

表題

シクロスポリン腎障害発症における、M2型マクロファージの関与とステロイドの影響

M2-type macrophages and corticosteroids in the pathogenesis of cyclosporine-induced kidney injury

著者

山田剛史 Takeshi Yamada

(主任：齋藤昭彦教授 Director：Prof. Akihiko Saitoh)

所属機関

新潟大学大学院医歯学総合研究科 生体機能調節医学専攻 小児科学分野

Division of Pediatrics, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

要旨

【序文】小児頻回再発型ネフローゼ症候群ではシクロスポリン (CsA) 治療が再発予防に有効であるが、その長期投与は慢性腎障害を惹起する。腎障害発症の明確な機序は不明であり、今回 CsA による尿細管間質障害発症の機序を考察した。特に M2 型マクロファージに着目し、間質障害にマクロファージがどのように寄与するか検討した。

【方法】CsA を 2 年以上投与された頻回再発型ネフローゼ症候群 11 症例を対象とし、CsA を投与されていない頻回再発型ネフローゼ症候群 6 症例をコントロールとした。腎生検組織を用いて、免疫抗体法にて、CD68 (汎マクロファージマーカー)、CD86 (M1 型マクロファージマーカー)、CD163 (M2 型マクロファージマーカー) を染色し、各々のマクロファージ数をカウントした。同様に α -smooth muscle action (α -SMA)、I 型コラーゲン、connective tissue growth factor (CTGF) を染色した。 α -SMA 陽性領域、I 型コラーゲン陽性領域の面積を計測し、線維化の程度の指標とした。また、各症例のステロイド (プレドニゾロン ; PSL) 投与量を算出し、マクロファージ数、間質線維化の程度との相関を検討した。

【結果】CsA 投与群と非投与群で、糸球体病変に差異はみられなかったが、間質では、CsA 投与群で CD68 陽性 CD163 陽性の M2 型マクロファージの浸潤が顕著であった。CD163 陽性細胞は、間質の α -SMA、I 型コラーゲンの発現領域に一致して局在した。間質の線維化の程度は、PSL 投与量 ($r=0.74, P<0.01$)、CsA 投与期間 ($r=0.80, P<0.01$)、ネフローゼ症候群再発回数 ($r=0.68, P<0.05$) と相関しており、また、CD163 陽性細胞数は、 α -SMA 陽性領域の面積 ($r=0.82, P<0.01$)、PSL 投与量 ($r=0.73, P<0.05$)、CsA 投与期間 ($r=0.82, P<0.01$) と相関がみられた。

【結論】CsA を長期間投与されたステロイド依存性ネフローゼ症候群患者にみられる腎尿細管間質線維化に M2 型 M ϕ が関与し、ステロイドによる治療は M ϕ の M2 型活性化を介して線維化を助長していることが示唆された。

キーワード

マクロファージ シクロスポリン ステロイド 腎障害 線維化

別刷請求先

〒951-8510 新潟市中央区旭町通1番町757

新潟大学大学院医歯学総合研究科 小児科学分野

山田剛史

序文

ネフローゼ症候群は、糸球体障害により高度蛋白尿、低蛋白血症、全身浮腫をきたす疾患群である。小児特発性ネフローゼ症候群の第一選択薬はステロイドで、これにより約 80%が寛解に至るが、その 80%は再発し、さらにそのうち半数が頻回再発となる¹⁾²⁾。頻回再発型ネフローゼ症候群では、ステロイド使用量が増加し、ステロイドによる有害事象の出現が大きな問題となる。このような症例に対し、ステロイドの減量・中止を目的として免疫抑制薬による再発予防が推奨され、なかでも我が国ではシクロスポリン (CsA) が第一選択として使用され、多くの患者でステロイドを減量中止することができる。一方で、CsA を中止することにより多くの症例で再発がみられ、再び頻回再発型となる³⁾。そのため CsA の長期投与を余儀なくされるが、その重大な副作用である慢性腎障害 (CsA 腎症) は、2年以上の長期投与で発症リスクが高くなるとされる⁴⁾⁵⁾。腎障害の発症機序に関する報告は今までもみられるが、明確な機序は不明である。

今回我々は、CsA 腎障害の発症過程に、マクロファージ (M ϕ) が関与している可能性につき検討した。M ϕ の腎への浸潤は、炎症性、非炎症性を問わず、多くの進行性腎疾患にみられる現象である。その浸潤度や局在は、疾患、病勢、病期等によって異なる。また、活性化 M ϕ には、炎症性作用を有する古典的な M1 型と、抗炎症作用を有し組織修復や線維化に関わる M2 型の 2 系統が存在する、という概念が提唱され、腎に浸潤する活性化 M ϕ についても、各々の役割が明らかにされつつある⁶⁾。我々は過去に、IgA 腎症における慢性組織病変の形成に、M2 型 M ϕ が関与していることを報告した⁷⁾。さらに、最近、免疫抑制薬やステロイド投与下で生じる移植腎の慢性組織障害、特に尿細管間質の線維化に M2 型活性化 M ϕ が関与していることを報告している⁸⁾。また、慢性移植腎症を含む各種慢性腎疾患で使用されるステロイドが、M2 型 M ϕ の活性化を助長することを明らかにしている⁷⁾⁸⁾。今回我々は、ステロイド依存性ネフローゼ症候群患者において、CsA 腎障害の発症に M2 型 M ϕ が関与する可能性について検討した。

対象ならびに方法

新潟大学医歯学総合病院小児科でステロイド依存性ネフローゼ症候群と診断され、1998年から2010年に腎生検を施行された患者のうち、CsAを2年以上投与された11例を対象とし、また、CsAの投与を行っていない腎生検時年齢が同等の6例を対照とした。各々の腎組織で、糸球体病変（メサンギウム基質の増生、糸球体細胞数）、間質線維化（ α -smooth muscle actin（SMA）およびI型コラーゲン発現）、M ϕ の浸潤について比較検討した。糸球体病変は一般の病理診断時に行うPeriodic acid-Schiff（PAS）染色標本を用い、コンピュータ画像解析にて1糸球体切片あたりに占める、PAS陽性領域（メサンギウム基質領域）および1糸球体あたりの総細胞数を単位面積あたりに換算して行った。間質線維化およびM ϕ 浸潤数については、同じ腎生検組織のパラフィン包埋切片を用いて、酵素抗体法または蛍光抗体法による免疫組織染色を行った。いずれも、一患者あたり12個以上の糸球体でカウントし、間質では高倍率（400倍）下連続9視野以上でカウント、計測した。

CsA投与群は、CsA投与後2年以上経過した時点で、副作用発現の有無確認目的で行った腎生検検体を用いた。また、診療録を後方視的に検討し、初発時から腎生検施行時までのステロイド投与量を、体重あたりのプレドニゾロン（PSL）投与量で算出し、間質の線維化およびM ϕ 浸潤度との相関について検討した。

尚、本研究の実施は、新潟大学医学部の倫理委員会の承認を得て行った。また、腎生検組織の研究目的の使用については、腎生検実施前に患者への説明および同意を得ている。

ネフローゼ症候群は厚生労働省研究班の定義に従い、蛋白尿の持続と低蛋白血症により診断した。すなわち、早朝尿で300mg/dL以上の蛋白尿が持続し、血清総蛋白が6.0g/dL以下（乳児では5.5g/dL以下）または血清アルブミンが3.0g/dL以下（乳児では2.5g/dL以下）のときに、ネフローゼ症候群と診断した。患者は全てステロイドによる治療が行われ

た。初発時には、PSL を体表面積当たり 60mg (60mg/m²) 4 週間投与し、その後は 40mg/m² を 4 週間隔日投与して治療を終了した。再発時には、PSL60mg/m² で治療を開始し、尿蛋白陰性を 3 日間確認した後に漸減中止した。CsA は血中濃度を測定し、投与開始後 6 か月間は、トラフ濃度 80-100ng/mL を維持するよう投与量を調整し、その後は、トラフ濃度 60-80ng/mL となるよう調整を続けた。なお、ステロイド減量中あるいはステロイド中止後 2 週間以内に 2 回連続して再発した場合を、ステロイド依存性と定義した。

使用抗体類

本研究では、一次抗体として、抗ヒト CD68 マウスモノクローナル抗体 (PG-M1 : マウス IgG3 ; 汎 Mφ) (DAKO, Tokyo, Japan)、抗ヒト CD86 ウサギモノクローナル抗体 (EP1158Y : ウサギ IgG ; M1 マーカー) (abcam, Tokyo, Japan)、抗ヒト CD163 マウスモノクローナル抗体 (10D6 : マウス IgG1 ; M2 マーカー) (Vision Biosystems, Newcastle-upon-Tyne, UK)、抗ヒト α -SMA マウスモノクローナル抗体 (1A4 : マウス IgG2a) (DAKO)、抗ヒト I 型コラーゲンウサギポリクローナル抗体 (Novus Biologicals, Littleton, CO, USA)、および抗ヒト CTGF マウスモノクローナル抗体 (2154-60 : マウス IgM) (Acris Antibodies, Hiddenhausen, Germany) を使用した。また、二次抗体として、horseradish peroxidase (HRP) 標識ヤギ抗マウス抗体 (DAKO)、fluorescein isothiocyanate (FITC) 標識ヤギ抗マウス抗体 (Southern Biotechnology Associates, Birmingham, AL, USA)、tetramethyl-rhodamine isothiocyanate (TRITC) 標識ヤギ抗マウス抗体 (Southern Biotechnology Associates)、FITC 標識ブタ抗ウサギ抗体 (DAKO)、FITC 標識ヤギ抗マウス抗体 (Chemicon, Temecula, CA, USA) を用いた。

免疫組織化学

腎生検組織のパラフィン切片 (厚さ 2 μ m) をキシレンによる脱パラフィン後、エタノー

ルで親水化、抗原賦活化のため pH6.0 クエン酸ナトリウム緩衝液を使用して 20 分間のオートクレーブによる加熱処理を施し、リン酸緩衝食塩水 (PBS) で洗浄した。これにより得られた検体を、以下に示す通り、酵素抗体法および蛍光抗体法にて染色した。

酵素抗体法

酵素抗体法は PAP 法 (peroxidase-anti-peroxidase) を用いた。検体を、10%ヤギ血清、10%ウシ胎児血清 (FCS)、1%ウシ血清アルブミン (BSA) に 30 分間反応させ、一次抗体を 4℃で一晩反応させた。一次抗体として、抗ヒト CD68 マウスモノクローナル抗体 (PG-M1:マウス IgG3)、抗ヒト CD163 マウスモノクローナル抗体(10D6:マウス IgG1)、抗ヒト α -SMA マウスモノクローナル抗体 (1A4:マウス IgG2a) を用いた。その後、PBS により 3 回洗浄し、内因性ペルオキシダーゼ活性を阻害するために過酸化水素水で処理し、PBS で洗浄した。続いて、二次抗体として HRP 標識ヤギ抗マウス抗体を 45 分間、PAP (peroxidase-anti-peroxidase complex) を 45 分間、各々室温で反応させた。PBS で洗浄後、DAB (diaminobenzidine) または True Blue を用いて発色させた。酵素抗体法で染色された CD68 陽性細胞および CD163 陽性細胞を、一患者あたり 12 個以上の糸球体でカウントし、間質では高倍率 (400 倍) 下連続 9 視野以上でカウントした。また、尿細管間質の線維化は、コンピュータを用いた画像解析にて、単位面積当たりの α -SMA 陽性領域の面積を計測、%として算出した。解析ソフトとして Sigma Scan Pro version5.0 (Systat Software, Point Richmond, CA, USA) を用いた。

蛍光抗体法

蛍光抗体染色は、上述のパラフィン包埋切片を用い、脱パラフィン、抗原賦活化を行った後に、主に細胞の表出抗原の一致または抗原局在の一致を確認するための二重染色を目的に行った。一次抗体として抗ヒト CD68 マウスモノクローナル抗体 (PG-M1:マウス

IgG3)、抗ヒト CD86 ウサギモノクローナル抗体 (EP1158Y:ウサギ IgG)、抗ヒト CD163 マウスモノクローナル抗体 (10D6:マウス IgG1)、抗ヒト I 型コラーゲンウサギポリクローナル抗体、抗ヒト CTGF マウスモノクローナル抗体 (2154-60:マウス IgM) を用いた。二次抗体として、一次抗体のサブクラスまたは宿主の対応した FITC 標識ヤギ抗マウス IgG1、IgM 抗体、TRITC 標識ヤギ抗マウス IgG1、IgG3 抗体、FITC 標識ブタ抗ウサギ抗体、を用いた。CD68 陽性細胞数、CD86 陽性細胞数、CD163 陽性細胞数は、酵素抗体法でのカウントと同様の方法でカウントし、間質での I 型コラーゲン陽性領域の占める面積も、酵素抗体法と同様の方法で計測した。

統計学的解析

患者年齢、薬剤投与期間、薬剤投与量、再発回数、eGFR (estimated glomerular filtration ratio) は、平均値±SD で示した。統計解析は統計ソフト GraphPad バージョン 6.0 (San Diego, CA, USA) を用いて、群間の有意差検定に Mann-Whitney test または Fisher's exact test を用い、相関係数の検定に Pearson single correlation coefficient または Spearman's correlation coefficient を用いて行った。各々 $P < 0.05$ を有意とした。

結果

CsA 群と対照群の臨床背景の比較

患者背景を表 1 に示す。対照群との比較では、男女比、発症年齢、腎生検時年齢、発症から腎生検までの期間、腎生検時の腎機能(eGFR)のいずれにも有意な差が認められなかったが、発症から腎生検までの PSL の総投与量が CsA 投与群で有意に多かった。

CsA 群と対照群の組織所見の比較

CsA 投与群と非投与群で、糸球体病変 (糸球体基質の増生、糸球体総細胞数) に差異は

みられず、全例微小変化型であった (図 1, 2)。一方間質では、免疫組織染色 (酵素抗体法) にて、CsA 投与群で α -SMA 発現の有意な増加が認められ、 α -SMA 発現部位に一致して有意な CD163 (M2 マーカー) 陽性細胞浸潤の増加を認めた (図 1, 2)。蛍光抗体所見でも、CsA 投与群の間質に I 型コラーゲン発現の有意な増加と、これに一致して CD163 陽性細胞浸潤が認められた (図 2, 3)。また、CD68 (汎 M ϕ マーカー) 陽性細胞浸潤も CsA 投与群で有意に多かったが、CD86 (M1 マーカー) 陽性細胞浸潤は少なく、両群間に差を認めなかった (図 2)。

二重蛍光染色で、CD68 陽性細胞の 95% が CD163 を発現していたが、CD86 陽性の M ϕ はわずかであった (図 3)。さらに、この CD163 陽性細胞に一致して線維化促進因子である CTGF の発現が確認された (図 3)。

間質線維化と各種パラメータの相関

間質の線維化と臨床データとの相関を検討したところ、CsA 投与中の PSL 投与量 ($r=0.74$, $P<0.01$)、CsA 投与期間 ($r=0.80$, $P<0.01$)、CsA 投与中の再発回数 ($r=0.68$, $P<0.05$) が、間質線維化と有意な相関を認めた (表 2)。間質の線維化は、間質の α -SMA 陽性領域面積を用いて検討したが、これは CD163 陽性細胞数 ($r=0.82$, $P<0.01$) とも相関していた (図 4)。さらに、CD163 陽性細胞数は、CsA 投与中の PSL 投与量 ($r=0.73$, $P<0.05$) および CsA 投与期間 ($r=0.82$, $P<0.01$) と相関していた (図 4)。CD86 陽性細胞数は、間質の線維化、CsA 投与期間のいずれとも相関はみられなかった (データ省略)。

考察

今回の検討から、ステロイド依存性ネフローゼ症候群患者に対する CsA の長期使用により生じる CsA 腎障害に M ϕ が関与することが明らかとなった。特に、CsA 腎症の特徴的な病理所見である尿細管間質線維化に CD163 陽性の M2 型 M ϕ が関与するものと考えられた。

近年、M ϕ はその活性化様式に、interferon (IFN) - γ などの炎症性サイトカインにより、炎症促進性、組織障害性に働く M1 型と、interleukin (IL) -4 や IL-13 などの抗炎症性サイトカインにより、免疫調節や組織の修復、線維化に関与する M2 型の存在が明らかにされており、我々もこれまでの検討から、炎症像の強いループス腎炎では糸球体に浸潤するほぼ全ての M ϕ が M1 型であったのに対して、IgA 腎症では M1 型と M2 型が混在していたこと、尿細管間質ではループス腎炎、IgA 腎症ともに M2 型が大半を占めていたことなどを報告している⁹⁾。さらに、最近は免疫抑制薬やステロイド投与下で生じる慢性移植腎症の尿細管間質の線維化にも CD163 陽性 M ϕ が関与していることを報告した。

本研究で明らかになったもう一点の重要な事実は、長期 CsA 投与患者では、程度に差はあるものの、非投与患者と比較して有意な間質線維化が認められることである。CsA 腎症の診断は、一般には病理専門医によって尿細管間質の縞状線維化や尿細管上皮細胞の萎縮、細小動脈障害所見などの特徴的所見から成される。一方、今回の検討対象になった症例 11 例中、病理学的に CsA 毒性有りとして診断された症例は 2 例のみであった。このことは、間質線維化を客観的に定量評価したものであり、病理学的に CsA 腎症の特徴的所見が出現する以前にすでに様々なスペクトラムで間質線維化が進行していることを示唆する重要な結果と言える。

CsA を 2 年以上投与されているステロイド依存性ネフローゼ症候群患者の尿細管間質には、M2 型 M ϕ が α -SMA または I 型コラーゲン発現領域に一致して浸潤していた。さらに、浸潤した M2 型 M ϕ の数と、間質の線維化の程度は有意に相関していた。これらの所見は、慢性糸球体腎炎や実験腎炎で、M2 型 M ϕ と糸球体、尿細管間質の線維化に関連があるとす、過去の報告とも一致する⁷⁻¹¹⁾。

また今回、CsA 治療中のステロイド総投与量と間質 M2 型 MQ 数との間に有意な相関が認められ、ステロイドが M ϕ の M2 型活性化もしくは M2 型 M ϕ の浸潤を促進させるとい

う知見が得られた。実際に、ラット M ϕ がステロイド投与により M2 型へ活性化することが報告されている¹²⁾。我々も、ラットメサンギウム増殖性糸球体腎炎でのステロイド投与が M ϕ の M2 型活性化を促進し、糸球体のメサンギウム基質の増生や糸球体硬化といった慢性病変を悪化させること、また、ラットの腹腔由来 M ϕ やヒト末梢血単球から誘導した M ϕ がステロイド刺激により CD163 発現が増大し、mRNA レベルで線維化促進因子である tissue growth factor (TGF)- β 1 や CTGF の発現を増強させることを報告している⁷⁸⁾。

以上をまとめると、CsA を長期間投与されたステロイド依存性ネフローゼ症候群患者では、腎尿細管間質への M2 型 M ϕ の浸潤、あるいは間質 M ϕ の M2 型活性化が促進する結果、尿細管間質の線維化を生じ、頻回のステロイド投与が M2 型 M ϕ の CTGF など線維化促進因子の産生を促進する結果、さらに線維化病変の形成を助長する可能性が示唆された。しかし、CsA 腎障害にみられる M2 型 M ϕ が、腎尿細管間質局所で M2 型活性化をするのか、あるいはすでに活性化した M2 型 M ϕ が腎間質へと浸潤するのか、さらにどのような機序でこれら M ϕ が腎組織へと浸潤するのか、今後解明すべき不明な点は多い。

CsA を使用しているステロイド依存性ネフローゼ症候群患者は多く、不可逆性腎不全の原因ともなりうる CsA 腎障害の予防法の確立は最も重要な課題といえる。この点で、M2 型活性化 M ϕ は重要なターゲットと言える。我々はミゾリビンなどの代謝拮抗薬が、ステロイドによってむしろ活性化する M2 型 M ϕ の抑制作用を有することを見出しているが¹⁰⁾¹³⁾、今後このような既知の免疫抑制薬を M2 型 M ϕ をターゲットとした応用法の開発や新規抑制薬の開発が期待される。

結論

CsA を長期間投与されたステロイド依存性ネフローゼ症候群患者にみられる腎尿細管間質線維化に M2 型 M ϕ が関与し、ステロイドによる治療は M ϕ の M2 型活性化を介して線維化を助長していることが示唆された。

謝辞

稿を終えるにあたり、御指導を賜りました新潟大学大学院医歯学総合研究科小児科学分野、齋藤昭彦教授、池住洋平先生に深謝いたします。

文献

- 1) Tarshish P, Tobin JN, Bernstein J and Edelmann CM Jr.: Prognostic significance of the early course of minimal change nephrotic syndrome: report of the International Study of Kidney Disease in Children. *J Am Soc Nephrol* 8: 769-776, 1997.
- 2) Anonymous: Effect of cytotoxic drugs in frequently relapsing nephrotic syndrome with and without steroid dependence. *N Engl J Med* 306: 451-454, 1982.
- 3) Ishikura K, Yoshikawa N, Nakazato H, Sasaki S, Iijima K, Nakanishi K, Matsuyama T, Ito S, Yata N, Ando T and Honda M; Japanese Study Group of Renal Disease in Children: Two-year follow-up of a prospective clinical trial of cyclosporine for frequently relapsing nephrotic syndrome in children. *Clin J Am Soc Nephrol* 7: 1576-1583, 2012.
- 4) Iijima K, Hamahira K, Tanaka R, Kobayashi A, Nozu K, Nakamura H and Yoshikawa N: Risk factors for cyclosporine-induced tubulointerstitial lesions in children with minimal change nephrotic syndrome. *Kidney Int* 61: 1801-1805, 2002.
- 5) Fujinaga S, Kaneko K, Muto T, Ohtomo Y, Murakami H and Yamashiro Y: Independent risk factors for chronic cyclosporine induced nephropathy in children with nephrotic syndrome. *Arch Dis Child* 91: 666-670, 2006.
- 6) Sica A and Mantovani A: Macrophage plasticity and polarization: in vivo veritas. *J Clin Invest* 122: 787-795, 2012.

- 7) Ikezumi Y, Suzuki T, Karasawa T, Hasegawa H, Yamada T, Imai N, Narita I, Kawachi H, Polkinghorne KR, Nikolic-Paterson DJ and Uchiyama M: Identification of alternatively activated macrophages in new-onset paediatric and adult immunoglobulin A nephropathy: potential role in mesangial matrix expansion. *Histopathology* 58: 198-210, 2011.
- 8) Ikezumi Y, Suzuki T, Yamada T, Hasegawa H, Kaneko U, Hara M, Yanagihara T, Nikolic-Paterson DJ and Saitoh A: Alternatively activated macrophages in the pathogenesis of chronic kidney allograft injury. *Pediatr Nephrol* 30: 1007-1017, 2015.
- 9) 池住洋平, 鈴木俊明, 唐澤環, 長谷川博也, 内山聖: 慢性糸球体腎炎における活性化マクロファージ. *日児腎誌* 23: 134-140, 2010.
- 10) Ikezumi Y, Suzuki T, Karasawa T, Hasegawa H, Kawachi H, Nikolic-Paterson DJ and Uchiyama M: Contrasting effects of steroids and mizoribine on macrophage activation and glomerular lesions in rat thy-1 mesangial proliferative glomerulonephritis. *Am J Nephrol* 31: 273-282, 2010.
- 11) Han Y, Ma FY, Tesch GH, Manthey CL and Nikolic-Paterson DJ: Role of macrophages in the fibrotic phase of rat crescentic glomerulonephritis. *Am J Physiol Renal Physiol* 304: 1043-1053, 2013.
- 12) Mantovani A, Biswas SK, Galdiero MR, Sica A and Locati M: Macrophage plasticity and polarization in tissue repair and remodelling. *J Pathol* 229: 176-185, 2013.
- 13) Ikezumi Y, Suzuki T, Karasawa T, Kawachi H, Nikolic-Paterson DJ and Uchiyama M: Use of mizoribine as a rescue drug for steroid-resistant pediatric IgA nephropathy. *Pediatr Nephrol* 23: 645-650, 2008.

表 1 患者背景

	CsA 投与群	CsA 非投与群	p 値
症例数	11	6	
性別（男：女）	7:4	4:2	ns
発症時年齢（歳）	6.2±3.2	10.7±5.4	0.14
腎生検時年齢（歳）	11.2±3.8	12.5±4.5	0.46
発症から腎生検までの期間（年）	4.6±3.0	1.8±2.9	0.065
腎生検時 eGFR（ml/min/1.73m ² ）	123.9±10.3	115.0±14.6	0.17
腎生検までの総 PSL 投与量 （mg/kg）	798.8±485.7	309.4±229.7	0.036

データは平均値±SD で示す。 Mann-Whitney 検定、性別のみ Fisher's 検定

CsA: cyclosporine, eGFR: estimated glomerular filtration rate, PSL: prednisolone

表 2 CsA 投与群の各パラメータと間質線維化との相関

	平均値±SD	間質線維化との相関
発症時年齢 (歳)	6.2±3.2	NS
腎生検時年齢 (歳)	11.2±3.8	NS
発症から腎生検までの期間 (年)	4.6±3.0	NS
腎生検時 eGFR (ml/min/1.73m ²)	123.9±10.3	NS
腎生検までの総 PSL 投与量 (mg/kg)	798.8±485.7	NS
CsA 投与前の PSL 投与量 (mg/kg)	552.9±340.2	NS
CsA 投与中の PSL 投与量 (mg/kg)	245.9±284.0	<i>P</i> <0.01 (Pearson <i>r</i> =0.74)
CsA 投与期間 (年)	3.2±2.2	<i>P</i> <0.01 (Pearson <i>r</i> =0.80)
CsA 投与中の再発回数 (回)	3.8±3.8	<i>P</i> <0.05 (Spearman <i>r</i> =0.68)

図の説明

図 1 対照群 (A, C, D) および CsA 投与群(B, E-J)の糸球体および尿細管間質所見

(A, B) : 対照群(A)、CsA 投与群(B)の糸球体 PAS 染色所見 (顕微鏡拡大 400 倍)

(C-J) : 対照群(C, D)および CsA 投与群(E-J)における α -SMA (青色)、CD163 陽性細胞 (茶色) の免疫組織化学二重染色所見 (C, E, G, I : 顕微鏡拡大 200 倍、A, B, D, F, H, J : 400 倍)

図 2 対照群と CsA 投与群の糸球体病変、間質線維化、マクロファージ浸潤像の比較

A : 糸球体メサンギウム基質の増生 (PAS 陽性基質の 1 糸球体切片に占める割合; %glomerulus)

B: 糸球体総細胞数(1 糸球体当たりの細胞数; 単位面積当たりに換算)

C: 間質単位面積あたりに占める α -SMA 陽性領域

D: 間質単位面積あたりに占める I 型コラーゲン陽性領域

E: 間質 CD68 (汎 M ϕ マーカー) 陽性細胞数 (単位面積当たりに換算)

F: 間質 CD163 (M2 マーカー) 陽性細胞数 (単位面積当たりに換算)

G: 間質 CD86 (M1 マーカー) 陽性細胞数 (単位面積当たりに換算)

図 3 蛍光抗体法による二重染色所見 (CsA 投与群、 $\times 400$)

(a-c) CD68 陽性 CD86 陽性細胞はほとんどみられない。

(d-f) CD68 陽性細胞の多くが CD163 陽性である。

(g-i) CD163 陽性細胞の局在は、I 型コラーゲン発現部位と一致している。

(j-l) CD163 陽性細胞の一部は線維化促進因子である CTGF 発現と一致する。

図 4 尿細管間質における CD163 陽性細胞浸潤と各種パラメータの相関 (CsA 投与群)

A: 尿細管間質線維化 (α SMA 陽性領域) との相関

B: CsA 投与中の PSL 総投与量との相関

C: CsA 投与期間との相関

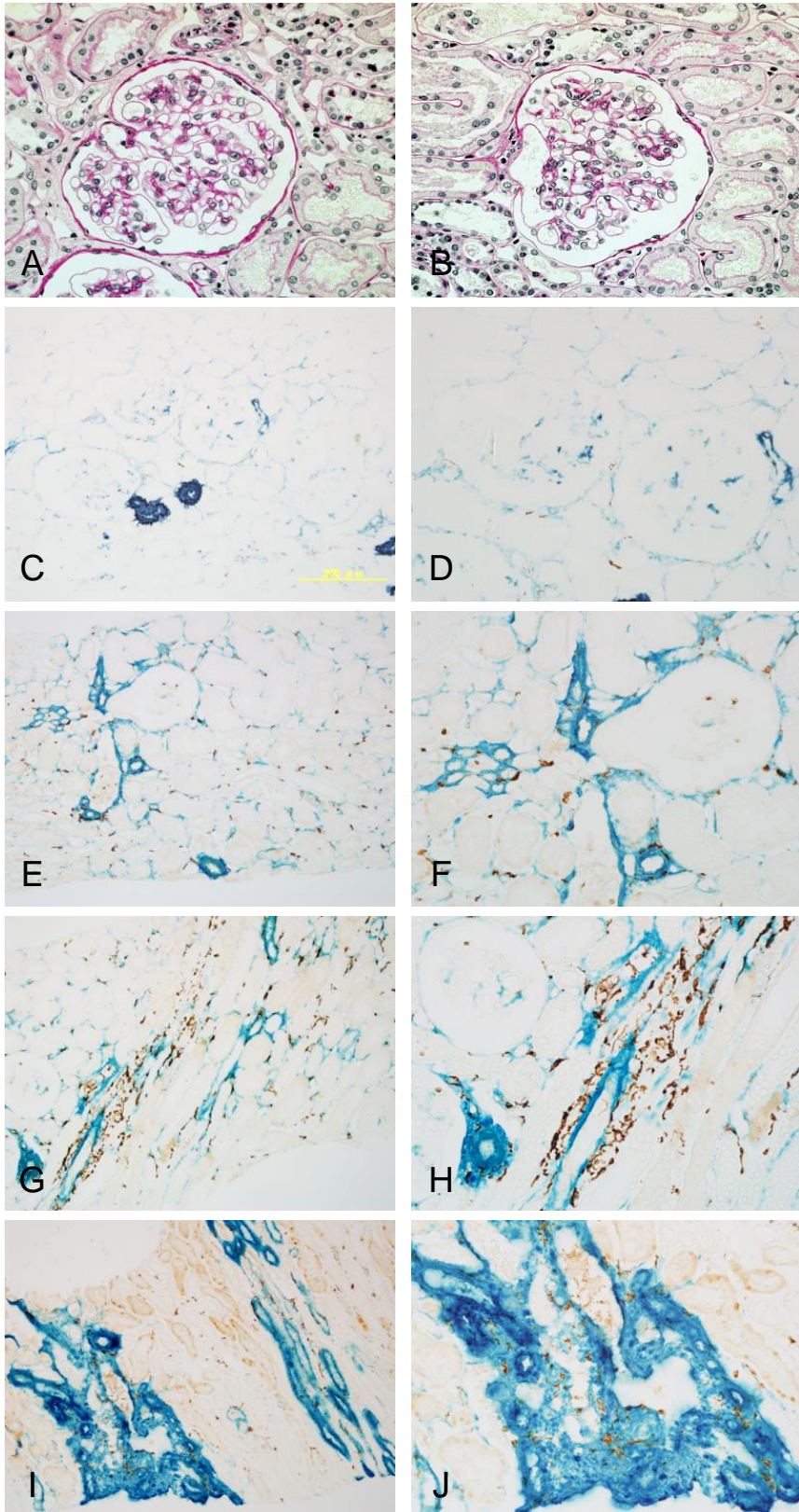


Fig. 1

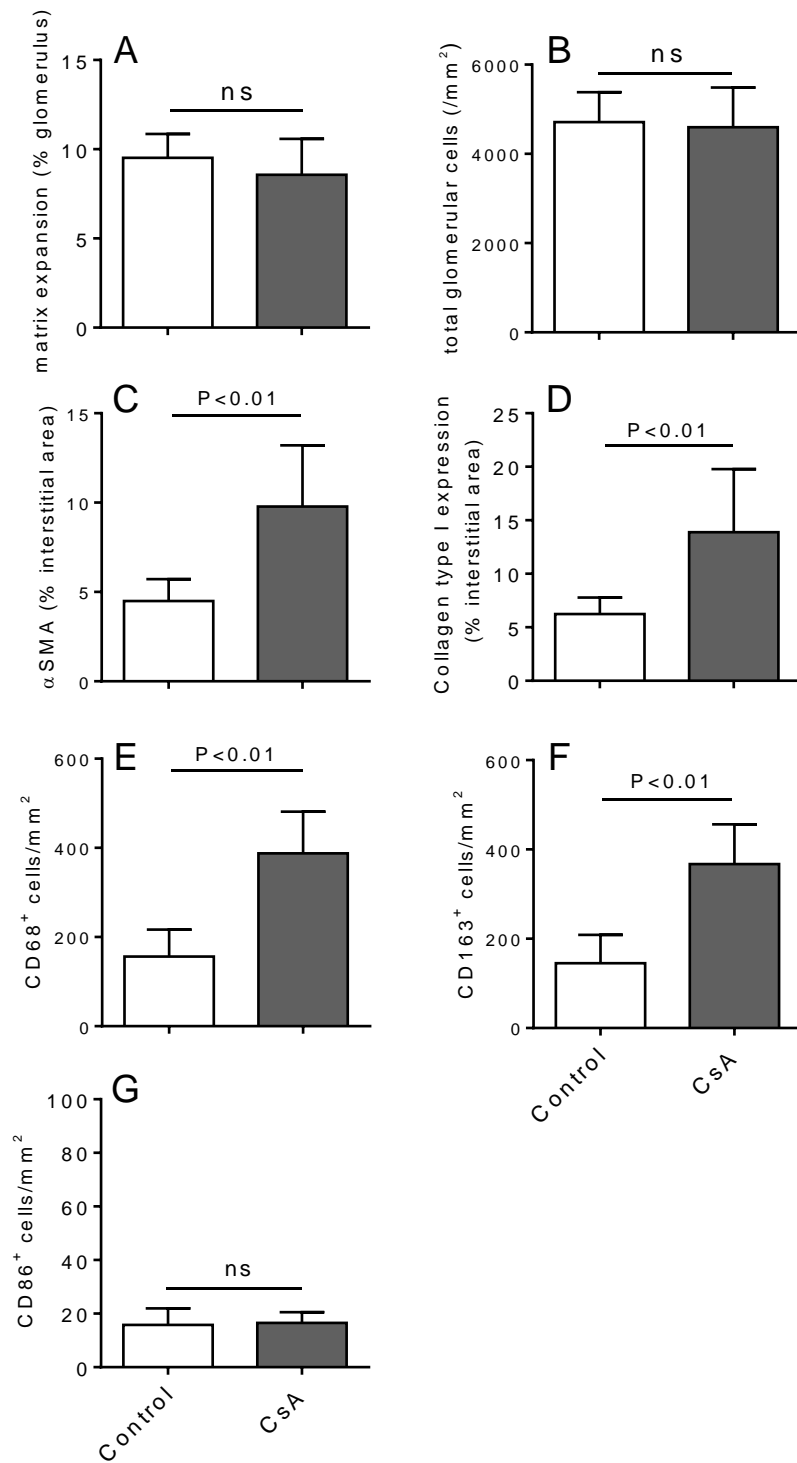


Fig. 2

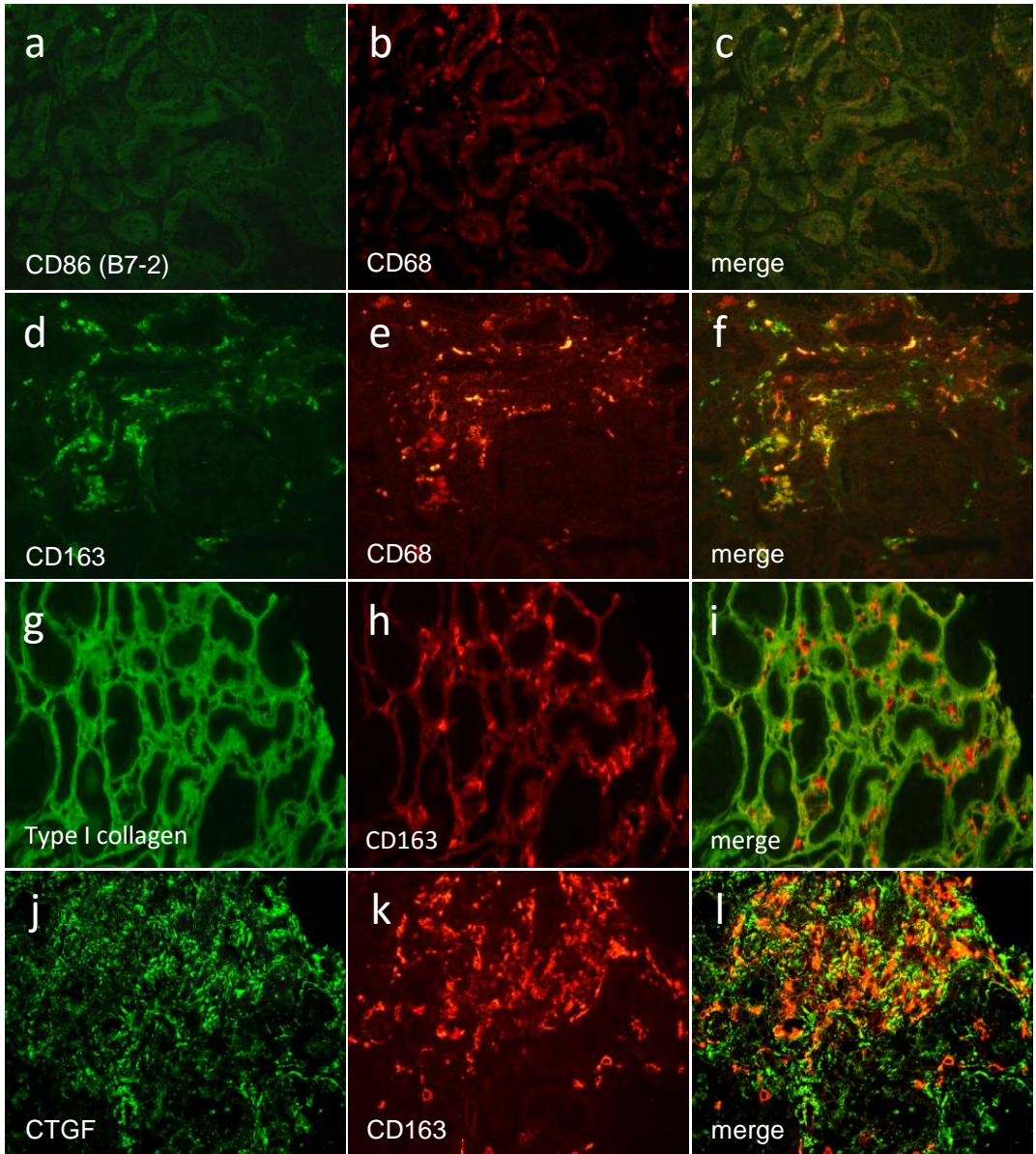


Fig. 3

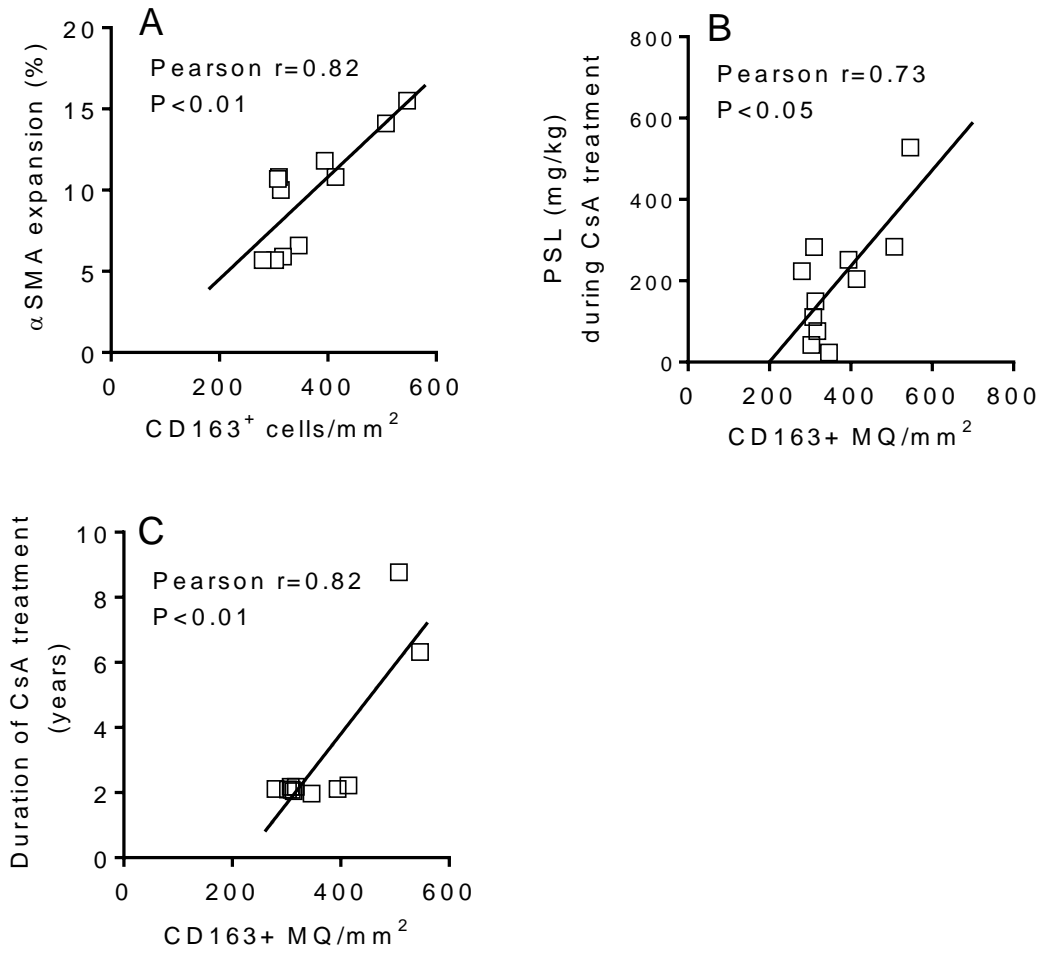


Fig. 4