

VERITAS SCIENCE LETTER

HLA&TRANSPLANTATION

Diagnostic Research

 Vol. 12
2015.06

ドナー特異的抗体 (DSA) の C1q 反応性と IgG サブクラスの逐次解析による予後予測の改善

Improving Prediction through Sequential Analysis of C1q Reactivity and IgG Subclasses of Donor Specific Antibody (DSA)

Hal Gibson

Commercial Marketing and Business Development Manager, One Lambda/Thermo Fisher Scientific

抗体関連型拒絶 : AMR

抗体関連型拒絶 (Antibody Mediated Rejection : AMR) は、臓器移植における臓器廃絶の主要な原因の一つであり^{*1}、ドナー特異的抗体 (Donor Specific Antibody : DSA) の存在が AMR のリスクを高めると考えられています。(図 1)

残念ながら、現在北アメリカにおいては毎年約 6000 件の腎移植が腎不全、臓器廃絶等の失敗に終わっています。原因の一つとして、移植後の標準ケアである生体組織診断 (バイオプシー) では、AMR の約 75% が見逃されてしまっている事が考えられます。

従って、臓器移植の成績をさらに向上させる為には、移植後の治療に際して組織学と液性免疫学の両方からアプローチする事が重要となってきます。

AMR と DSA の関連性

現在、AMR の診断は C4d 陽性である事を基にしていますが、その感度と特異性が低い事はしばしば問題となっています。その為、AMR の診断結果と、DSA の蛍光値 (normalized Mean Florescence : nMFI) の相関性は低く、40-50% 程度にとどまります。また、DSA の nMFI は予後のリスクを予測する為に重要な要素であるものの、DSA が存在しても長期生着している患者の報告も存在し^{*2,3}、臨床上的結果と必ずしも一致するとは限りません。なぜならば、発表されている様々な研究データは、移植前の一時点もしくは移植後の一時点に焦点を当てて検証している場合が多く、経時的に変化する免疫反応と HLA 抗体を反映しているとは言えないからです。

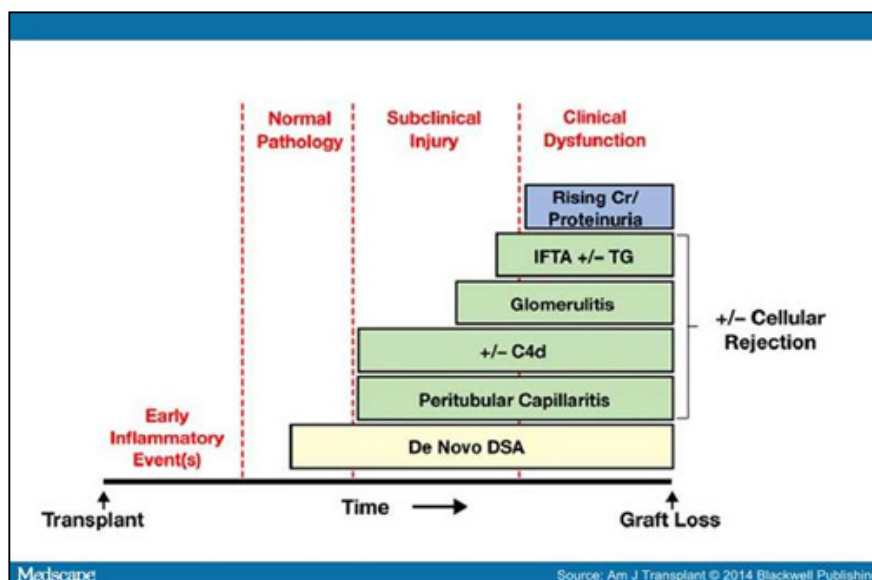


図 1：移植後の経時的臨床イベントの推移

DSA の nMFI と AMR の関連性

nMFI と AMR、臓器廃絶の関係に関して、Lefaucheur (2010) *4 らは移植前の既存 DSA の nMFI が 3000 以上だった患者は、3000 以下だった患者及び DSA を保有しない患者よりも、優位差を持って臓器生着率が低くなったと報告しています。また、nMFI が 6000 以上だった患者が AMR となるリスクは、DSA を保有しない患者の 100 倍以上 (RR113.0;30.8-414 95%CI) となった一方で、nMFI が 465 ~ 1500 と低い患者でも、DSA を保有しない患者より約 25 倍 (RR24.8;4.6-134.8) のリスクが見られます。(表 1、図 2)

低い nMFI の HLA 抗体であっても、拒絶に関わる重要な因子となる可能性があるだけでなく、HLA 抗体は、種々のエピトープに対して形成される為、過去の感作歴等を含めて慎重に解析する必要があります。*5,6

表 1：nMFI と相対リスク (Relative Risk : RR) の関係

DSA MFI _{max} class	RR (95% CI)	P
≤465	1.0	
465 to 1500	24.8 (4.6 to 134.8)	<0.001
1500 to 3000	23.9 (3.5 to 160.8)	0.001
3000 to 6000	61.3 (11.5 to 327)	<0.001
>6000	113.0 (30.8 to 414)	<0.001

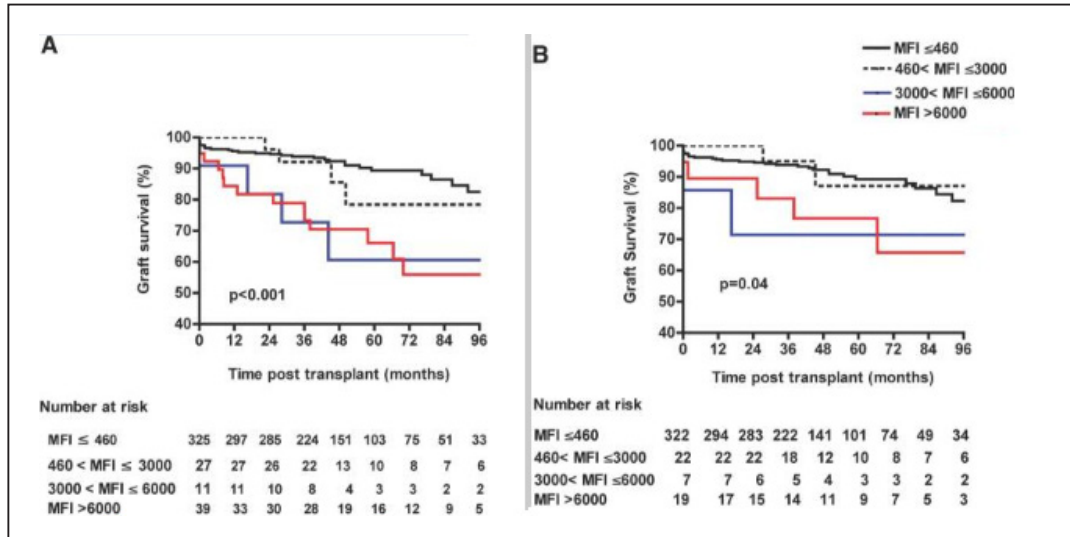


図 2：臓器生着率と nMFI の関係

A：DSA 陽性の腎移植患者、B：急性 AMR を発症しなかった DSA 陽性患者

液性免疫に影響を及ぼす HLA 抗体の特徴

液性免疫に影響を及ぼす HLA 抗体の特徴は、「血液中の存在量」、「エピトープに対する結合力」、「補体の結合能」「Fc レセプターを通じた細胞動員能」等が挙げられます。その他、細胞上皮の HLA 分子が HLA 抗体を吸収する能力や、その他の阻害因子等が複雑に影響して液性免疫システムが成り立っています。*7 また、HLA 抗体は構造の違いにより IgG1、IgG2、IgG3、IgG4 の 4 つのサブクラスに分類されます。*8,9 (図 3) 各サブクラスの補体結合能は、IgG3 > IgG1 > IgG2 > IgG4 の順番ですが、IgG4 は殆ど結合しません。

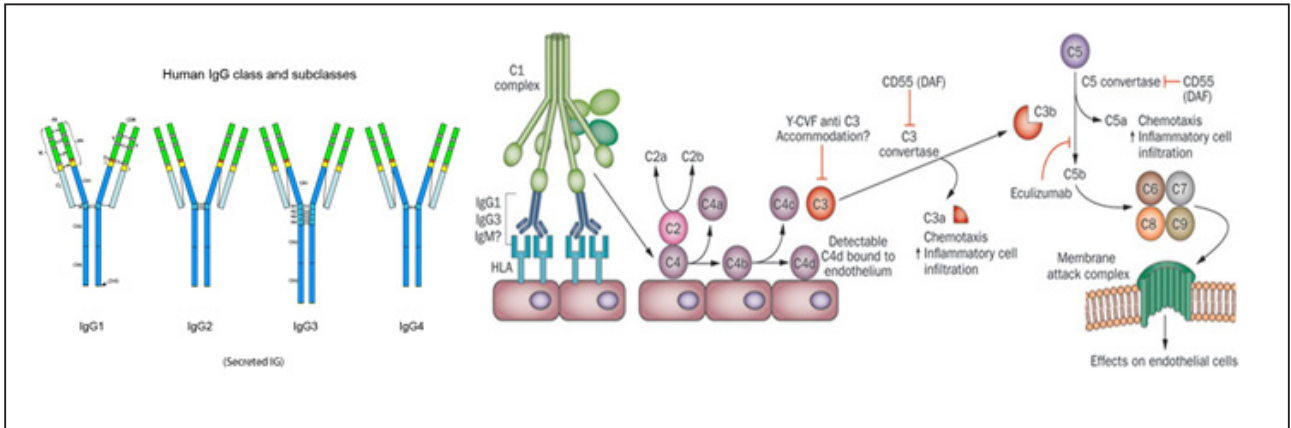


図 3：各 IgG サブクラスの構造と補体系での機能

移植前後における IgG サブクラス

移植前の IgG サブクラスに関して、血液中に含まれる量は IgG1>IgG2>IgG3>IgG4 の順で存在します。補体結合性の弱い IgG2、IgG4 のみを持つ事は珍しく、IgG1 かつ / または IgG3 のみを持っている患者が多く、輸血歴のある患者は IgG1 のみを持ち、臓器廃絶に至った患者は各サブクラスの IgG が混在しているという報告もあります。^{*10, 11, 12}

移植後の IgG サブクラスに関して、Heinemann (2007) ^{*13} らは、廃絶された腎臓の溶出液から IgG2 と IgG4 が存在したと報告しています。また、Arnold (2013) ^{*14} らは IgG2 と IgG4 が存在した患者は、補体結合性の IgG1/IgG3 を持つ場合よりも AMR の兆候が見られたと述べています。

Collins (2013) ^{*15} らは疾患の進行に従って、IgM → IgG3 → IgG1 → IgG2 → IgG4 の順番でスイッチし、それに伴い体細胞超変異 (Somatic Hyper Mutation: SHM) が増加し、抗体の特異性が高くなっていくと述べています。(図 4) また、IgG サブクラスの中で特に IgG3 の DSA は拒絶反応や臓器廃絶に関わっているという報告もあります。^{*16, 17}

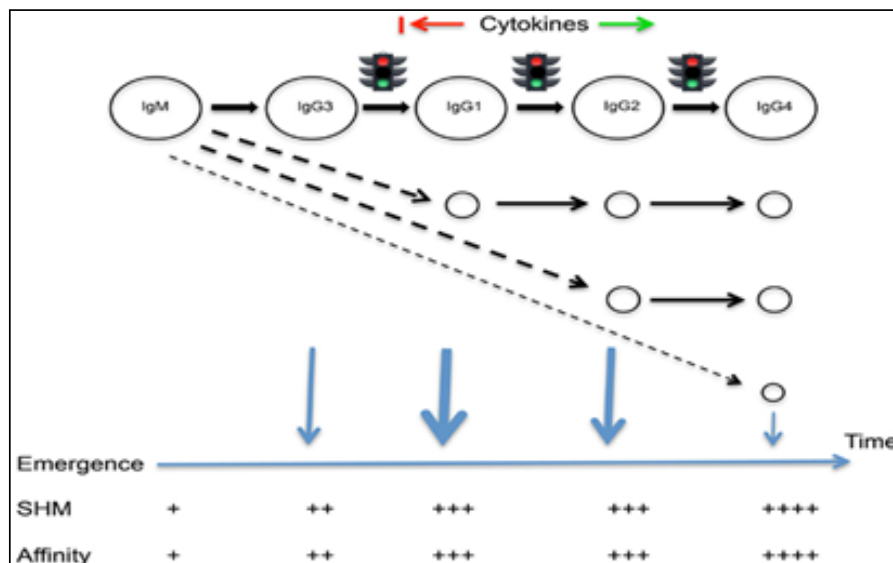


図 4：疾患の進行と IgG サブクラスの変化

C1q 結合性 HLA 抗体

C1q 結合性の HLA 抗体に関して、Loupy (2013) ^{*18} らは腎移植患者において、DSA 陽性かつ C1q 結合性陽性の場合には優位差を持って臓器生着率が低下すると報告しています。(図 5) Stefan^{*12} らは、C1q アッセイにおける nMFI はあくまでも抗体の頻度や相対量に影響された値であり、各 SAB (Single Antigen Beads) に結合した抗体の密度を反映しているに過ぎず、C1q アッセイでは、IgG サブクラス (IgG1 ~ IgG4) の構成を反映していないと述べています。例えば、C1q 結合性が陰性であっても、IgG3 の存在を否定する事はできないという事になります。

Zeevi(2013)^{*19} は、C1q 結合性は抗体の力価に関連すると報告しています。この中で、希釈なしの血清では C1q アッセイの nMFI と SAB アッセイの nMFI は相関性が低い ($R^2 = 0.069$) が、16 倍希釈血清においては相関性が向上したと報告しています ($R^2 = 0.727$)。(図 6)

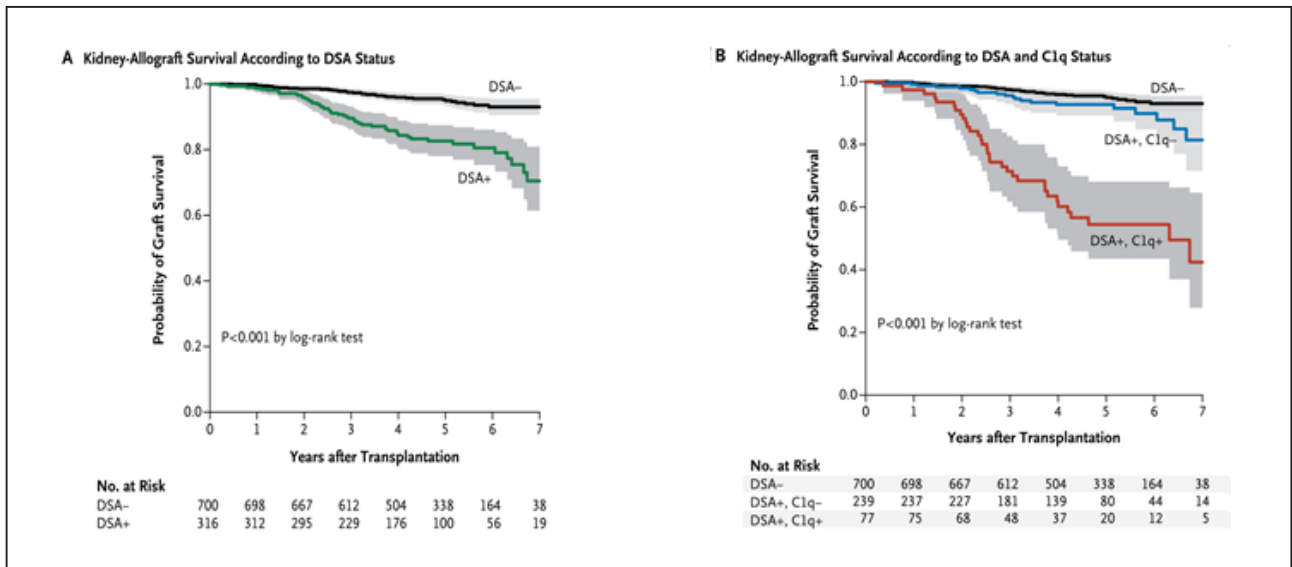


図 5：DSA、C1q 結合性と臓器生着の関係性 A：DSA 陽性 / 陰性 B：DSA 陽性 / 陰性 +C1q 結合性陽性 / 陰性

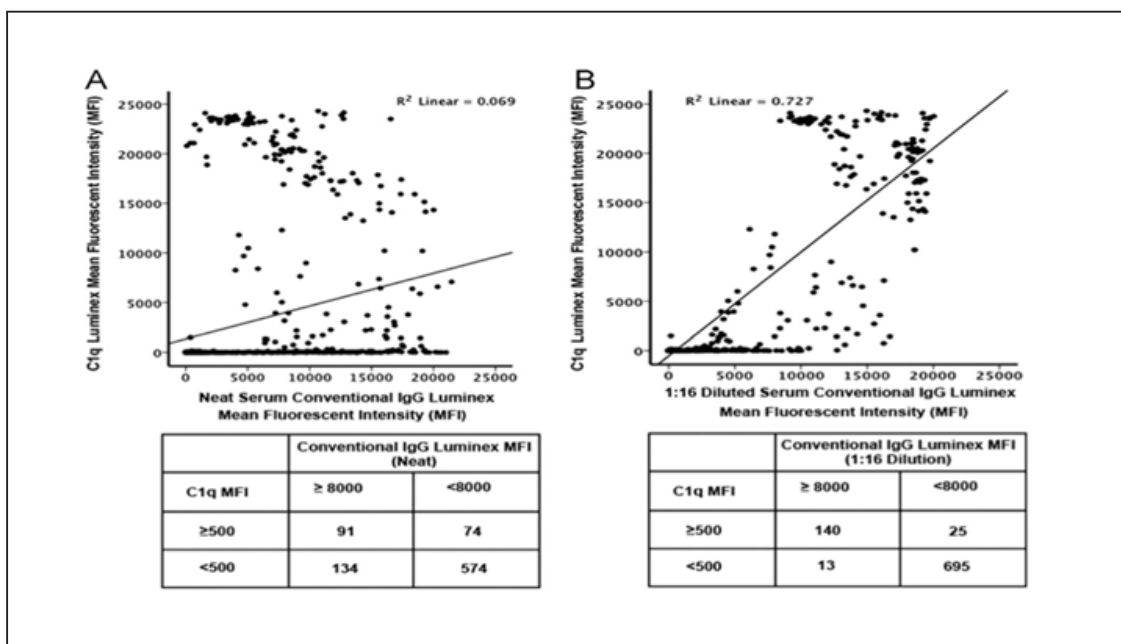


図 6：C1q アッセイの nMFI と SAB アッセイの nMFI の関連

A：通常血清、B：16 倍希釈血清

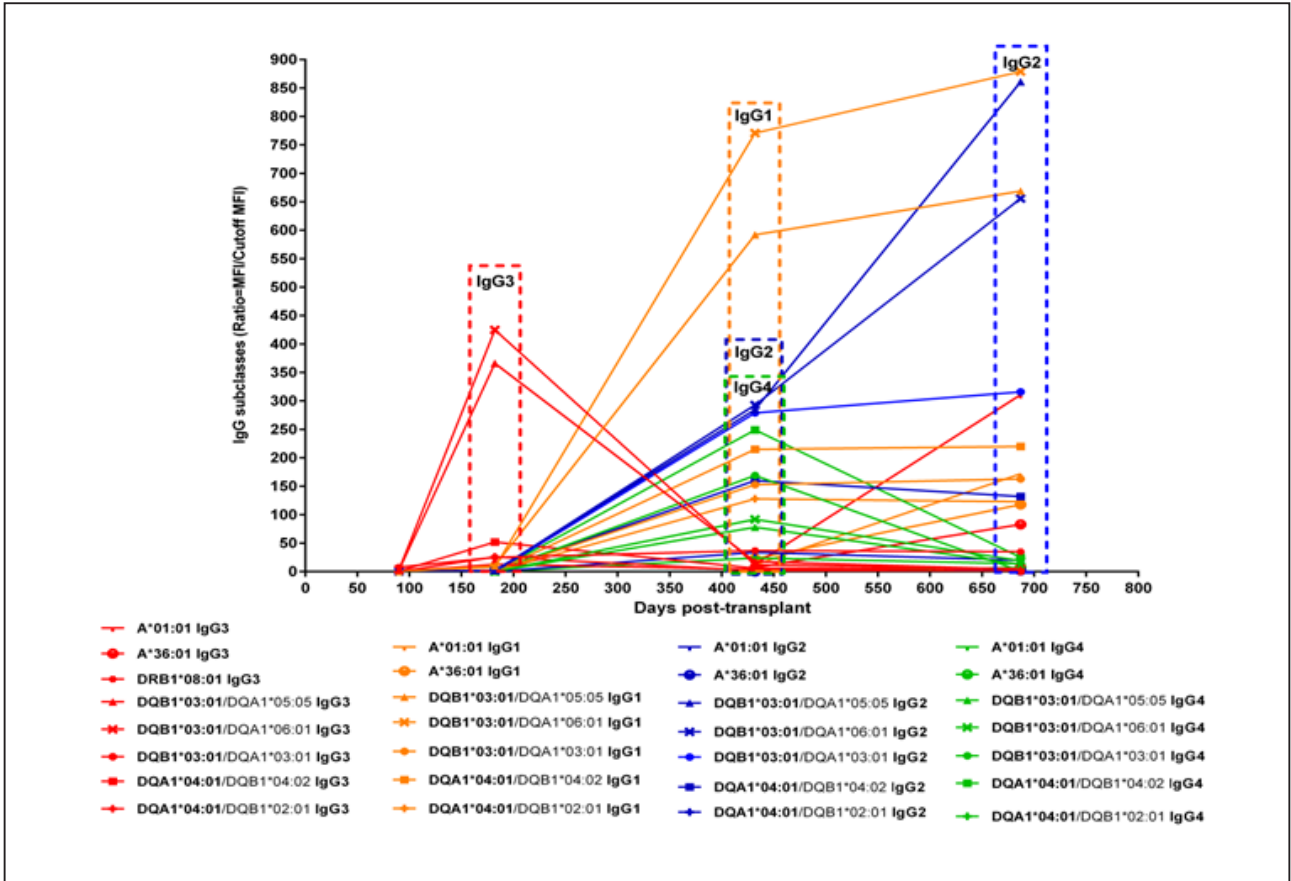
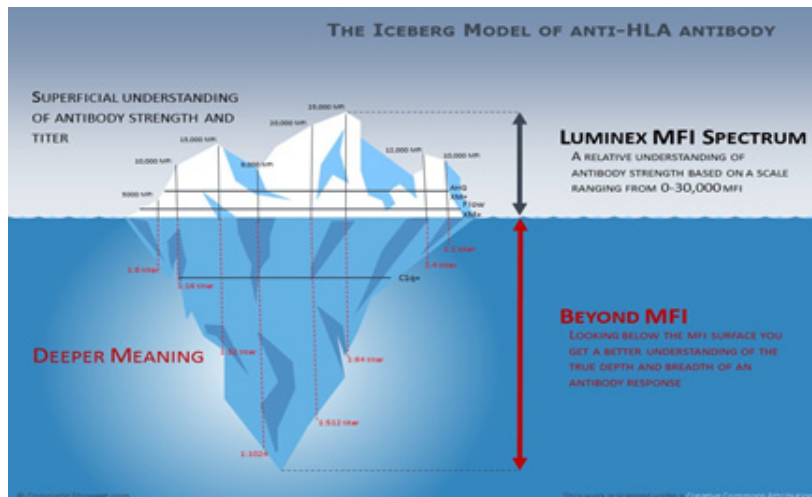


図 8：臓器廃絶に至った患者の術後の DSA のサブクラス解析

結語

- ① SAB の nMFI はある程度臓器廃絶のリスクレベルの評価を可能にする一方で、抗体の力価の測定や、AMR 診断における PPV にも限界がある
- ② C1q 結合性 HLA 抗体の有無は、臓器廃絶のリスクを判断する上での一つの指標となり得るが、C1q 陽性抗体が検出された段階で、既に長期生着への改善治療が難しくなる可能性がある
- ③ IgG サブクラスのモニタリングは、治療プロトコルの改善や、免疫反応を理解する上での役立つ情報を与えてくれる可能性がある



参考文献

1. Loupy A, Hill GS, Jordan SC. The impact of donor-specific anti-HLA antibodies on late kidney allograft failure. *Nature Reviews Nephrology*. 2012; 8(6):348–57.
2. Bentall A, Cornell LD, Gloor JM, Park WD, Gandhi MJ, Winters JL, et al. Five-year outcomes in living donor kidney transplants with a positive crossmatch. *Am J Transplant*. 2013; 13(1):76–85.
3. Riella L V, Safa K, Yagan J, Lee B, Azzi J, Najafian N, et al. Long-term outcomes of kidney transplantation across a positive complement-dependent cytotoxicity crossmatch. *Transplantation*. 2014; 97(12):1247–52.
4. Lefaucheur C, Loupy A, Hill GS, Andrade J, Nochy D, Antoine C, et al. Preexisting donor-specific HLA antibodies predict outcome in kidney transplantation. *J Am Soc Nephrol*. 2010; 21(8):1398–406.
5. Bosch A, Llorente S, Diaz JA, et al. Low median fluorescence intensity could be a nonsafety concept of immunologic risk evaluation in patients with shared molecular eplets in kidney transplantation. *Hum Immunol*. 2012; 73:522–5.
6. Higgins R, Lowe D, Hathaway M, Lam FT, Kashi H, et al. (2009) Rises and falls in donor-specific and third-party HLA antibody levels after antibody incompatible transplantation. *Transplantation*. Mar 27; 87(6): 882–8.
7. Schaub S, Hönger G, Amico P. The complexity of the humoral immune response against HLA antigens. *Transpl Int*. 2014 Mar;27(3):249-50.
8. Schroeder HW Jr1, Cavacini L. Structure and function of immunoglobulins. 2010 Feb;125(2 Suppl 2):S41-52.
9. Stegall MD1, Chedid MF, Cornell LD. The role of complement in antibody-mediated rejection in kidney transplantation. *Nat Rev Nephrol*. 2012 Nov;8(11):670-8.
10. Hönger G1, Hopfer H, Arnold ML et al., Pretransplant IgG subclasses of donor-specific human leukocyte antigen antibodies and development of antibody-mediated rejection. *Transplantation*. 2011 Jul 15;92(1):41-7.
11. Lowe D1, Higgins R, Zehnder D, Briggs DC. Significant IgG subclass heterogeneity in HLA-specific antibodies: Implications for pathogenicity, prognosis, and the rejection response. *Hum Immunol*. 2013 May;74(5):666-72.
12. Schaub S1, Hönger G, Koller MT, Liwski R, Amico P. Determinants of C1q binding in the single antigen bead assay. *Transplantation*. 2014 Aug 27;98(4):387-93
13. Heinemann FM1, Roth I, Rebmann V et al. Immunoglobulin isotype-specific characterization of anti-human leukocyte antigen antibodies eluted from explanted renal allografts. *Hum Immunol*. 2007 Jun;68(6):500-6.
14. Arnold ML1, Ntokou IS, Doxiadis II, Spriewald BM et al., Donor-specific HLA antibodies: evaluating the risk for graft loss in renal transplant recipients with isotype switch from complement fixing IgG1/IgG3 to noncomplement fixing IgG2/IgG4 anti-HLA alloantibodies. *Transpl Int*. 2014 Mar;27(3):253-61.
15. Collins AM1, Jackson KJ. A Temporal Model of Human IgE and IgG Antibody Function. *Front Immunol*. 2013 Aug 9;4:235.
16. Freitas MC1, Rebellato LM, Ozawa M, Nguyen A et al., The role of immunoglobulin-G subclasses and C1q in de novo HLA-DQ donor-specific antibody kidney transplantation outcomes. *Transplantation*. 2013 May 15;95(9):1113-9.
17. Kaneku H1, O'Leary JG, Taniguchi M, Susskind BM, Terasaki PI, Klintmalm GB. Donor-specific human leukocyte antigen antibodies of the immunoglobulin G3 subclass are associated with chronic rejection and graft loss after liver transplantation. *Liver Transpl*. 2012 Aug;18(8):984-92.
18. Loupy A1, Lefaucheur C, Vernerey D, Prugger C et al., Complement-binding anti-HLA antibodies and kidney-allograft survival. *N Engl J Med*. 2013 Sep 26;369(13):1215-26.
19. Zeevi A1, Lunz J, Feingold B et al., Persistent strong anti-HLA antibody at high titer is complement binding and associated with increased risk of antibody-mediated rejection in heart transplant recipients. *J Heart Lung Transplant*. 2013 Jan;32(1):98-105.



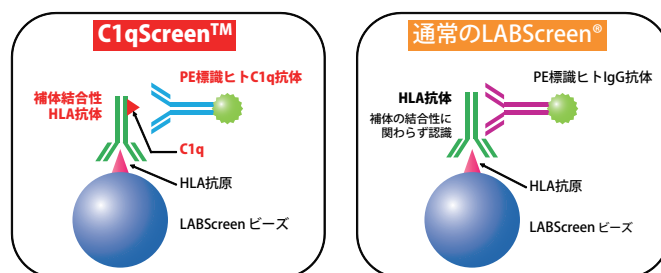
LABScan システム または Luminex 用
補体結合性 HLA 抗体検出キット



C1qScreen

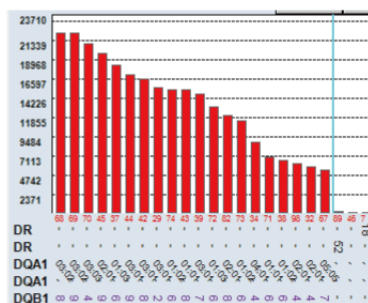
C1qScreen は、補体の第一成分の一つである C1q を認識する PE 標識抗体を、お手持ちの LABScreen® ビーズと使用することで、血清中の補体結合性 HLA 抗体を特異的に検出するキットです。通常の LABScreen® で得られたデータとの比較解析から、検出された HLA 抗体が補体結合性を有するかを知ることができます。

● 原理

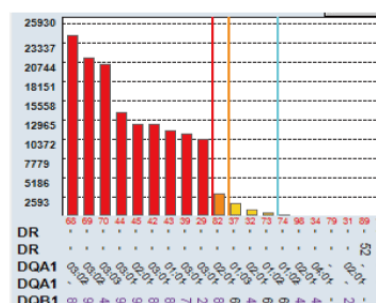


● C1qScreen と通常の LABScreen とのデータ比較例

LABScreen の結果



LABScreen + C1qScreen の結果



商品コード	商品名	梱包単位
LS1A04C1Q	LABScreen Single Antigen Class I + C1qScreen	25 テスト
LS2A01C1Q	LABScreen Single Antigen Class II+ C1qScreen	25 テスト

商品コード	商品名	梱包単位
PEC1Q	C1qScreen	25 テスト
C1Q-PC1	C1qScreen Class I Positive Control	20 テスト
C1Q-PC2	C1qScreen Class II Positive Control	20 テスト
C1Q-NC	C1qScreen Negative Control Serum	20 テスト

日本総代理店

株式会社

ベリタス

〒105-0001 東京都港区虎ノ門 2-7-14 八洲ビル
TEL.03-3593-3211 (代) FAX.03-3593-3216
E-mail: veritas@veritastk.co.jp

<http://www.veritastk.co.jp/>

