

論文内容要旨

**B cell depletion with anti-CD20 mAb exacerbates
anti-donor CD4⁺ T cell responses in highly sensitized
transplant recipients**

(高感作移植レシピエントに対する抗CD20抗体を用いた脱感作療法
は、レシピエントの抗ドナーCD4⁺T細胞応答の亢進を惹起する)

Scientific Reports, 11:18180, 2021.

主指導教員：大段 秀樹教授

(医系科学研究科 消化器・移植外科学)

副指導教員：田邊 和照教授

(医系科学研究科 周手術期・クリティカルケア開発学)

副指導教員：井手 健太郎講師

(広島大学病院 消化器診療科)

田中 飛鳥

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

【研究背景・目的】既存のドナー特異的抗ヒト白血球抗原抗体（preformed donor specific antigen ; DSA）は、術後の制御困難な抗体関連拒絶反応を引き起こす可能性があり、移植後の臓器廃絶の主要な原因となるため、移植前の preformed DSA の除去が重要な課題となっている。現在、preformed DSA 陽性レシピエントに対する脱感作療法として、血漿交換、脾臓摘出術、免疫グロブリン静注療法、そして抗 CD20 monoclonal antibody (mAb)であるリツキシマブ投与による B 細胞除去が報告されている。B 細胞はアロ特異的 T 細胞を活性化できる有効な抗原提示細胞であるため、B 細胞除去は T 細胞のアロ応答に影響を与える可能性があると考えられる。また、リツキシマブ投与による B 細胞の消失に関連した cytokine release syndrome も、T 細胞の活性化を促進する可能性がある。しかし、preformed DSA 陽性レシピエントに対するリツキシマブ投与による B 細胞除去がアロ T 細胞応答にどのように影響するかを解析した報告はほとんどない。そこで、リツキシマブ投与による移植前脱感作療法が preformed DSA 陽性レシピエントの抗ドナー T 細胞応答に及ぼす影響について解析した。また、高感作移植マウスモデルを用い、抗 CD20 mAb 投与による B 細胞除去の、抗ドナー T 細胞応答に及ぼす影響の機序について解析した。

【方法】 (1) preformed DSA 陽性レシピエントに対する検討（肝移植・腎移植）

移植前脱感作療法を行った、preformed DSA 陽性レシピエント及び preformed DSA 陰性 ABO 血液型不適合レシピエントに対し、リツキシマブ投与による脱感作療法の前および投与 2 週間後に carboxyfluorescein diacetate succinimidyl ester (CFSE) 細胞質染色法を応用したリンパ球混合試験（mixed lymphocyte reaction ; MLR）を行い、抗ドナー T 細胞応答について評価した。5 日間の共培養後、responder であるレシピエントの CD4⁺、CD8⁺T 細胞の CFSE 蛍光強度を分析し、Stimulation Index(SI)を算出した。

(2)高感作移植マウスモデルに対する検討

Balb/c マウスに C57BL/6 マウスの皮膚を 2 回移植し（0、14 日目）、高感作移植モデルを作成した。42 日目に、アロ感作された Balb/c マウスに抗 CD20mAb を投与し、B 細胞除去を行った。抗 CD20mAb 投与 7 日後（49 日目）に、レシピエントである Balb/c マウスの脾細胞を採取して MLR を行い、抗ドナー T 細胞応答に対する B 細胞除去の影響を評価した。また、49 日目に 3 回目のアロ皮膚移植を行い、B 細胞除去による抗ドナー T 細胞応答の graft への影響を評価した。さらに、B 細胞の抗ドナー T 細胞応答に対する抑制効果について検討した。B 細胞除去後の高感作マウスの脾細胞を responder とした CFSE-MLR assay に様々な用量のアロ感作マウス脾臓 CD19⁺B 細胞を共培養した。B-1 (CD5⁺CD19⁺) 細胞は制御性 B 細胞と言われており、アロ反応性 T 細胞応答を抑制する効果がある事が報告されている。アロ感作マウスの脾細胞から CD19⁺B 細胞及び CD19⁺B 細胞から B-1 (CD5⁺CD19⁺) 細胞を除去した CD5⁺CD19⁺B 細胞をそれぞれ B 細胞除去後の高感作マウスの脾細胞を responder とした CFSE-MLR assay で共培養し、抗ドナー T 細胞応答に対する B-1 細胞の影響を評価した。

【結果】(1)リツキシマブ投与後、抗ドナーCD4⁺T細胞のSIは、DSA陰性レシピエントよりもDSA陽性レシピエントで有意に高値であった。移植後、腎移植レシピエントは、導入療法として抗ヒト胸腺細胞ウサギ免疫グロブリン及び抗CD25mAbの投与を受けたため、T細胞関連拒絶反応は認めなかった。一方肝移植では、T細胞関連拒絶反応を生じた症例を認めた。

(2)臨床症例と一致し、高感作マウスモデルに対する抗CD20mAb投与後の抗ドナーCD4⁺T細胞応答は有意に亢進した。その結果を反映し、抗CD20mAb投与後の高感作マウスモデルに3回目の皮膚移植を行ったところ、対照に比べgraft生着日数が有意に短縮した。

B細胞除去後の高感作マウスの脾細胞をresponderとしたCFSE-MLR assayに様々な用量のアロ感作マウス脾臓CD19⁺B細胞を共培養したところ、用量依存性に抗ドナーCD4⁺T細胞応答を有意に抑制した。また、制御性B細胞であるB-1(CD5⁺CD19⁺)細胞には、アロ感作の有無に関わらずIL-10産生細胞(IL-10⁺CD5⁺CD19⁺B細胞)が有意に存在していた。B細胞除去後の高感作マウスの脾細胞をresponderとしたCFSE-MLR assayにCD19⁺B細胞及びCD5⁺CD19⁺B細胞を共培養したところ、CD19⁺B細胞は抗ドナーCD4⁺T細胞応答を抑制した一方で、CD5⁺CD19⁺B細胞添加では抗ドナーCD4⁺T細胞応答は抑制されなかった。

【結論】高感作移植レシピエントに対する抗CD20mAb投与によるB細胞除去は、抗ドナーCD4⁺T細胞応答の亢進を惹起している事が示唆された。抗CD20mAb投与によるB細胞除去は、アロ反応性T細胞応答を抑制する効果のあるIL-10⁺CD5⁺B細胞を消失させるため、高感作移植レシピエントにおける抗ドナーCD4⁺T細胞応答が亢進すると考えられた。制御性B細胞の機能を維持しつつ、抗体産生を抑制する脱感作療法及び抗体関連拒絶反応に対する治療法の開発が必要である。