

令和 2 年 6 月 11 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K16502

研究課題名(和文) 補体結合性抗HLA抗体とIgGサブクラスの臓器移植後慢性拒絶反応における役割

研究課題名(英文) The role of complement-binding donor-specific HLA antibody and IgG subclass in chronic rejection after organ transplantation

研究代表者

戸子台 和哲 (Tokodai, Kazuaki)

東北大学・大学病院・助教

研究者番号：50581641

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：肝・脾・腎移植における補体結合性を加味したドナー特異的抗HLA抗体と臨床経過の関連について解析を行い、特に肝移植症例での解析にて、ドナー特異的抗HLA抗体の存在と移植肝の線維化との有意な関連を確認した。一方で、補体結合性抗HLA抗体と肝線維化の関連は認められず、肝移植における補体結合性の解析の意義は現時点では認められないと考えられた。また、ドナー特異的抗HLA抗体量の指標となっている蛍光強度と補体結合性の間に有意な関連を認めており、補体結合性の追加解析をこれら蛍光強度によって代替し得る可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

免疫抑制療法とドナー特異的抗HLA抗体との関連、さらにはドナー特異的抗HLA抗体と肝移植後における臨床経過との関連を示す結果が得られたことで、免疫学的に寛容と考えられている肝移植においても、免疫抑制療法の最適化が重要であると考えられた。また、その免疫抑制療法の最適化を行う上で、血液検査で評価可能なドナー特異的抗HLA抗体は簡便で有用な指標となり得ることが示され、肝移植患者の安定した長期臓器機能維持を目的とした免疫抑制療法の調整に寄与する研究成果であると考えている。

研究成果の概要(英文)：In the present study, we found that (1) the minimization or withdrawal of immunosuppressive treatment was an independent risk factor for donor-specific anti-HLA antibody development, (2) subgroup analyses for patients with anti-DQ antibodies showed that low-trough level of calcineurin inhibitor was an independent risk factor for anti-class II DSA development, (3) most of anti-DR antibodies and all anti-C/DP antibodies detected in our cohort did not have complement-binding capacity, whereas most of anti-DQ antibodies had complement-binding capacity, (4) complement-binding capacity was strongly associated with mean fluorescence intensity, and (5) the complement-binding assay did not strengthen the predictive power of donor-specific antibodies for graft fibrosis in liver transplantation.

研究分野：臓器移植

キーワード：免疫抑制療法 臓器移植 ドナー特異的抗HLA抗体 補体結合性抗体 肝線維化

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

新しい免疫抑制剤や薬剤モニタリングの進歩により臓器移植の短期成績は大きく向上した。その一方、長期成績の向上はいまだ十分でなく、その原因としてドナー特異的抗 HLA 抗体を主因とする慢性抗体関連型拒絶によるグラフト不全が挙げられる。近年、ドナー特異的抗 HLA 抗体の中でも補体結合性抗 HLA 抗体が慢性抗体関連型拒絶に強く関連することが明らかにされている。その一方で、4 種類の IgG サブクラスごとに補体結合性が異なり、補体結合性が強く強力に補体系活性化を引き起こすとされる IgG3 の重要性が報告されてきている。このように、抗体の量だけでなく、抗体の補体結合性まで加味した解析をすることで、慢性抗体関連型拒絶を制御していくためのより精度の高い診療ツールになると考えられる。脳死ドナーがいまだ希少である我が国では、長期グラフト生着を旨とすることは極めて重要である。そのためにも、補体結合性抗 HLA 抗体の制御により慢性抗体関連型拒絶を予防ないしは早期診断することは極めて優先度の高い課題と言える。

ドナー特異的抗 HLA 抗体の重要性は広く認識されてきているが、その解析の多くは移植前もしくは移植後早期を対象とされている。申請者は、移植臓器の長期生着を果たすには、至適なタイミングでの抗 HLA 抗体のモニタリングが必要であるという仮説を立て検証を開始した。まず、特に長期のグラフト生着が求められる小児肝移植患者を対象として、長期経過中に出現するドナー特異的抗 HLA 抗体の意義の解明に取り組んできた(若手研究 B (H26-28))。この一連の研究で、小児肝移植後のドナー特異的抗 HLA 抗体の特性・リスク因子を明らかにし、モニタリングの至適化に寄与する成果を報告した (Congress of the Asian Society of Transplantation (2015)、International Congress of the Transplantation Society (2016)、研究業績 2)。これらの研究は抗体の「量」に着目したものであったが、補体結合性という抗体の「質」まで加味することで、一連の研究成果を大きく発展できると考え本研究を計画した。

2. 研究の目的

本研究の目的は、肝・脾・腎移植後における補体結合性まで加味したドナー特異的抗 HLA 抗体の臨床的意義を明らかにし、免疫抑制療法に至適化を通して移植臓器の長期生着に繋げることである。

3. 研究の方法

平成 29 年度の計画

- (1) 肝・脾・腎移植患者のドナー特異的抗 HLA 抗体の自然消退を含めた経時的変化の解析
 - a. 当施設の倫理委員会で研究承認を得た後に、当該移植患者から書面により同意を取得した上で血清サンプルを採取し、連結可能匿名化の上で保管する。
 - b. Luminex 法によるシングル抗原同定検査を行い、抗 HLA クラス 抗体および抗 HLA クラス抗体の測定を行う。
- (2) 肝・脾・腎移植患者の補体結合性抗 HLA 抗体の出現率を明らかにする
 - a. ドナー特異的抗 HLA 抗体陽性の患者を対象として、C1q と PE 標識抗 C1q 抗体 (C1qScreen, One Lambda Inc.) を用いて Luminex 法にて補体結合性抗 HLA 抗体の測定を行い、その出現率を臓器毎に評価する。

平成 30 年度以降の計画

- (3) 補体結合性抗 HLA 抗体と IgG サブクラスの相関を明らかにする
 - a. 抗 HLA 抗体の IgG サブクラスの解析は、Luminex 法で用いる二次抗体に PE-conjugated anti-IgG3 specific secondary antibody 等の IgG サブクラス特異的な二次抗体を使用し行う。
 - b. 補体結合性抗 HLA 抗体測定結果と IgG サブクラス解析を比較することで、各 IgG サブクラスと補体結合性抗 HLA 抗体との相関を明らかにする。
- (4) 補体結合性抗 HLA 抗体と IgG サブクラスの慢性拒絶反応の診断基準としての意義の解明
 - a. 平成 29 年度に行った補体結合性抗 HLA 抗体測定結果を蓄積するとともに、これらの結果と臨床経過および移植臓器組織像との関連を解析し以下の点を明らかにする。
 - 肝・脾・腎 3 臓器移植後の補体結合性抗 HLA 抗体の誘因および臓器間での相違点
 - 臓器移植後長期経過例における補体結合性抗 HLA 抗体測定の意義
 - 慢性抗体関連型拒絶における補体結合性抗 HLA 抗体および IgG サブクラス組成の変化
 - b. IgG サブクラス毎の慢性抗体関連型拒絶を含めた臨床経過への影響を明らかにする。特に IgG3 および IgG1 は補体結合性が強く、IgG4 は補体結合性がないとされており、これらのサブクラス毎の移植臓器に与える影響について詳しく評価を行う。

4. 研究成果

平成 29 年度においては、小児肝移植患者の抗 HLA 抗体のスクリーニング結果と臨床経過の関連について解析を行い、免疫抑制剤であるカルシニューリン阻害薬の血中濃度が低い症例ではドナー特異的抗 HLA 抗体の陽性率が高いことを明らかにした。さらに、抗 HLA 抗体スクリーニング後の患者に対し、病理組織学的評価を行うことにより、ドナー特異的抗 HLA 抗体の存在と移植

肝の線維化との有意な関連を明らかにし、その結果についても英文誌にて発表した (Tokodai et al. Pediatric Transplant, 2018)。

平成 30 年度においては、小児肝移植患者の補体結合性を加味したドナー特異的抗 HLA 抗体と臨床経過の関連について解析を行った。その結果、ドナー特異的抗 HLA 抗体の存在と移植肝の線維化との有意な関連が認められた一方、補体結合性抗 HLA 抗体と肝線維化の関連は認められず、肝移植における補体結合性の解析の意義は現時点では認められないと考えられた。また、ドナー特異的抗 HLA 抗体量の指標となっている蛍光強度と補体結合性の間に有意な関連を認めており、補体結合性をこれら蛍光強度によって代替し得る可能性が示唆された。

また、肝移植において意義の明らかにされていない抗 HLA-Cw 抗体や抗 HLA-DP 抗体の意義についても解析を行い、その成果を国内の学術集会 (日本消化器外科学会総会) 等で報告した。

さらに平成 31 年度において、免疫抑制療法の再至適化がドナー特異的抗 HLA 抗体に与える影響について解析を行い、免疫抑制療法の再至適化とドナー特異的抗 HLA 抗体の消失との関連を一定程度認めている。以上の結果により、免疫抑制療法が不十分であると移植臓器に有害なドナー特異的抗 HLA 抗体が出現するが、肝移植においては免疫抑制療法を再度至適化することで、出現したドナー特異的抗 HLA 抗体が消失する可能性が示唆されている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3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 Tokodai K, Miyagi S, Nakanishi C, Hara Y, Nakanishi W, Goto M, Unno M, Kamei T.	4. 巻 -
2. 論文標題 Impact of the Trough Level of Calcineurin Inhibitor on the Prevalence of Donor-Specific Human Leukocyte Antigen Antibodies During Long-Term Follow-Up After Pediatric Liver Transplantation: Antibody Strength and Complement-Binding Ability.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Transplantation Direct	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/TXD.0000000000000713	査読の有無 有
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 Tokodai K, Miyagi S, Nakanishi C, Hara Y, Nakanishi W, Miyazawa K, Shimizu K, Murakami K, Sasano H, Goto M, Unno M, Kamei T.	4. 巻 -
2. 論文標題 Association of post-transplant donor-specific HLA antibody with liver graft fibrosis during long-term follow-up after pediatric liver transplantation.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Pediatric Transplantation	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/petr.13169	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 -

1. 著者名 Tokodai K, Miyagi S, Nakanishi W, Nishimura R, Fujio A, Goto M, Unno M, Kamei T.	4. 巻 -
2. 論文標題 Characteristics and predictive value for graft fibrosis of the complement-binding capacity of donor-specific human leukocyte antigen antibodies after pediatric liver transplantation.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Pediatric Transplantation	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/petr.13648	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 -

〔学会発表〕 計11件（うち招待講演 2件／うち国際学会 3件）

1. 発表者名 戸子台和哲 宮城重人 中西 史 原 康之 中西 涉 宮澤恒持 植松智海 清水健司 後藤昌史 海野倫明 亀井 尚
2. 発表標題 小児肝移植後ドナー特異的抗HLA抗体と肝線維化の関連
3. 学会等名 第118回 日本外科学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 戸子台 和哲 宮城重人 中西 史 原 康之 中西 涉 西村隆一 清水健司 植松智海 柿崎裕太 熊田博之 松村宗幸 宮崎勇希 後藤昌史 海野倫明 亀井 尚
2. 発表標題 小児肝移植後長期経過症例におけるドナー特異的抗HLA抗体と肝線維化の関連
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 Kazuaki Tokodai, Shigehito Miyagi, Chikashi Nakanishi, Yasuyuki Hara, Wataru Nakanishi, Ryuichi Nishimura, Koji Miyazawa, Satomi Uematsu, Kenji Shimizu, Keigo Murakami, Hironobu Sasano, Masafumi Goto, Michiaki Unno, Takashi Kamei
2. 発表標題 Analysis of the Association of Posttransplant Donor-Specific HLA Antibody with Liver Fibrosis After Pediatric Liver Transplantation
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 戸子台 和哲 宮城重人 中西 史 原 康之 中西 涉 西村隆一 清水健司 後藤昌史 海野倫明 亀井 尚
2. 発表標題 小児肝移植後におけるドナー特異的抗HLA-Cw/DP抗体の意義
3. 学会等名 第73回 日本消化器外科学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 戸子台 和哲 宮城重人 中西 史 中西 涉 西村隆一 清水健司 福岡健吾 熊田博之 後藤昌史 亀井 尚 海野倫明
2. 発表標題 肝移植後長期経過症例における抗ドナーHLA抗体陽性の意義
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 戸子台 和哲, 清水 健司, 宮澤 恒持, 中西 涉, 原 康之, 中西 史, 宮城 重人, 中野 徹, 亀井 尚, 里見 進
2. 発表標題 小児肝移植後小児肝移植後長期経過中におけるカルシニューリン阻害薬血中濃度がドナー特異的抗HLA抗体出現に与える影響
3. 学会等名 日本消化器外科学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 戸子台 和哲 宮城重人 中西 涉 西村隆一 後藤昌史 海野倫明 亀井 尚
2. 発表標題 肝移植後ドナ特異的抗HLA抗体出現のリスク因子とグラフト肝に与える影響
3. 学会等名 第37回 日本肝移植学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kazuaki Tokodai
2. 発表標題 DSA in liver transplantation
3. 学会等名 ASIA PACIFIC TRANSPLANT CAUCUS 2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kazuaki Tokodai, Shigehito Miyagi, Wataru Nakanishi, Ryuichi Nishimura, Atsushi Fujio, Kengo Sasaki, Kengo Fukuoka, Yuta Kakizaki, Masafumi Goto, Takashi Kamei, Michiaki Unno
2. 発表標題 Association of posttransplant donor-specific HLA antibody with liver fibrosis after pediatric liver transplantation
3. 学会等名 7th Congress of the Asian-Pacific Hepato-Pancreato-Biliary Association (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 戸子台 和哲
2. 発表標題 肝移植領域におけるde novo DSAの意義と今後の課題
3. 学会等名 第55回 日本移植学会(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 戸子台 和哲, 宮城 重人, 中西 渉, 西村 隆一, 藤尾 淳, 佐々木健吾, 宮崎勇希, 笹嶋秀憲, 後藤 昌史, 海野 倫明, 亀井 尚
2. 発表標題 補体結合性ドナー特異的抗HLA抗体のグラフト肝への影響
3. 学会等名 第55回 日本移植学会
4. 発表年 2019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