

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（ 医学 ）	氏名	田中 飛鳥
学位授与の条件	学位規則第 4 条第①・2 項該当		
論文題目 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)			
論文審査担当者			
主 査	教授 保田 朋波流	印	
審査委員	教授 一戸 辰夫		
審査委員	准教授 藤井 輝久		
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>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。</p> <p>肝移植・腎移植における preformed DSA 陽性レシピエントに対する検討では、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。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 CD25 mAb 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。</p> <p>続いて、高感作移植マウスモデルによる抗 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。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 CD20 mAb を投与し、B 細胞除去を行った。抗 CD20 mAb 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⁺) 細胞分画に制御性 B 細胞が含まれると言われており、それらにアロ反応性 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</p>			

(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。臨床症例と一致し、高感作マウスモデルに対する抗 CD20 mAb 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 CD20 mAb 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 細胞を含むと考えられている 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。

以上の結果から、本論文は preformed DSA 陽性レシピエントにおける術前脱感作療法後の拒絶反応機構を明らかにし、新規免疫抑制療法の開発に資する成果として高く評価される。

よって審査委員会委員全員は、本論文が田中飛鳥に博士 (医学) の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。