

## 論 文 内 容 要 旨

Molecular Mismatch Predicts T Cell-Mediated Rejection and De Novo Donor-Specific Antibody Formation After Living Donor Liver Transplantation

(エピトープミスマッチは生体肝移植後の T 細胞性拒絶反応と新規ドナー特異的抗体産生を予測する)

Liver Transplantation.27(11):1592-1602,2021

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：井手 健太郎講師

(広島大学病院 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 周術期・クリティカルケア開発学)

小野 紘輔

(医系科学研究科博士課程医歯薬学専攻)

## 研究目的

臓器移植におけるレシピエントとドナー間のヒト白血球抗原（HLA: Human Leukocyte Antigen）のミスマッチ（MM）は、拒絶反応や長期成績に影響を及ぼす危険因子の一つである。従来 HLA の MM は抗原型や対立遺伝子（アレル）の違いで評価されてきたが、近年エピトープとよばれる抗原認識部位の分子構造の違いを解析した評価が注目されている。この解析は、コンピュータアルゴリズムに基づいて分子構造を解析するソフトである HLA matchmaker や Predicted indirectly recognizable human leukocyte antigen epitopes (PIRCHE)により行われる。腎移植においては、エピトープ MM 解析が従来の HLA-MM 解析に比べ、より正確に移植後の拒絶反応やグラフトの長期成績を予測することが報告されている。一方で肝移植においては、エピトープ MM 解析が移植後経過のリスク解析として有用であるという報告は少なく一定の見解はない。本研究では、エピトープ MM 解析が生体肝移植術後の T 細胞性拒絶反応（TCMR）および新規ドナー特異的抗体産生(dnDSA)に及ぼす影響を検討する。また、リンパ球混合試験の結果と組み合わせた解析を行うことで、エピトープ MM と抗ドナー T 細胞応答との関連についても併せて評価する。

## 研究方法

2010 年 1 月から 2019 年 12 月までに広島大学病院で行われた生体肝移植 99 例のうち、再肝移植症例 1 例、既存 DSA 陽性症例 11 例、免疫学的評価不十分症例 42 例をのぞく 45 症例を対象とした。グラフト生存最終確認は 2020 年 12 月 31 日とし、観察期間の中央値は 6.5 年であった。HLA の genotyping はルミネックスコーポレーションの xMAP システムで行った。HLA のエピトープミスマッチ解析は HLA matchmaker software version2.1、PIRCHE score は PIRCHE-II アルゴリズムを用いて行った。すべてのレシピエントで、抗 HLA 抗体を移植前に測定し、移植後も毎年 WAKFlow および LABScreen Mixed を用いて評価した。陽性評価の場合、LABScreen Single Antigen を用いて DSA であるか否かを評価し、4 桁レベルの HLA-A、-B、-C、-DRB1、-DQB1 の DSA において平均蛍光強度（MFI）値が 1,000 以上を陽性とした。レシピエントの免疫反応性を評価するため、移植前に CFSE 標識法を用いたリンパ球混合試験（MLR）により、抗ドナー T 細胞反応を評価した。CD4 陽性 T 細胞および CD8 陽性 T 細胞の刺激指数（SI）および CD8 陽性 T 細胞上の CD25 表出率を、マルチパラメーター FCM で解析した。

## 結果

9 名（20%）で移植後 1 ヶ月以内に TCMR を発症した。TCMR 陽性群ではレシピエント年齢が有意に低くなっていたが、その他の患者背景については TCMR 陽性群、陰性群で同様であった。HLA のアレル MM は両群間で有意差はなかったが、HLA-DQB1 エピトープ MM 数（DQB1-EpMM）と HLA-DQB1 の PIRCHE-II スコア（DQB1-PIRCHE-II）は、TCMR 陽性群で有意に高かった。ROC 解析より TCMR 陽性群のカットオフ値を算出したところ、DQB1-EpMM が 7 以上、DQB1-PIRCHE-II が 16 以上であった。EpMM と抗ドナー T 細胞応答の関連について、CD4 および CD8 陽性 T 細胞の SI は、DQB1-EpMM 7 以上と 7 未満の患

者群で有意差は認められなかったが、CD8 陽性 T 細胞の CD25 表出率は、DQB1-EpMM 7 以上の患者群において有意に高くなっていた。

dnDSA 陽性患者は 9 名（20%）であった。dnDSA 陽性群と陰性群の患者背景については同様であったが、dnDSA 陽性患者では、DQB1-EpMM と DQB1-PIRCHE- II が有意に高かった。ROC 解析より dnDSA 陽性群のカットオフ値を算出したところ、DQB1-EpMM が 9 以上、DQB1-PIRCHE- II が 3 以上となり、dnDSA 産生が予測可能となった。

#### **考察**

エピトープ解析は術前の T 細胞応答及び T 細胞性拒絶反応と関連があったことから、同解析が免疫抑制薬の投与量を調整する際に、あらたな指標となる可能性が示唆された。また、dnDSA 産生を予防するための適切なドナー選択の一助になる可能性も示唆された。

#### **結論**

エピトープ解析は生体肝移植において TCMR および dnDSA 産生のリスク解析として有用であった。同解析を用い個々のリスクに応じた治療が期待される。