤線) と Group1 (青線) の AMR 非発生率を右上図に示す。C3d 結合能が強い DSA を腎移植前に血液中に有しているレシピエントの方が、AMR の非発生率が低い、つまり AMR 発生率が高いという結果であった (ログランク test にて $p=0.046$)。



さらに免疫グロブリン、血漿交換、リツキシマブを用いた脱感作療法による蛍光強度の低下によって反応性が良かった Responder 群と悪かった Non-responder 群に分けたところ C3d 結合能は反応性が悪い群で高く、有意差は認められなかったが Non-responder 群の方が AMR の発生率が高い傾向が認められた (右下図)。



以上の結果を国際雑誌 *Transplant Immunology* に発表した。

メカニズムとしては、抗原抗体反応によって補体カスケードが活性化されると膜結合型蛋白である C3d が生成される。抗原と抗体の結合だけでなく C3d と抗体の結合によって、結合がより強固なものとなりサイトカインなどが多く産生される可能性考えられた。また抗体のエプレットが C3d との親和性に関与している可能性もあり、これらの点は今後の検討課題である。

新規治療手段の Strategy として、C3d 結合能が高い DSA を有する場合にはクロスマッチが陰性であっても血漿交換とリツキシマブに加えて免疫グロブリンを使用する、などといった個別化医療が可能になると考えられるが、今回の研究期間内にはそこまでの検討には至らなかった。さらにエプレットや *de novo* DSA の産生など検討するべき課題はまだ多く残されており、また本研究は患者数が少ないため、症例数を増やして今後さらなる研究が必要であると考えられる。

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Katsunori Miyake, Masayoshi Okumi, Yoichi Kakuta, Kohei Unagami, Miyuki Furusawa, Hideki Ishida, Kazunari Tanabe	4. 巻 57
2. 論文標題 Prognostic value of C3d-fixing, preformed donor-specific antibodies in crossmatch-positive living kidney transplantation.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Transplant Immunology	6. 最初と最後の頁 0-0
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.trim.2019.101230	査読の有無 有
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 該当する

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 3件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Katsunori Miyake, Masayoshi Okumi, Yoichi Kakuta, Kohei Unagami, Miyuki Furusawa, Hideki Ishida, Kazunari Tanabe
2. 発表標題 Prognostic value of C3d-fixing, preformed donor-specific antibodies in crossmatch-positive living kidney transplantation.
3. 学会等名 American Transplant Congress 2019（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yoichi Kakuta, Masayoshi Okumi, Taichi Kanzawa, Kohei Unagami, Hideki Ishida, Kazunari Tanabe
2. 発表標題 Outcomes in preformed donor-specific human leukocyte antibody positive living kidney transplant recipients desensitized with intravenous immunoglobulin and rituximab
3. 学会等名 American Transplant Congress 2019（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 角田 洋一
2. 発表標題 腎移植におけるHLA抗体検査の意義-術前評価から術後スクリーニングまで-
3. 学会等名 第9回腎移植勉強会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 角田 洋一
2. 発表標題 免疫抑制剤TDMとDSAスクリーニングの今後の展望
3. 学会等名 第52回臨床腎移植学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 角田洋一
2. 発表標題 東京女子医科大学泌尿器科における抗体関連型拒絶反応への取り組み
3. 学会等名 日本移植学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 角田洋一
2. 発表標題 HLA抗体検査の意義
3. 学会等名 臨床腎移植学会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 角田洋一
2. 発表標題 腎移植におけるDSAの意義
3. 学会等名 臓器保存生物医学会（招待講演）
4. 発表年 2017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
研究分担者	今村 亮一 (Imamura Ryoichi) (40456976)	大阪大学・医学系研究科・准教授 (14401)	
研究分担者	高原 史郎 (Takahara Shiro) (70179547)	大阪大学・医学系研究科・寄附講座教授 (14401)	
研究分担者	市丸 直嗣 (Ichimaru Naotsugu) (70346211)	大阪大学・医学系研究科・寄附講座准教授 (14401)	
研究分担者	中澤 成晃 (Nakazawa Shigeaki) (80759530)	大阪大学・医学部附属病院・医員 (14401)	
研究分担者	阿部 豊文 (Abe Toyofumi) (90750894)	大阪大学・医学系研究科・助教 (14401)	
研究協力者	三宅 克典 (Miyake Katsunori)	コロンビア大学	