

令和 5 年 6 月 2 日現在

機関番号：32653

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K07418

研究課題名(和文) 薬剤性細動脈障害を伴う移植腎における巣状分節性糸球体硬化症の発症機序の解明

研究課題名(英文) Pathogenesis of FSGS in CNI toxicity in renal allograft

研究代表者

種田 積子 (Taneda, Sekiko)

東京女子医科大学・医学部・准教授

研究者番号：40408472

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,900,000円

研究成果の概要(和文)：腎移植における巣状分節性糸球体硬化症(FSGS)の臨床病理学的特徴に及ぼすカルシニューリン阻害剤(CNI)の影響を電顕も用いて検討した。FSGS病変はコロンビア分類に基づき評価した。CNIによるFSGS病変は糸球体内皮の腫脹と断片化を伴うNOS亜型が大半を占め、1割に上皮細胞増生の強いCOL亜型も見られた。しかし、再発性のFSGS群で多くみられるCOL亜型とは内皮傷害が高度な点で異なっていた。抗体関連型拒絶(ABMR)で生じるFSGS群とは病理学的共通点は乏しかった。また、T細胞性拒絶や逆流性腎症が背景にある場合、間質線維化により二次的なNOS亜型を生じたが、CNI群と比べ内皮傷害は軽かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

FSGSは糸球体傷害の形態的なカテゴリーである。腎移植はCNIを含む免疫抑制剤や拒絶反応の影響を受ける。過去の報告では、腎移植におけるFSGSは、臨床的特徴に関連する形態学的特徴に基づき、CNIによる血管毒性、ABMR、ネフロン喪失/過剰濾過に病因分類されている。本研究では、CNIの影響を対象群(再発性FSGS群、ABMR-FSGS群、いずれの群にも属していない病因不明なFSGS群)と比較した。その結果、移植後FSGSの臨床学的特徴は病因によって異なり、同一の病理亜型であっても、電顕上傷害部位は異なっていた。腎移植のFSGS病変の形態学的評価は、FSGSの診断と臨床管理に役立つと考えられた。

研究成果の概要(英文)：The FSGS cases were classified into the 4 groups depending on the etiologies: CNIs-FSGS group, recurrent-FSGS group, ABMR-FSGS group, and unknown etiology (UE)-FSGS group, and compared. FSGS lesions were evaluated according to the Columbia classification. The most of CNI-FSGS cases were the NOS variant with endothelial injury, but COL variants which had strong epithelial cell proliferation were also found. The recurrent-FSGS group showed the highest ratio of the COL variant among the groups, but the COL variant of recurrent-FSGS group had a least endothelial injury. The ABMR-FSGS group had little pathological similarity to the CNI-FSGS group. The UE-FSGS group included significantly more cases of T cell-mediated rejection or reflux nephropathy, which were the NOS variant. The clinicopathologic features of post-transplant FSGS differ depending on the etiology. Morphological assessment of FSGS lesions may help in the diagnosis and clinical management of FSGS during renal transplantation.

研究分野：腎臓病理

キーワード：移植腎生検 腎臓移植 巣状分節性糸球体硬化症 成因 Banff分類 足細胞 糸球体内皮細胞 カルシニューリン阻害剤

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

(1) 巣状分節性糸球体硬化症 (FSGS) は糸球体傷害の形態的なカテゴリーである。原発性 FSGS は、ウロキナーゼ受容体などの循環因子による podocytopathy と考えられており、しばしばステロイド抵抗性ネフローゼ症候群を呈し、移植後の再発率が高い。一方、二次性 FSGS の原因は多様であり、その臨床的特徴も幅広い。原発性および二次性 FSGS の診断にはコロンビア分類が広く用いられており、以下の 5 つの組織型: collapsing (COL), tip (TIP), cellular (CEL), perihilar (PH), and not otherwise specified (NOS) がある。COL 亜型、TIP 亜型、CEL 亜型は、糸球体上皮細胞の増生や毛細血管内の細胞増加などの組織学的活性を主に示し、PH 亜型と NOS 亜型は、癒着などの組織学的慢性性を示す。この分類は、FSGS の臨床的特徴とよく一致することが知られている。

(2) 腎移植は、カルシニューリン阻害剤 (CNI) を含む免疫抑制剤や拒絶反応の影響を受ける。CNI の長期使用は、CNI 誘発性動脈硬化症を引き起こす可能性があり、病理学的には、変性した血管平滑筋に代わってヒアリン物質が沈着し、局所虚血を引き起こすという特徴がある。抗体関連型拒絶 (ABMR) は、傍尿細管毛細血管炎と糸球体炎を特徴とする微小血管炎症で、糸球体基底膜 (GBM) の二重化は、ABMR における慢性変化を表す。過去の報告では、腎移植における FSGS の病因は、臨床情報に関連する形態学的特徴に基づくと、CNI による血管毒性、ABMR、ネフロン喪失/過剰濾過があるとされている。

(3) FSGS はポドサイト傷害のスペクトルの中にあるが、FSGS における糸球体内皮傷害の関与も、ヒトおよび実験的な FSGS 病変で報告されている。

2. 研究の目的

腎移植に特異的な病因による FSGS の臨床病理学的特徴に焦点を当てた研究はほとんどない。本研究では、腎移植における FSGS の 258 例を病因別に分類し、その臨床病理学的な差異を評価した。また、当初は CNI の影響をみるために、背景に高度の CNI 血管毒性を有する FSGS 症例群と、固有腎生検において idiopathic FSGS と診断された症例を比較検討するつもりであったが、背景の使用薬剤などの面で両者に大きな相違があることから、計画を一部変更した。本研究では、固有腎生検で idiopathic FSGS と診断された症例の代わりに、原疾患が FSGS (で腎不全に至った症例。当研究内での Recurrent-FSGS 群に相当) を代替として用いることとした。そして、移植腎生検標本で診断された FSGS 症例を、抗体関連型拒絶を組織学的に有していた群 (ABMR-FSGS 群に相当) と、CNI、ABMR、Recurrent のいずれも組織学的に認められない群 (UE-FSGS 群に相当) に分類し、群間で比較することで、CNI による FSGS 病変が他の成因群と比べて分節性病変の特徴的な変異を持つのか、内皮細胞障害も関与するのか、組織像、臨床像、予後との相関などを評価することとした。

3. 研究の方法

(1) 生検サンプルの選択

当院で実施された腎移植生検 3,762 中、分節性病変が 299 例に確認され、それらは Recurrent-FSGS 群、生検標本に中等度から重度の CNI による動脈硬化症 (Banff aah score 2) を合併した CNI-FSGS 群、生検標本に ABMR を合併した ABMR-FSGS 群、いずれの群にも属さない UE-FSGS 群に分類された。群間で重複する症例 (CNI-FSGS 群と ABMR-FSGS 群の間で 40 例、CNI-FSGS 群と Recurrent-FSGS 群の間で 1 例) を除外し、合計 258 例 (UE-FSGS 群; n=95、CNI-FSGS 群; n=90、Recurrent-FSGS 群; n=45、ABMR-FSGS 群; n=28) を本研究の対象とし、臨床的および電顕を含めた形態学的パラメータを各群間で比較した。

(2) 組織学的評価

すべての生検は、標準的な光学顕微鏡 (LM) と免疫蛍光法 (IF) で検査された。IF は、IgG、IgA、IgM、C3c、C1q、C4d、kappa および lambda 軽鎖抗体で染色された。傍尿細管毛細血管の C4d の線状染色は、Banff 2017 分類に基づき判定された。糸球体係蹄の C4d 染色性は以下のように領域性で評価した: 0(なし)、1(10%以上)、2(10~50%)、3(50%以上)。間質線維症および尿細管萎縮 (IF/TA) の割合は、Banff 分類に従って目視で判定した。動脈硬化は、0(なし)、1(軽度)、2(中度)、3(重度)で分類され、逆流性腎症は、臨床的に診断されたもの、または組織学的に糸球体の甲状腺化および/または Tamm-Horsfall 蛋白沈着を伴う髄質線維症を特徴とするものとした。FSGS 病変はコロンビア分類に従って、5つの亜型に分類した。

4. 研究成果

(1) 各群における臨床的特徴。

Recurrent-FSGS 群はレシピエントの年齢が最も若く、生検までの期間が最も短く、ネフローゼ症候群の患者の割合が最も高かった。多くの症例がエピソード生検により発見され、死体腎移植の割合は他の群より高い傾向にあった。CNI-FSGS 群では、生検までの PTD が最も長く、約 7 割がエピソード生検であった。ABMR-FSGS 群 (7 例が活動性 ABMR、21 例が慢性活動性 ABMR) では、夫から妻への移植と妊娠歴のある女性の割合と、生検時の血清クレアチニン (sCr) 値が最も高く、約 8 割がエピソード生検であった。UE-FSGS 群は sCr 値が最も低く、約半数がプロトコール生検であった。ドナーの年齢や ABO 不適合症例の割合に差は見られなかった。

(2) 各群における病理学的特徴。

Recurrent-FSGS 群では、球状硬化率と IF/TA が各群で最も低く、COL 亜型の発生率は全群で最も高かった。重度の蛋白尿 (UP > 3) 症例に限定した場合、COL 亜型の割合がさらに高くなり、移植後 3 ヶ月以内の症例はすべて COL 亜型であった。HD 再導入も COL 亜型が他の型より多かった。光顕上、上皮細胞の増殖、cell bridge の形成があった。電顕ではポーマン嚢腔を充満する上皮の過形成や肥大、係蹄の虚脱があった。増殖した細胞の足突起は消失していたが、基部にはアクチンフィラメントの凝集はみられなかった。CNI-FSGS 群では、球状硬化率が最も高く、動脈硬化が最も進行していた。多くは NOS 亜型で、電顕上、滲出性変化を伴う顕著な内皮下拡大を示した。一方、一部の症例では上皮細胞増殖と分節的な係蹄の虚脱を有する COL 亜型も認められた。さらに、内皮細胞障害像も観察された。足突起の脱落は局所的であった。ABMR-FSGS 群では、重度の糸球体炎と GBM の二重輪郭が認められた。UE-FSGS 群では、IF/TA の程度が CNI-FSGS 群に次いで悪く、しかし、動脈硬化の程度は最も軽度であった。約 8 割の症例が NOS および PH 亜型であった。約 30% の症例が糸球体腎炎を呈し、TCMR と逆流性腎症を併発した症例も多かった。これらでは進行した間質性線維症を背景に NOS または PH 亜型を呈していた。

(3) 考察

CNI への長期曝露は CNI 毒性を誘発する。本研究での CNI-FSGS 群における球状硬化と IF/TA 率の高さは、虚血の影響であると考えられる。また、電子顕微鏡で顕著な内皮細胞傷害がみられたが、糸球体や毛細血管周囲の内皮細胞は CNI の重要な標的であり、循環内皮細胞は CNI 毒性による内皮傷害のマーカーになることが報告されている。一方で、本研究では、COL 亜型も一部の症例で認められた。CNI 毒性における上皮細胞傷害のメカニズムとしては、重度のヒアリン沈着によるポドサイトの低酸素状態が、低酸素誘導因子-1 α (HIF-1 α) の増加を誘発し、その後ポドサイトの VEGF が増加することにより上皮の過形成に至ることが提唱されている。しかし、上皮過形成は重度の動脈硬化症のすべての症例で起こるわけではなく、虚血以外の要因が関与している可能性も示唆される。最近の研究では、エンドセリン-1 (ET-1) シグナル経路を介した内皮細胞における酸化ストレスの蓄積がポドサイトの傷害に関与している可能性があることが示されている。また、ヒト FSGS 症例では、糸球体内皮細

胞におけるエンドセリン受容体 A や酸化ストレスのマーカーである 8-oxoG の増加が観察されている。このように、上皮の強い増生は、ウロキナーゼ受容体などの循環因子による idiopathic なもの(本研究の Recurrent-FSGS 群に相当する)に限らず、全く別の機序で CNI-FSGS 群でも生じると考えられた。

(4) 今後の課題

本研究では、病因が 1 つだけの症例に限定したが、FSGS の素因となる複数の病因が腎生検標本に同時に存在する可能性があり、今後検討すべき課題である。また、腎不全にいたった原疾患を腎生検で確認されていない症例も多く、本来再発性 FSGS であるものが他の群に入っている可能性は否定できない。

(5) 結論

腎移植における FSGS 病変を病因別に分類したところ、臨床病理学的に異なる特徴が明らかになった。また、顕微鏡的に分類し得られた FSGS 病変の亜型は一見似ていても、病因によってその病態や発症機序が異なることが電顕観察で判明した。FSGS 病変に関与する上皮および内皮細胞の傷害の程度を電顕で確認し、病因の関係を評価、理解することが重要と思われた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 種田積子
2. 発表標題 移植腎を用いた巣状分節性糸球体硬化症の成因における臨床病理学的検討
3. 学会等名 第111回日本病理学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 種田積子
2. 発表標題 移植後二次性FSGSの成因とCNI血管毒性
3. 学会等名 第52回日本腎臓学会東部学術大会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 種田積子
2. 発表標題 移植腎病理：巣状分節性病変の捉え方（腎炎再発から二次性糸球体変化まで）
3. 学会等名 移植腎病理研究会第26回学術大会（招待講演）
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------