

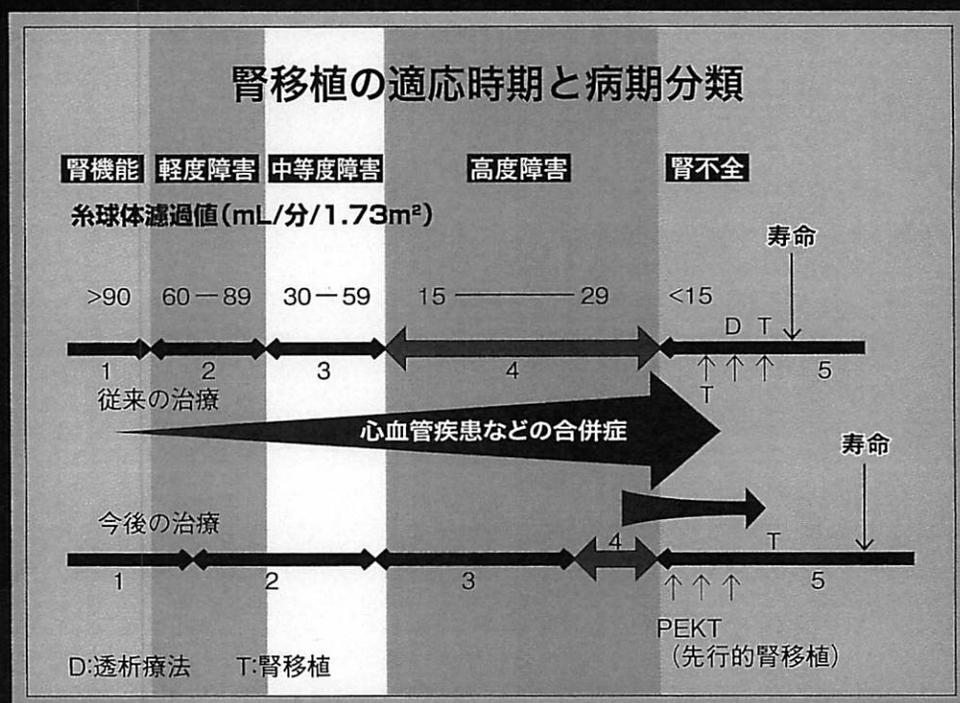
第44回 日本臨床腎移植学会記録集

# 腎移植症例集

## 2011

監修 日本臨床腎移植学会

編集 高橋公太・市川靖二



日本医学館

# 移植腎におけるペントラキシン3の発現

今井直史\*<sup>1)</sup>, 西 慎一\*<sup>2)</sup>, 吉田一浩・伊藤由美\*<sup>1)</sup>, 大澤 豊\*<sup>3)</sup>,  
中川由紀・齋藤和英・高橋公太\*<sup>4)</sup>, 成田一衛\*<sup>1)</sup>

## *Pentraxin 3 expression in renal allograft*

ペントラキシン3(PTX3)は主に移植腎の間質に発現していた。間質のPTX3陽性率は虚血再灌流の影響を受けず、拒絶反応非発症例では一貫して低値であった。急性拒絶反応発症例の発症時PTX3陽性率は有意に増加し、治療後には有意に減少していた。遠隔期に拒絶反応を発症した症例の退院時生検(拒絶反応非発症時)PTX3陽性率は、非発症例にくらべて有意に高く、この値が6.3%以上の場合には遠隔期の拒絶反応発症を予測できる。

Key words: ペントラキシン3(pentraxin 3: PTX3), 同種腎移植, 拒絶反応, C4d

ペントラキシン3(pentraxin 3: PTX3)は、CRPやserum amyloid Pと共通のドメインを持つ急性期蛋白である。IL-6やINF- $\gamma$ などの刺激により肝臓で産生されて流血中に放出されるCRPにくらべ、PTX3は、超急性期炎症サイトカインであるIL-1やTNF- $\alpha$ などにより炎症局所の血管内皮細胞、血管平滑筋細胞、線維芽細胞、脂肪細胞、樹状細胞、マクロファージなどで産生され、好中球からも分泌される。そのためPTX3は、CRPよりも鋭敏で特異性の高い炎症マーカーとして注目されている。

### 目的

PTX3はIgA腎症のメサングウム細胞で発現が増強することが報告されているが、移植腎における発現の報告はない。そこで移植腎組織におけるPTX3の発現と、拒絶反応との関連について検討した。

### 症例

2007~2008年に、新潟大学医歯学総合病院で生体同種腎移植を行った43例中、移植時0時間および1時間生検(術中生検)に加え、約1カ月後の退院前プロトコル生検または拒絶反応発症時のエピソード生検(移植後生検)のいずれかが施行された、連続する37例を対象とした。

レシピエントの原疾患は、IgA腎症を含む慢性糸球体腎炎が23例、巣状糸球体硬化症が1例、アルポート症候群が2例、糖尿病性腎症が3例、腎硬化症が2例、逆流性腎症が4例、尿細管間質性腎炎が2例であった。移植時年齢はレシピエントが18~63歳(38.8 $\pm$ 121.8歳)、ドナーが25~77歳(54.6 $\pm$ 10.1歳)であった。血液型は21例が一致、不一致は4例、不適合12例中A不適合は7例であった。レシピエントとド

ナーの関係は親子が23例、同胞が4例、配偶者が10例であった。

### 方法

#### 1. 生検標本のPTX陽性率、C4d陽性率

生検標本の間質に占めるPTX3陽性部位の割合(PTX3陽性率)および補体成分C4d陽性の傍尿細管毛細血管(PTC)の割合(C4d陽性率)を、以下の方法で算出した。

#### (1) 免疫染色

針生検で得られた移植腎組織の一部を、ホルマリン固定後パラフィン包埋して連続切片を作成し、脱パラフィン後、染色に供した。

① PTX3染色: 標本に対しpH6.0の10mMクエン酸緩衝液中でオートクレーブ処理を行ったのち、1,000倍希釈したラット抗PTX3抗体を4℃で一晩、ペルオキシダーゼ(HRP)標識ウサギ抗ラット免疫グロブリン抗体を室温で1時間反応させ、ジアミノベンジジン(DAB)で発色させた。

② CD34とC4dの二重染色: 100希釈したマウス抗ヒトCD34抗体を4℃で一晩、HRP標識ヤギ抗マウス免疫グロブリン抗体を室温で1時間反応させ、DABで発色させた。つづいてオートクレーブ処理を施し、40倍希釈したウサギ抗ヒトC4d抗体を室温で1時間、アルカリホスファターゼ標識ヤギ抗ウサギ免疫グロブリン抗体を室温で1時間反応させ、ニューブラックシンで発色させた。

#### (2) 画像解析

各染色済標本を撮影した顕微鏡写真について、以下に示す解析を行った。

① PTX3陽性率: 抗PTX3抗体染色済標本から標本全体に占める抗PTX3抗体反応部位の割合を、この連続切片にMasson trichrome染色を施した標本から標本全体に占める間質の割合を、それぞれ求めPTX3陽性率を算出した。

\*<sup>1)</sup> 新潟大学大学院医歯学総合研究科腎・膠原病内科学分野、  
\*<sup>2)</sup> 神戸大学腎臓内科、\*<sup>3)</sup> 新潟臨港病院、\*<sup>4)</sup> 新潟大学大学院医歯学総合研究科腎泌尿器病態学分野

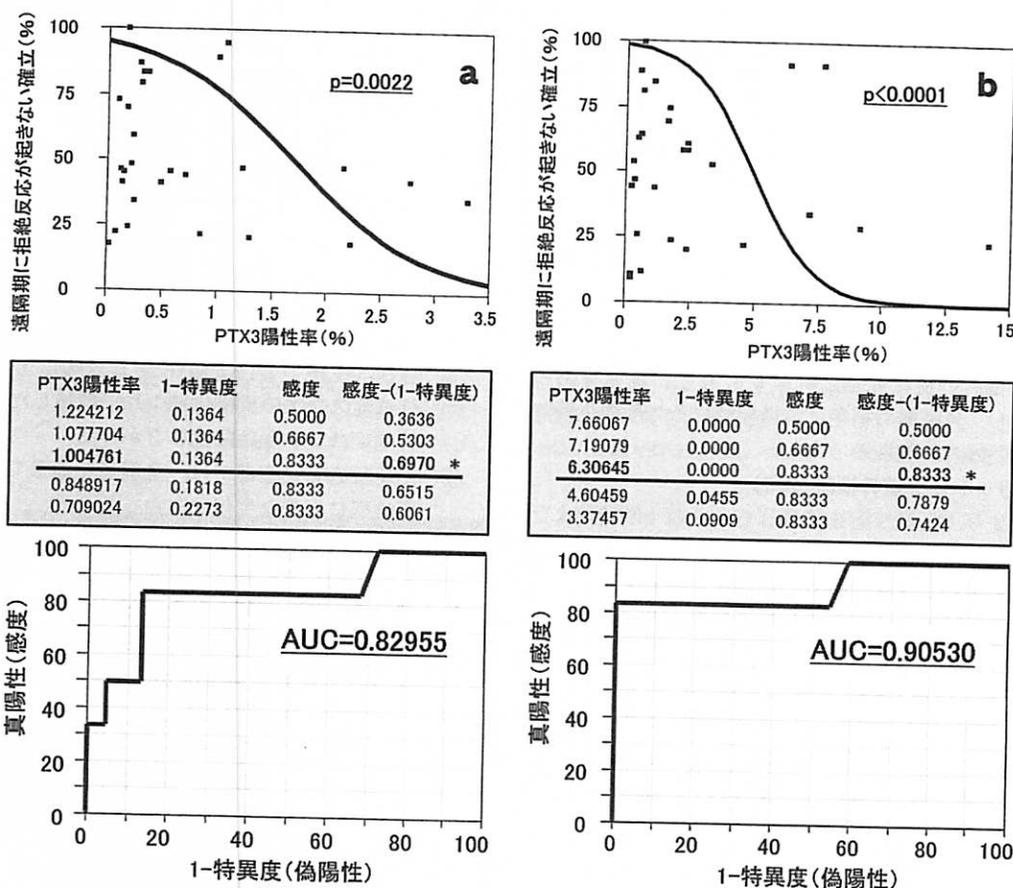


図2 非発症群と遠隔期発症群の、術中1時間およびプロトコール生検時のPTX3陽性率についての解析

a: 1時間生検, b: プロトコール生検

累積ロジスティック確立プロットの曲線はPTX3陽性率が増すにつれて遠隔期に拒絶反応が起きない確立が減少しており、PTX3陽性率の値によって遠隔期の拒絶反応が予測可能であることを示しているが、x2乗検定の観測有意確立は1時間(p = 0.0022)よりもプロトコール生検(p < 0.0001)が低値である(上段の図)。

ROC解析では「感度-(1-特異度)」が最大になるPTX3陽性率は、1時間生検が1.004761%でプロトコール生検が6.30645%である(中段の表)。

この値におけるROC曲線下の面積(AUC)は、1時間生検(0.82955)よりもプロトコール生検(0.90530)が大きい(下段の図)。これらのことから、プロトコール生検のほうがよりの確に将来の拒絶反応発症を予測でき、そのカットオフ値は6.30645%であるといえる。

(ROC)解析で求めた。

**結果**

**1. 免疫染色結果**

抗PTX3抗体は、主に間質に陽性反応を示した。また糸球体に浸潤したと思われる多核細胞の細胞質に対しても陽性であった(図1)。

**2. PTX3陽性率と各種データとの関連**

移植後生検標本のPTX3陽性率は、生検当日のeGFR(p < 0.0001)とは負の、血清クレアチニン(p = 0.0002)、血清CRP(p = 0.0268)やSAA値(p = 0.0488)とは正の相関を示した。生検直前の1日尿蛋

白量とも正の相関(p < 0.0001)を示した。術後経過日数、生検時のドナーおよびレシピエントの年齢とは相関しなかった。

Banff分類の組織病変スコアのうち、急性病変スコアのt, v, ptc, C4dでは重症度とともにPTX3陽性率も増加したが、iとgおよび慢性病変の各スコアとは関連がなかった。

C4d陽性率については、全症例を対象とした場合には正の相関(p = 0.0030)を示したが、血液型不適合症例だけの検討では相関を認めなかった(p = 0.2030)。

た早期  
i~530  
例)の  
グと  
  
とが出  
生率の  
こ。  
  
こつい  
PTX3  
陽性  
ク回  
特性

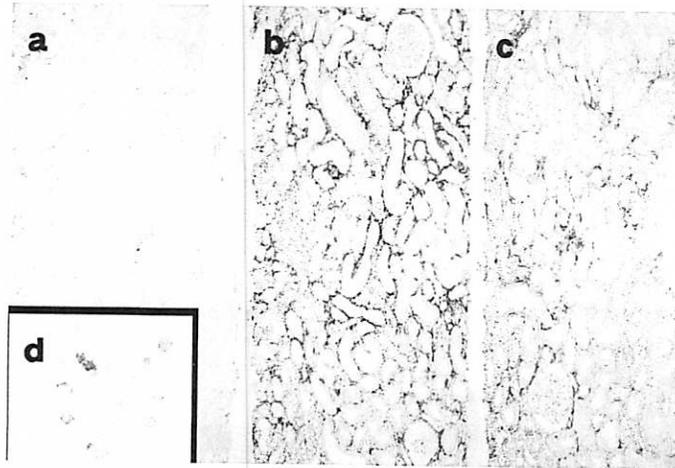


図 1

急性期発症例の  
典型的な抗 PTX3 抗体染色像

45歳の妻から A 不適合の腎提供を受けた 54 歳男性。術中 1 時間生検(a)では抗 PTX3 抗体陽性反応はほとんどみられない (PTX3 陽性率 = 0.2%)。拒絶反応発症時の術後 21 日目の生検(b)では、間質にびまん性に陽性像がみられる (PTX3 陽性率 = 26.2%)。このとき、一部の糸球体中には、分葉化した多核球にも陽性像がみられる(d)。治療により腎機能が回復した術後 55 日目の腎生検(c)では、陽性の範囲は減少している (PTX3 陽性率 = 4.9%)。

表 1 各群における移植腎生検時の PTX3 陽性率

移植腎生検 タイミング	非発症群 (n = 22)	早期発症群 (n = 9)	遠隔期発症群 (n = 6)
0 時間	0.8 ± 0.9	0.8 ± 0.5	1.2 ± 0.6
1 時間	0.5 ± 0.5	1.1 ± 1.7	1.7 ± 1.2
早期発症時	ND	25.0 ± 16.5	ND
プロトコール 遠隔期発症時	1.3 ± 1.2	ND	7.5 ± 4.4
治療後	ND	ND	8.9 ± 9.8
		4.6 ± 3.0	(7.8) <sup>*3)</sup>

\*<sup>1)</sup> p < 0.0001. \*<sup>2)</sup> p = 0.0101. \*<sup>3)</sup> 遠隔期発症群の治療後生検は 1 例のみ

ND: 対象腎生検施行せず。

術中 1 時間および 0 時間生検時の値はいずれの群でも差がない。非発症群では経過中一貫して低値である。急性発症群の発症時の値は術中生検時にくらべて有意に高値になり、治療には有意に減少している。

なお、治療後の値は術中よりもやや高値であるが有意差はない。遠隔期発症群のプロトコール生検と発症時の値がやや高値であるが、術中生検との有意差はない。しかし遠隔期発症群の 1 時間生検およびプロトコール生検時の値は、非発症群に比べて有意に高値である。

② C4d 陽性率：皮質部を 400 倍に拡大して 5 視野以上撮影し、間質の抗 CD34 抗体陽性 PTC に対する抗 C4d 抗体陽性 PTC を数え、C4d 陽性率を算出した。

## 2. PTX3 陽性率と各種データとの関連

移植後生検の PTX3 陽性率と、患者データ、臨床検査値、C4d 陽性率、Banff スコアとの関連について統計学的に検討した。

検査値は、移植腎生検当日または直近に採取した血液や尿を検体として新潟大学医歯学総合病院検査部で分析したデータを用いた。

## 3. PTX3 陽性率の変化

対照群を拒絶反応の有無と発症時期により、全経過を通じて臨床的または組織学的に拒絶反応が確認されなかった非発症群 (22 例)、拒絶反応のために移植後

早期 (4~21 日後, 7.7 ± 4.2 日) に腎生検を行った早期発症群 (9 例)、同様に移植後時間を隔てて (126~530 日後, 199.1 ± 162.3 日) 行った遠隔期発症群 (6 例) の 3 群にわけて、各群における生検のタイミングと PTX3 陽性率との関連について検討した。

## 4. カットオフ値の検討

PTX3 陽性率によって拒絶反応を予測することが出来るか、また、予測しうる場合には PTX3 陽性率の適切なカットオフ値について、統計的に検討した。

## 5. 統計処理

統計処理は JMP ver.8.0.2 を用いた。連続数については分散分析、不連続数は student の t 検定で PTX3 陽性率との関連について検討した。また、PTX3 陽性率による拒絶反応発症予測の可否はロジスティック回帰により検討し、カットオフ値は受診者動作特性

### 3. PTX3 陽性率の変化(表 1)

非発症群(22例)の0, 1時間生検およびプロトコール生検でPTX3陽性率はいずれも低値であり, 各生検間で差はなかった。早期発症群(9例)でも2回の術中生検のPTX3陽性率に差はなかった。しかし, 拒絶反応発症時には非発症時に比べ有意に増加し, 治療後の追跡生検では発症時よりも有意に減少していた(図1)。

遠隔期発症群(6例)でも, 2回の術中生検のPTX3陽性率に差はなかったが, 1時間生検およびプロトコール生検時の値は非発症群よりも有意に高値であった。なお, 遠隔期の拒絶反応発症時はその他の生検時と有意差はみられなかった。

### 4. カットオフ値の検討(図2)

上記より, 拒絶反応を発症していない1時間およびプロトコール生検時のPTX3陽性率から, 遠隔期の拒絶反応発症を予測できるのではないと考え, ロジスティック回帰で検討した。1時間とプロトコール生検のいずれについても, PTX3陽性率が増加するにつれて遠隔期に拒絶反応が起きない確率が減少していたが,  $\chi^2$ 乗検定の有意確立は1時間生検よりもプロトコール生検のほうが小さかった。

またROC解析による「感度-(1-特異度)」が最大になるPTX3陽性率におけるROC曲線下の面積も, 1時間生検よりもプロトコール生検が高値であった。これらより, PTX3陽性率から将来拒絶反応が起

きることを予測することは出来るが, 1時間生検よりもプロトコール生検時のPTX3陽性率のほうが有利であり, カットオフ値はおよそ6.3%が適切であることがわかった。

### まとめ

- ① ヒト同種生体間腎移植組織では, PTX3は主に間質に発現していた。
- ② PTX3陽性率は, 手術操作や虚血再灌流の影響は受けなかった。
- ③ 移植後生検のPTX3陽性率は, Banff分類の急性病変スコアの重症化につれて増加したが, 慢性病変スコアとは関連しなかった。
- ④ 拒絶反応非発症群では, 全経過を通じてPTX3陽性率に有意な変化はなかった。
- ⑤ 急性期に拒絶反応を発症した群では, 発症時のPTX3陽性率は有意に上昇し, 治療による腎機能改善に伴って減少した。
- ⑥ 遠隔期に発症した群では, 非発症時の1時間およびプロトコール生検時にすでにPTX3陽性率は高値を示していた。
- ⑦ プロトコール生検時のPTX3陽性率によって, 遠隔期に起きる拒絶反応を予測することが可能と思われ, その際のカットオフ値は6.3%が適当と思われた。

## [編集]

高橋 公太 (たかはし こうた)

1948年生まれ

1974年 新潟大学医学部医学科卒業  
同年 東京女子医科大学腎臓病総合医療  
センター入局1989年 東京女子医科大学腎臓病総合医療  
センター泌尿器科 助教授

1995年 新潟大学医学部泌尿器科 教授

2001年 新潟大学大学院医歯学総合研究科  
腎泌尿器病態学分野教授  
新潟大学医学部附属病院 院長補  
佐 戦略企画部委員長  
血液浄化部長  
2010年 新潟大学医歯学総合病院 総括副  
院長東京女子医科大学 客員教授, 福井大学医  
学部泌尿器科 非常勤講師京都府立医科大学外科(移植・内分泌外科)  
客員教授, 山形大学医学部泌尿器科 非常勤  
講師岡山大学大学院医歯学総合研究科 泌尿器病  
態学分野 非常勤講師

日本学術会議連携会員

日本腎臓財団: 評議員

日本腎移植臨床学会: 理事長

日本サイネフロロジー研究会会長

日本腎臓学会: 理事

日本移植学会: 評議員

日本泌尿器科学会: 評議員

日本臓器移植ネットワーク 東日本支部実務  
者委員 医療コンサルタント

新潟県臓器移植推進財団: 常任理事

## 【賞】

1985年 第1回「腎と透析」賞 上田賞

1991年 第11回腎研究会 大島賞

1999年 第1回臓器移植推進全国大会 臓  
器不全対策推進功労者 厚生大臣  
感謝状授与

1999年 第52回新潟日報文化賞 科学部門

2004年 第16回日本腎臓財団 学術賞

2005年 日本移植学会 感謝状

2006年 財団法人 新潟臓器移植推進財団  
感謝状

## 【Lifework】

一般泌尿器科学

慢性腎不全の治療, 特に腎移植, 今日まで腎  
移植約2,000例にタッチする。全国沖縄から北海道まで, 約30施設の腎移  
植手術を指導する。日本移植学会臓器提供推進委員長として臓器  
提供のボランティア活動に従事している。

市川 靖二 (いちかわ やすじ)

1947年生まれ

1974年 大阪大学医学部卒業

1974年 大阪大学医学部附属病院麻酔科研  
修医

1975年 星が丘厚生年金病院麻酔科医員

1975年 大阪大学医学部附属病院泌尿器科  
研修医

1976年 兵庫県立西宮病院泌尿器科医員

1980年 大阪大学医学部泌尿器科助手

1986年 英国オックスフォード大学外科留  
学(文部省在外研究員)

1987年 兵庫県立西宮病院泌尿器科医長

2006年 同副院長

## 【資格と認定】

1985年 大阪大学医学博士

1988年 日本泌尿器科学会専門医, 指導医

1998年 大阪大学医学部臨床教授(4年間)

2008年 日本臨床腎移植学会腎移植認定医

2010年 The Best Doctors in Japan

## 【賞】

1987年 兵庫県立西宮病院腎移植班として  
【兵庫県社会賞】1993年 津川龍三会長【日本移植学会会長  
賞】

2004年 【兵庫県立病院学会優秀賞】

2009年 西村憲二部長の共同演者として  
【ESOT BEST POSTER AWARD】2010年 厚生労働大臣感謝状【臓器移植対  
策推進功労者】

## 【所属学会】

日本泌尿器科学会(ボーディングメンバー),  
国際移植学会会員, 欧州移植学会会員, 日本  
移植学会(評議員, 監事), 日本臨床腎移植学  
会(評議員, 監事), 腎移植・血管外科研究  
会(世話人, 幹事, 編集委員), 日本臓器移植  
ネットワーク西日本支部運営委員会委員, 兵庫  
県透析医会(移植推進委員会委員長), 西宮市  
泌尿器科医会(副会長), 兵庫県腎友会(顧問)

## 腎移植症例集 2011

定価(本体6,000円+税)

ISBN978-4-89044-735-0 C3047

2011年10月1日 第1版第1刷

編集者 高橋公太・市川靖二

発行者 菊澤俊晶

発行所 株式会社 日本医学館

〒112-0002 東京都文京区小石川5-3-4

TEL 03-3868-8077 FAX 03-3868-8078 振替 00100-8-53101

E-mail igakukan@mx2.alpha-web.ne.jp http://www.nihon-igakukan.co.jp

乱丁, 落丁の際はお取り替えます。

Case Reports of Renal Transplantation in Japan, 2011

© K. Takahashi &amp; Y. Ichikawa

Publishers Inc. NIHON IGAKUKAN

Printed in Japan

・【JCOPY】 &lt;(社)出版者著作権管理機構 委託出版物&gt;

本書の無断複写は著作権法上での例外を除き禁じられています。  
複写される場合は,そのつと事前に(社)出版者著作権管理機構  
(電話 03-3513-6969, FAX 03-3513-6979, e-mail: info@jcopy.or.jp)  
の許諾を得てください。