

氏名・(本籍)	さこ ひろ たか 迫 裕 孝 (京都府)
学位の種類	医学博士
学位記番号	論医博第19号
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位授与年月日	昭和62年3月24日
学位論文題目	移植腎浸潤細胞の免疫組織学的研究 —モノクローナル抗体を用いたABC法とIGSS法による解析—
審査委員 主査 教授 友 吉 唯 夫 副査 教授 小 玉 正 智 副査 教授 竹 岡 成	

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

拒絶反応は腎移植に限らず同種移植に於いては不可避であり、その機序の解明と克服が重要な課題である。そこで、移植腎に浸潤する細胞を病理組織学および免疫組織学的に検索し、急性拒絶反応の発現機序の糸口をつかもうと本研究を行った。

〔方 法〕

腎移植患者29名から移植後種々の時期に採取した60個の腎組織について病理組織学的検索と同時に、凍結切片が得られた24個の組織に対し免疫組織学的に各種モノクローナル抗体(Leu 1 Leu 3 a、Leu 2 a、Leu 12、Leu 7、Leu M 3)を1次抗体とするABC法とIGSS法にて浸潤細胞の検索を行った。ABC法はVector社のABCキットを使用し、IGSS法はJanssen Life Science社のIGSS-LMキットを使用した。さらに、両酵素抗体法の併用によりB細胞とT細胞を同一切片上で二重染色した。浸潤細胞の算定は、血管、糸球体、尿管周囲別に0.3115mm²視野内(200倍)にみられる全浸潤細胞を3視野数え、平均値より求めた。

〔結 果〕

1) 浸潤細胞の病理組織学的検討: HE染色した腎組織60個を検討し、浸潤細胞の分布域より4 typeに分類した。すなわち、(1) normal type; 浸潤細胞がほとんどみられないもの、(2) focal type; 血管周囲にのみ限局するもの、(3) focal-diffuse type; 主に血管周囲にみられるが周囲の間質にも多少存在するもの、(4) diffuse type; 浸潤細胞が多数間質にびまん性にみられるものである。この4 type別に、血管、糸球体、尿管周囲で別々に浸潤細胞数を算定したが、focal typeでは浸潤細胞数は少ないが高率に血管周囲に存在し、focal-diffuse typeではこの傾向はやや崩れるがまだ血管中心

性は保たれていた。しかし、diffuse type では数の増加と共に各部位の占める割合がほぼ均一であった。

- 2) 浸潤細胞の免疫組織学的検討：浸潤細胞の各リンパ球サブセットの比率は、T細胞(Leu1)は全体の約80%、B細胞(Leu12)は2~8%で、NK/K細胞(Leu7)は約10%、単球/マクロファージ(LeuM3)は4~6%であった。T細胞をヘルパー/インデューサーT細胞(Leu3a)、キラー/サプレッサーT細胞(Leu2a)別に組織型との関連でみると、focal type ではLeu3aがLeu2aより優位であったが、focal-diffuse、diffuse type になるとこの値が逆転した。すなわち、Leu3aはfocal、focal-diffuse、diffuse type と病像が進行しても数の上ではほぼ不変であるのに対し、Leu2aは増加する傾向にあった。次に、免疫能を反映するといわれるLeu3a/Leu2a比をみると拒絶反応なしの症例では67%(4/6)が1.0以上であったが、拒絶反応例では75%(12/16)が1.0以下であった。また、シクロスポリン(CYA)症例とイムラン(AZA)症例の急性拒絶反応時のLeu3a/Leu2a比は 0.84 ± 0.25 、 0.55 ± 0.39 とAZA症例が低かったが有意差はなかった。移植後経時的にみたLeu3a/Leu2a比はAZA症例は移植早期より低値を維持したが、CYA症例は、時間の経過と共に低下する傾向がみられた。B細胞、T細胞の2重染色像の検討では分布域の差はみられなかった。

〔考案〕

normal type 症例では拒絶反応はみられなかったが、focal type になると1部にみられ、focal-diffuse type ではほとんどに典型的な反応がみられ、diffuse type では進行し不可逆になるものが多かった。このように著者の組織型の分類は拒絶反応の進行過程をよく反映し、浸潤細胞もこの組織型の順に血管から間質に浸潤していくものと思われた。リンパ球サブセットの比率より急性拒絶反応はT細胞が主役を演ずるが、NK/K細胞、単球、マクロファージ、B細胞も少なからず関与することが判明した。Leu3aとLeu2aの分布域での差および組織型の進行につれてLeu3aよりLeu2aが優位になることより、Leu3aがLeu2aを誘導する可能性が示唆された。

〔結論〕

本研究より次のような結論を得た。1) 移植腎組織を浸潤細胞の浸潤様式より、normal、focal、focal-diffuse、diffuse type の4型に分類した。2) 浸潤細胞は血管周囲から糸球体、尿管周囲へと浸潤し間質全体に拡がることを示された。3) 急性拒絶反応はfocal type では13%、focal-diffuse type 83%、diffuse type 88%にみられた。4) 浸潤細胞のリンパ球サブセットの比率は、T細胞約80%、B細胞2~8%、NK/K細胞10%、単球/マクロファージ4~6%であった。5) Leu2aとLeu3aの分布域の差よりLeu3aがLeu2aを誘導する所見が得られた。6) 拒絶反応なしの症例はLeu3a/Leu2a比が1.0以上であるのに対し、拒絶反応例は1.0以下のものが多い傾向がみられた。7) AZA症例とCYA症例で急性拒絶反応時のLeu3a/Leu2a比に有意差はなかった。8) 移植後のLeu3a/Leu2a比はCYA例では移植後の経過と共に低下するが、AZA症例では早期より低値をとった。9) 本研究に於いて、IGSS法を導入し、ABC法との併用により2重染色

を開発した。

学位論文審査の結果の要旨

本論文は、移植腎に対する拒絶反応の免疫機構を知るために、生検で得られた腎組織について浸潤細胞の検索を行ない、また浸潤細胞のうちリンパ球のサブセット比率を求めて、拒絶反応担当細胞の態度を究明しようとしたものであり、この研究から得られた成果は次のように要約できる。

- (1) 移植腎の病像が浸潤細胞の浸潤様式によって分類可能であり、それが移植腎の拒絶反応の程度の判定に合理的であることをしめした。
- (2) 細胞浸潤は血管周囲から間質へ拡大することを示した。
- (3) モノクロナール抗体を用いた、avidin-biotin peroxidase complex 法と immunogold silver staining 法により、リンパ球サブセットを染色するのみならず、両方による二重染色によって、同一切片上でB細胞とT細胞を同時に染め分けその分布域をみることに成功したが、これじたい類例のない画期的な研究成果である。
- (4) 臨床的な拒絶反応との関係において細胞浸潤の状態を観察し、拒絶反応のないときはヘルパー/インデューサー細胞が優勢であり、拒絶反応のあるときはキラー/サプレッサー細胞が優勢である事実をつきとめ、モノクロナール抗体による拒絶反応の治療に将来的な展望を与えた。
- (5) 現在臨床的に用いられている免疫抑制剤のうち、アザチオプリンは移植後早期に、またサイクロスポリンは、やや遅れて、キラー/サプレッサー細胞を抑制することを確認し、これら薬剤の作用機構の一端を明らかにするとともに適切な使用法への指針を提供した。

以上、本論文は、移植腎の浸潤細胞を免疫組織学的に解明し、拒絶反応に対する免疫抑制療法に寄与する、価値の高い成果を提示した点で、学位論文にふさわしいものと、全審査員の意見は一致した。