

学位論文題名

ABO血液型不適合移植腎組織における血管内皮
Chimerismの検討

学位論文内容の要旨

【背景と目的】

血管内皮 Chimerism とは移植臓器の血管内皮においてドナー細胞がレシピエント細胞に置換される現象で、古くにはこの現象は寛容の誘導と仮説がなされ、移植片に良好な結果をもたらすものと考えられていた。しかし現在では血管内皮 Chimerism の検出と解釈は困難であり、予後とは無関係と結論づけられている。ABO 不適合腎移植は容易に血管内皮 Chimerism を検出することが可能である。本研究では ABO 血液型不適合移植の腎生検検体と抗血液型抗体の免疫組織染色を用いて、血管内皮 Chimerism を検出した。また、Chimerism を起こしている症例が血管内皮障害を受けた抗体関連型拒絶反応や Calcineurin Inhibitors (CNI) による慢性血管毒性の症例に多いことをつきとめ、その予後を検討した。

【対象と方法】

ABO 不適合腎移植症例の A 型から B 型の 28 例、B 型から A 型の計 49 例の移植腎生検を使用した。免疫組織染色は抗 A 型抗体として Abcam 社、Blood Group A Antigen antibody(HE-193)を、抗 B 型抗体として Abcam 社、Blood Group B Antigen antibody(HEB-29)を用いた。fluorescence in situ hybridization (FISH)法はプローブとして Abbott 社、CEP X/Y DNA Probe Kit を用いた。血管内皮 Chimerism の判定は患者背景を知らない 2 名の病理医により行われた。ドナーの腎組織にレシピエントの抗血液型抗体陽性の血管内皮を認めた場合に Chimerism 有り と判定した。実際の臨床病理診断と Chimerism の関係を検討した。

【結果】

49 例の腎生検採取時期は中央値 21 ヶ月（1 ヶ月から 226 ヶ月）であった。フォロー期間中に 9 例（18.4%）が移植腎機能を喪失していた。49 例の最終病理診断は抗体関連型拒絶反応が 9 例、ボーダーラインの T 細胞型性拒絶反応が 6 例、再発性 IgA 腎症が 3 例、BK polyomavirus (BKV) 腎症が 1 例、CNI による慢性血管毒性が 5 例、正常もしくは軽度の尿細管間質変化例が 25 例であった。

Chimerism の頻度は 48 例中 12 例（24.5%）に血管内皮 Chimerism を認めた。12 例中 7 例が抗体関連型拒絶反応の症例だった。また、12 例中 8 例が移植腎機能廃絶を認めていた。Chimerism を認めた 6 症例に FISH を施行したところ Chimerism を認めた女性腎の傍尿細管毛細血管内皮に男性細胞の発現が確認された。臨床病理診断と Chimerism の関係を明らかにするために、全体を 5 群に分類した。拒絶なし群 25 例（拒絶なし症例、軽度の尿細管間質線維化症例）、抗体関連型拒絶群 9 例（急性／慢性抗体関連型拒絶反応）、T 細胞関連型拒絶群 6 例（ボーダーライン変化、T 細胞性拒絶反応）、薬剤毒性群 5 例、そ

の他 4 例 (IgA 腎症、BKV 腎症) に分類された。抗体関連型拒絶反応群で 9 例中 7 例 (78%) に Chimerism を認めており、他群に比べ有意に多かった ($p < 0.001$)。Chimerism 群と No-chimerism 群の 3 年、5 年、8 年生着率はそれぞれ 83.3% vs. 97.1%、74.1% vs. 97.1%、症例で 46.3% vs. 97.1% で Chimerism 症例で有意に移植腎生着率が低下していた。

【考察】

移植組織片がレシピエント由来の細胞に置き換わる現象は、古くから寛容の誘導との仮説がなされ、移植腎に良好な結果をもたらすと考えられてきた。これまでに肺、肝臓、心臓など他臓器においても同様の現象が報告されてきた。これまでの研究では血管内皮 Chimerism 現象が寛容の誘導し予後良好を示すのか、また逆のサインなのか、または全く無意味なものなのかは結論が付いていない。Chimerism の検出が困難な理由の一つはその検出法にある。多くの論文で FISH 法での XY 染色体の検出が行われている。すなわち XX で構成される女性の細胞群から XY である男性の細胞を検出する方法である。本研究においても一部の症例の確認目的で FISH 法を施行したが、移植腎、特に拒絶反応を伴う症例では、もともと血管内腔や間質、尿細管に多数のレシピエント由来の浸潤細胞があり、血管内皮細胞が仮にレシピエント型に置き換わっていてもそれを区別するのは極めて難しかった。一方、免疫組織染色は比較的容易で広い視野で観察も可能であり、腎の血液型抗原の発現部位は腎血管内皮、糸球体内皮、傍尿細管毛細血管で一定であることコンセンサスがあり、ABO 不適合腎移植であれば容易に血管内皮 Chimerism を検出することが可能で、症例数、生検数の多い本邦ではその予後との関係を示すことができると考えられた。本研究の臨床病理診断と Chimerism の関係で示したように、Chimerism は抗体関連型拒絶反応の症例に多く確認できた。抗体関連型拒絶反応は抗血液型抗体や抗 HLA 型抗体に代表されるドナーに対する抗体がレシピエントの内皮細胞を傷害することが診断の条件となっている。抗体関連型拒絶反応に対して、尿細管炎や間質炎が拒絶反応の指標となる T 細胞性拒絶反応で Chimerism は認めなかった。今回対象となった T 細胞性拒絶反応はいずれもボーダーライン変化程度の比較的軽症が拒絶反応に多くて一概に比較できないが、ドナーに対する抗体を持たず内皮細胞がターゲットではないこの拒絶反応ではレシピエント細胞による置換が起こらない可能性がある。また、有意ではないが CNI による薬剤による慢性血管毒性症例においても Chimerism が確認された。CNI の長期大量投与は、腎の輸出入細動脈のれん縮を惹起し、その結果、細動脈の障害、細動脈内皮の硝子様変性を起こすことが報告されている。これは CNI 慢性血管毒性症例に Chimerism を認めた原因と関連するかもしれないが、CNI の至適投与量が確立されてきた現代において薬剤血管毒性の症例は少なくなっており、今後の症例の蓄積が難しい。レシピエント細胞による置換のメカニズムはまだ解明されていない。メサングウム細胞においては少数の報告で骨髓由来細胞によるリモデリングが報告されているが、内皮細胞においては、骨髓由来の内皮前駆細胞が内皮の修復に関与している可能性が示されているに過ぎない。そもそも対象となる症例が少なく、診断も難しい現象に関して、ヒト検体での研究には限界がある。一方、ラット腎移植の慢性障害モデルを作成し、平滑筋細胞や小葉間レベルの腎動脈内皮はドナー細胞でリモデリングされ、糸球体内皮や傍尿細管毛細血管内皮はレシピエント細胞によりリモデリングされるという報告がある。

【結論】

血管内皮 Chimerism は寛容の誘導を示すものではなく、抗体関連型拒絶反応や慢性血管毒性による血管内皮障害の痕跡と考えられた。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 豊 嶋 崇 徳
副 査 教 授 野々村 克 也
副 査 教 授 武 富 紹 信
副 査 教 授 藤 田 博 美

学位論文題名

ABO血液型不適合移植腎組織における血管内皮 Chimerismの検討

本研究は ABO 血液型不適合腎移植における血管内皮細胞キメリズムと移植成績の関連を検討したものである。ABO 血液型不適合腎移植は我が国で最も実施数が多く、わが国で本研究を実施するメリットは高く、臨床への還元も比較的容易な研究領域である。本研究は世界で最も ABO 不適合腎移植の実施数の多い東京女子医大泌尿器科の症例を用いて実施された。症例は解析が可能な A 型から B 型、あるいは B 型から A 型への腎移植の 49 例である。検体は術後腎生検の組織標本を用いた。キメリズム解析は抗 A、抗 B 抗体を用いた免疫組織染色によって行った。また性不一致移植例では標準的な性染色体 FISH 法も併用された。その結果、血管内皮細胞血液型キメリズムが 12 例に認められ、その部位は糸球体係蹄、傍尿細管毛細管などであった。この結果は、性染色体 FISH 法を同時に施行した例での結果と合致した。次いで血管内皮キメリズムの有無と移植成績の関連が検討された。その結果、キメリズムの存在は抗体関連拒絶と薬剤毒性の例で高頻度に認められ、キメリズム陰性例と比較し、腎生着率の有意な低下と関連した。とくに拒絶原因のうち、抗体拒絶例で ABO 型血管内皮細胞キメリズムが高頻度に認められたの対し、一方で、T 細胞性拒絶例ではキメリズムが認められず、拒絶のメカニズムとの関連が示唆された点は興味深い。最後に、多変量解析を行うことによって、血管内皮キメリズムは拒絶のリスクであることが統計的に確認された。

キメリズムと免疫寛容の関連性については 1960 年代から議論されてきた古典的な研究課題である。本研究は、ABO 不適合移植という従来にはなかった新しい腎移植技術が臨床応用に至った現代に、申請者らが開発した新たなキメリズム解析方法を用いることによって、新たな知見をもたらした。その意味において、臨床に還元できる価値ある研究であると認められる。本研究によって導き出された結果は、キメリズムはむしろ寛容の破綻に関連するという、最近同様な成果が報告され始めているものの、従来の概念を覆すものであった。

今までのキメリズム研究においては、性染色体 FISH 法を用いた方法が標準的であるが、その精度については従来より疑問視され、移植成績との関連性は不明な点もある。本研究は、世

界に先駆けて血液型 ABO 抗原をキメリズム解析に用いる新技術を駆使したものであり、高い独創性が認められる。性染色体 FISH 法に比較し、結果が明瞭である点や、性一致移植においても適応可能な利点が認められた。また ABO 型血管内皮細胞キメリズムの有無によって、移植成績との高い関連性が認められ、臨床的に意義のある成果である。さらに、ABO 不適合腎移植は国際的にもわが国で最も実施数が多いことから、本研究は申請者のグループにしか成しえないものである点においても、国際的に極めて独創性が高く、世界をリードする研究であるといえる。今後はこの成果をさらに展開し、ABO 不適合腎移植における拒絶のメカニズム解析へと展開することが期待される。すなわち、キメリズムの存在が拒絶のメカニズム、とくに抗体拒絶にどのようにかかわっているのか、ABO 不適合腎移植において特徴的なアコモデーションという寛容導入のメカニズムとどうかかわっていくのかなど、今後の研究課題は多い。またこのような臨床例での観察をよりメカニスティックな研究へと昇華させるためには動物モデルでの研究の展開も必要であろう。このような研究の展開は ABO 不適合腎移植の成績向上に寄与するものと考えられ、またここから得られる知見は腎移植分野に留まらず、ABO 不適合肝移植などにも貢献するものと期待される。審査員一同は、申請者の研究計画の立案からその実施に至る過程を含め、本研究の成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ申請者が博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと判定した。