

	いまい なおふみ
氏 名	今 井 直 史
学 位	博 士 (医学)
学 位 記 番 号	新大博(医)第1696号
学位授与の日付	平成18年9月21日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
博 士 論 文 名	Immunohistochemical evidence of activated lectin pathway in kidney allografts with peritubular capillary C4d deposition (同種移植腎傍尿細管毛細血管への C4d 沈着に関するレクチン経路活性化の免疫組織学的証明)
論文審査委員	主査 教授 山 本 格 副査 教授 下 條 文 武 副査 教授 高 橋 公 太

#### 博士論文の要旨

同種移植腎の傍尿細管毛細血管(peritubular capillary, PTC)へのC4d沈着は、液性拒絶反応の有用な指標であるとされる。PTCにC4d沈着が陽性のレシピエントの43-90%が抗ドナー抗体陽性である事実から、PTC内皮細胞に発現する同種抗原への抗ドナー抗体IgG、IgMの結合反応から補体経路が活性化され、C4dが沈着すると考えられている。C4dは、三種類の補体活性化経路のうち、古典的経路とレクチン経路により生成される。移植腎PTCにおいて、古典的経路は、抗ドナー抗体とHLAによる抗原抗体複合物にC1qが反応して活性化されていると考えられる。一方、レクチン経路は、古典的経路とは独立した新たに確認されている補体活性化経路である。細胞表面の糖鎖に三種類のレクチン(MBL、H-ficolin、L-ficolin)が結合し、これらと複合体を形成する酵素(MASP-1、MASP-2)により活性化させる。移植腎C4d陽性PTCに古典的経路のイニシエーターであるIgG、IgMが免疫組織学的に検出されたという報告はABO血液型不適合移植腎以外にはなく、また、C1qが陽性であったとの報告はない。レクチン経路の関与とC4d陽性所見との関連も研究されていない。そこで申請者らは、C4d沈着移植腎PTC局所での、これら二つの補体活性経路が活動性、特にその初期段階の活動性について、免疫組織学的手法による検討を試みた。

2000年7月から2005年6月までの間に、当院で実施された移植腎生検のうち、免疫組織学的な検討が可能であった60人のレシピエント(男性39例、女性21例。生検時平均年齢 $38.4 \pm 12.3$ 歳)から得られた60例の移植腎組織(エピソード生検48例、プロトコール生検12例)を対象とした。対象群のうち52例は生体腎移植例(ABO血液型一致35例、同不適合9例、同不一致8例)、8例は死体腎移植例で血液型は全例一致であった。得られた移植腎生検標本は、光学顕微鏡で観察し、拒絶反応の組織的診断基準であるBanff分類に従って評価した。免疫蛍光法には新鮮な連続凍結切片を用い、抗ヒトIgG、IgM、C1q、C4d、MBL、H-ficolin、L-ficolin、MASP-1、MASP-2抗体で免疫染色を行った。

対象群を、広範囲な PTC への C4d 沈着の有無により 2 群に分けた (C4d 陽性群 18 例、同陰性群 42 例)。ABO 血液型不適合 9 例はすべて陽性群であり、組織学的に拒絶所見のない症例 5 例にも C4d 沈着を認めた。陽性群のうち 2 例では、移植腎生検時に抗 ABO 血液型抗体が上昇していた。陽性群のうち 14 例では、広範な PTC への IgM と H-ficolin の沈着が見られ、残りの 4 例は IgM か H-ficolin のどちらか一方しか沈着しておらず、両者とも陰性の症例はなかった。それ以外の抗体は PTC 上に陽性所見は確認されなかった。C4d 陰性群全例では、すべての抗体の陽性所見が観察されなかった。移植腎生検時の検査データは、血清 BUN 値、クレアチニン値、尿酸値と SAA 値が、C4d 陽性群で有意に高値であった。これは、C4d 陽性群のうち 17 例 (94%) が急性拒絶反応後のエピソード生検であったためと思われる。

ABO 血液型不適合移植では、今回の結果と同様に、高率に PTC への C4d 沈着があり、免疫グロブリンもまた陽性であると報告されている。PTC への IgM の沈着は、ABO 血液型不適合腎移植と関連がある可能性があり、抗 A または抗 B 血液型抗体のような、HLA 以外の抗原に対する抗ドナー抗体の関与が推測される。今回、ABO 血液型不適合例はすべて C4d と H-ficolin が共に陽性であったことから、H-ficolin のリガンドは ABO 血液型抗原であることも推測される。レクチンである H-ficolin は、末端糖鎖の N-acetyl-D-glucosamine と N-acetyl-D-galactosamine (GalNAc) を認識して結合する。一方 ABO 血液型抗原は糖鎖抗原であり、糖鎖末端の GalNAc は A 型抗原のみに存在する。今回の対象例では、PTC に C4d 陽性であった症例は必ずしも A 型不適合例だけではなく、B 型不適合や血液型一致症例も含まれていた。これより H-ficolin のリガンドは ABO 血液型抗原の糖鎖だけではないことも示唆された。

以上の結果より、陽性移植腎 PTC の C4d 形成には、IgM と H-ficolin が関与していることから、古典的経路の他にレクチン経路が関与していることが始めて示唆された。

#### (論文審査の要旨)

移植腎の傍尿細管毛細血管 (peritubular capillary, PTC) への C4d 沈着は、液性拒絶反応の指標とされる。C4d は、古典的経路と、mannose-binding lectin、H-ficolin、L-ficolin などによって活性化されるレクチン経路で形成される。移植腎 PTC への C4d 沈着に、レクチン経路が関与するという報告はない。申請者は、移植腎 PTC への C4d の沈着に関するレクチン経路の関与を、免疫組織学的に明らかにする目的で、60 症例の移植腎生検標本を用いて本研究を行った。

60 例のうち 18 例で、PTC に C4d が陽性であった。これら 18 例のうち 14 例では、PTC に IgM と H-ficolin が陽性であった。IgM または H-ficolin のどちらか一方のみが陽性の例は 4 例あったが、両者とも陰性の例はなかった。また、ABO 不適合腎移植例は、9 例全例が両者とも陽性であった。このことから、血液型糖鎖抗原が H-ficolin のリガンドのひとつである可能性が示唆された。

以上、移植腎 PTC への C4d の沈着には、古典的経路の他に、H-ficolin で活性化されるレクチン経路も関与する可能性を明らかにした点に、本研究の学位論文としての価値を認める。