

Fig 1

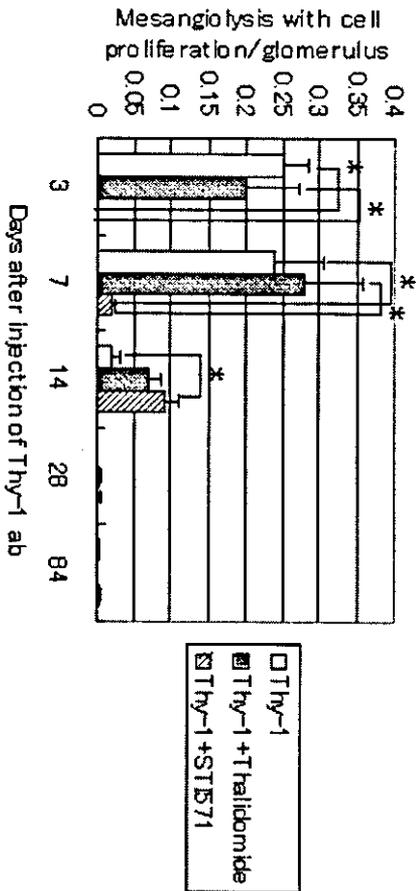


Fig 2

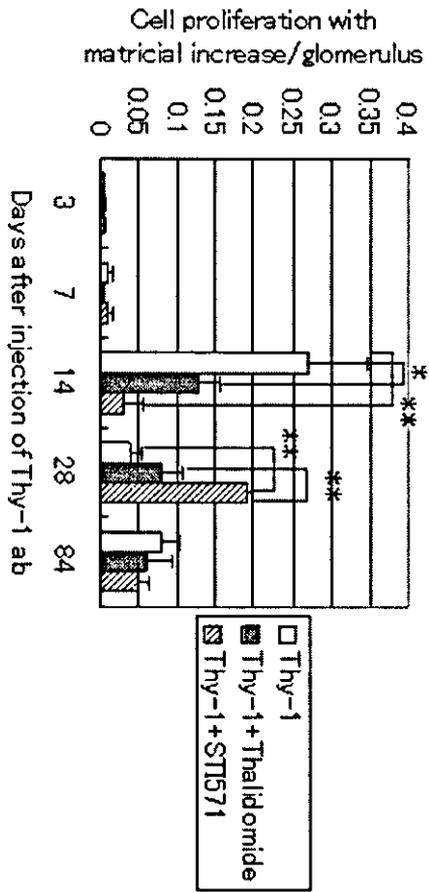


Fig 3

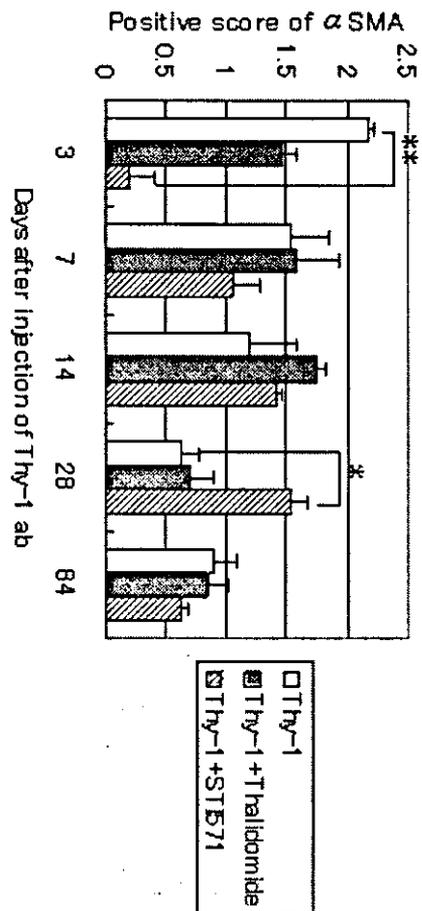


Fig 4

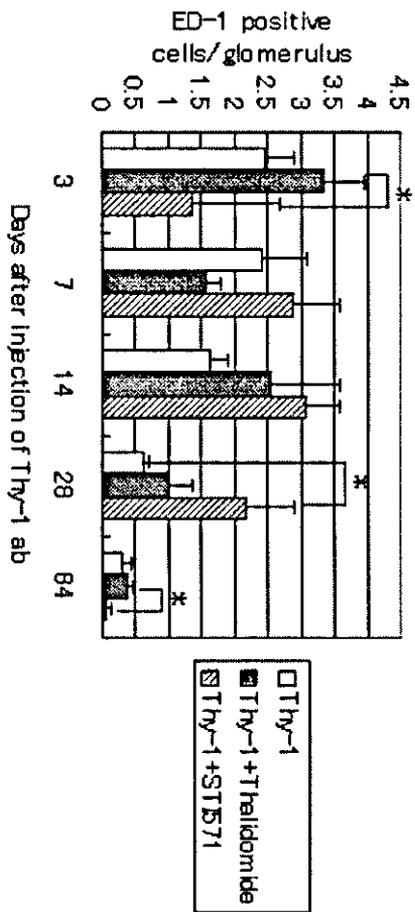


Fig 5

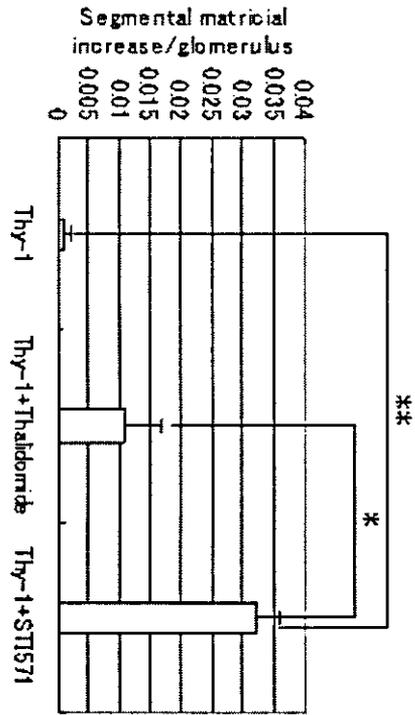


Fig 6a

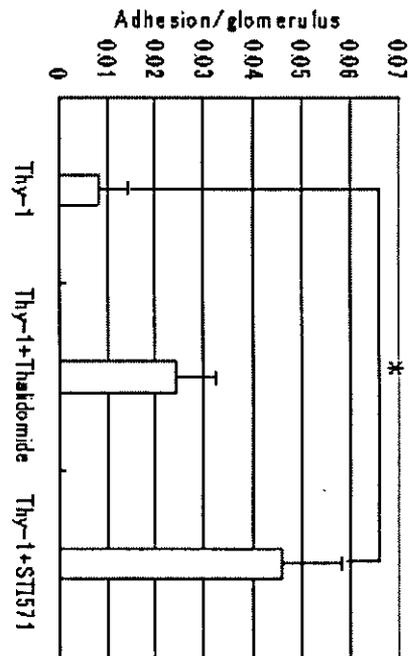


Fig 6b

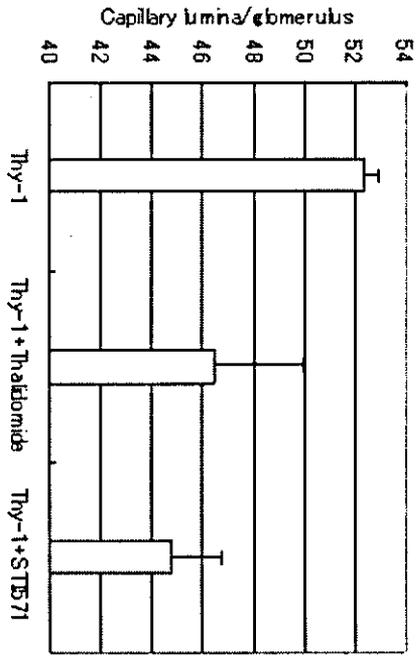


Fig 7

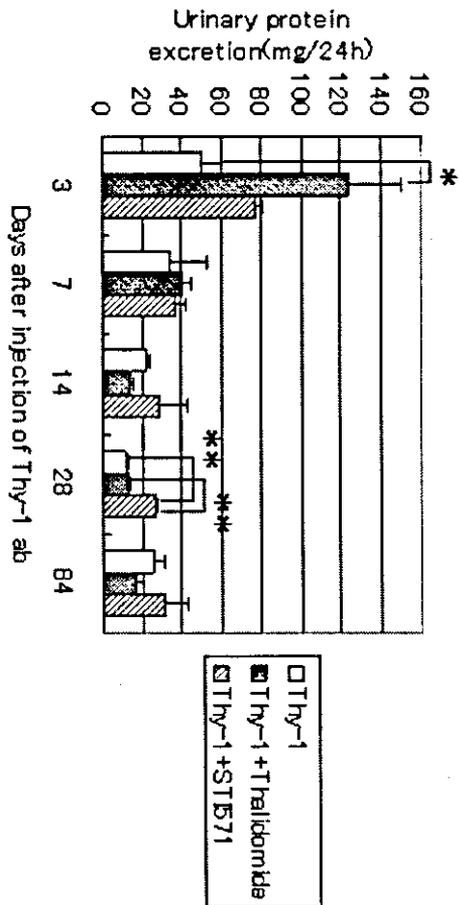


Fig 8

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
各個研究報告書

「慢性移植拒絶腎の線維化に関する形質転換の免疫組織化学的・経時的解析」

研究協力者 城 謙輔

国立病院機構千葉東病院臨床研究センター免疫病理研究部

研究要旨

ヒト移植拒絶腎のAcute Allograft Nephropathy (AAN) からChronic Allograft Nephropathy (CAN)に至る線維化進展過程における形質転換を、移植から1ヶ月、6ヶ月、12ヶ月、36ヶ月、72ヶ月、108ヶ月、120ヶ月の計18症例を用いて、免疫組織化学的、定量的に解析した。尿細管基底膜周囲の α SMA陽性領域並びに線維化領域にTGF β 1とHSP47陽性、CD68陰性細胞を認め、同領域の尿細管上皮にvimentin陽性を示すパターンがCANに特徴的であった。尿細管上皮にMHCclass IIとHLA-DRが陽性、周囲にTリンパ球、HSP47とTGF β 1陽性細胞の瀰漫性浸潤がAANの特徴像であった。Acute on chronic allograft nephropathyは両者の混合した連続的病変と見なされ、多くの症例は程度の異なる両者の組み合わせであった。腎尿細管線維化機構において、尿細管上皮、間質細胞のそれぞれの形質転換が炎症細胞のサイトカインとの相互作用のもとに、間質の線維化を進展させている様子が免疫組織化学的に確認できた。Chronic allograft nephropathyにおいても、非可逆的慢性病変と免疫関与の可逆的病変があり、両者の定量的把握が治療の選択や治療効果判定に役立つと思われた。

A. 研究目的

ヒト移植拒絶腎のAcute Allograft Nephropathy (AAN) からChronic Allograft Nephropathy (CAN)に至る線維化進展過程における形質転換を免疫組織化学的、定量的に解析し、その両者の相対的な把握が治療方針の決定や治療効果判定、予後の予測に生かされる可能性を知ることを目的とした。

B. 研究方法

移植から、1ヶ月以内3例、6ヶ月以内1例、12ヶ月以内3例、36ヶ月以内3例、72ヶ月以内2例、108ヶ月以内4例、120ヶ月以内2例の計18症例と、対照群として良性腎硬化症軽症例3例を用いた。パラフィン切片にHLA-DR, MHC class II (HLA-DP, DQ, DR), CD45RO (T cell), CD45RA (B cell), CD68 (macrophage),

transforming growth factor (TGF) β 1、heat shock protein (HSP) 47、vimentin (Vim)、 α smooth muscle actin (SMA)、platelet derived growth factor (PDGF)-A、Osteopontin (OPN) の免疫染色を施した。定量的把握法として、上記の陽性細胞を 0.25mm² の細胞数として算出。尿細管上皮の形質転換には、染色強度と分布により 5 段階評価をした。

(研究の倫理面への配慮)

患者情報および病理診断のデータベースの蓄積と利用に関しては、疫学的手法を用いた研究等の適正な推進の在り方に関する専門委員会の「疫学的手法を用いた研究等に関する倫理指針」に準拠して倫理委員会の承諾を得つつ、腎生検に際して、十分な説明のもとに患者から書面にて同意書を取った。

C. 結果

尿細管上皮では、MHC class II と HLA-DR が AAN の尿細管上皮に形質転換として表出した。一方、CAN では vimentin が表出。間質細胞では、 α SMA と vimentin が、間質幅の拡大、線維化に応じて、CAN で増強した。炎症細胞では、AAN において、CD45RO 陽性 T リンパ球の瀰漫性浸潤 (150 \pm 28/0.25mm²) が見られ、CAN では、 α SMA 陽性領域に集簇傾向を示し、1 次リンパ濾胞を形成、その中心部に CD45RA 陽性 B リンパ球と HLA-DR 陽性細胞の集簇が見られた。TGF β 1

と HSP47 では、AAN において、間質内の瀰漫性且つ密な浸潤細胞、尿細管上皮、内皮に陽性を示し、CAN では、尿細管基底膜周囲の α SMA 陽性、線維化領域に強陽性を示した。CD68 と PDGF-A 陽性細胞は、AAN と CAN とも同様の分布を示した。OPN は、CAN で線維化巢の遠位尿細管上皮に強陽性を示した。対照群では、上記の炎症関連細胞はなく、HLA-DR と MHC class II 分子が、糸球体と尿細管周囲毛細血管内皮に陽性を示した (Table 1)。

D. 考察

尿細管基底膜周囲の α SMA 陽性領域並びに線維化領域に TGF β 1 と HSP47 陽性、CD68 陰性細胞を認め、同領域の尿細管上皮に vimentin 陽性を示すパターンが CAN に特徴的であった。尿細管上皮に MHC class II と HLA-DR が陽性、周囲に T リンパ球、HSP47 と TGF β 1 陽性細胞の瀰漫性浸潤が AAN の特徴像であった。Acute on chronic allograft nephropathy は両者の混合した連続的病変と見なされ、多くの症例は程度の異なる両者の組み合わせであった (Table 2)。

E. 結論

腎尿細管線維化機構において、尿細管上皮、間質細胞のそれぞれの形質転換が炎症細胞のサイトカインとの相互作用のもとに、間質の線維化を進展させている様子が免疫組織化学的に確認できた。Chronic allograft nephropathy においても、非可逆的慢

性病変と免疫関与の可逆的病変があり、両者の定量的把握が治療の選択や治療効果判定に役立つと思われた。

H. 研究発表

1. 論文発表

1) Joh K, Yamaguchi Y, Sakamoto K, Arita S, Iwashita C, Yamada K, Kashiwabara H: Immunohistochemical analysis of tubulointerstitial changes of chronic allograft nephropathy. Transplant Proc 35: 169-171, 2003

2) 前島基志, 城謙輔: 生体腎移植後急性期における移植腎の血流動態および体積変化の検討超音波検査技術 29 巻 6 号, 9-17, 2004

3) 城 謙輔: 間質性腎炎. 腎と透析, 57 巻 6 号, 819-927, 2004

4) 城 謙輔, 山田研一: 臓器移植と分子病理学移植, 39 巻 2 号, 138-144, 2004

2. 学会発表

1) Joh K, Yamaguchi Y, Sakamoto K, Arita S, Iwashita C, Yamada K, Kashiwabara H. Immunohistochemical analysis on the interstitial change of chronic allograft nephropathy. 7 th Congress of the Asian Society of Transplantation. New Delhi, India, 2002. Abstract p11(0-3-K3b-001)

2) 城 謙輔. シンポジウム. 臓器線維症、肝線維化を中心として—その形態と分子病理学—. 腎の線維化機構—慢性移植拒絶腎の観点から—. 第 58 回日本電子顕微鏡学会、2002 年、大阪.

発表要旨集 A55

3) Joh K, Sakamoto K, Arita S, Hamaguchi K, Yamada K: Immunohistochemical Analysis on the tubulointerstitial progression of allograft nephropathy. Annual Meeting of American Society of Nephrology. Philadelphia, USA, 2002. J Am Soc Nephrol 13:559A, 2002

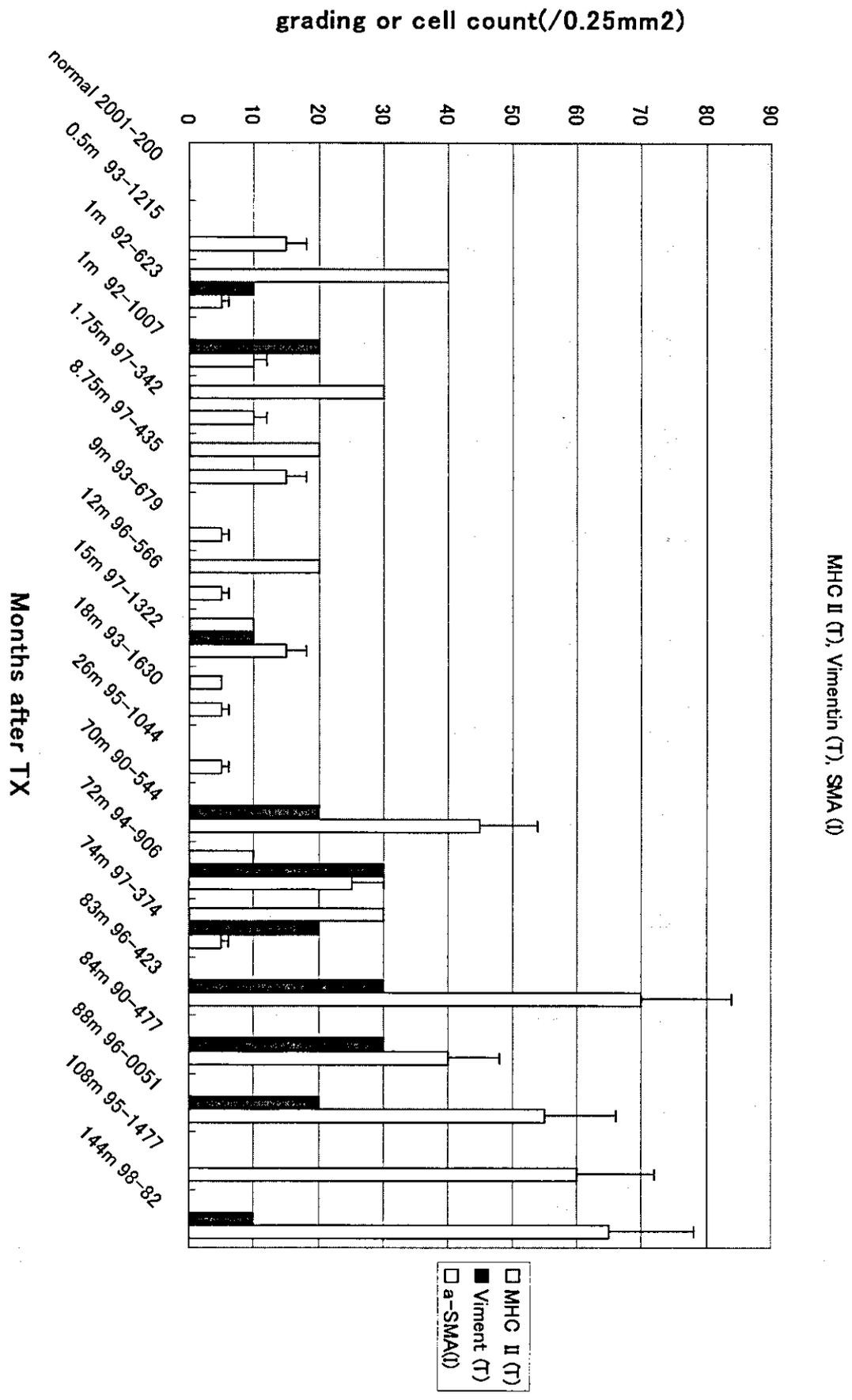
Table 1 . Immunohistochemical analysis on AAN and CAN

	AAN		CAN	
	Tubule	interstitium	Tubule	Interstitium
α SMA	-	- ~ +-	-	++
MHC II	+++	+++	+ -	+
HLA-DR	+	+++	-	+
Vimentin	-	++++	++	++
TGF- β	+	+++	+	++
HSP47	+	+++	-	++
T cell	-	+++	-	+
B cell	-	-	-	+
Macrophage	-	+	-	+
OPN	+(p)	-	++(d)	-
ICAM-1	+	++	++	-

P, proximal; d, distal

Table 2

MHC II and Vimentin on the tubule, α SMA in the interstitium



疫学に関する調査研究班（Ⅰ）
分担・各個研究報告

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
疫学に関する調査研究班（I）分科会分担研究報告書

「進行性腎障害 4 疾患の患者推計および IgA 腎症疫学調査」

分担研究者 遠藤 正之
東海大学医学部腎代謝内科助教授

研究協力者 若井建志 愛知県がんセンター・疫学予防
今井裕一 愛知医科大学腎臓膠原病内科教授
須藤 博 東海大学医学部総合内科講師

研究要旨

IgA 腎症、急速進行性糸球体腎炎症候群、難治性ネフローゼ症候群、常染色体優性多発性嚢胞腎について、2003 年 1 年間の受療患者数を推計した。IgA 腎症は、推計年間受療者数は 33000 人、急速進行性糸球体腎炎症候群は、推計年間受療者数は 3700 人、難治性ネフローゼ症候群は、推計年間受療者数は 5200 人、常染色体優性多発性嚢胞腎は、推計年間受療者数は 7900 人であった。

IgA 腎症全国調査 4 年目および 7 年目の疫学調査結果をもとに、腎生検時の臨床所見から 4 年後および 7 年後の透析導入リスクを算定する予後予測表を作成した。

1) 進行性腎障害 4 疾患の患者推計 していない。

A. 研究目的

IgA 腎症、急速進行性糸球体腎炎症候群、難治性ネフローゼ症候群、常染色体優性多発性嚢胞腎について、2003 年 1 年間の受療患者数を推計した。

B. 研究方法

内科（腎臓内科含む）、小児科、泌尿器科を規模ごとに 7 層に分け、層化無作為抽出で実施した。調査した診療科は全体で 12262 科であった。

（研究の倫理面への配慮）

患者氏名を特定する調査は行なっ

C. 結果

IgA 腎症は、回収率は 52.2%、合計報告患者数は 12784 人、推計年間受療者数は 33000 人（95%信頼区間 28000－37000）。急速進行性糸球体腎炎症候群は、回収率は 51.5%、合計報告患者数は 1335 人、推計年間受療者数は 3700 人（95%信頼区間 3200－4200）。難治性ネフローゼ症候群は、回収率は 51.4%、合計報告患者数は 1804 人、推計年間受療者数は 5200 人（95%信頼区間 4500－5900）。常染色体優性多

発性嚢胞腎は、回収率は 52.2%、合計報告患者数は 2272 人、推計年間受療者数は 7900 人 (95%信頼区間 6700-9200)。

G. 知的所有権の出現登録状況

なし

2) IgA 腎症疫学調査

A. 研究目的

IgA 腎症全国調査の結果を臨床の場で使用できるように、腎生検時の臨床指標から予後予測 (透析導入リスク) を計算出来るようにした。

B. 研究方法

IgA 腎症全国調査 4 年目および 7 年目の疫学調査結果をもとに、腎生検時の所見から 4 年後および 7 年後の透析導入リスクを算定する予後予測表を作成した。

(研究の倫理面への配慮)

倫理面への配慮)

患者氏名その他プライバシーに関わる項目は調査しなかった。また発表においては個人を特定しえない形式である。患者データベースは患者氏名と臨床データのファイルが別々に保管されており、患者データを直接閲覧出来ない形になっている。

C. 結果

臨床指標による予後予測スコア表、この合計による予後推測 (透析導入リスク)、腎生存曲線を作成した (別表

および別図参照)。

D. 考察

この予測表と腎生存曲線は IgA 腎症患者の診療、患者説明に有用であると考えられる。

E. 結論

IgA 腎症全国調査をもとに、臨床指標を用いて予後予測スコア表、予後推測 (透析導入リスク)、腎生存曲線の作成が可能であった。

F. 健康危険情報

なし

G. 知的所有権の出現登録状況

なし

H. 研究発表

1. 論文発表

遠藤正之: IgA 腎症の概念・定義 - 疫学 - in 新しい診断と治療の ABC 23 IgA 腎症. 富野康日己編 最新医学社 pp14-25, 2004.

表3 予後要因別スコア

性	年齢			収縮期血圧 (mmHg)			
女	0	≤21	0	47-53	-3	≤121	0
男	-2	22-23	1	54-58	-2	122-124	1
		24-26	2	≥59	-3	125-127	2
		27	1			128-144	3
		28	0			145-151	4
		29-30	-1			152	5
		31	-2			153-154	6
		32-33	-3			155	7
		34	-4			156-157	8
		35-38	-5			158	9
		39-46	-4			≥159	10

尿蛋白	尿潜血 (RBC/HPF)	血清総蛋白 (g/dl)	初回腎生検 所見	
(-), (+-)	0	0	≥7.5	0 予後良好群
(+)	11	1-29	7.4	2 予後比較的 良好群
(++)	20	≥30	7.3	3 予後比較的 不良群
(+++)	24		6.9-7.2	4 予後不良群
			6.3-6.8	5 予後不良群
			6.2	6 予後不良群
			6.1	9
			≤6.0	12

血清クレアチニン (mg/dl)							
≤1.25	0	1.37	13	1.66-1.69	25	2.15-2.17	37
1.26	1	1.38	14	1.70-1.73	26	2.18-2.20	38
1.27	2	1.39	15	1.74-1.78	27	2.21-2.23	39
1.28	3	1.40	16	1.79-1.83	28	2.24-2.26	40
1.29	5	1.41	17	1.84-1.88	29	2.27-2.30	41
1.30	6	1.42-1.43	18	1.89-1.94	30	2.31-2.33	42
1.31	7	1.44-1.46	19	1.95-2.00	31	2.34-2.37	43
1.32	8	1.47-1.50	20	2.01-2.02	32	2.38-2.41	44
1.33	9	1.51-1.53	21	2.03-2.05	33	2.42-2.45	45
1.34	10	1.54-1.57	22	2.06-2.08	34	2.46-2.49	46
1.35	11	1.58-1.61	23	2.09-2.11	35	≥2.50	47
1.36	12	1.62-1.65	24	2.12-2.14	36		

RBC/HPF: red blood cells per high-power field.

表4 「合計スコア」別の4ないし7年間の慢性透析療法導入リスク予測値

合計 スコア	予測値(%)		合計 スコア	予測値(%)		合計 スコア	予測値(%)		合計 スコア	予測値(%)	
	4年間	7年間		4年間	7年間		4年間	7年間		4年間	7年間
-8	0.0	0.1	19	0.3	0.7	46	4.4	10.6	73	48.6	81.0
-7	0.0	0.1	20	0.3	0.8	47	4.8	11.6	74	52.1	84.1
-6	0.0	0.1	21	0.4	0.9	48	5.3	12.8	75	55.7	86.9
-5	0.0	0.1	22	0.4	1.0	49	5.9	14.0	76	59.3	89.4
-4	0.0	0.1	23	0.4	1.1	50	6.5	15.4	77	63.0	91.6
-3	0.0	0.1	24	0.5	1.2	51	7.1	16.8	78	66.6	93.6
-2	0.0	0.1	25	0.5	1.4	52	7.8	18.4	79	70.3	95.2
-1	0.0	0.1	26	0.6	1.5	53	8.6	20.2	80	73.8	96.5
0	0.0	0.1	27	0.7	1.7	54	9.5	22.0	81	77.3	97.5
1	0.0	0.1	28	0.7	1.8	55	10.4	24.0	82	80.6	98.3
2	0.1	0.1	29	0.8	2.0	56	11.5	26.2	83	83.6	98.9
3	0.1	0.2	30	0.9	2.2	57	12.6	28.5	84	86.5	99.3
4	0.1	0.2	31	0.99	2.5	58	13.8	31.0	85	89.0	99.6
5	0.1	0.2	32	1.1	2.7	59	15.1	33.6	86	91.3	99.8
6	0.1	0.2	33	1.2	3.0	60	16.6	36.4	87	93.3	99.9
7	0.1	0.2	34	1.3	3.3	61	18.2	39.4	88	94.9	99.9
8	0.1	0.2	35	1.5	3.7	62	19.9	42.5	89	96.3	100.0
9	0.1	0.3	36	1.6	4.0	63	21.7	45.8	90	97.4	100.0
10	0.1	0.3	37	1.8	4.4	64	23.7	49.1	91	98.2	100.0
11	0.1	0.3	38	2.0	4.9	65	25.9	52.6	92	98.8	100.0
12	0.1	0.4	39	2.2	5.4	66	28.2	56.2	93	99.3	100.0
13	0.2	0.4	40	2.4	6.0	67	30.6	59.9	94	99.6	100.0
14	0.2	0.5	41	2.7	6.6	68	33.2	63.5	95	99.8	100.0
15	0.2	0.5	42	3.0	7.2	69	36.0	67.2	96	99.9	100.0
16	0.2	0.6	43	3.3	7.9	70	38.9	70.8	97	99.9	100.0
17	0.2	0.6	44	3.6	8.7	71	42.0	74.4	98	100.0	100.0
18	0.3	0.7	45	4.0	9.6	72	45.3	77.8	≥99	100.0	100.0

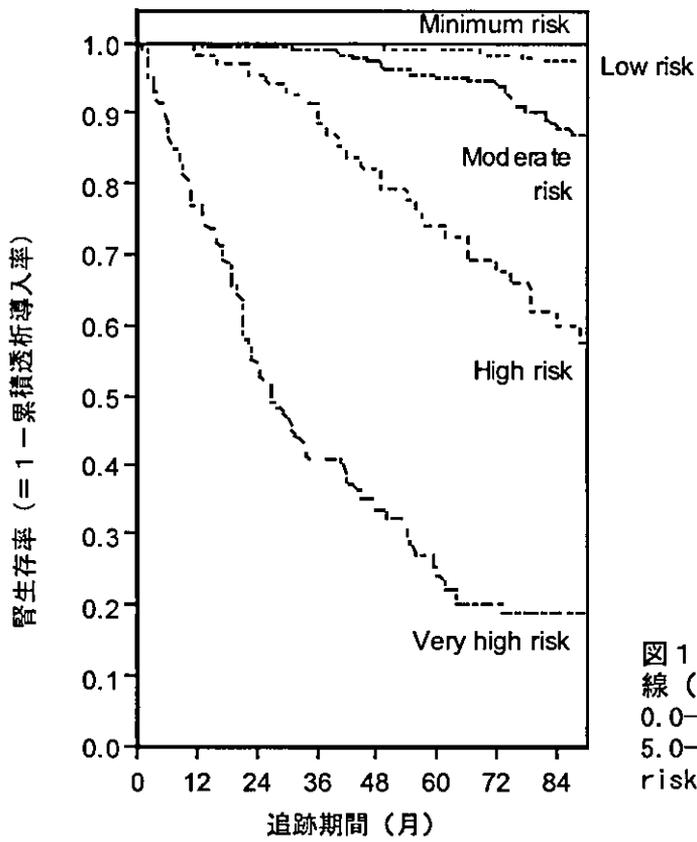


図1 7年間の予測透析導入リスク別、腎生存率曲線 (7年間の予測透析導入リスク: Minimum risk = 0.0-0.9%、Low risk = 1.0-4.9%、Moderate risk = 5.0-19.9%、High risk = 20.0-49.9%、Very high risk = 50.0-100.0%)

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
各個研究報告書

「糸球体内皮細胞 Alpha-SMA の発現と糸球体修復について」

研究協力者 吳 瓊
東海大学医学部腎内分泌代謝内科

研究要旨

内皮細胞でのalpha-SMAの発現の有無とその意義について、各種糸球体腎炎腎組織23例を用いて、糸球体内のalpha-SMA、CD31（内皮細胞マーカー）を用いて調べた。内皮細胞の増殖はPSAGNとMPGNで他の腎炎より多く観察された。PSAGNでは内皮細胞alpha-SMA発現が他の腎炎より多く認められた。内皮細胞でのalpha-SMA発現の増加は障害を受けた糸球体の修復に関与している可能性が示唆された。

A. 研究目的

Alpha-SMA は平滑筋細胞、筋線維芽細胞、メサンギウム細胞などに発現している。メサンギウム細胞でのalpha-SMA の発現は糸球体腎炎の活動性を反映していることが知られているが、内皮細胞での alpha-SMA の発現の有無とその意義はまだ研究されていない。本研究は各種糸球体腎炎の糸球体内皮細胞の alpha-SMA 発現について検討した。

B. 研究方法

各種糸球体腎炎腎組織 23 例を用いて、糸球体内の alpha-SMA、CD31（内皮細胞マーカー）及び浸潤細胞の発現を連続切片で調べた。酵素抗体法と免疫電顕法で alpha-SMA の局在を確認した。

(研究の倫理面への配慮)

患者氏名その他プライバシーに関わる項目は発表していない。また発表においては個人を特定しえない形式である。

C. 結果

メサンギウム領域の alpha-SMA 陽性面積は、メサンギウム増殖のある糸球体腎炎 PSAGN、MPGN、IgAN ではメサンギウム増殖のない腎炎 MN、MCNS より大きい。内皮細胞での alpha-SMA の発現も各種腎炎で認められ、特に PSAGN での alpha-SMA の発現量は著しく増加している (図 1)。内皮細胞の増殖については糸球体毎の内皮細胞数、毛細血管腔数および毛細血管毎の内皮細胞数で計測した。内皮細胞の増殖は PSAGN と MPGN で他の腎炎より多く観

察された (図 2)。PSAGN は糸球体への浸潤細胞 (好中球、単球/マクロファージ、T 細胞) 増加、メサンギウム領域の拡大、内皮細胞 alpha-SMA 発現が他の腎炎より多く認められた。特に内皮細胞 alpha-SMA 発現は PSAGN に特徴的な所見であった (図 1)。免疫電顕で内皮細胞の alpha-SMA の発現が確認された。

D. 考察

管内性増殖すなわちメサンギウム細胞増加と内皮細胞増加は急性糸球体腎炎と膜性増殖性糸球体腎炎で著しい。前者は自然治癒する腎炎であるが後者は慢性進行性である。急性糸球体腎炎では内皮細胞に alpha-SMA の発現が強く観察される事より、予後の違いを規定しているのは内皮細胞の活性度であると考えられる。すなわち内皮細胞の活性化が糸球体障害の修復に関与していると考えられる。

E. 結論

(1) Alpha-SMA の内皮細胞での発現が認められた。

(2) 内皮細胞での alpha-SMA 発現の増加は障害を受けた糸球体の修復に関与している可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 知的所有権の出現登録状況

なし

H. 研究発表

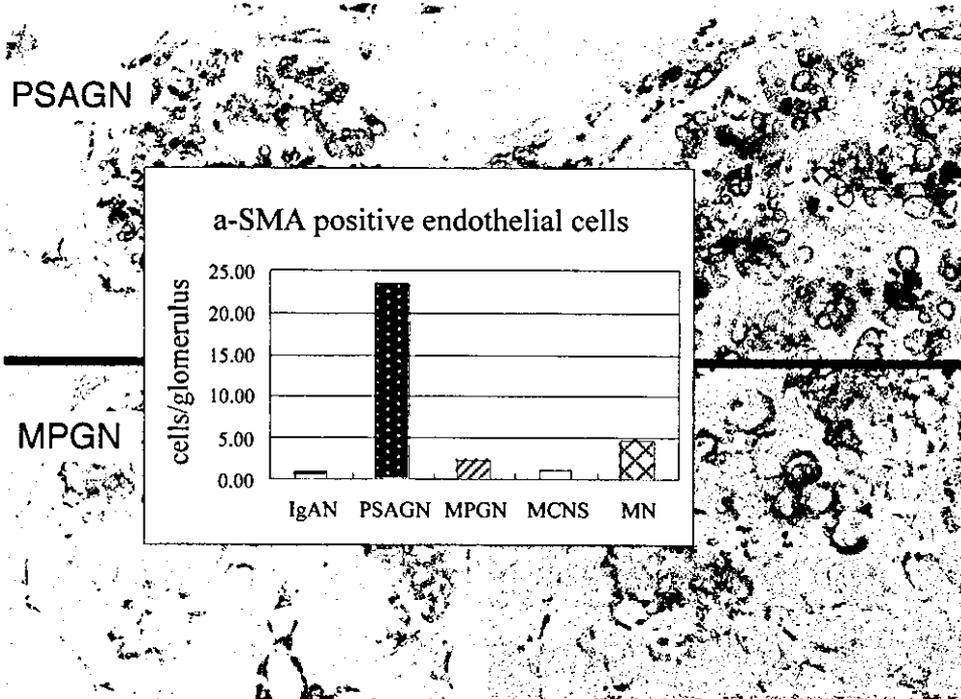
1. 論文発表

Wu Q, Jinde K, Endoh M, Sakai H: Clinical significance of costimulatory molecules CD80/CD86 expression in IgA nephropathy. *Kidney Int.* 65:888-896, 2004.

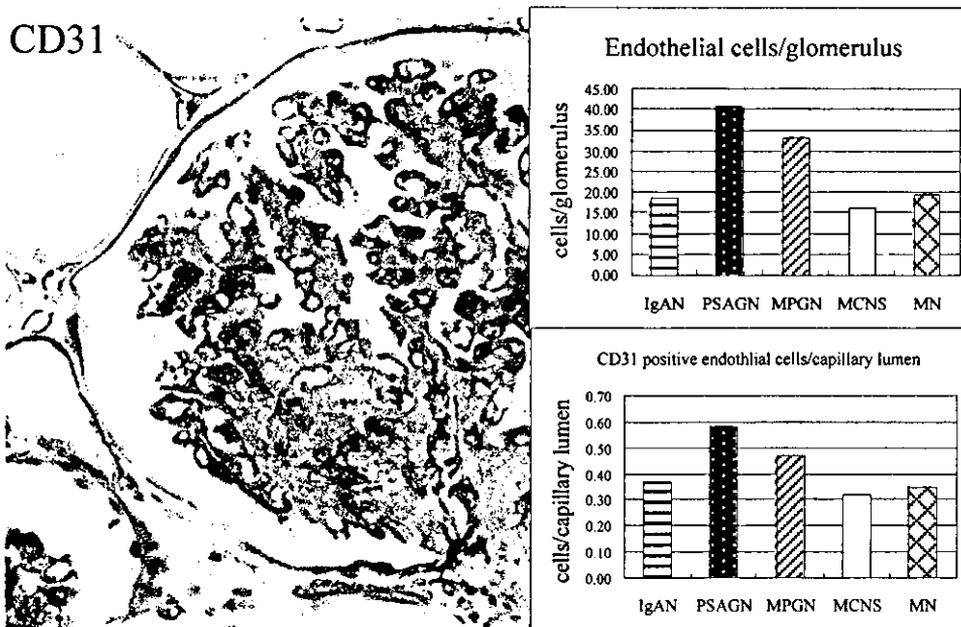
2. 学会発表

Wu Q, Koike Y, Nishina M, Suzuki D, Yagame M, Endoh M, Sakai H: Alpha-Smooth Muscle Actin Expressed in Glomerular Endothelial Cells May Be Related to the Glomerular Restoration. *American Society of Nephrology*, 2004.

☒ 1



☒ 2



疫学に関する調査研究班（Ⅱ）

分担・各個研究報告