

綜 説

腎移植における抗体関連型拒絶反応の病理

本 田 一 穂

東京女子医科大学第二病理学講座

Pathology of Antibody-mediated Rejection in Kidney Transplantation

Kazuho HONDA

Department of Pathology, Tokyo Women's Medical University

Key words: antibody-mediated rejection, donor-specific antibody (DSA), microvascular inflammation (MVI), accommodation, endothelial chimerism
抗体関連型拒絶, 抗ドナー抗体, 微小血管内炎症, 免疫順応, 内皮キメリズム

はじめに

拒絶反応は、大きく分けるとT細胞関連型拒絶(T cell-mediated rejection: TCMR)と抗体関連型拒絶(Antibody-mediated rejection: ABMR)の二つがある。免疫抑制剤の進歩によりTCMRの制御がほぼ可能となった現在、ABMRの克服が臨床的に重要な課題となっている。

ABMRは歴史的に、ABO不適合移植時に発生した超急性拒絶反応のメカニズムとして認知された。すなわち、レシピエントが持っているドナー抗原に対する抗体(donor-specific antibody: DSA)がグラフトに結合することによって引き起こされる液性免疫反応である。これを既存の抗ドナー抗体(preformed DSA)によるType I ABMRと呼ぶ。一方、移植急性期を過ぎた後に、レシピエントの体内で新たに産生される新生抗ドナー抗体(de novo DSA)が原因となって惹起される免疫反応は、Type II ABMRと呼ばれている。

本綜説では腎移植におけるABMRを中心に、その病理所見と発症メカニズム、そして免疫順応ならびに血管内皮キメリズムなど最近のトピックスについて紹介する。

I 抗体関連型拒絶(ABMR)の病理所見

Type I ABMRは、移植直後の超急性拒絶反応あるいは移植後早期の急性拒絶反応の形で現れる。超急性拒絶反応は移植直後より発症し数時間で病像が完成する。グラフトのあらゆるレベルの血管内皮に抗体が結合する結果、病変は腎動脈本幹以降のすべての動脈・毛細血管の内皮面に起こり得る。補体活性化と凝固亢進を来しフィブリン血栓が形成される。これによりグラフトは急速な循環不全を来し、血管壁の壊死と周囲への激しい出血・壊死が拡大する。血管内皮面では、好中球を主とする細胞反応を伴っている(図1)。この血栓形成を伴う重篤な血管傷害病変は病理学的に血栓性微小血管症(thrombotic microangiopathy: TMA)と総称される。TMAの成因には、超急性拒絶反応以外にも、手術操作と関係するグラフト循環不全、虚血再灌流傷害、薬剤、重症感染症、補体制御因子の異常によるatypical hemolytic uremic syndrome (aHUS)などが鑑別に上がる。

術前の減感作療法の進歩によって、このタイプの拒絶反応はかなり有効に抑制することが出来るようになった¹⁾。しかし、現在でも1%程度の症例で、予測や回避が困難な超急性拒絶反応による早期グラフト喪失を経験する。血中の抗A/B抗体の力価が低い症例でも、超急性拒絶反応に類似したTMAを起こすことがある。その機序の詳細はよく分かっておらず、前述した周術期のTMAを引き起こす病態が複合的に関

別刷請求先: 本田 一穂 〒142-8555
東京都品川区旗の台1-5-8
昭和大学医学部解剖学講座顕微解剖学部門
E-mail: kzhonda@med.showa-u.ac.jp

与している可能性がある¹⁾²⁾。また近年、血液型不適合移植や夫婦間移植あるいは2次移植症例の増加により、ABMRを起こしやすいと考えられる、いわゆるhigh risk patient (表1)が増加傾向にあり、周術期の減感作療法が改良され、重症の超急性拒絶反応は減少しているものの、pre-formed DSAによる軽度の急性Type I ABMRの症例が少なからず存在する。これらの症例は移植腎生検によって診断が確定され、減感作療法や免疫抑制療法を強化するなどの対応策がとられている。

ABMRの強い内皮傷害はTMAを引き起こすが、それよりも程度の軽い内皮傷害は活動性の微小血管炎症(microvascular inflammation: MVI)を引き起こす。この変化は腎臓の毛細血管である糸球体糸球毛細血管(glomerular capillary: GC)と傍尿細管毛細血管(peritubular capillary: PTC)に起こり、血管内腔に好中球、リンパ球、マクロファージなどの炎症細胞が浸潤(停滞)し、内皮細胞は炎症細胞との接着などにより活性化され腫大する(移植糸球体炎: transplant glomerulitis, g score, 傍尿細管毛細血管炎: peritubular capillaritis, ptc score)。病変は細動脈・小動脈さらに中枢側の腎動脈にも起こり得る(動脈内膜炎: endoarteritis, v score) (図2)。従来、動脈内膜炎はTCMRの所見と考えられていたが、最新のBanff分類では、TCMRのみならずABMRによっても動脈内膜炎が起きることが明記された³⁾。また、静脈系にも炎症細胞の停滞や付着を認めることもしばしばあるが、非特異的炎症との鑑別が難しい(図2D)。

一方、新生DSAによって引き起こされるType II ABMRは、移植後数週間から数カ月後より出現し、以後グラフトが生着している限りいつでも発生する可能性がある。この拒絶反応は、基本的に慢性活動性の微小血管炎症で、比較的軽度の炎症反応が長期に持続し、緩徐に病変を形成する特徴がある。慢性ABMRは前述した急性の活動性炎症に加えて、慢性の変化として微小血管構築が改変される(微小血管リモデリングmicrovascular remodeling: MVR)。この変化は、血管基底膜(basement membrane: BM)の新生と多層化現象である。この結果、糸球体糸球毛細血管壁の肥厚や2重化を来し、電顕的には糸球体基底膜(glomerular basement membrane: GBM)の多層化を認める(図3A, C)。PTCでは光顕的に

表1 抗体関連拒絶のハイリスク患者

① ABO 不適合
② HLA 不適合
③ 輸血歴あり
④ 妊娠歴あり (夫婦間移植)
⑤ 移植歴あり (二次・三次移植)

血管壁が肥厚し、電顕でPTCBMの多層化を認める(図3B, D)。

以上の毛細血管構築の改変はtransplant capillaropathyと総称されている。慢性変化が長期に持続すると、機能的には毛細血管の透過性の異常をきたし、器質的にも血管腔の狭小化が血流不全を招き、糸球体硬化や尿細管萎縮、間質の線維化を進行させ、グラフト機能不全に陥ると考えられている。

II 抗体関連型拒絶 (ABMR) の発症メカニズム

ABMRの発症メカニズムは、これまでに述べてきたようにDSAの血管内皮への結合によって引き起こされる内皮傷害で、その機序は、①補体活性化、②内皮細胞の生存・増殖・防御シグナルへの直接作用、③白血球を介する炎症誘導の3つが想定されている(表2)⁴⁾⁵⁾。

このうち①の補体活性化が主な作用機序と考えられている。ABMRの補体活性化は、DSAが内皮細胞膜上のドナー抗原に結合後にC1qから始まる古典的経路の活性化である^{6)~8)}。C4dはC4活性化の最終分解産物で、安定的で長期間細胞膜上にとどまる。このため、内皮細胞のC4d沈着はABMRの補体活性化の良い指標となる。C4dはFeuchtが1991年に超急性拒絶反応のPTCに沈着することを報告⁹⁾して以来注目され、ABMRの補体活性化の重要な指標と位置付けられてきたが、近年、C4d陰性のABMR症例の存在が数多く報告され、C4d陰性のABMRは全体の半数近くを占めると理解されている¹⁰⁾。2013年のBanff分類の改訂は、まさにこの点が最も重要なポイントになっている³⁾。すなわち、Banff 2013分類のABMRの診断基準は、①微小血管炎症の存在、②DSA-内皮反応の証拠、③血清中DSAの検出の3つで構成されている。このうち、②のDSA-内皮反応の証拠とは、次の3つのいずれかを満たすことを条件にしている。その3つとは、i) PTCのC4d陽性、ii) 中等度以上の微小血管炎症MVI: [g+ptc] ≥ 2、iii) 内皮活性化マーカーの遺伝子発現(EN DAT: endothelial

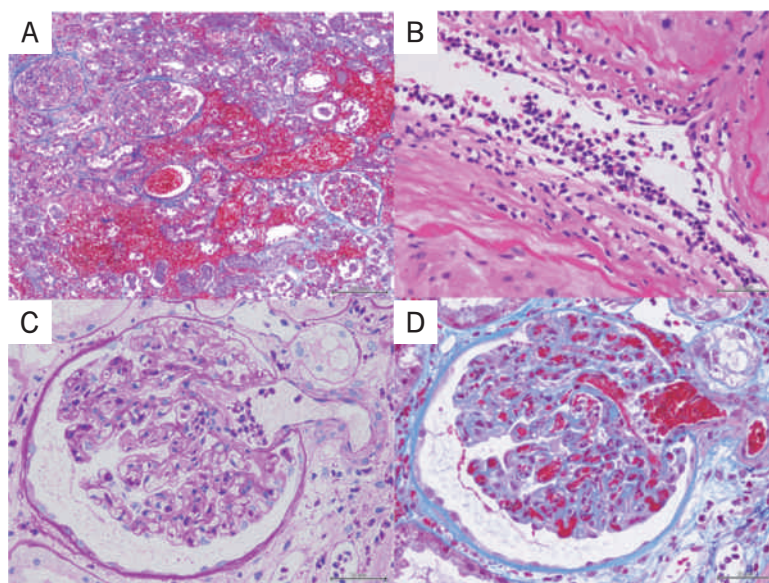


図1 ABO不適合腎移植の超急性拒絶反応（移植後6日目の摘出グラフト）

A：間質出血と急性尿細管壊死 [Masson 染色，×100] B：小動脈内膜の内皮剥離と炎症細胞浸潤（動脈内膜炎：バンフスコア v2） [HE 染色，×400] C：糸球体係蹄内の炎症細胞浸潤。傍尿細管毛細血管内にも炎症細胞浸潤を認める（移植糸球体炎と傍尿細管毛細血管炎：バンフスコア g2, ptc2） [PAS 染色，×400] D：糸球体係蹄内のフィブリン血栓（TMA：血栓性微小血管症） [Masson 染色，×400]

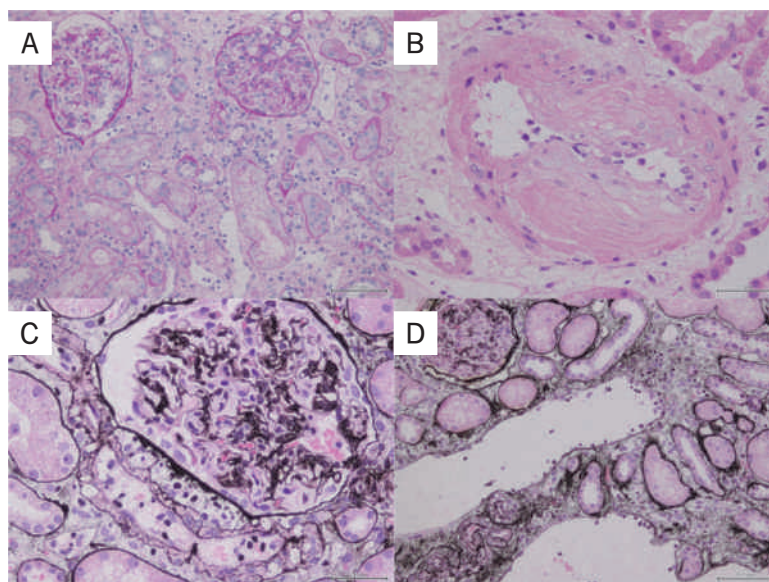


図2 急性抗体関連型拒絶反応（移植後10日目の移植腎生検）

夫から妻への血液型不一致移植（O型→A型） A：傍尿細管毛細血管炎（バンフスコア ptc2） [PAS 染色，×100] B：小葉間動脈内膜炎（バンフスコア v1） [HE 染色，×400] C：糸球体炎と細動脈内膜炎（バンフスコア g2 v1） 内皮細胞が腫大している。 [PAM 染色，×400] D：小静脈の炎症細胞浸潤。内膜に炎症細胞が付着している（静脈内膜炎）。この所見は一般に拒絶反応と考えられていないが，拒絶反応時にしばしば認められる。 [PAM 染色，×100]

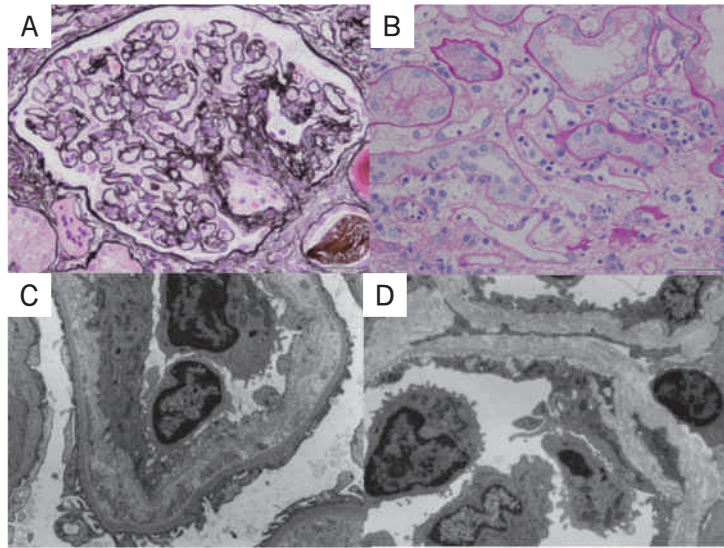


図3 慢性活動性抗体関連型拒絶の毛細血管変化

(A, B:移植後7年目, DSA陽性, 尿蛋白+, sCr 1.92, C, D:移植後10年, 尿蛋白++, sCr 2.43)
 A:糸球体糸球壁の肥厚や2重化を認める。糸球腔内の炎症細胞浸潤と内皮細胞の腫大を認める (パンフスコア g1 cg2) [PAM染色, ×400] B:傍尿管毛細血管炎 (パンフスコア ptc2) と血管壁の肥厚 [PAS染色, ×400] C:糸球体基底膜の多層化, 内皮細胞の腫大, マクロファージ浸潤。糸球壁には高電子密度物質が沈着している。[電顕, ×5,000] D:傍尿管毛細血管の基底膜の多層化 (5層以上)。内皮細胞の腫大とマクロファージの浸潤を伴う。[電顕, ×5,000]

activation and injury transcripts) である。現実には iii) 遺伝子発現の証明は一般の施設では実施困難であるので, i) の C4d の検出と ii) の MVI スコアのいずれかが重要である。この基準に従えば, C4d が陰性であっても, MVI の程度が強ければ ARMAR と診断できる。

III 移植臓器の順応現象: Accommodation

Accommodation (免疫順応) とは, 1980年代頃から ABO 不適合腎移植症例において確立された概念で, 急性期の拒絶反応を乗り越えると血中に血液型抗体が存在するにもかかわらず, グラフトは拒絶反応を免れて生着する状態をさす¹¹⁾¹²⁾。免疫順応は抗体産生までの免疫反応が存在する点で, 免疫反応を全く起こさない免疫寛容 (tolerance) とは区別される。グラフトが拒絶反応を起こすか, 免疫順応を獲得するかを決定する因子は, DSA の量や質 (補体結合能の強さなど) によると考えられている (図4)¹³⁾。現在, ABO 不適合移植は術前の減感作処置などにより, 血液型適合移植に劣らない生着成績が確立されている¹⁴⁾。のみならず ABO 不適合移植で免疫順応を獲得すると, その後の de novo DSA の産生を抑制し新たな ABMR が発症しにくいなど, グラフト生着に対してよりプラスの

表2 抗体関連型拒絶の発症メカニズム (文献4より)

- | |
|--|
| ① DSA による補体活性化 |
| • C1q から始まる古典的経路から副経路への活性化 |
| • C4d 沈着がよい指標 |
| ② DSA による内皮細胞への直接作用 |
| • vWF や P-selectin の放出 |
| • Src-Rho kinase の活性化 → pERK の活性化 (細胞増殖シグナル) |
| • PI3-Akt の活性化 → Bcl-XL ↑, Bcl-2 ↑ (アポトーシス抑制) |
| ③ DSA が白血球 FcR を介する炎症誘導 |
| • DSA がマクロファージ, NK 細胞, 好中球の FcR に結合 |
| • 炎症性サイトカイン (IFN γ , TNF α , MCP-1 など) の産生 |
| • 微小血管炎症を誘導 |

効果さえも期待されている。順応現象の分子メカニズム (表3) については, 岩崎らが培養内皮細胞を用いた *in vitro* の実験系で, 血液型 A/B 抗体刺激は CD55 や CD59 などの補体制御因子の発現増強を, 抗 HLA 抗体は HO-1 や Ferritin H などの抗酸化ストレス因子の発現を増強することを報告している¹⁵⁾。また Fukami らはマウス心移植モデルの *in vivo* 実験系で, 抗 HLA 抗体は Bcl-2 や Bcl-XL などの抗アポトーシ

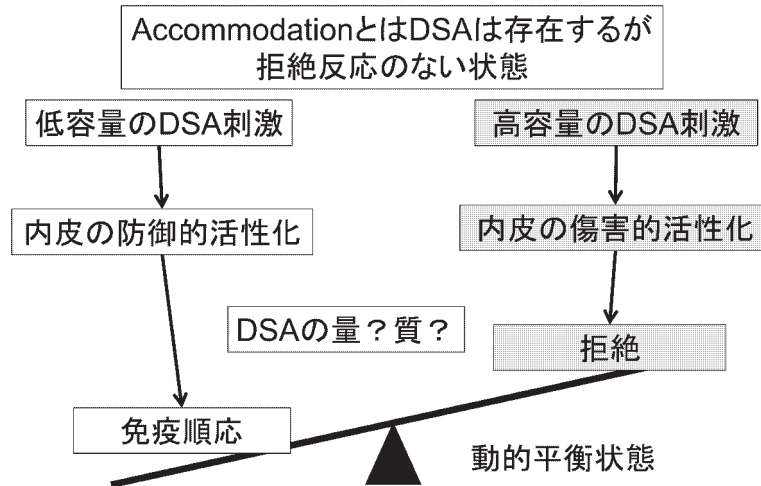


図4 順応か拒絶か (Accommodation or Rejection)

グラフトが拒絶反応を起こすか、順応状態を獲得するか決定する因子は DSA の量や質 (補体結合能など) によると考えられている。

ス分子や HO-1や Survivin などの抗ストレス因子を誘導し、順応を獲得することを示した¹⁶⁾。順応獲得の機序やその臨床的应用については今後の検討が必要である。また、最近順応は必ずしも永続する現象ではなく、拒絶に移行するか順応が持続するかは動的に変化しているととらえられており、順応現象の研究はますますその重要性を増している。

IV 移植臓器の血管内皮キメリズム現象： Endothelial chimerism

キメラは、ライオンの頭とヤギ胴体と毒蛇の尻尾を持つギリシャ伝説の想像上の怪物で、生物学のキメラの語源となっている。移植片のキメラとは、ホストとグラフトの細胞が混在する状態で、移植腎では血管内皮細胞のキメラを指す (図5)。このキメラ現象は、当初、免疫寛容を獲得するグラフトの適応状態と考えられた¹⁷⁾。つまりグラフトの血管がホストの血管内皮に置き換われば、ホストの免疫細胞はグラフトを自己と認識し、拒絶反応を起こさないことになるからである。しかし、2001年に Lagaaij らが、移植腎の血管内皮キメラ現象が血管拒絶と関連することを報告し、その意義についての問題を提起した¹⁸⁾。

現在、グラフトのキメラを検出するには、Y染色体をマーカーとする男女間キメラ、もしくは、血液型 A/B 抗原をマーカーとした血液型キメラを検出する 2つの方法がある。我々は血液型 A/B 抗原をマーカーに使用して、ABO 血液型不適合腎移植例 49 例を調べたところ、血液型抗原の内皮キメリズムは 12 例 (24

表3 免疫順応 (Accommodation) の機序

(文献15, 16より)

- | |
|---|
| ① 低濃度の DSA が内皮の HLA に結合 (HLA 型 DSA) |
| • PI3K/AKT シグナルの刺激→細胞保護因子 (HO-1, Ferritin H, Bcl-2など) を誘導 |
| ② 抗 A/B 抗体が内皮の血液型抗原に結合 (血液型 DSA) |
| • ERK 活性化抑制→補体制御因子 (CD55, CD59, Crry など) を誘導 |
| ③ ABO 不適合移植症例の DSA 産生の抑制 (仮説) |
| • Follicular helper T cell を介した B 細胞活性化の抑制が、新たな抗ドナー抗体の産生を抑制する |

%) に観察された (図6)¹⁹⁾。それらの症例の臨床的背景を検討すると、およそ 2/3 の症例がその後グラフト機能不全に陥っており、キメリズム現象は予後不良の徴候であることが示された。また血管内皮キメリズムは血管拒絶を含む ABMR を合併した症例に最も多く、CNI 血管毒性と診断された症例にも観察された (図7)。キメリズム検出例は非検出例に比べ、明らかにグラフト生存率が低いことも示され、腎移植における血管内皮キメリズムは、ABMR や CNI 毒性による重症の血管傷害の結果であって、グラフト適応現象あるいは寛容獲得の徴候ではないことが確認された¹⁹⁾。

最近の研究では、移植腎のキメラ現象は内皮のみならず、糸球体上皮細胞やメサンギウム細胞、尿管上皮細胞にも比較的高率 (30-70%) に出現していることが分かっている。特に男児出産歴のある女性グラフ

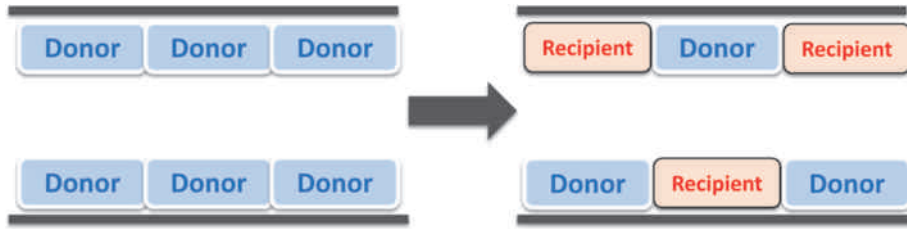


図5 血管内皮キメリズム

血管内皮キメリズムとは、ドナー由来のグラフト血管に、レシピエント由来の内皮細胞が存在する状態である。

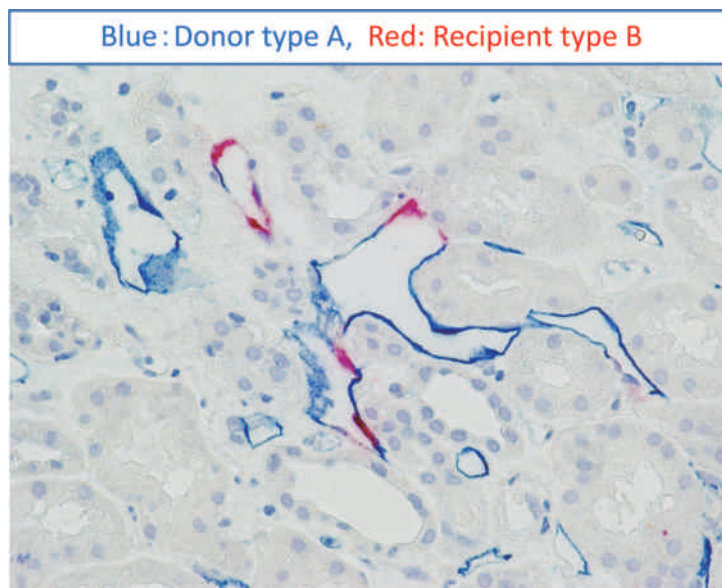


図6 内皮キメリズムのモザイクパターン (二重染色) (移植後1年目)

A型→B型の血液型不適合移植。同一のPTC内皮がモザイク状態で、ドナー由来のA型内皮(青)がレシピエント由来のB型内皮(赤)に置き換わっている。(酵素抗体法の2重染色。青:抗A抗体, 赤:抗B抗体, ×400)

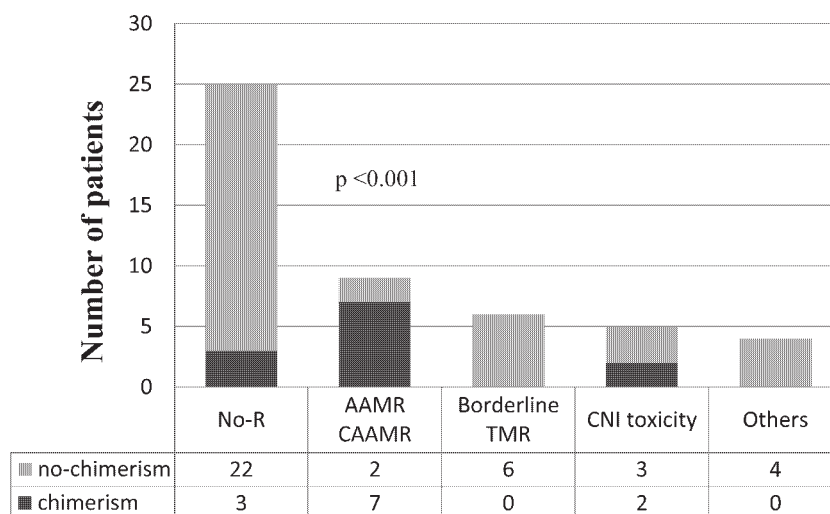


図7 病理診断カテゴリーと内皮キメリズムの関係 (文献14より)

キメリズムが観察された12例(24%)の生検診断カテゴリーは、抗体関連型拒絶が7例と最も多く、CNI血管毒性が2例であった。3例は有意な変化がなく安定期のグラフトであった。

トでは、移植時すでに fetal chimerism と呼ばれる現象が存在しており、キメラ現象は移植片に限らず、生体では比較的頻繁に見られる現象である可能性がある²⁰⁾。また、実験的な内皮傷害モデルで内皮の修復に骨髄幹細胞が関与する割合を調べてみると、頻度は0.1-1%と低いが、骨髄幹細胞が修復に関与していることが示されている²¹⁾。これらはドナー腎の内皮傷害後にレシピエント由来の細胞が修復する理論的な根拠になっている。

ま と め

以上、腎移植における抗体関連型拒絶反応の病理所見とその発症メカニズム、ならびにそれに関係した二つのトピックス、免疫順応 (Accommodation) と内皮キメリズムについて述べてきた。抗体関連型拒絶反応はすなわち血管を場とする炎症反応である。つまり非自己に対する抗体が内皮を傷害する現象に他ならない。現在、移植腎の長期生着には ABMR の克服が最

も重要な課題である。ABMR の早期診断と早期治療には、高感度で特異性の高い DSA の検出と無症状期のサーベイランス生検が重要である。さらに、移植腎の内皮傷害の成因には、ABMR のみならず、薬剤や感染症、血流異常など様々な要因があり、内皮傷害の鑑別診断が重要である。C4d に並ぶような ABMR に特異的な内皮傷害マーカーの確立が求められている。グラフトの長期生着のため、血管内皮を守る事が ABMR 治療の戦略の基本といえる。

謝辞：本総説は、第20回長野県腎移植推進講演会（平成27年2月28日）での講演内容の要約である。会にお招きくださった長野県腎移植推進協議会代表の西澤理先生ならびに信州大学泌尿器科学教室の石塚 修教授に深謝いたします。

本論文に関連し、開示すべき COI 状態にある企業、組織、団体はありません。

文 献

- 1) Takahashi K: Recent findings in ABO-incompatible kidney transplantation: classification and therapeutic strategy for acute antibody-mediated rejection due to ABO-blood-group-related antigens during the critical period preceding the establishment of accommodation. *Clin Exp Nephrol* 11: 128-141, 2007
- 2) Takahashi K, Saito K: ABO-incompatible kidney transplantation. *Transplant Rev (Orlando)* 27: 1-8, 2013
- 3) Haas M, Sis B, Racusen LC, Solez K, Glotz D, Colvin RB, Castro MC, David DS, David-Neto E, Bagnasco SM, Cendales LC, Cornell LD, Demetris AJ, Drachenberg CB, Farver CF, Farris AB 3rd, Gibson IW, Kraus E, Liapi H, Loupy A, Nickleit V, Randhawa P, Rodriguez ER, Rush D, Smith RN, Tan CD, Wallace WD, Mengel M; Banff meeting report writing committee: Banff 2013 meeting report: inclusion of c4d-negative antibody-mediated rejection and antibody-associated arterial lesions. *Am J Transplant* 14: 272-283, 2014
- 4) Farkash EA, Colvin RB: Diagnostic challenges in chronic antibody-mediated rejection. *Nat Rev Nephrol* 8: 255-257, 2012
- 5) Akiyoshi T, Hirohashi T, Alessandrini A, Chase CM, Farkash EA, Neal Smith R, Madsen JC, Russell PS, Colvin RB: Role of complement and NK cells in antibody mediated rejection. *Hum Immunol* 73: 1226-1232, 2012
- 6) Murata K, Baldwin WM 3rd.: Mechanisms of complement activation, C4d deposition, and their contribution to the pathogenesis of antibody-mediated rejection. *Transplant Rev (Orlando)* 23: 139-150, 2009
- 7) Stegall MD, Chedid MF, Cornell LD: The role of complement in antibody-mediated rejection in kidney transplantation. *Nat Rev Nephrol* 8: 670-678, 2012
- 8) Cohen D, Colvin RB, Daha MR, Drachenberg CB, Haas M, Nickleit V, Salmon JE, Sis B, Zhao MH, Bruijn JA, Bajema IM: Pros and cons for C4d as a biomarker. *Kidney Int* 81: 628-639, 2012
- 9) Feucht HE, Felber E, Gokel MJ, Hillebrand G, Nattermann U, Brockmeyer C, Held E, Riethmüller G, Land W, Albert E: Vascular deposition of complement-split products in kidney allografts with cell-mediated rejection. *Clin Exp Immunol* 86: 464-470, 1991
- 10) Haas M: C4d-negative antibody-mediated rejection in renal allografts: evidence for its existence and effect on graft survival. *Clin Nephrol* 75: 271-278, 2011

- 11) Park WD, Grande JP, Ninova D, Nath KA, Platt JL, Gloor JM, Stegall MD : Accommodation in ABO-incompatible kidney allografts, a novel mechanism of self-protection against antibody-mediated injury. *Am J Transplant* 3 : 952-960, 2003
- 12) Shin M, Kim SJ : ABO Incompatible Kidney Transplantation-Current Status and Uncertainties. *J Transplant* 2011 : 970421, 2011
- 13) Zhang X, Reed EF : Effect of antibodies on endothelium. *Am J Transplant* 9 : 2459-2465, 2009
- 14) Tanabe K, Takahashi K, Sonda K, Tokumoto T, Ishikawa N, Kawai T, Fuchinoue S, Oshima T, Yagisawa T, Nakazawa H, Goya N, Koga S, Kawaguchi H, Ito K, Toma H, Agishi T, Ota K : Long-term results of ABO-incompatible living kidney transplantation : a single-center experience. *Transplantation* 65 : 224-228, 1998
- 15) Iwasaki K, Miwa Y, Haneda M, Kuzuya T, Ogawa H, Onishi A, Kobayashi T : AMP-activated protein kinase as a promoting factor, but complement and thrombin as limiting factors for acquisition of cytoprotection : implications for induction of accommodation. *Transpl Int* 26 : 1138-1148, 2013
- 16) Fukami N, Ramachandran S, Narayanan K, Liu W, Nath DS, Jendrisak M, Chapman W, Mohanakumar T : Mechanism of accommodation in a sensitized human leukocyte antigen transgenic murine cardiac transplant model. *Transplantation* 93 : 364-372, 2012
- 17) Medawar PB : Transplantation of Tissues and Organs : Introduction. *Bri Med Bull* 21 : 97-99, 1965
- 18) Lagaaij EL, Cramer-Knijnenburg GF, van Kemenade FJ, van Es LA, Bruijn JA, van Krieken JH : Endothelial cell chimerism after renal transplantation and vascular rejection. *Lancet* 357 : 33-37, 2001
- 19) Tanabe T, Ishida H, Horita S, Honda K, Yamaguchi Y, Nonomura K, Tanabe K : Endothelial chimerism after ABO-incompatible kidney transplantation. *Transplantation* 93 : 709-716, 2012
- 20) Ferlicot S, Vernochet A, Romana S, Ortin-Serrano M, Letierce A, Brégerie O, Durrbach A, Guettier C : Microchimerism in renal allografts : clinicopathological associations according to the type of chimeric cells. *Histopathology* 56 : 188-197, 2010
- 21) Schirutschke H, Vogelbacher R, Stief A, Parmentier S, Daniel C, Hugo C : Injured kidney endothelium is only marginally repopulated by cells of extrarenal origin. *Am J Physiol Renal Physiol* 305 : F1042-1052, 2013

(H 27. 6. 12 受稿)