

図3. 腎移植数

表. 2002年の腎移植実施症例数

	腎移植件数
生体腎	634 ( 83.9%)
献腎	112 ( 14.8%)
脳死体腎	10 ( 1.3%)
計	756 (100.0%)

関する治療戦略上で、血糖管理の重要性は本邦からも「熊本スタディー」等で報告がある。血糖管理や腎保護薬の重要性が示唆されているが、近年、微量アルブミン尿症の進展抑制に対するアンジオテンシンII受容体拮抗薬 (ARB) の意義 (IRMA), 顕性腎症進展に対するARBの意義 (IDNT, RENAAL) について、また蛋白尿に対してABCD, MARVAL study等で、EBM (evidence based medicine) として示されている。これらの大規模試験はすべて欧米のものであり、日本ではシングルセンターからの小規模な成績は数多く提示されているが、少なくともこの小さな日本から、全国的規模での確かなEBMとしての成績はまだないのが現状である。更に、同腎症に対する食事療法の重要性が示唆されているが、特に蛋白制限食や低蛋白食の意義と有効性については、まだ多くの問題が残されている。最近のMDRD研究においても低蛋白食の有効性については、有意は認められるも marginal effect

であった。

本邦で低蛋白食事療法を積極的に行っているシングルセンターでの成績では、その有効性を報告しているが、ランダムイズ・コントロール試験 (RCT) にて行った臨床成績でないのは残念である。本邦での「米飯を中心にした日本食」による低蛋白食療法の、全国的規模での有意性はまだ証明されていないのが現状である。糖尿病性腎症に対する食事療法は、一定の施設であれば、治療法としてどこでも可能なしかも有効な治療手段でなければならない。また食事療法は、常にそれが適正に行われているかどうか、検証が必要である。本邦で同腎症に対する、一般的でかつ有効な食事療法の開発が望まれる。

糖尿病性腎症の場合、治療方針を誤まれば、5~10年で透析に移行し予後が悪い事が認められている。本邦における糖尿病性腎症に対して、①治療管理(血糖・血圧・食事)が十分でなく、指針達成率が低い為、早期発見・治療が徹底されていない (これは顕性腎症期での糖尿病専門医と腎臓病専門医間での連携 (治療方針を含めた) が不十分な点も考慮する必要がある)。②多彩な病像を呈する臨床病態の十分な解明がされていない。③オーダーメイド医療を含めた進展防止の為の適正に検証された十分な治療指針がない。④高齢者糖尿病 (腎症) への治療管理指針がないなどの問題を抱えている。

これに対して、本腎疾患ネットワークでは、糖尿病患者の自己管理、教育システムのモデルを作成することにより、全国規模での糖尿病性腎症進展予防を目指して、腎疾患患者データベースに新たな分子生物学的パラメータ (collagen IVなど)、食事・栄養管理情報、腎生検病理組織診断、画像診断所見を加えることにより、複雑な腎症病態を解明し、更に疾患感受性・薬剤感受性遺伝子などの情報解析により、糖尿病性腎症進展防止のための適正なオーダーメイド治療が行えるように企画されている。また、動脈硬化性合併症を強く有する高齢者糖尿病および腎症患者の治療および自己管理基準を作成することも目的としている。

## (2) IgA腎症

検尿で糸球体性の持続性顕微鏡的血尿を呈し、蛋白尿、血清IgA高値を示し、腎組織でメサンギウム増殖性変化とメサンギウム領域へのIgA沈着を特徴とするIgA腎症は、わが国のいわゆる「慢性糸球体腎炎」のなかで最も頻度が高い腎炎である。腎生存率は10年で85%、20年で61%と予後不良であることが、厚生省進行性腎障害班研究で明らかになった。しかし、①真の原因・病因が十分解明されていない、②病理・病態が多彩な像を呈し、治療に則した病理診断 (活動性、進行度など) 基準が十分に確立しているとは言えない、③治療法として、ステロイド療法の有効性は認められるも、具体的な適応基準は十分確立されたとは言いがたい (適応、初期量、維持量、期間等)。本邦から、腎保護の観点から、ACE阻害薬+アンジオテンシンII受容体拮抗薬 (ARB) の進展抑制に対しての有効性が、EBMとして報告されるも (cooperate study)、シングルセンターでの報告が多い。その他の治療法として、免疫学的治療法として、免疫抑制薬 (シクロスポリン、MMF (ミコフェノール酸モフェチル) 等) や、扁桃腺摘出術、また非免疫学的治療法として、EPA (eicosapentaenoic acid) 投与や食事療法等の報告があるも、シングルセン

ター報告であり、RCTされていない報告が多く、今後はネットワーク研究として多施設共同のprospective study (RCT) が望まれる。④小児領域では、16歳以後の十分なfollow up体制が組織体として出来上がっていない。従って、腎障害の進展経過が不明な点が多い。

本疾患は新規透析導入者の約5,000人以上を占めることなどの事実から、腎不全予防の観点での確かな病態の把握と進行性の予測、長期的な腎機能保持のための治療法の確立が急がれる重要な疾患と位置づけることができる。本腎疾患ネットワークにおいても、IgA腎症を当面のネットワーク医療と位置づけて、腎生検適応、ネットワーク内での病理組織診断の一元化の体制を図り、腎障害度に応じた共通治療の体制を整えて、腎不全予防のための標準化治療法を作成することを目的とした。

## (3) 腎生検病理診断支援

病理診断の進歩は、組織病型と臨床病態を結びつけ、monoclonal抗体の応用、分子生物学的手法による*in situ* hybridization法の応用で、局所病態が解明されつつある。しかし、近年の臨床病理研究は、分子病理学的方向に向い、臨床現場に還元できる病理学の、特に臨床腎病理への指向が薄れていると危惧を感じざるを得ない。

腎臓病診断の基本である腎生検病理診断においては、①腎生検材料の処理と診断には専門性が求められるにもかかわらず腎病理専門医が不足している、②定性診断が主で、治療法選択のための活動性 (activity index) や予後規定の進行度 (staging) 情報など、病情報が十分活用されていない、③臨床データの推移、治療法と効果、病理像の検討など病理医と臨床医の連携が不足している、④地域の偏りなどのため、十分な症例が集まらず統計解析ができない、などの問題が指摘されている。

本腎疾患ネットワーク参加12施設においても、腎病理専門医は2名と少なく、他施設は商用検査センターまたは大学病院など関連施設におい

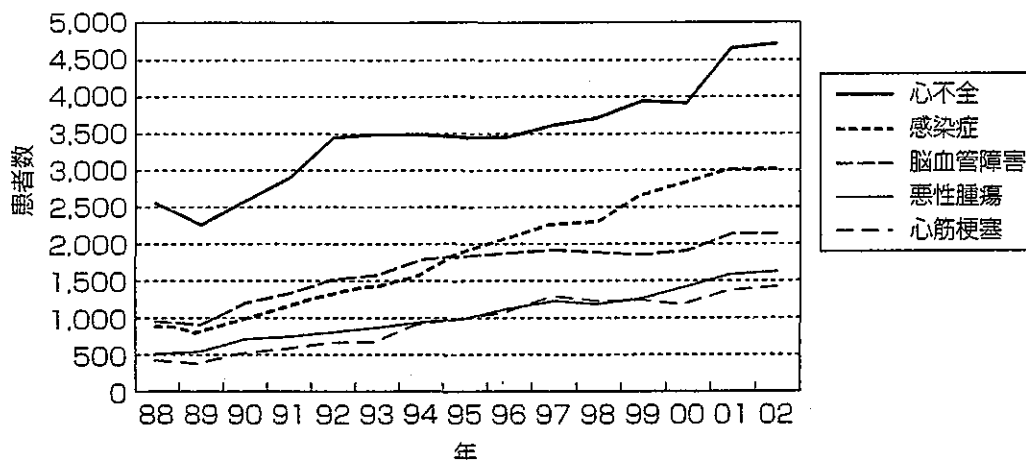


図4. 透析患者死因推移

て標本作製あるいは診断支援を受けている。千葉東病院では、委託業務として顕微鏡用染色(HE, PAS, PAM, Massonなど)・蛍光抗体・電顕までの腎病理標本作製, 治療法選択を含めた病理診断支援, 臨床病理診断の技術を身につけさせる教育研修を行っている。今後は、ネットワーク上に構築した腎病理カンファレンスシステムをも活用して腎病理の標準化にむけた診断支援を推進してゆく。

## 2) 腎不全医療の現状と問題点

治療の効なく、末期腎不全になった患者に対しては、透析療法や腎移植(臍・腎移植)療法がオプションとしてある。

### (1) 透析療法

慢性維持透析人口の増加とともに、医療費の抑制が打ち出され、患者の自立と在宅医療技術の開発が求められている。10年以上の透析患者が25%以上を占めるようになり、高齢化とともにリスクの高い糖尿病性腎不全による透析導入の増加、またその合併症の増加は、顕著であり、それらによる死亡者数は年々増加し、19,077名(2002年)に達している。死因は心不全; 25.1%, 感染症; 15.9%, 脳血管障害; 11.2%, 悪性腫瘍; 8.5%, 心筋梗塞; 7.4%の順である(図4)。このような状況の中で、ネットワーク機能を活用しデータベース構築により、①CAPD(continuous am-

bulatory peritoneal dialysis) 療法主体の安全で効率的な在宅透析療法の開発、②心・血管系障害、透析骨症、悪性腫瘍に対する診断・治療法の対策、③ハイリスクに対する低侵襲性内視鏡的手術法の導入などを行い、情報発信を目指す。

### (2) 腎移植

最近の移植領域の進歩は、①免疫抑制薬の開発にある。タクロリムス(FK506), MMF(ミコフェノール酸モフェチル), シロリムス(ラパマイシン), 抗IL-2レセプター抗体(抗CD25抗体), グスペリウムヒドロクロライド(DSG), 抗CD3モノクローナル抗体(OKT3)等の開発である。一方このような強力な免疫多剤併用療法による、ウイルス感染症(CMV(cytomegalo virus), ポリオーマ・ウイルス等)が新たな問題として出てきた。②生体腎移植ドナーのQOLを高める目的で、内視鏡下での腎摘出術の導入③更に、HLA(human leukocyte antigen)の血清学的検査から、class I(A/B抗原), class II(DR抗原)のDNA検査による精度向上が上げられる。

このような進歩により、短期成績は良好となるも、10年以上の生着率は50%以下であり、慢性移植腎障害(CAN)の問題が残っており、その診断と治療法開発が残されている。ネットワークによるデータベース構築により解決が期待される。

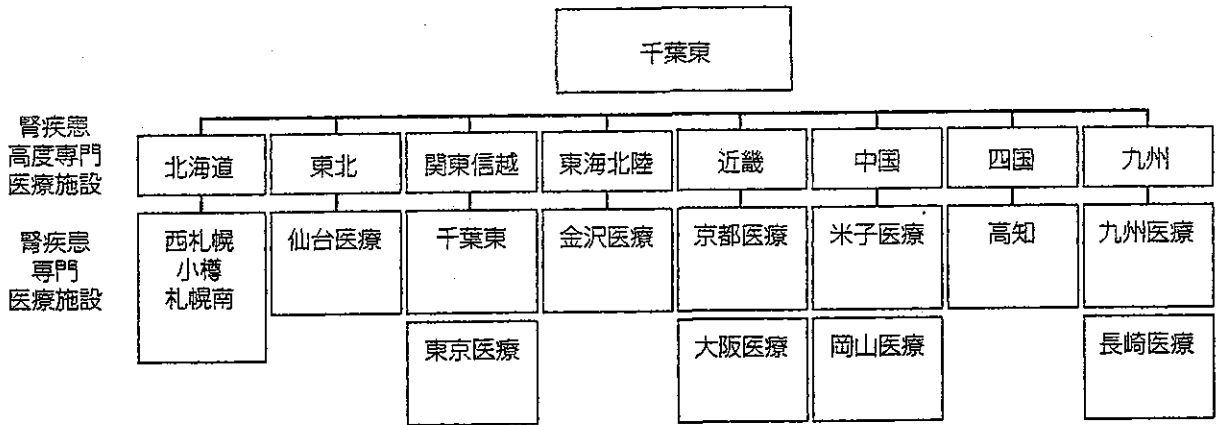


図5. 腎疾患ネットワーク病院構成

## 2. 腎疾患ネットワーク活動とデータベースの実際

1) 国立病院・療養所腎ネットワーク組織構成  
国立千葉東病院（高度専門医療施設）を中心に、11 専門医療施設より構成される（図5）。

### 2) 腎疾患患者のデータベース登録

腎疾患患者の病理診断，検査データ，使用薬剤，合併症，予後などの診断情報を登録し，各患者について時系列で可視化し，病名・病期・性別・年齢・治療などの条件で検索して統計解析可能な治療支援環境を構築した。

プログラムはファイルメーカーPro5 を用いて開発，基本仕様は①スタンドアローン型，データの集約はサーバにて全データを保管，②経過情報は診療ごとに入力することを基本，③蓄積されたデータを患者サービスのためのグラフ作成用としてcsv出力，エクセルを起動可能とし，グラフなどの細部設定はユーザーが行い，④蓄積されたデータを研究用として分野指定して個人名は出力しないでファイルメーカーPro5 で見ることのできる形式で出力，などである。

データ項目は腎疾患において共通に必要な部分と各腎疾患で特異的に必要とする部分に分類して，患者基本情報・一般的な初診時情報などから構成される患者基本情報ファイル，臨

床医が診療時に処方された薬剤の推移，検査値の推移などを把握し，治療方針・効果の分析を可能とする環境を提供する経過情報ファイル，経過情報に含まれない腎疾患に関する詳細情報を含む固有情報で構成されている（図6，7）。

### 3) 腎病理カンファレンスシステム

腎病理診断の支援と標準化を目的に，腎ネットワーク参加施設をコンピューターネットワークにて接続して，掲示板式のカンファレンスシステムに画像付き症例を登録し，コメントを追加するシステムになっている。

仕様は，①画像ファイリング管理システムMulti Modality Maneger (M.M.M)を採用し，Netscapeなどの標準的なWebブラウザによってシステムを構築，②コンピューターネットに接続されたパソコンならどこでもデータの参照とカンファレンスを可能とし，③登録症例は，コンピューターネット上の保守管理センター（国立国際医療センター内）設置の腎病理カンファレンスサーバ上で管理・公開，などとなっている。

画面構成は，症例に添付された画像の一覧を表示するサムネイル表示部，腎症例カンファレンスシステムへ登録する際，付加した症例の概要（臨床経過，検査データなど），コメントなどのテキスト情報を表示する症例情報表示部，症例に対するコメント交換を一覧表示する症例コメント表示部，の3部から構成される（図8）。

システムの概要

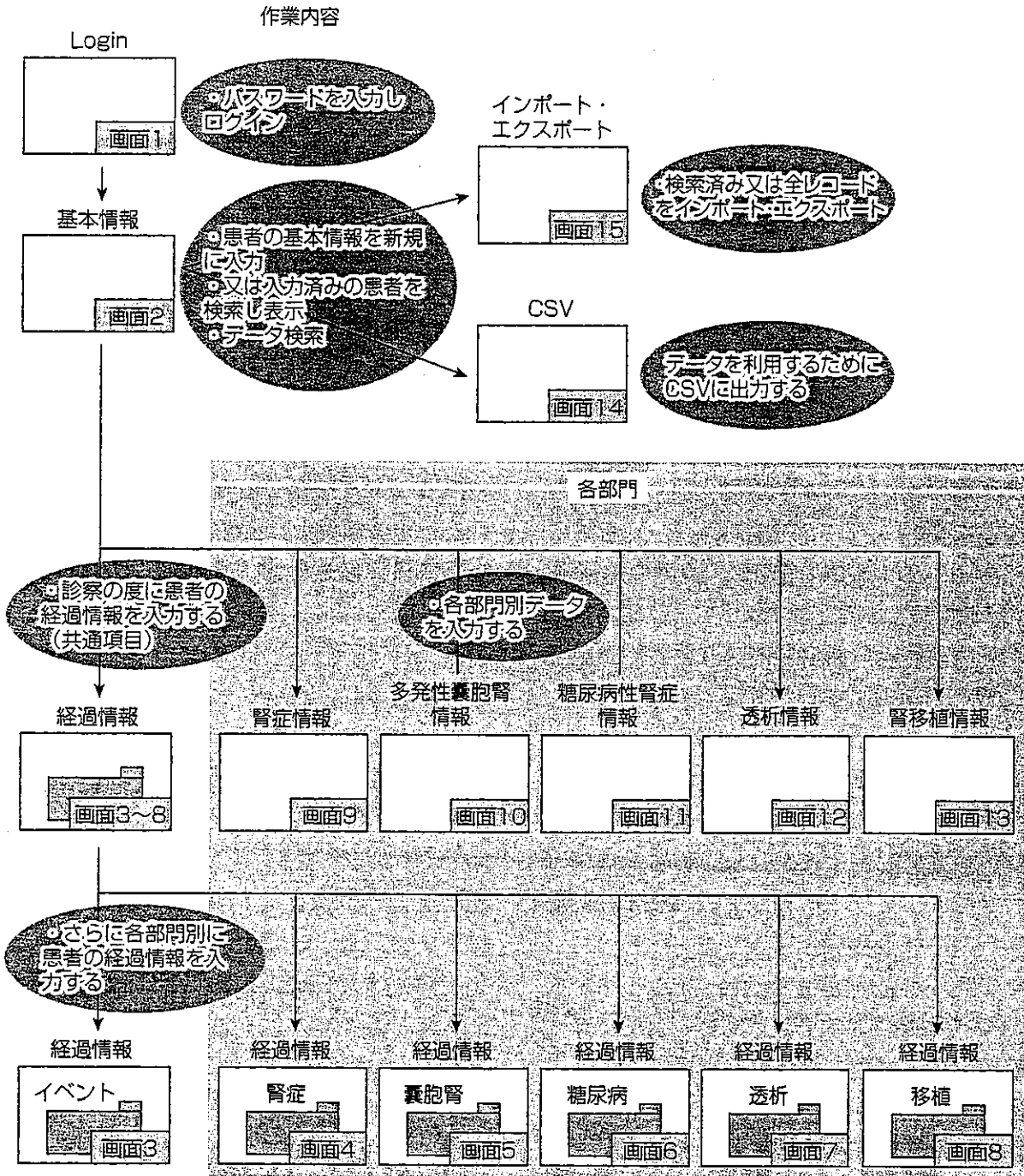


図6. 腎疾患データベースの基本構築

本システムは、腎生検病理診断の精度管理、腎症の障害度と進行度をスコア化して病勢のステージ化を図る標準化、稀症例の呈示などを主治医、専門医、病理医とが情報交換を可能とする点が特徴である。

3. 現在まで腎ネットワーク活動による成果

1) 糖尿病性腎症データベースと生活習慣因子と遺伝因子の解明

国立病院・療養所 72 施設が参加して共通プロ

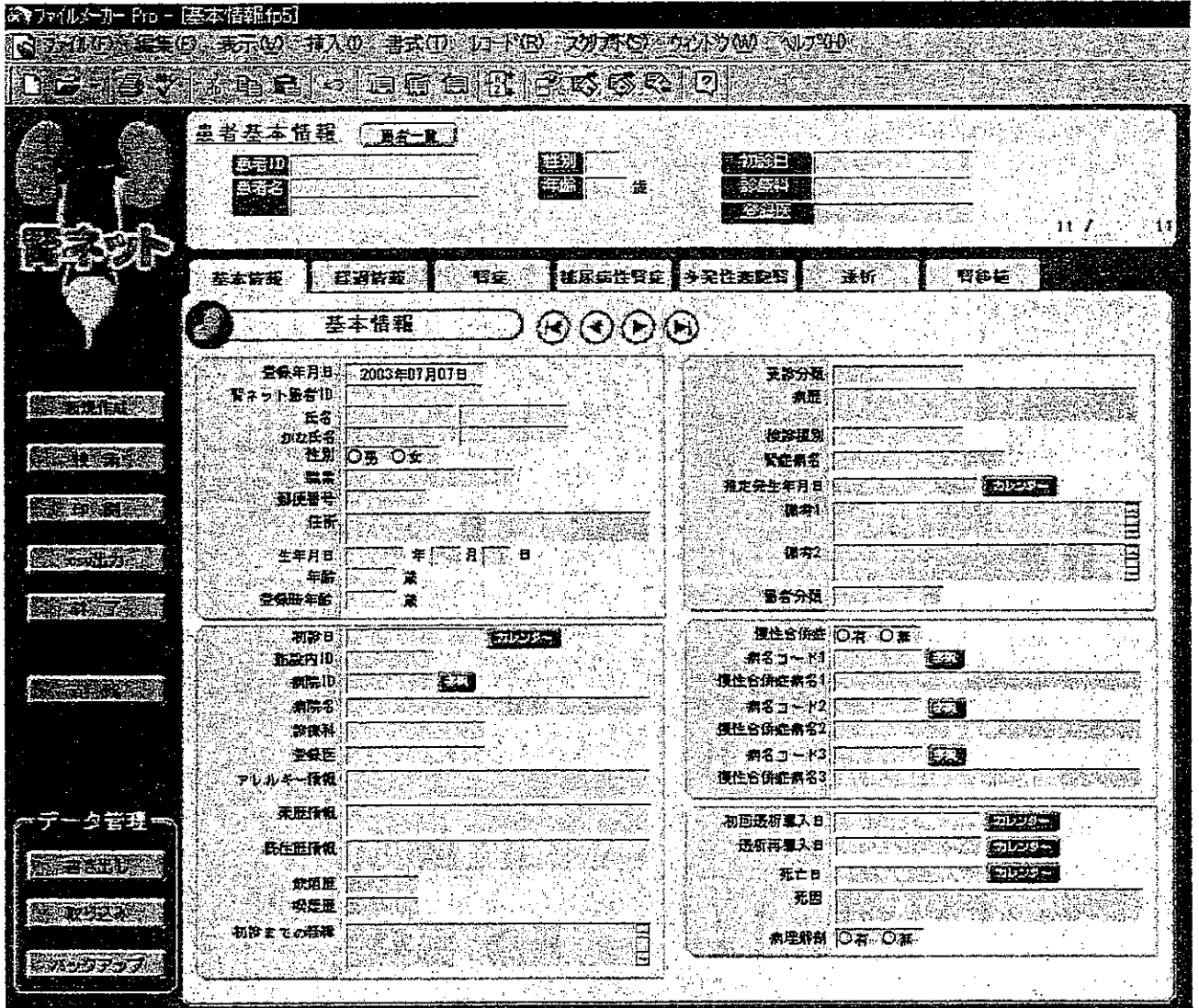


図7. 腎疾患データベースの例示

トコールによるデータベース構築を行い, II型糖尿病症例が218例(8年以上の糖尿病罹病期間を認める65歳以下の, 血清Cr<2.0mg/dlであり, 糖尿病性網膜症(SDR以上)を有し, かつ文書同意を得た症例), 正常アルブミン尿群; 86例, 微量アルブミン尿群; 63例, 顕性腎症群; 69例が登録された. 生活環境と遺伝子の両面からの解析による糖尿病性顕性腎症の病態特性として, ①HbA1c $\geq$ 8.0%の不適切な血糖管理状況が3.9倍②高血圧(>130/85mmHg)の存在が9.9倍③dyslipidemia(量的・質的脂質代謝異常)が3.4~4.8倍④凝固系異常が5.9倍相対的に高く存在した. また, 食事・栄養摂取の調査からある

種のアミノ酸(プロリン等)の摂取が腎機能と関連があり, また黄緑色野菜等に含用される抗酸化作用のあるビタミン摂取が腎症進展群で少ないことが明らかになった. かかるデータから, 現在の医療レベルでも, 判明した糖尿病性腎症の病態特性にintensiveに介入すれば, 進展を抑制できる可能性と期待が見いだされた.

2) IgA腎症における腎組織病変のスコア化と治療指針作成に関する研究

腎生検でIgA腎症と診断され, 採取糸球体8個以上, 腎生検後観察期間2年以上の305例を対象に, 腎組織病変をメサンギウム細胞増殖, 管内マイクロファージ浸潤, 細胞性・線維細胞性

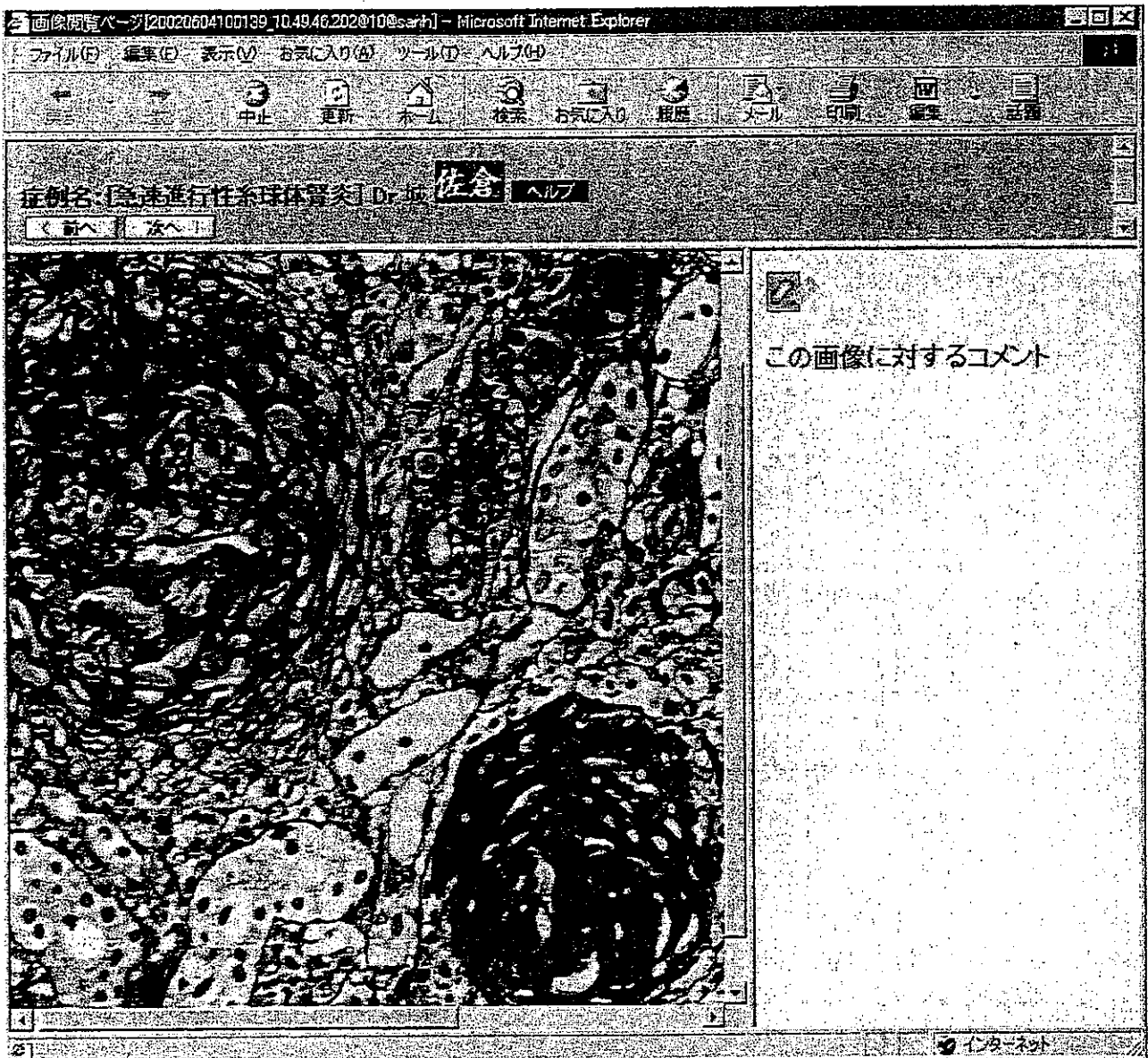


図8. 腎病理カンファレンスシステムの例示

半月体形成，及び間質リンパ球浸潤などの活動性と糸球体球状硬化，分節状硬化，線維性半月体・癒着，尿細管間質障害などの進行度を数量化 (activity index ; AI, chronocity index ; CI) し，1日尿タンパク量 (UP) を加えた3要素からステロイド療法による予後改善効果を検討した。その結果，① CIが5点以上の群はステロイドの有無による有意差はなく，② CI 5点未満・AI 5点未満・UP 1g未満の群ではステロイド療法の有効性は6%と低く，③ CI 5点未満・AI 5点以上/UP 1g以上の群ではステロイドにより有

意な尿タンパク減少が認められ，有効性が92%に認められた。腎ネットワークでは腎組織病変のスコア化とUPの3要素からステロイド療法を判断する検討を行っている。

### 3) 腎移植データベースと慢性拒絶の病態解明及び治療法の研究

腎移植例のほぼ全例を網羅する457症例のデータを充実させ，診療と臨床研究に用いるネットワークを構築した。病理学的解析ではシクロスポリン腎毒性が1カ月以内，急性拒絶反応は1年未満，慢性拒絶反応，IgA腎症など再発，移植

糸球体症は1年以上の経過にみられる傾向が示された。遺伝子解析では血圧制御に関係あるACEと慢性炎症や線維化などに関連するTGF- $\beta$ 1(tumor growth factor- $\beta$ 1)の遺伝子多型の偏在が、腎機能悪化群で認められた。データベース活用を通して、慢性移植腎障害の病態を解明すべく検討が開始されている。

## まとめ

わが国は未曾有の高齢化社会を迎え、特に糖尿病、腎硬化症といった高齢者の腎不全予備軍が増大しつつある。透析患者は20万人を越え、10年以上透析者が25%を占めるにいたり、長期透析合併症の増加も顕著であるが、腎移植は低迷を続け、わが国の腎不全医療は医学的、社会的、経済的にも深刻な問題を抱えている。一次性・二次性腎炎・腎症の早期発見・早期治療に努め、活動性を抑制し、進展にかかわる進行因子を阻止する長期的管理が求められているにもかかわらず、有意なEBMが欠落している。本ネッ

トワークは、国立病院・療養所をあげて組織的に構築されたが、このようなネットワークを構成し、支えていくのはあくまでもネットワーク参加の医療人である。これを機会に関係者が一致協力してこれまでなし得なかった課題に挑戦して、医療成果を挙げることを期待したい。

## 文 献

- 1) 日本透析医学会統計調査委員会：わが国の慢性透析療法の現況(2002)。
- 2) 日本移植学会：腎移植臨床登録集計報告(2003)-1 2002年腎移植件数報告。移植 38(2):137-142。
- 3) 厚生科学研究：医療技術評価総合研究事業「腎不全予防治療指針作成のためのネットワーク利用による医療情報の開発に関する研究」(主任研究者 柏原英彦)1998-2000 報告書。
- 4) 厚生科学研究：健康科学総合研究事業「全国規模ネットワークシステムでの患者登録による糖尿病性腎症の解析と腎症進展阻止指針作成の為に体制整備に関する研究」(主任研究者 山田研一) 1998-2000 報告書。
- 5) 厚生労働科学研究：効果的医療技術の確立推進臨床研究事業「難治性腎疾患の進展抑制のための新たな指標作成とそれに基づく治療指針作成に関する研究」(主任研究者 山田研一) 2001-2002 報告書。



## 臓器移植と分子病理学

城 謙 輔<sup>1</sup>, 山田 研一<sup>2</sup>

<sup>1</sup>国立千葉東病院臨床研究センター免疫病理研究部, <sup>2</sup>同病態機能研究部

### I. はじめに

ヒトの臓器移植においては、いろいろな機序で移植された臓器は障害を受ける。免疫学的には拒絶反応であり、血管、胆管、尿管などの管腔の狭窄、血栓、縫合不全、阻血・灌流障害による細胞変性、さらに細菌、真菌、ウイルスによる感染症、薬剤中毒、原病の再発などと病態は多方面にわたる。その中で、分子病理学には、主として拒絶反応の診断と予後予測の分野で大きな期待が寄せられている。拒絶反応は基本的には血管-間質系の反応であり、その機序は液性免疫と細胞性免疫に大別される。前者は超急性、急性促進性、急性液性拒絶に、そして後者は急性細胞性拒絶と慢性拒絶に関係する。特に慢性拒絶反応には免疫学的機序の他に、動脈の狭窄による虚血性障害や薬剤毒性の機序も関係するが、急性拒絶が繰り返し発症し、慢性拒絶に至る機序が重要な予後不良因子であることには変わりない。急性拒絶の診断の遅れが拒絶反応の進展を受け入れ、非可逆的な慢性拒絶を誘導してしまう<sup>1)</sup>。

拒絶の診断は生検を gold standard としている。生検には、術中生検、移植臓器の機能状態に関係なく計画的に実施される定期生検 (protocol biopsy)、移植臓器の機能低下あるいは何らかの異常が現れてから実施される偶発生検 (episode biopsy)、そして退院時生検がある。また、subclinical rejection といわれ、臨床的に機能障害がなくとも定期生検により拒絶反応が見出されることがあり、その際には免疫抑制剤の増量が考慮される。そのため、生検の時期を逃すと治療の機会を逸することになる。これらのことから、患者の負担や危険を伴わず、より簡便かつ頻回にでき、診断の

感度が高く、拒絶反応に特異性をもった分子病理学的検査法が望まれている。

この総説では、拒絶反応の診断、短期的予知、そして長期的な予後の予測に分子病理学がどの程度まで実用化されているかを腎移植を中心にまとめてみた。

### II. 臓器生検の限界と分子病理学の必要性

臓器生検が、移植拒絶反応の診断、治療、予後予測、疾患の理解の面で主役を演じてきたが、生検には以下の限界が指摘されている。第1に、形態はいくつかの病態に対応しているため、組織診断にあたって形態学的状況証拠を提示し、鑑別診断をあげ、臨床データとつきあわせて疾患や病態を診断してきた。特に、移植病理はその特徴として、機序的にも時間的にも異なったいろいろな病態が生検の形態に折り畳まれているため、生検の時期や治療歴、その他の臨床データから、織り込まれた形態像を解きほぐすことが必要となる。その点で、拒絶に特異性の高い補助的診断が求められている。第2に、生検は拒絶の結果を診断するだけで拒絶反応の予測ができない。急性拒絶の発症を未然に予測しその発症を抑えることが、長期的観点での慢性拒絶への進展を予防し、また遅らせることができる。第3に、頻回の生検は患者に負担がかかるばかりでなく、ごく限られた領域から採取されるためサンプル・バイアスがかかる。陽性所見が発見できれば拒絶の診断が可能となるが、陰性の場合には false negative を絶えず考慮しなければならない。

以上の生検の限界を踏まえて、分子病理学に期待されていることは、拒絶反応の診断と予測において、患者に負担を与えず (non-invasive)、特異性 (specificity)

と感度 (sensitivity) の高い補助的役割を果たすことである。移植臓器の機能障害が生検における炎症反応に対応するが、炎症反応、主としてリンパ球浸潤が組織内に出現する前に、臓器には免疫学的な準備状態が起こる。すなわち、サイトカイン、接着因子、T細胞の共刺激因子 (costimulatory factor)、アポトーシス関連蛋白などの組織内発現が炎症細胞浸潤に先行するといわれる。それらを分子病理学的に組織内 (intra-graft) で証明することができれば、急性拒絶発症の予知につながる。一方、患者に侵襲的な生検を頻回に行うことなしに、拒絶反応を末梢血液中のリンパ球や尿から感知できる手法があれば、拒絶をモニターし、その進展を把握することもできる。

### III. これまでの臓器移植に関する分子病理学の歩み

分子病理学的手法は多方面にわたる。組織切片上の *in situ* hybridization (ISH), *in situ* PCR や mRNA ISH 法による分子形態学的診断, FISH 法による染色体異常の解析, PCR による感染症の診断などが挙げられる。さらに、臓器移植後の拒絶に関する免疫学的なモニタリングは、移植患者の血液細胞、移植臓器からの逸脱酵素、血清や尿中の免疫関連蛋白を標的として、種々の抗体を用いて、ELISA, flow cytometry あるいは免疫組織化学的手法により行ってきた。しかし最近では、より再現性が高く安定な RT-PCR (reverse transcription-polymerase chain reaction) を用いて、移植臓器、血液、尿中の mRNA の発現を半定量的に調べる手法が主流をなしている。

RT-PCR を用いた戦略としては、第1に、免疫学的知識からあらかじめ候補となる遺伝子を想定して、その数種の候補遺伝子に関して、それぞれの mRNA から RT-PCR により cDNA を増幅して、半定量的に発現量を測定し、拒絶反応のマーカーとして最も信頼性のあるコンビネーションを探り当てる方法である。第2の方法としては、検体内の mRNA から RT-PCR により cDNA を増幅産生し、発現している遺伝子群を microarray により網羅的に調べ、対照群の非拒絶臓器での発現と比較することにより、拒絶症例に特異的な遺伝子発現をパターン認識するものである。検索対象は移植臓器片で行うのが信頼性が高いが、末梢血中の単核球や尿、胆汁、肺内洗浄液で行うこともある。

腎移植の分野では、Strom TB (Harvard Medical School) と Suthanthiran M (Cornell Medical Center) の功績が分子病理学と臓器移植の実践を大幅に

結びつけた<sup>2,3)</sup>。その歴史をたどることが、この分野の理解に最も適していると思う。彼らは pyogenic pro-inflammatory cytokine の解析から始めた。移植片における IL-1 (interleukin-1), TNF $\alpha$  (tumor necrosis factor $\alpha$ ), そして、IL-6 について semiquantitative RT-PCR (QRT-PCR) を用いて、移植腎組織における mRNA の発現量を調べたが、再現性のある結果が得られなかった。さらに、IL-2 や IFN $\gamma$  などのサイトカインについても同様に調べたが成果が得られなかった。特に、Th1 型リンパ球関連のサイトカインについては、あらかじめ治療で投与される calcineurin inhibitor をはじめとした免疫抑制剤の影響が強く、その結果として、false negative の症例数が true positive の症例を上回ったため実用に供しないことがわかった<sup>4-5)</sup>。

その後、cytotoxic T lymphocyte (CTL) effector molecule に着目した<sup>6)</sup>。CTL に内在する serine proteinase である granzyme B と perforin は、従来、CTL による細胞融解性機構に関与するといわれ、免疫組織化学的には granzyme A, B が急性拒絶反応症例の尿細管上皮に浸潤するリンパ球に多く発現するという報告があった<sup>7)</sup>。また、この分子は急性拒絶反応に特異性が高く、尿細管間質の炎症の強さとは相関しないものの、移植拒絶腎以外の間質炎の症例では発現がなかったという<sup>8)</sup>。Fas ligand (FasL) は活性化 T 細胞の表面に表出し、Fas を表出している細胞にアポトーシスを誘導するため、granzyme B や perforin とともに CTL effector molecule のひとつとされている<sup>9)</sup>。これらの分子の mRNA 発現は、CTL の活性化相 (activating phase) に著明に発現し、休止期 (resting phase) には発現が起こらないことから、2値 (black and white) 的な捉え方が可能で、その点で検出の感度 (sensitivity) を上げることができたこと、そして、CTL 以外の腎実質組織によって発現されないことの原因から急性拒絶に対する特異性 (specificity) も高い結果となった<sup>9,10)</sup>。これらの成果は腎生検材料を用いることによって得られたが、さらに非侵襲性と簡便性の観点から、末梢リンパ球や尿沈渣の転写について同様に解析する方向に向かっている。

mRNA から cDNA を RT-PCR で増幅する段階で定量性を持たせることでも工夫が見られる。すなわち、glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) などのもともと腎組織に内在して発現する遺伝子 (constitutively expressed gene) に着目し、

その単位あたりの granzyme B の cDNA 量を調べることで、個体間でのばらつきを標準化することができた。通常、mRNA の増幅には 10  $\mu$ g の total RNA が 500 ng の mRNA が必要とされるが、RNA の抽出法の最近の進歩も手伝って針生検材料でも実用が可能となった<sup>11)</sup>。上記の CTL の serine proteinase の再現性の他に、IL-10、IL-7、IL-15 などのサイトカイン、T cell receptor の constant region も再現性が高く実用性のある指標であることがわかった<sup>3-5)</sup>。

以上の経緯を踏まえて、以下、分子病理学がどの程度生検の役割を補足しているかを概説する(図1)。

#### IV. 組織生検を用いた拒絶反応における mRNA の発現

急性拒絶腎において、活性化 CD3<sup>+</sup> cytotoxic T cell や CD56<sup>+</sup> natural killer cell (NK cell) の顆粒に含まれる cytotoxic effector molecule である perforin, granzyme B, FasL は、腎から組織を採取し RT-PCR にて mRNA を定量化した結果、軽度の炎症細胞浸潤を認める症例においても specificity, sensitivity とともに 100% の信頼性があった<sup>5)</sup>。しかし、上記の cytotoxic marker の発現の上昇は、血清クレアチニンの最大値やバンフ分類における rejection grade と相関はなかった<sup>12)</sup>。一方、治療抵抗性の急性拒絶症例 (7 例) において、治療に反応した症例 (8 例) に比して FasL だけが有意に発現が上昇していたため、治療抵抗性の指

標になる可能性がある<sup>12)</sup>。granzyme B, perforin, IL-2, IL-4, IL-10, IFN $\gamma$  のうち granzyme B, IL-10, そして IL-2 が急性拒絶反応と関連したが<sup>13)</sup>、IL-2, IL-4, IFN $\gamma$  は急性拒絶症例においても検出率が悪く、最近の免疫抑制治療の IL-2 と IFN $\gamma$  に対する有効な治療のためだとしている<sup>5)</sup>。その他、IL-7 や IL-15 も急性拒絶に発現していたが、RANTES と IL-8 は sensitive であるものの、急性拒絶に specificity の低いマーカーといわれる<sup>5)</sup>。患者の負担の軽い吸引細胞 (fine needle aspirates) を用いた研究では、移植後 10 日間に連続して IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IFN $\gamma$  についての mRNA の発現を追跡した結果、最初の 4 日間では IL-10 のみが亢進し、その後、腎機能の低下症例、非低下症例にかかわらず、IL-2 と IFN $\gamma$  が炎症細胞浸潤に先行して亢進していた<sup>14)</sup>。一方、光顕的に拒絶反応のない症例においては、IL-2 か IFN $\gamma$  のどちらかしか検出されなかった<sup>14)</sup>。心臓移植においても、拒絶の程度や機能の低下に相関する mRNA として、granzyme A が挙げられている<sup>15)</sup>。また、IL-2 receptor, IL-1  $\beta$ , TNF $\alpha$  の mRNA の発現がステロイド反応性の症例で、ステロイド抵抗性の症例より有意に低値であったため、ステロイド反応の指標になるという報告もある<sup>16)</sup>。

一方、慢性拒絶に TGF $\beta$ 1 が相関するという点では諸家の文献は一致している<sup>5,12,17)</sup>。non-heart beated donor (心停止ドナー) は heart-beated donor (脳死ドナー) に比して、虚血障害からくる腎機能回復の遅延が高頻度であるにもかかわらず、心停止ドナーと脳死ドナーの間で、少なくとも移植後 1 週間目には糸球体内の線維化関連遺伝子に関する mRNA の発現には差がなかった<sup>18)</sup>。また、急性拒絶腎の糸球体にも同様な線維化関連遺伝子 (collagen III, collagen IV, MMP-2, TIMP-1, TIMP-2, tenascin) の発現はなかった<sup>19)</sup>。その他のサイトカインに関しては心移植での成果がある。bFGF (basic fibroblast growth factor) の mRNA が移植後第 1 週以内に発現した場合に、移植後 1 年以内に拒絶反応が起きる可能性が高い<sup>20)</sup>。また、AIF-1 (allograft inflammatory factor 1) の mRNA が発現すると、allograft vasculopathy になる確率が高いといわれる<sup>21)</sup>。

腎機能が正常で、腎生検でバンフ分類の急性拒絶か、あるいは境界領域変化 (Borderline changes) を認める症例は、subclinical rejection といわれるが、この拒絶の適切な診断も分子病理的手法によりなされて

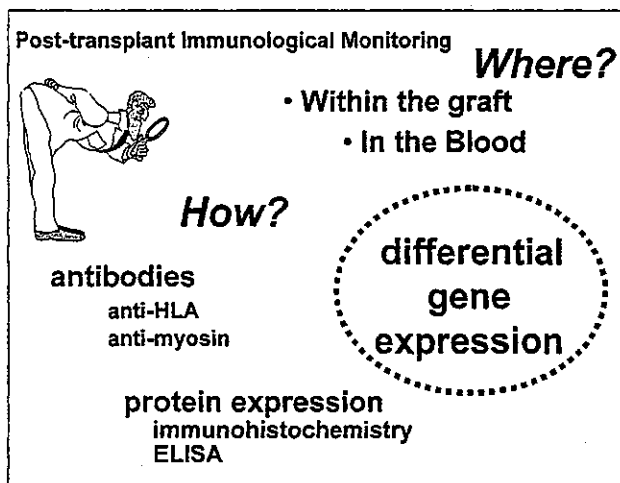


図1 第7回 Banff 会議において、Dr. M. Gerbase de Lima の講演に使用されたスライドの1枚<sup>31)</sup>。テーマは“心臓移植における分子病理”であったが、ストーリー性のある内容であった。本稿もその講演を参考にしている。

いる。Lipmanらは症例を、正常、borderline sub-clinical rejection, acute subclinical rejectionに分けて、TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , TGF $\beta$ , IFN $\gamma$ , IL-2, IL-4, IL-10, IL-15のサイトカインに対するmRNAの発現を定量的に調べたところ、acute subclinical rejectionと正常症例では明らかな差があり、borderline sub-clinical rejectionはその中間であったことを報告している<sup>22)</sup>。そして、subclinical rejectionの症例は長期間における腎機能に障害性に関連するため、治療を考慮すべき対象としている<sup>22)</sup>。

急性拒絶反応の発症の予知に関して、granzyme B, perforin, FasLは組織にリンパ球が浸潤する前の時期、すなわち、腎機能と形態像が正常な時期から、mRNAの転写が始まるといわれる (pro-inflammatory gene transcript)。心生検標本を、急性拒絶のない時期、急性拒絶の始まる7~15日前の時期、拒絶の始まりから7~15日の時期に分け、そのCD40L, IFN $\gamma$ , FasLのmRNAを比較すると、拒絶の始まる7~15日前の時期からこれらのcytotoxic effector moleculesのmRNAが増強していることがわかり、急性拒絶発症の予知が可能であった<sup>23)</sup>。また、Tリンパ球の共刺激因子 (costimulatory factor) のひとつであるT-cell immune response cDNA 7 (TIRC7) が心移植組織において上昇し、末梢血中の単核球において減少することも急性拒絶発症の予知につながるという<sup>24)</sup>。

急性拒絶反応における接着因子の研究では、ICAM1とVCAM-1のmRNAの発現が拒絶反応と関係している。ICAM1とVCAM-1は正常と移植腎においてほぼ相補的な分布を示すが、急性拒絶の筋性小動脈の内皮にもmRNAの発現を認め、また、細動脈の血管拒絶を認める症例では血管壁の平滑筋細胞にもICAM1とVCAM-1のmRNAが発現することを *in situ* hybridizationにより証明している<sup>25)</sup>。

#### V. 末梢リンパ球、尿を用いた拒絶反応におけるmRNAの発現

末梢血の単核球を用いて急性拒絶に関するmRNAの発現を調べることは、生検に比して非侵襲的で、頻回に施行できることから、より理想的な分子病理学的手法といえる。しかし現在は、より多くの証拠を集積している段階である。腎移植においては、急性拒絶症例の末梢リンパ球にgranzyme B, perforin, FasLのmRNAが増強していた<sup>26)</sup>。また、末梢のCD4<sup>+</sup>T細胞におけるCD40 ligand (CD40L) 遺伝子のmRNA

発現を、非移植対照腎、急性・慢性拒絶腎、移植腎で腎機能の正常な症例の3群において比較したところ、急性拒絶のBanff 97 scoreと傍尿細管毛細血管病変の程度に相関していたという<sup>27)</sup>。さらに、CD40L遺伝子のmRNA発現は末梢CD4<sup>+</sup>T細胞に対するCsAやFK506の *in vitro* での反応性のよい指標になったという<sup>27)</sup>。末梢リンパ球でのFasL mRNAの発現が慢性拒絶腎に亢進し、それによって誘導されたアポトーシスが慢性拒絶腎の組織障害に関与するとの報告もある<sup>8)</sup>。尿中に排出された細胞を用いた研究では、perforinとgranzyme BのmRNAの発現を定量的に測定してcut off値を決め、急性拒絶腎の診断が可能であったという報告がある<sup>28)</sup>。また、尿中のBKウイルス感染の診断にBKVP1に対するmRNAの検出が有効であった<sup>29)</sup>。急性拒絶と急性尿路系感染との区別を尿中に排出された細胞から調べると、granzyme B mRNAの発現によって鑑別診断が可能であったという報告がある<sup>30)</sup>。心移植の急性拒絶に関しても、末梢リンパ球のperforin, granzyme B, IFN $\gamma$ のmRNA発現の亢進とIL-8, TNF $\alpha$  mRNAの発現が低下する結果が出ている<sup>31)</sup>。mRNAの増幅による手法ではないが、mass spectrometryを用いて、急性拒絶腎に特異的な尿蛋白出現パターンを同定して診断に役立てている論文も見られる<sup>32)</sup>。

#### VI. cDNA microarray analysis

移植臓器組織に発現しているすべてのmRNAに着目し、RT-PCRにより対応するcDNAを増幅し、それをすでにわかっている既存の多種のoligonucleotideによる遺伝子チップに反応させ、疾患固有のパターン (finger print)を見ようとするDNA microarray法も有効な手段である<sup>33,34)</sup>。cDNA microarray analysis (technology) はbioinformaticsの発達とともに実用面に大きく近づいた<sup>35)</sup>。すなわち、cluster analysis (hierarchical cluster analysis) やself organizing mapsの作製、そしてprinciple component analysisなどが可能となり、これまでの個々の遺伝子mRNA発現の解析では不可能であった急性拒絶や慢性拒絶における亜型の診断を可能としている。

Sarwalらは、67症例の腎移植症例の腎生検材料を用いて、cluster解析を併用してcDNA microarray analysisを行い、腎生検、臨床経過、治療反応と対応させたところ、急性拒絶型、薬物中毒型、慢性拒絶型、正常型の4つ群に分けることができた。さらに、急性

拒絶群は免疫活性化と細胞増殖に関する遺伝子群により3つの亜型に分けられた。そして、その中の1つの亜型がCD20<sup>+</sup> B細胞の浸潤がある症例群で、臨床的にステロイド抵抗性で移植腎機能廃絶に相関したという興味ある結果が得られている<sup>36)</sup>。high-density oligoarray (GeneChip, Affymetrix, Santa Clara, CA)を用いた研究では、6800のヒト遺伝子中32から219の間の遺伝子が拒絶のない対照群に対して4倍以上の高値を示した。すなわち、7例中7例全例にmRNAの発現の亢進した遺伝子として、INF $\gamma$ に誘導されたmonokine, T-cell receptor active  $\beta$  chain protein, interleukin-2 stimulated phosphoprotein, そして、RING4 (a transporter involved in antigen presentation)の4つが挙げられ、7例中6例にmRNAの亢進していた遺伝子としては、interferon-stimulated growth factor-3, complement factor 3, nicotine amide N-methyltransferase, macrophage inflammatory protein-3 $\beta$ , myeloid differentiation protein, そして、CD18が挙げられた。この遺伝子チップを使用する限り、以前から報告のあるcytotoxic T-cell effector分子の亢進はなかったという<sup>37)</sup>。

慢性拒絶症例に関しては、移植後6カ月と12カ月とを比較し、移植後12カ月目に慢性拒絶に進展した症例に10個の遺伝子セットが関係し、それにより6カ月後の予後が予測できたという報告がある<sup>38)</sup>。また、慢性拒絶、嚢胞腎末期、正常腎の症例において、7KヒトcDNA microarrayを用いて解析した結果、細胞代謝、輸送、シグナル、翻訳活性、接着、免疫反応に関する571遺伝子のヒエラルキー・クラスター解析で上記の3つの疾患を鑑別することができた<sup>39)</sup>。そして、慢性拒絶群においては2つの異なった亜型(subset)のheterogeneityが見いだされた<sup>39)</sup>。末梢血の単核球を用いたmicroarrayの仕事はわずかであるが、長期生着症例の末梢リンパ球を解析した研究<sup>40)</sup>も始めている。

以上、cDNA microarrayを用いた臓器移植の研究は、光顕診断では区別がつかない急性拒絶や慢性拒絶の亜型を鑑別し、予後の予測や発症の予知に貢献する可能性がある。

## VII. microdissection法の応用

腎臓は形態的にも機能的にも高度に分化した臓器で、糸球体と間質尿細管で、構成細胞も機能も大きく分かれている。そのため、遺伝子発現の解析のために

採取された腎組織における細胞のheterogeneityが研究成果の再現性に障害となる可能性がある。その観点から、microdissection法を組み合わせ、特定の組織の場所を切り出し、そのmRNAの発現をみる手法は有効である。臓器移植に関するこの方面の研究はまだ黎明期にあるといえる。急性拒絶の大部分は尿細管間質に病変が起こり糸球体には変化が起らないため、microdissectionを併用することなしに成果が出ているのかもしれない。最近のKretzlerらによる総説は今後の指針を立てる意味で参考になる<sup>41,42)</sup>。

## VIII. おわりに

臓器移植の分野における分子病理学はこれまで述べてきたような方向に進んできたと思う。移植後の経過中に、感染症や合併症、さらに薬剤中毒を避けることはいうまでもないが、現在の臓器移植の治療学において、有効かつ実用的な手段は免疫抑制剤の適正な使用であり、また、現在、持ち合わせている治療法を効果的に使用できる余地のある分野でもある。それにより、急性拒絶の頻度と強度を最小限に抑え、慢性拒絶への進展を防ぐか、少なくともその時期を延ばすことが、古くて新しい移植治療のひとつの課題であるかもしれない。

謝辞：本稿を終えるにあたり、貴重な資料を提供していただきました名古屋第二赤十字病院腎臓内科 両角國男先生に深甚なる感謝の意を表します。

## 文 献

- 1) Almond PS, Matas A, Gillingham K, Dunn DL, Payne WD, Gores P, Gruessner R, Najarian JS. Risk factors for chronic rejection in renal allograft recipients. *Transplantation* 1993; 55: 752-756.
- 2) Strom TB, Suthanthiran M. Prospects and applicability of molecular diagnosis of allograft rejection. *Semin Nephrol* 2000; 20: 103-107.
- 3) Suthanthiran M. Acute rejection of renal allografts: mechanistic insights and therapeutic options. *Kidney Int* 1997; 51: 1289-1304.
- 4) Suthanthiran M. Molecular analyses of human renal allografts: differential intragraft gene expression during rejection. *Kidney Int Suppl* 1997; 58: S15-21.
- 5) Strehlau J, Pavlakis M, Lipman M, Shapiro M, Vasconcellos L, Harmon W, Strom TB. Quantitative detection of immune activation tran-

- scripts as a diagnostic tool in kidney transplantation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 695-700.
- 6) Kummer JA, Wever PC, Kamp AM, ten Berge IJ, Hack CE, Weening JJ. Expression of granzyme A and B proteins by cytotoxic lymphocytes involved in acute renal allograft rejection. *Kidney Int* 1995; 47: 70-77.
  - 7) Lipman ML, Stevens AC, Strom TB. Heightened intragraft CTL gene expression in acutely rejecting renal allografts. *J Immunol* 1994; 152: 5120-5127.
  - 8) Kasprzycka M, Klodos K, Nowaczyk M, Wyzgal J, Podobinska I, Durlik M, Gorski A. Expression of FasL gene in T cells of renal allograft recipients. *Immunol Lett* 2002; 80: 9-13.
  - 9) Strehlau J, Pavlakis M, Lipman M, Maslinski W, Shapiro M, Strom TB. The intragraft gene activation of markers reflecting T-cell-activation and -cytotoxicity analyzed by quantitative RT-PCR in renal transplantation. *Clin Nephrol* 1996; 46: 30-33.
  - 10) Pavlakis M, Lipman M, Strom TB. Intragraft expression of T-cell activation genes in human renal allograft rejection. *Kidney Int Suppl* 1996; 53: S7-12.
  - 11) Suthanthiran M. Human renal allograft rejection: molecular characterization. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13 Suppl 1: 21-24.
  - 12) Nickel P, Lacha J, Ode-Hakim S, Sawitzki B, Babel N, Frei U, Volk HD, Reinke P. Cytotoxic effector molecule gene expression in acute renal allograft rejection: correlation with clinical outcome; histopathology and function of the allograft. *Transplantation* 2001; 72: 1158-1160.
  - 13) Suthanthiran M. Clinical application of molecular biology: a study of allograft rejection with polymerase chain reaction. *Am J Med Sci* 1997; 313: 264-267.
  - 14) McLean AG, Hughes D, Welsh KI, Gray DW, Roake J, Fuggle SV, Morris PJ, Dallman MJ. Patterns of graft infiltration and cytokine gene expression during the first 10 days of kidney transplantation. *Transplantation* 1997; 63: 374-380.
  - 15) Alpert S, Lewis NP, Ross H, Fowler M, Valantine HA. The relationship of granzyme A and perforin expression to cardiac allograft rejection and dysfunction. *Transplantation* 1995; 60: 1478-1485.
  - 16) Baan CC, Niesters HG, Balk AH, Mochtar B, Zondervan PE, Weimar W. The intragraft cytokine mRNA pattern reflects the efficacy of steroid antirejection therapy. *J Heart Lung Transplant* 1996; 15: 1184-1193.
  - 17) August P, Suthanthiran M. Transforming growth factor beta and progression of renal disease. *Kidney Int Suppl* 2003; 87: S99-104.
  - 18) Jain S, Bicknell GR, White SA, Williams ST, Furness PN, Nicholson ML. Comparison of the expression of fibrosis-associated genes in glomeruli after renal transplantation between conventional cadaveric and non-heart-beating donors. *Br J Surg* 1999; 86: 1264-1268.
  - 19) Brook NR, White SA, Waller JR, Bicknell GR, Nicholson ML. Fibrosis-associated gene expression in renal transplant glomeruli after acute renal allograft rejection. *Br J Surg* 2003 (8); 90: 1009-1014.
  - 20) de Groot-Kruseman HA, Baan CC, Loonen EH, Mol WM, Niesters HG, Maat AP, Baik AH, Weimar W. Failure to down-regulate intragraft cytokine mRNA expression shortly after clinical heart transplantation is associated with high incidence of acute rejection. *J Heart Lung Transplant* 2001; 20: 503-510.
  - 21) Autieri MV, Kelemen S, Thomas BA, Feller ED, Goldman BI, Eisen HJ. Allograft inflammatory factor-1 expression correlates with cardiac rejection and development of cardiac allograft vasculopathy. *Circulation* 2002; 106: 2218-2223.
  - 22) Lipman ML, Shen Y, Jeffery JR, Gough J, McKenna RM, Grimm PC, Rush DN. Immune-activation gene expression in clinically stable renal allograft biopsies: molecular evidence for subclinical rejection. *Transplantation* 1998; 66: 1673-1681.
  - 23) Shulzhenko N, Morgun A, Franco M, Souza MM, Almeida DR, Diniz RV, Carvalho AC, Pacheco-Silva A, Gerbase-Delima M. Expression of CD40 ligand, interferon-gamma and Fas ligand genes in endomyocardial biopsies of human cardiac allografts: correlation with acute rejection. *Braz J Med Biol Res* 2001; 34: 779-784.
  - 24) Shulzhenko N, Morgun A, Rampim GF, Franco

## 腎移植後発症の糖尿病(PTDM)

国立病院機構千葉東病院臨床研究センター・内科

山田 研一

### はじめに

糖尿病は、現在、本邦において生活習慣病の重要対象疾患として位置づけられている。2002年の厚生労働省の調査では、740万の糖尿病もしくはその疑いのある人がいると推定され、5年前の1997年の調査に比べ50万人の増加を認めている。

一方、今回の review の対象である移植医療後発症の糖尿病(PTDM)は、近年の生活習慣病の罹患増大の観点からも注目を集めてきた。移植医療や患者管理の進歩に伴い、急性拒絶反応の減少やその程度は軽減された一方、長期生着に伴う慢性拒絶反応や慢性移植腎症(chronic allograft nephropathy : CAN)の病態、さらに心血管合併症による死(death with functioning graft)が問題になってきた。CANはその病態として、免疫学的機序とともに非免疫学的機序が関与しており、そのなかで糖尿病の病態としての関与は重要である。長期生着腎移植患者の graft loss の43%にもものぼる death with functioning graft は<sup>1)</sup>、心血管事故死が重要な位置を占め、その一部は、糖尿病または耐糖能異常(IGT)の病態の関与が示唆されている。

そこで今回、移植後の糖尿病の疫学・病態・治療・管理に関して概説する。

### 移植後発症の糖尿病(PTDM)の疫学

#### 1. PTDM 発症

PTDMの疫学を検討するにあたり困ったことは、PTDMの、特に「DM」の定義が文献により異なっており、一致していないことである。今回はそのことを十分考慮したうえのこととする。今後の検討のこともあり、PTDMについて提唱されている定義は後述する。

日本移植学会からの大規模なPTDM発症率に関する報告は現在のところない。PTDMは必ずしも permanent に発症し続けるものでもなく、治療せずに寛解することもあり正確な把握は難しいが、米国からの大規模調査報告では移植後3カ月、1年、3年でそれぞれ9%、16%、24%程度の発症とされている<sup>2)</sup>。腎移植患者では移植後6カ月間に発症リスクが高く5.9%、その後も7.1%(1カ月)、10.4%(3年目)、13.2%(5年目)、20.5%(10年目)と増加している(図1)<sup>3)</sup>。

#### 2. PTDMにおける graft 生着率

Rothらの報告<sup>4)</sup>では、腎移植後のPTDMは graft survival は3年目で対照群に比較し71% vs. 86%と悪く、長期 follow-up(12年後)ではさらに悪化しており、腎機能自体も低下していた。糖尿病性腎症の発症には、糖尿

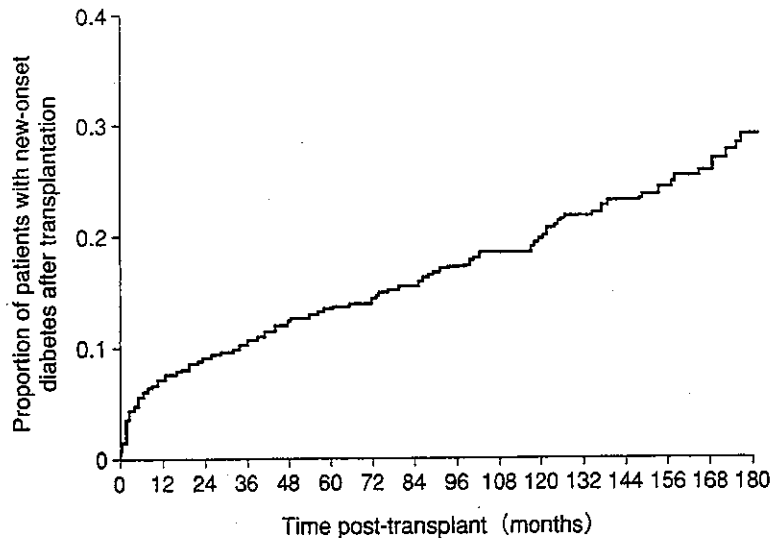


図1 移植後の糖尿病発症率  
(Kaplan-Meier 法)

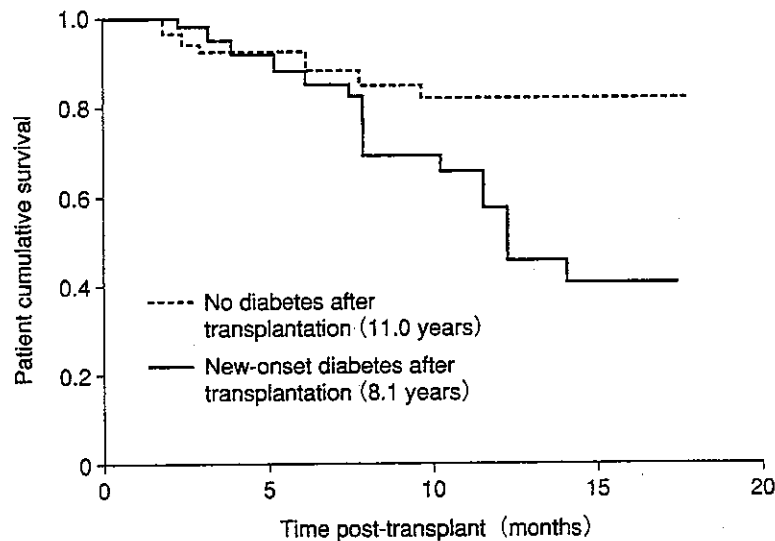


図2 腎移植後発症糖尿病患者の生存率  
PTDMとDM非発症の比較(Kaplan-Meier 法)

病発症から少なくとも5~10年の年月が必要であるが、腎移植患者の場合、単腎であること(glomerular hyperfiltration)に加え拒絶反応、免疫抑制剤による障害が加味され、糖尿病性腎症の発生を速める可能性がある。さらに糖尿病合併症としての高血圧の存在の可能性も重要である。しかし、前述の移植腎喪失の43%がdeath with functioning graftであることは重大であり、その死因、特にcardiovascular disease(CVD)の成因に糖尿病やmetabolic syndromeが関与している可能性は十分に考えられる。

### 3. PTDMにおける患者生存率

PTDMによる患者生存率は悪いとの報告(図2)<sup>5)</sup>がある。長期生着に伴うCVD発症や感染症(特にsepsis)発症がその要因と考えられる<sup>6)</sup>。



表 1 腎移植後1年以上経過した患者のIHD発症の相対危険度

Risk factor	Relative risk			
	Men		Women	
	Control	Transplant recipient	Control	Transplant recipient
Age	1.05	1.05 <sup>a</sup>	1.40	1.10
Cholesterol (mg/dl)				
< 160	0.52	0.00	0.77	0.00
160~199	1.00	1.00	1.00	1.00
200~239	1.19	2.39	1.23	2.07
240~279	1.66	2.02	1.28	2.44
> 280	1.93	2.25	1.71	1.84
Blood pressure (mmHg)				
< 120 and < 80	1.00	0.25	0.59	0.56
120~129 or 80~84	1.00	1.00	1.00	1.00
130~139 or 85~89	1.33	1.05	0.93	1.26
140~159 or 90~99	1.68	1.19	1.30	1.63
≥ 160 or ≥ 100	1.86	1.47	1.59	0.31
Diabetes mellitus	1.53	2.78 <sup>a</sup>	1.82	5.40 <sup>a</sup>
Smoking	1.69	1.95 <sup>a</sup>	1.34	1.82

a : p &lt; 0.05

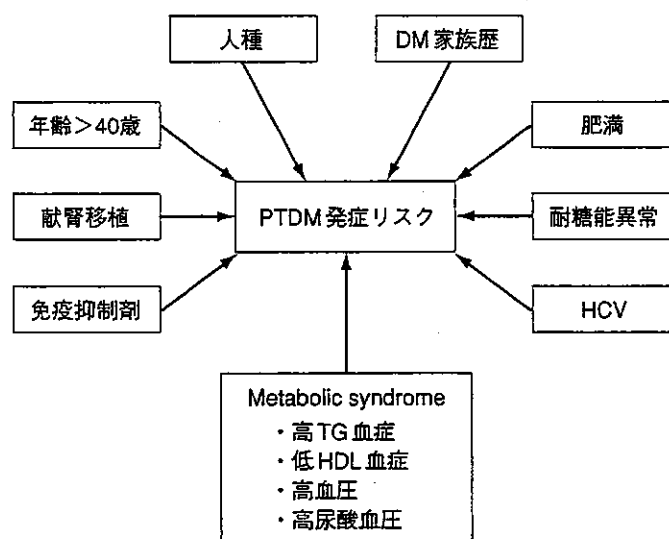


図 3 PTDM 発症の危険因子

#### 4. PTDM における CVD 発症とそのリスク

近年、動脈硬化の病態とその成因に関して、インスリン抵抗性、糖代謝異常、高血圧、高脂血症、肥満などの病態を認める metabolic syndrome の面からその病態を捉える考え方がある。移植後の病態には同様の病態を備えることが多く、PTDM も metabolic syndrome の面から考えることができ、CVD 発症の強いリスク因子になる可能性がある。事実、表 1 に示すように、腎移植後 1 年以上の患者では糖尿病は高いリスク因子である<sup>7)</sup>。

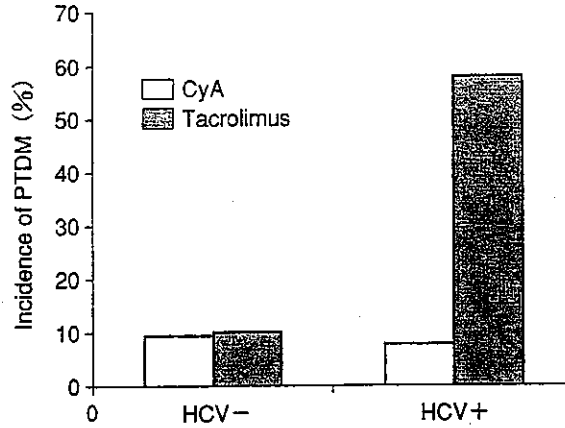


図4 HCV存在の有無と免疫抑制剤(シクロスポリンとタクロリムス)の違いによるPTDM発症率の違い

## PTDM 発症のリスク因子

PTDM 発症のリスク因子についての報告は、本邦でも小規模解析による報告はあるが、米国の報告が最も参考になる(図3)<sup>9)</sup>。移植患者の年齢、糖尿病に関する家族歴(特に一等親での有無)や肥満がリスク因子としてあげられているが、これらは2型糖尿病に共通の問題であり、移植患者特有の問題ではない。

最近、C型肝炎ウイルス(HCV)とPTDMの関連について興味ある成績が報告された。まず肝移植後のPTDM発症は、移植前C型肝炎の存在と強く相関すること<sup>9)</sup>。同様のことが腎移植でも報告された。長期follow-up腎移植成績でも、HCV陽性患者はHCV陰性患者に比較し、PTDM発症は移植後3カ月、1年、3年目でも高かった<sup>2)</sup>。次にHCVが存在した場合、タクロリムスを基調とした免疫抑制療法を受けている腎移植患者のPTDM発症は、シクロスポリンによるそれと比べ、有意に多かったとの報告がなされた(図4)<sup>10)</sup>。これらは、抗HCV治療も考慮に入れたPTDM治療の重要性とともに、免疫抑制剤の選択も、PTDM発症リスクを考慮に入れて行うべきものと考えられる。最近、シクロスポリンのHCV増殖抑制作用も*in vitro*で報告されている<sup>11)</sup>。これらのことが、PTDM発症とどのように関連するのか今後の研究が期待される。

## 免疫抑制剤とPTDM

グルココルチコイドが耐糖能異常を呈することはよく知られていることである<sup>12,13)</sup>。このグルココルチコイド効果は用量依存性とされている<sup>14)</sup>(プレドニゾン0.01 mg/kg/dayの増加はPTDM 5%リスク増、IGT 4%リスク増との報告<sup>15)</sup>が、また約46%前後にPTDMを発症するとの報告もある<sup>16)</sup>。メチルプレドニゾン投与後2週間で75%の腎移植患者がPTDMを発症している。一方、カルシニューリンインヒビターは膵β細胞に対しての直接的なdiabetogenic factorとの報告がある<sup>17)</sup>。シクロスポリンとタクロリムスはともに、それぞれサイクロフィリン・FKBP12との複合体を成し、Ca<sup>2+</sup>-カルモジュリン(CalM)依存的に活性化されたカルシニューリン(CN)に結合し、転写因子NF-ATc(nuclear factor of activated T cell cytoplasmic component)の脱リン酸化を阻害し、インスリン遺伝子プロモーター領域刺激による遺伝子翻訳を抑制する<sup>18)</sup>。また、β細胞からのインスリン分泌に対する効果も、タクロリムスは臨床的有効濃度レベルで分泌抑制の報告<sup>19)</sup>があり、今後の検討が必要である。臨床データとして、移植症例にタクロリムス投与例と非投与例でPTDM発症を比較検討した報告では、移植後3カ月、1年、3年でタクロリムス投与例でPTDM発症が多かった<sup>2)</sup>。腎、肝、膵、肺、幹細胞移植

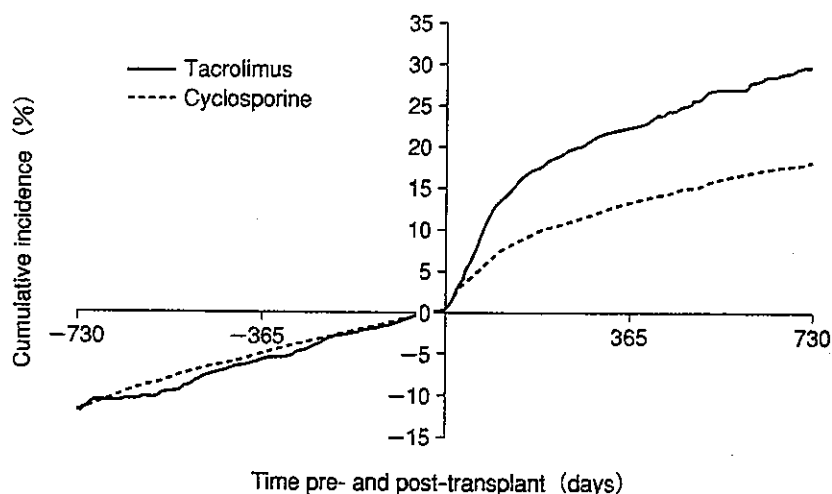


図 5 移植後の PTDM 発症に対するタクロリムスとシクロスポリンの影響

表 2 推奨される PTDM の定義と診断

1. DM(PTDM)とは:
(i) 糖尿病の症状(多飲・多尿・体重減少など)に随時血糖(静脈血) $\geq 200$ mg/dl
(ii) 空腹時血糖(少なくとも8時間以上の絶食後) $\geq 126$ mg/dl
(iii) 75 gOGTT で2時間血糖値 $\geq 200$ mg/dl
以上のどれか一つを認めた場合, 別の日に再確認を認めた場合, 糖尿病と診断
2. 空腹時正常血糖(FPG), IFG(impaired fasting glucose), IGT(impaired glucose tolerance)とは:
(i) FPG: $< 110$ mg/dl = 空腹時正常血糖
(ii) IFG: $110$ mg/dl $\leq$ FPG $< 126$ mg/dl
(iii) IGT: $140$ mg/dl $\leq$ 2時間値 PG $< 200$ mg/dl (OGTT)

でもタクロリムス投与が PTDM や IGT 発症の高いリスク因子であるとの報告<sup>20-23)</sup>があり, 1年の腎移植症例ではシクロスポリンに比べて約5倍高リスクであったとされている<sup>24)</sup>。2年間の follow-up でも, シクロスポリンに比べ70%高頻度発症であった(図5)<sup>25)</sup>。このように, タクロリムスは diabetogenic factor であるとの報告があるが, インスリン使用が必要となくなるような PTDM もあり, また可逆的であるとの報告もあり, 今後の検討が必要である。

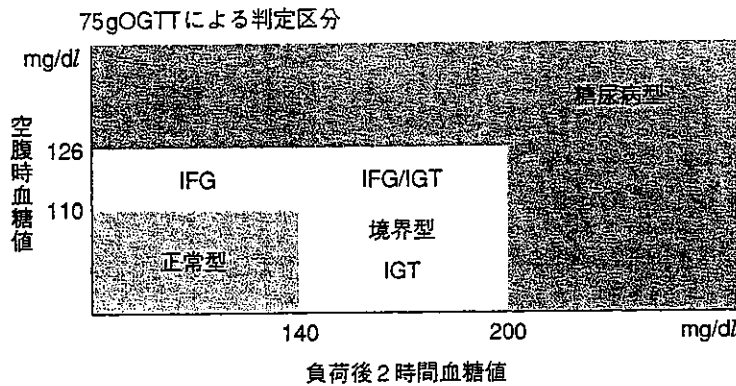
## PTDM の定義

近年, 「metabolic syndrome」に表現されるように, 動脈硬化の病態の根幹に, インスリン抵抗性の存在があるとされている。したがって, 顕性の糖尿病のみならず耐糖能異常としての IGT も視野に入れた診断と治療が必要とされる。移植医療においても, PTDM が可逆性とはいえ, IGT をも考慮に入れた対策が必要である。

過去に報告された PTDM の定義「インスリン治療1カ月間以上」などは, 上記合併症を考慮に入れた病態の定義としては問題がある。ADA, WHO, IDF などの定義を考慮に入れた PTDM の定義が推奨されている(表2)。日本糖尿病学会よりの治療ガイドライン(2004~2005)も示した(表3)。

表 3 境界型の定義

境界型は75gOGTTで、糖尿病型にも正常型にも属さない血糖値を示す群である。WHO分類でのIGT<sup>注1)</sup>(耐糖能異常)とIFG<sup>注2)</sup>(空腹時血糖異常)がこの群に属する。



注1) IGT (impaired glucose tolerance) はWHOの糖尿病診断基準に取り入れられた分類で、空腹時126mg/dl未満、75gOGTT 2時間値140~199mg/dlの群を示す。

注2) IFG (impaired fasting glycemia: glucose) は空腹時110~125mg/dl (WHO, ADA)で、2時間値を測定した場合には140mg/dl未満(WHO)の群を示す。

(日本糖尿病学会の治療ガイドライン(2004~2005)より引用)

## 移植患者の糖代謝の管理と糖尿病治療・管理

### 1. 移植前管理

移植前管理については、リスク因子を考慮し、一般的病歴のチェックとともにFPG < 110 mg/dlの場合は2~3年に一度、IFG(FBG: 110~126 mg/dl)またはIGT(食後2hr  $\geq$  140, < 200 mg/dl)の場合、毎年チェックをする。家族歴、HCV感染の有無、妊娠糖尿病、CVDのリスク、年齢(>40 years)、肥満などのチェックとその指導も重要である。

### 2. 移植患者のモニタリング

すべての移植患者はFPGのチェックをする。特に、移植後4週間は注意深い観察が必要である。

- 1) 移植後4週間は毎週1回FPGの測定
- 2) 移植後3, 6および12カ月目にFPGとHbA<sub>1c</sub>の測定
- 3) 移植1年後は1年に1回、FPGとHbA<sub>1c</sub>の測定
- 4) 異常があればOGTTの施行

異常があれば、ステロイド量の減量やタクロリムスからシクロスポリンへの変更も考慮すべきと考える。

### 3. PTDM患者の管理

1) SMBG(自己血糖値測定)は、インスリン治療患者は保険上認められている。しかし、経口剤や食事療法のみの患者もSMBGは可能なら行ったほうがよいと考える。HbA<sub>1c</sub>は最低3カ月に一度は測定すべきと考える。目標値はHbA<sub>1c</sub>  $\leq$  6.5%とされているが(日本糖尿病学会も同様の目標)、少なくとも最低レベル(<7.0%)は達成すべきである。

- 2) PTDM治療について