

## 博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 山田 剛史  
学位 位 博士 (医学)  
学位記番号 新大院博 (医) 第 679 号  
学位授与の日付 平成 28 年 3 月 23 日  
学位授与の要件 学位規則第 4 条第 1 項該当  
博士論文名 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.  
論文審査委員 主査 教授 成田 一衛  
副査 教授 齋藤 昭彦  
副査 教授 後藤 眞

### 博士論文の要旨

#### 【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。こうした頻回再発型ネフローゼ症候群に対して、シクロスポリン (CsA) 投与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、今回尿細管間質線維化に関与することが知られる M2 型マクロファージに着目し、CsA 腎間質障害の発症機序を検討した。

#### 【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。各々の腎組織で、糸球体病変 (メサングウム基質の増生、糸球体細胞数)、間質線維化 ( $\alpha$ -smooth muscle actin (SMA) および I 型コラーゲン発現)、マクロファージ (M $\phi$ ) の浸潤について比較検討した。M $\phi$  の浸潤については、免疫抗体法にて、CD68 (汎 M $\phi$  マーカー)、CD86 (M1 型 M $\phi$  マーカー)、CD163 (M2 型 M $\phi$  マーカー) を染色し、各々の M $\phi$  数をカウントした。間質の線維化の評価については、 $\alpha$ -SMA、I 型コラーゲン、connective tissue growth factor (CTGF) を染色した。 $\alpha$ -SMA 陽性領域、I 型コラーゲン陽性領域の面積をコンピューター画像解析システムを用いて計測し、線維化の程度の指標とした。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 (プレドニゾロン; PSL) 投与量を算出し、M $\phi$  数、間質線維化の程度との相関を検討した。統計解析は統計ソフト GraphPad6.0 (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 投与群と非投与群で、糸球体病変に差異はみられず、全例微小変化型であった。一方間質では、CsA 投与群で $\alpha$ -SMA、I 型コラーゲンの有意な発現増加を認めた。また、CD68 陽性 CD163 陽性の M2 型 M $\phi$  も、CsA 投与群で有意な浸潤を認め、かつこれらは間質の $\alpha$ -SMA、I 型コラーゲンの発現領域に一致して局在した。CD68 (汎 M $\phi$  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。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 ( $r = 0.68$ ,  $P < 0.05$ ) と関連しており、また、CD163 陽性細胞数は、 $\alpha$ -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。

## 【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 $\phi$  が関与することが明らかとなった。M $\phi$  はその活性化様式に、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、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 型が存在するとされるが、CsA 腎症の尿細管間質線維化には、CD163 陽性の M2 型 M $\phi$  が関与するものと考えられた。ま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たことである。今回の検討対象になった症例 11 例中、病理学的に CsA 毒性有りと診断された症例は 2 例のみであったが、このことは、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。

さらに、今回、CsA 治療中のステロイド総投与量と間質 M2 型 M $\phi$  数との間に有意な相関が認められ、ステロイドが M $\phi$  の M2 型活性化もしくは M2 型 M $\phi$  の浸潤を促進させるという知見が得られた。以上の所見から、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 $\phi$  の浸潤、あるいは間質 M $\phi$  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 $\phi$  の CTGF など線維化促進因子の産生を促進することで、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。

## 【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 $\phi$  が関与し、ステロイドによる治療は M $\phi$  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。

## 審査結果の要旨

小児ステロイド依存性ネフローゼ症候群 (SDNS) の再発予防にシクロスポリン (CsA) が有効だが、その長期投与は尿細管間質障害を惹起する。しかし、その詳細な機序は不明である。そこで申請者は CsA による腎障害機序を、M2 型マクロファージ (MQ) に着目して検討した。CsA を 2 年以上投与された SDNS 11 例を対象とし、CsA 非投与 SDNS 6 例を対照とした。腎生検組織の、CD68 (汎 MQ)、CD86 (M1 型 MQ)、CD163 (M2 型 MQ) を染色し、各々の MQ 数を算出した。 $\alpha$ -SMA 陽性領域、I 型コラーゲン陽性領域の面積を線維化の指標とした。各症例のプレドニゾロン (PSL) 投与量、MQ 数、間質線維化との相関を検討した。CsA 投与群で、間質への M2 型 MQ の有意な浸潤を認め、その局在は間質の線維化領域に一致した。間質線維化の程度は、CsA 投与中の PSL 投与量、CsA 投与期間、CsA 投与中の再発回数と相関し、CD163 陽性細胞数は、

$\alpha$ -SMA 陽性領域の面積、CsA 投与中の PSL 投与量、CsA 投与期間と相関した。

本論文は、CsA を長期間投与された SDNS 患者に生じる腎尿細管間質線維化に M2 型 MQ が関与し、ステロイドが MQ の M2 型活性化を介して線維化を助長することを示したものである。SDNS 患者の長期間にわたる診療にとって重要な知見を提示した点に博士論文としての価値を認める。