

HLAと抗体

臨床と検査の架け橋をめざして…

2009.9
8号

Contents

●MICA/B抗体と臓器移植 1

●HLAと抗体など 6

MICA/B抗体と臓器移植

名古屋大学院大学 医学部 泌尿器科 水谷 一夫

はじめに

臓器移植とHLAの関係はあまりにも有名です。移植に携わる関係者にとってHLAが発見され、それが臨床応用されるようになったことはこの上ない喜びであると考えられます。実際にテラサキらによるHLAの組織適合性の発見により臓器移植の成績は格段に上昇しましたが、近年、このような臓器移植におけるHLAと同様の働きをするものとしてMICA/B (MHC class I chain-related gene A/B) が期待され、その臨床的研究がなされてきています。今回はそのMICA/Bについて臨床研究を中心に概説したいと思います。

HLA 関連遺伝子について

HLAは第6染色体上(6p21)にあり、図1・2のような配列となっています。この中にはHLA-A、B、DRといった臓器移植ではよく知られた部分のほかにHLA-C、Qなどがありその働きはまだまだすべてが解明されたというところまでは至っていません。HLAはもちろん血液型とは異なっていますが、血液型と同様にHLAは自己・非自己の区別を行う印のようなものであり、主に免疫に関係しています。これはHLAが多様性(図3)をもつために個人によりHLAの型が異なり、その多様

性によって自己・非自己の区別を行い、非自己を認識した場合には拒絶などの反応を起こし自分を守るような免疫反応を起こします。例えば細菌感染を起こしたときに細菌を殺す働きを行ったり、臓器移植では他人(ドナー)の臓器が臓器を受け取る人(レシピエント)の体の中に手術的に移植されたとき他

人の臓器を非自己と認識してこれを拒絶しようとする。また癌の種類によっては人のHLA蛋白を細胞表面上に発現することをできなくすることによって、人間の中に作られている防御機構である免疫反応を起こさないようにし、癌細胞を認識させないことで体の中の免疫反応を逃れて増殖しようとするものもあります。このように重要な働きをしているHLAですが、この重

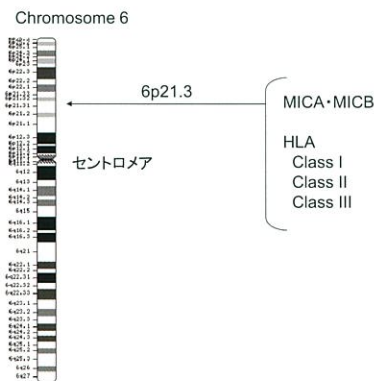
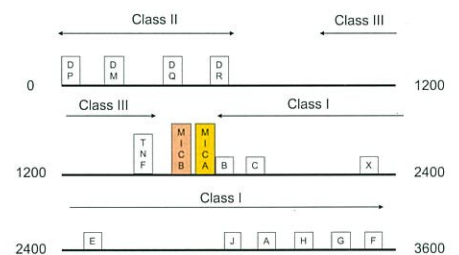


図1 HLA遺伝子の配列



Anthony Nolan Research Institute
<http://hla.alleles.org/index.html>より改変

図2 HLA遺伝子の配列

Numbers of HLA Alleles	
HLA Class I Alleles	2,678
HLA Class II Alleles	1,078
HLA Alleles	3,756
Other non-HLA Alleles	108
HLA Class I	
Gene	A B C E F G
Alleles	853 1,249 463 9 21 44
Proteins	652 1,046 361 3 4 14
HLA Class II	
Gene	DRA DRB DQA1 DQB1 DPA1 DPB1 DMA DMB DOA DOB
Alleles	3 748 34 99 27 135 4 7 12 9
Proteins	2 595 25 72 16 118 4 7 3 4
Other non-HLA Genes	
Gene	MICA MICB TAP1 TAP2
Alleles	67 30 7 4
Proteins	56 19 5 4

<http://hla.alleles.org/nomenclature/stats.html>より改変

図3 HLA関連遺伝子の多様性

要な HLA のそば、特に HLA-B の近傍に MICA、MICB があります (図 2)。HLA 遺伝子に近い MICA/B 遺伝子はある HLA 遺伝子との関連性が指摘されたりしています。MICA/B は HLA と同様に免疫反応の一端を担うものと考えられていますが、MIC の種類としては MICA、MICB など全部で 7 種類ありますが、MICA と MICB を除いては免疫学的な機能はほとんどないといわれています。また、MICA/B も HLA と同様に多様性をもち様々な遺伝子の型があることがわかってきており (図 3、4) 現時点の報告によると DNA として

は MICA は 67 種類、MICB は 30 種類で蛋白としてはそれぞれ 56 種類、19 種類となっています。HLA は DNA 解析が進むことでどんどんその配列の違いが報告され数が増していますが (図 5)、これと同様に MICA/B も数が増えてきており今後も数が増えることが予想されます。

MICA/B の構造と働き

MICA は細胞外ドメイン (α_1 、 α_2 、 α_3)、膜貫通領域、細胞内領域からなり NKG2D と複合体を作り T 細胞系の

免疫反応に関与しています (図 6)。³⁾ MICA は HLA のように T 細胞や B 細胞には発現されず、通常は単球や血管内皮細胞などに発現されています。しかし、何らかのストレスでその発現は増加し、癌細胞の中には MICA/B 蛋白を発現しているものもあります。

では MICA/B はどのような働きをしているのでしょうか。MICA/B は免疫に関係する働きは大きく 2 つに分けられます。一つは主に T 細胞に関係した免疫反応であり、もう一つは HLA と同様にその多様性のために引き起こされる抗原抗体反応です。

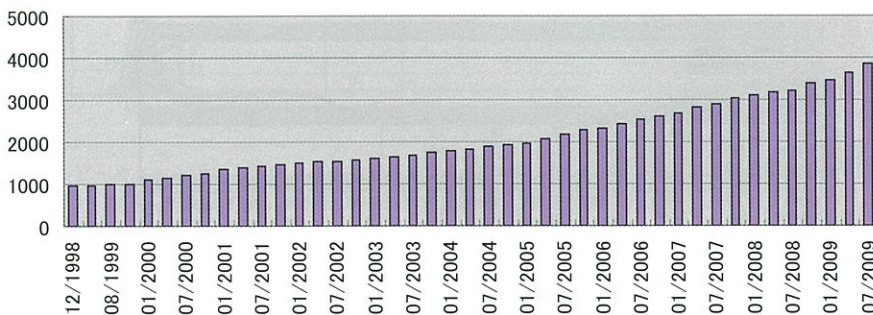
図 7 は NKG2D の移植における関わりを示していますが、その (A) に示されたように MICA 蛋白は $\gamma\delta$ T 細胞や NK 細胞などのリガンドとして NKG2D レセプターを介して認識され、それら細胞を刺激すると考えられています。⁴⁾ また図 8 に示したようにサイトメガロウイルス感染では CD4 陽性細胞は MICA を介して感染細胞に働きかけています。⁴⁾ これらが T 細胞に関連した MICA の働きです。

もう一つの多様性のために引き起こされる抗原抗体反応ですが、これは図 7 の (C) の部分に示されています。血中または細胞表面の MICA/B 蛋白を NK 細胞が認識し一連の反応をへて MICA/B 抗体が産生されます。この MICA/B 抗体が移植臓器を攻撃することで抗体関連の拒絶反応が引き起こされます。

MICA			MICB
MICA*001	MICA*022	MICA*041	MICB*001
MICA*002	MICA*023	MICA*042	MICB*002
MICA*004	MICA*024	MICA*043	MICB*003
MICA*005	MICA*025	MICA*044	MICB*004
MICA*006	MICA*026	MICA*045	MICB*005
MICA*007	MICA*027	MICA*046	MICB*006
MICA*008	MICA*028	MICA*047	MICB*007
MICA*009	MICA*029	MICA*048	MICB*008
MICA*010	MICA*030	MICA*049	MICB*010
MICA*011	MICA*031	MICA*050	MICB*011
MICA*012	MICA*032	MICA*051	MICB*012
MICA*013	MICA*033	MICA*052	MICB*013
MICA*014	MICA*034	MICA*053	MICB*014
MICA*015	MICA*035	MICA*054	MICB*015
MICA*016	MICA*036	MICA*055	MICB*016
MICA*017	MICA*037	MICA*056	MICB*018
MICA*018	MICA*038	MICA*057	MICB*019
MICA*019	MICA*039	MICA*058	MICB*020
MICA*020	MICA*040		MICB*022

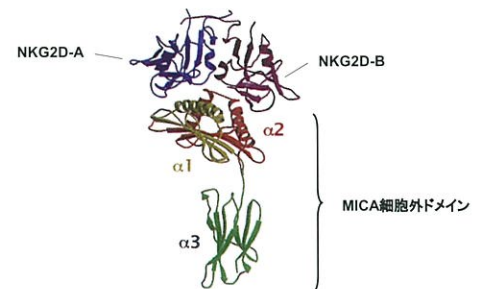
<http://hla.alleles.org/proteins/classo.html>より改変

図4 MIC/B遺伝子の多様性



<http://www.ebi.ac.uk/imgt/hla/stats.html>より改変

図5 HLA関連遺伝子の数



Nature Immunology 2, 443 - 451 (2001)

図6 MICAとNKG2Dの複合体

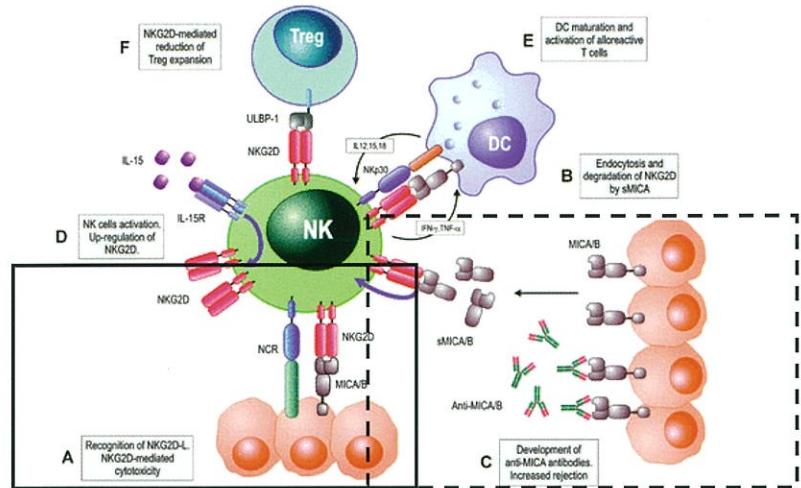
MICA/B 抗体

今回は MICA/B 抗体と臓器移植の関係についてもう少し説明を加えたいと思います。

最近抗体関連の拒絶反応として病理学的に補体の C4d が関連した拒絶反応の解明が進んできました。これは抗体関連拒絶反応 (AMR: antibody mediated rejection) と呼ばれ C4d 陽性を特徴とする抗体が原因となった拒絶反応を一般にさしています。近年の抗体関連検査が進歩した結果、単一の抗原に対する抗体が測定できる、抗体の測定感度がよくなる、またその強さがより明確に測定できるようになるなど検査結果の信頼性が増しましたが、その

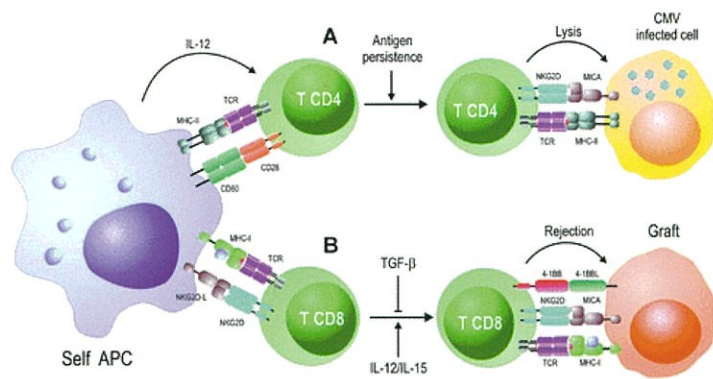
ような抗体関連の検査方法の進歩によりこの抗体関連拒絶反応の存在が明らかにされると同時に病理学的に C4d 陽性とその拒絶反応に特徴づけられることがわかり、抗体関連拒絶反応が世界的に認められトピックとして取り上げられるようになりました。Colvin らによると AMR は図 9 のようなステージをへて進行すると考えられています。彼らによると、まず抗体が産生されはじめ、抗原抗体反応による C4d の反応が移植臓器に見られ、臓器の機能低下が病理学的に確認されるようになります。この進行の間に移植腎機能は低下し、その結果、移植腎が機能廃絶へと進む (Stage IV) と説明されており⁵⁾、その拒絶反応の原因として HLA 抗体、non-HLA 抗体が考えられています。

この non-HLA 抗体の重要なひとつの抗体として MICA/B 抗体が考えられています。つまり MICA/B 蛋白はそれ自身が機能をもった免疫反応が上述したようにありますが、それ以外に MICA/B の多様性による抗体産生が考えられ、HLA 抗体と同様に臓器移植にとっては重要だと現在は考えられています。テラサキらによると臓器移植では 20 - 30% の患者は HLA 抗体をもち、



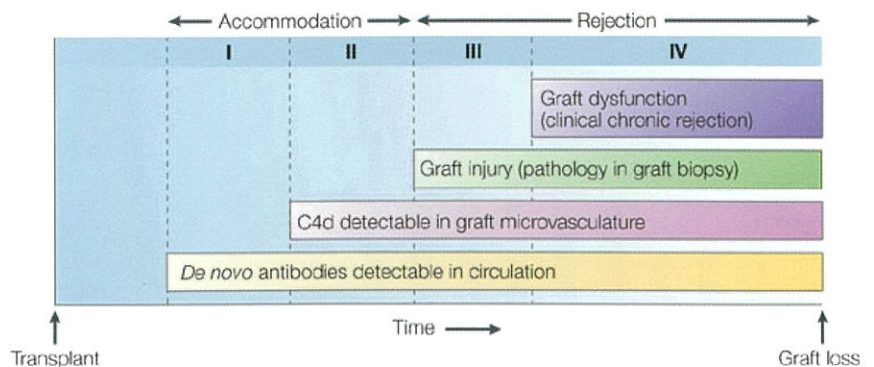
American Journal of Transplantation Vol. 9, 2 Pages: 251-257

図7 MICAとNKG2Dの関わり



American Journal of Transplantation Vol. 9, 2 Pages: 251-257

図8 MICAとNKG2Dの関わり



Antibody-mediated organ-allograft rejection
Robert B. Colvin & R. Neal Smith
Nature Reviews Immunology 5, 807-817 (October 2005)

図9 抗体関連拒絶反応の進行

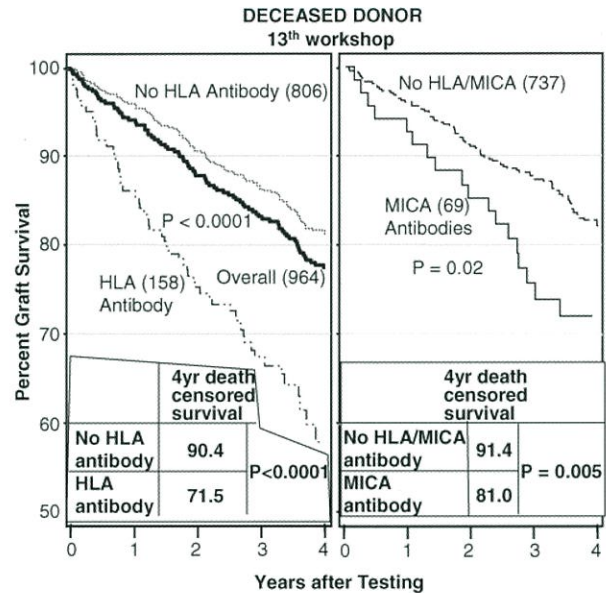
MICA/B 抗体をもつ患者は移植患者の約 10% ほどです (図 10)。⁶⁾ これは移植後の期間を通じてあまり大きな変化はなく、毎年、抗体による拒絶反応により移植腎機能が廃絶する患者を考えるとその廃絶患者と同数程度、抗体を新たに産生する患者が出現すると考えられます。このように移植の全期間に渡って抗体が出現する MICA ですが、テラサキらによると HLA 抗体をもった移植患者と同様に MICA/B 抗体を持った移植患者では移植腎の生着率が悪くなることが報告されています (図 11)。同様の内容ですが、移植前の MICA/B 抗体の有無により移植腎生着率に有意差があるという報告がより多数例で Stasney らによって報告されています。⁷⁾ (図 12) 図 13 では腎移植患者で MICA27 の抗体が上昇しその後、移植腎機能が廃絶した例を示しています。この例をみると HLA 抗体や MICA/B 抗体を移植後もモニターすることによって移植腎の免疫抑制状態や拒絶反応の有無を知ることができ、拒絶反応の予防や拒絶反応が顕在化する前に治療を行うなど移植腎をより長期間にわたって機能させることができる可能性が

あります。今後はこのように HLA 抗体は言うまでもなく MICA/B 抗体の有無の測定は移植患者によっては重要な検査であり、移植腎のフォローアップのための検査として行うことが必要に

なると考えます。

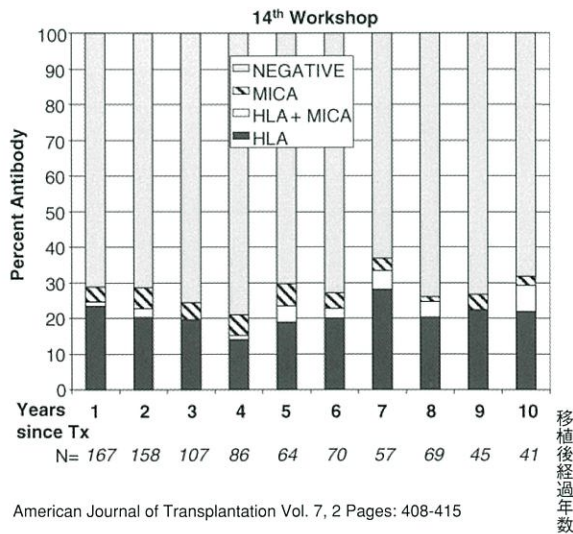
腎移植以外の他臓器における抗体

腎移植以外の臓器ではどうでしょう



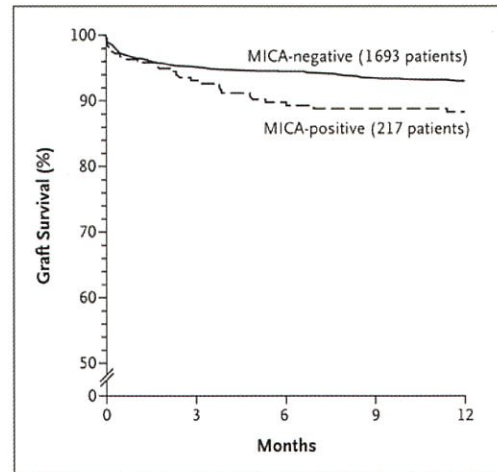
American Journal of Transplantation Vol. 7, 2 Pages: 408-415

図11 献腎移植の抗体の有無による生着率



American Journal of Transplantation Vol. 7, 2 Pages: 408-415

図10 腎移植後の年数と抗体の陽性率



N Engl J Med. 2005; 352: 558-569.

図12 移植前のMICA抗体陽性の有無による移植腎生着率

か。他の臓器でも MICA/B 抗体をもつ移植患者が報告されています。上述したようにテラサキらは腎移植で 20 - 30% ほどの患者が HLA 抗体を持ち、腎移植患者では抗体陽性の患者では予後が不良であることを示しましたが、腎臓以外の臓器移植に関しても HLA 抗体や MICA 抗体の陽性患者が腎移植と同程度以上存在することを示しました (図 14)。⁶⁾ このような報告を受け、他の臓器移植でも HLA 抗体と同時に MICA/B 抗体を測定し、MICA/B 抗体をもつ移植患者では生着率の低下を示唆する報告も散見されるようになってきました。例えば B. Suarez-Alvarez らは心移植において拒絶反応の患者では有意に MICA 抗体陽性が多いことを報告しました (図 15)。⁸⁾ またすい臓移植などでも MICA/B に関する報告がなされています。このように腎臓以外の臓器でも今後は MICA/B やその抗体に関して研究が進められていくと考えられます。

おわりに

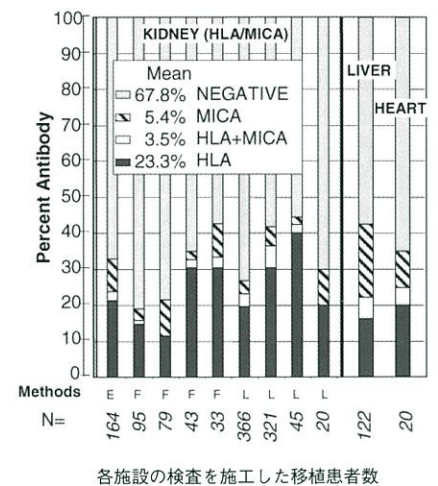
今後、このような MICA/B 抗体に関する報告が増えるにつれ HLA 抗体以

外に MICA/B 抗体検査の臓器移植における重要性が増すと考えられます。

参考

1. HLA Nomenclature
<http://hla.alleles.org/>
2. European Bioinformatics Institute
<http://www.ebi.ac.uk/>
3. Pingwei Li, et al. Complex structure of activating immunoreceptor NKG2D and its MHC I-like ligand MICA. *Nature Immunology*, 2001, 2: 443-451
4. B. Suarez-Alvarez, et al. Potential role of NKG2D and its ligands in organ transplantation: new target for immunointervention. *American Journal of Transplantation*. 2009, 9: 251-257.
5. Robert B. Colvin, et al. Antibody-mediated organ-allograft rejection. *Nature Reviews Immunology*. 2005, 5: 807-817.
6. P. Terasaki, et al. Four-year Follow-up of a Prospective Trial of HLA and MICA Antibodies on Kidney Graft Survival. *American Journal of Transplantation*. 2007, 7: 408-415
7. Zou Y, et al. Antibodies against MICA antigens and kidney-transplant rejection.

- N Engl J Med. 2005; 352: 558-569.
8. Beatriz Suarez-Alvarez, et al. Post-transplant soluble MICA and MICA antibodies predict subsequent heart graft outcome. *Transplant Immunology*. 2006, 17: 43-46



American Journal of Transplantation Vol. 7, 2
Pages: 408-415

図 14 移植臓器による抗体陽性患者の割合

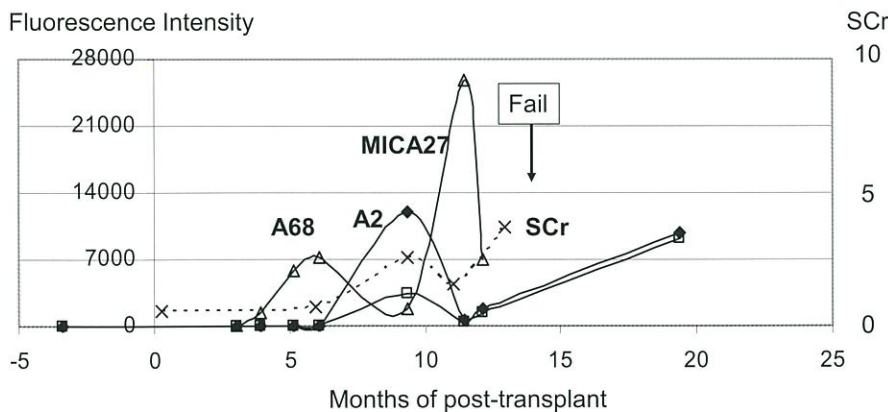


図 13 移植腎機能廃絶前に MICA 抗体の上昇が見られた例

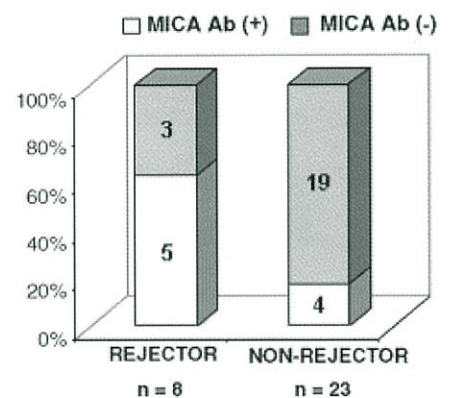


図 15 心移植における MICA と拒絶反応

(株)ベリタス顧問 小川公明

FlowPRA Screening テストについて陽性・陰性のカットオフ（基準）に付いての問い合わせが多いため、今号では、これについて解説します。

PRA は、Panel-Reaction Antibody の数字の大きさは、抗体の強さではなく、特異性の幅をあらわしています。つまり、100 人のドナーに対して何人にダイレクトクロスマッチが陽性になる可能性があるのか？ この可能性を%に

あらわしたのがPRAになります。

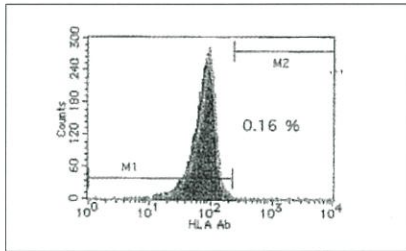
Q : FlowPRA Screening テストの陽性・陰性の判断基準について。

A : Screening テストでは、ピークの形を見て判定する事を基本としています。

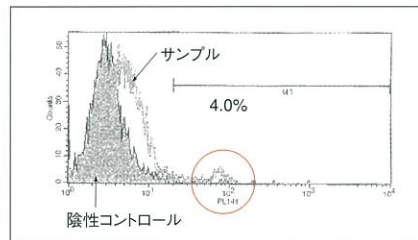
- ・シングルピークでシフトしていない。 → 陰性

- ・マルチピークを示している、あるいは明らかな形状の変化が見て取れる。 → %PRA の大小にかかわらず陽性
- ・シングルピークのままシフトしている。 → Control ビーズの動きを確認した上で判定（ノンシフトの可能性もあり）必要に応じて AbsorbOut（ビーズに対する非特異反応吸着剤）や、他のキットによる精査を行う。

<いろいろなヒストグラムパターンと判定>

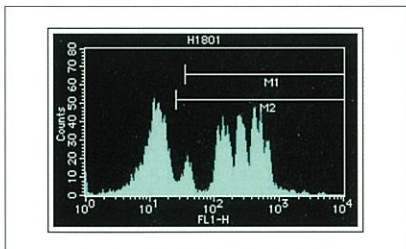


きれいなシングルピークでシフトもない、→ 陰性

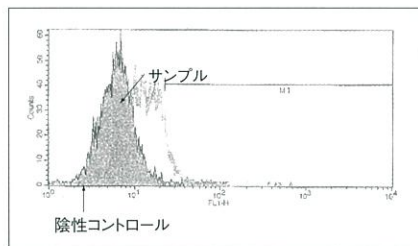


Screening テストの場合、30 種類のパネル抗原（ビーズ）をプールしています。一つのパネルでも陽性の反応をしたら、被検体の HLA 抗体は陽性となります。

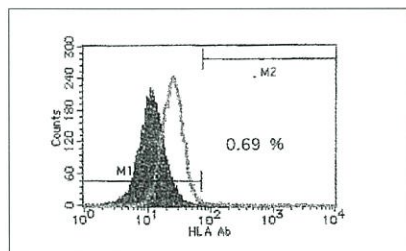
この場合、3.3%に値します。数字は小さくても陽性であり、30 パネル中の一つだけ陽性の HLA 抗原に対する特異性かも知れません。つまり、比較的まれな HLA 抗原である可能性があります。



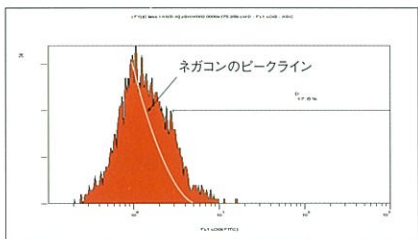
明らかなマルチピークのパターン → 陽性



山が低くなって頂上が広がる → 陽性
(弱いブロードな反応と考えられます。)



シングルピークだがシフトしている。⇒ コントロールビーズの動き、形を見てノンシフトかを確認する。特に、妊娠歴、輸血歴、移植歴等の感作既往がある場合は、Specific、Single Antigen キットでの精査をお勧めします。



ピークの左右対称性が崩れている → 陽性

被検体のヒストグラムがネガティブコントロール血清のヒストグラムと異なる形は反応の結果として捉えて陽性と判定します。異なる形が少なく、妊娠歴、輸血歴、移植歴等の感作既往がある場合は、AbsorbOut の使用での再検および、Specific、Single Antigen キットでの精査をお勧めします。

編集委員

編集顧問 木村 彰方
編集委員長 小川 公明
編集委員 佐田 正晴 佐治 博夫 赤座 達也
編集スタッフ 小林 俊太 甲田 純也 児玉 千恵
発行者 飯田 真作

発行
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/>