

## 移植腎病理に有用な免疫染色

東京女子医科大学腎臓病総合医療センター病理検査室

堀田 茂

移植腎病理診断には、固有腎や自己腎には出現しない移植腎特有な拒絶反応がある。実際には、ドナーからの持ち込み病変・腎炎の再発・*de novo* 腎炎・薬剤性腎障害・ウイルス感染など、通常の腎生検診断と移植腎に特異的病変が混在した病態を解析することになる。そのため、移植腎病理の診断や病態の解析には、免疫組織学的検討が必要不可欠である。また、腎生検での腎炎の免疫染色は、凍結標本を用いた蛍光抗体法による免疫グロブリンや補体の検出が主流である。移植腎病理の診断では、一般の蛍光抗体法に加え、酵素抗体法や *in situ* hybridization (ISH) 法が必要である。

拒絶反応は、Banff 分類に基づき、急性拒絶反応（抗体関連型拒絶反応：antibody mediated rejection, 細胞性拒絶反応：acute/active cellular rejection）と慢性拒絶反応（chronic rejection）に大きく分けられる。以下、Banff 分類に基づいた拒絶反応、移植腎におけるウイルス感染症及び、移植腎にみられる腎炎について解説する。

### 1. Banff 分類に基づいた拒絶反応

#### 1) 抗体関連型拒絶反応

抗体関連型拒絶反応の診断には、抗ドナー抗体が陽性で、MHC class IあるいはIIと ABO 血液型に対する抗体を検出することが必要である。組織診断では、傍尿細管毛細血管（peritubular capillary：PTC）において、補体活性経路の最終産物の1つである C4d の局在を証明することが重要である。抗体関連型拒絶反応や腎機能障害のない移植腎でも、PTC に C4d が陽性に染色されることがある。また、血液型不適合移植では、抗体関連型拒絶反応が無くても、移植早期から PTC に C4d が陽性になることが多い。したがって、C4d 陽性になることが必ずしも抗体関連型拒絶反応とは言えない。免疫染色では、凍結切片を用いたモノクローナル抗体による蛍光抗体法が最も信頼性が高い。最近、パラフィン標本で染色可能なポリクローナル抗体が市販されているが、蛍光抗体法に比し染色感度が低く評価に注意を要する（図 1, 2）。

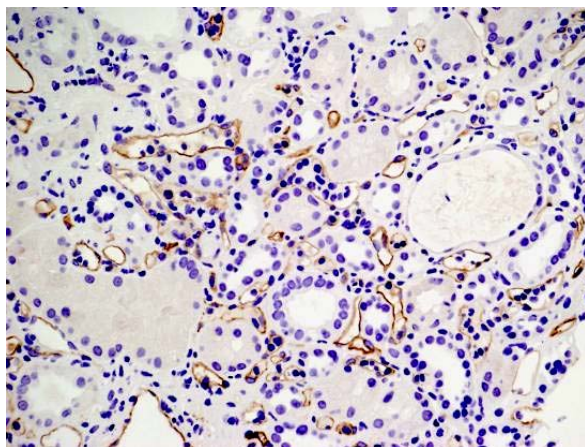


図1 抗 C4d ウサギポリクローナル抗体  
酵素抗体法【パラフィン切片】  
PTC に陽性を示す。

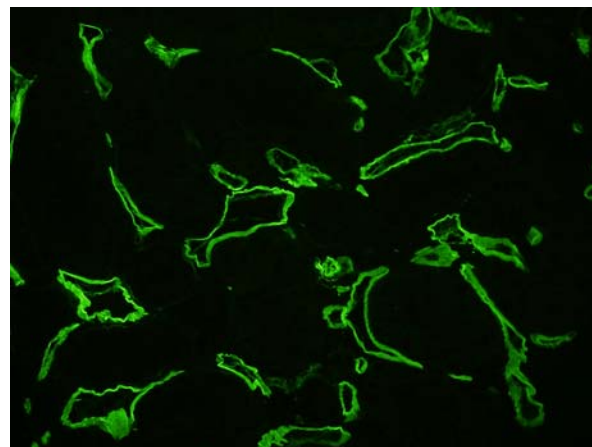


図2 抗 C4d マウスモノクローナル抗体  
蛍光抗体法【新鮮凍結切片】  
PTC に陽性を示す。

## 2)細胞性拒絶反応

細胞性拒絶反応の病理学的特徴は、腎皮質における尿細管炎および間質炎である。糸球体、尿細管および動静脈周囲に、CD8 あるいは CD4 陽性 T リンパ球を主に、単球や形質細胞などの炎症細胞浸潤が見られる (図 3)。尿細管炎とは、単核細胞が尿細管基底膜内に浸潤し、尿細管上皮細胞の直下あるいは細胞間にとどまっている状態で、かつ上皮細胞の増生、核濃縮および淡明化などの炎症に伴う変化を随伴する。また、免疫染色では、HLA-DR 抗原 (図 4)、ICAM-1 や VCAM などの接着因子の過剰な発現が認められる。

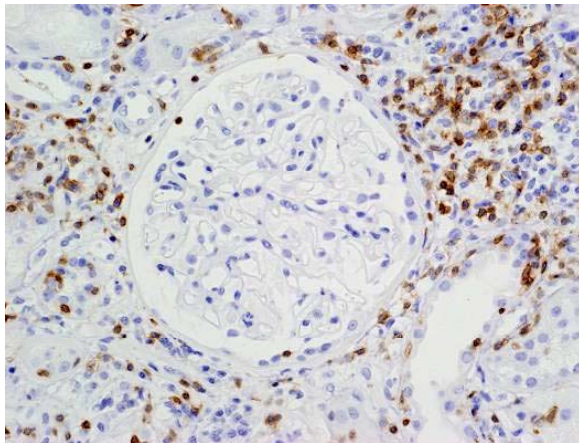


図 3 抗 CD8 マウスモノクローナル抗体  
(Clone : C8/144B)  
酵素抗体法【パラフィン切片】

CD8 陽性細胞が間質および尿細管壁内に浸潤している。

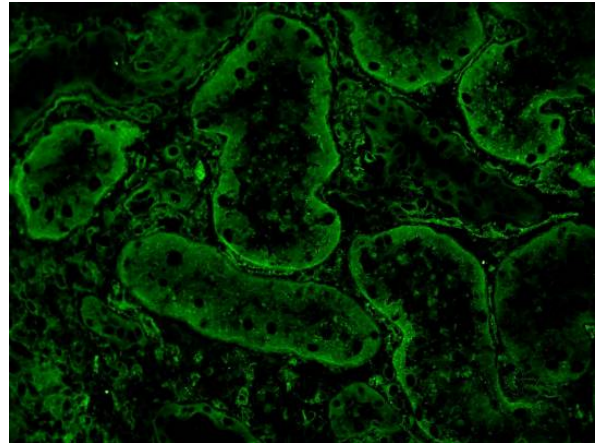


図 4 抗 HLA-DR マウスモノクローナル抗体  
(Clone : CR3/43)  
蛍光抗体法【新鮮凍結切片】

尿細管上皮細胞の HLA-DR の発現を示す。

## 3)慢性拒絶反応

慢性拒絶反応に特徴的な所見は、transplant glomerulopathy (TGP) と vasculopathy である。TGP は、糸球体係蹄の肥厚と二重化およびメサンギウム基質の増加であり、膜性増殖性糸球体腎炎様所見を呈する (図 5)。また、TGP の症例では、ドナー抗体や C4d が糸球体や PTC で陽性になる頻度が高いと言われている。

我々は TGP 例で、糸球体の抗ヒト内皮細胞抗体 (Clone : PAL-E) の染色性が、糸球体係蹄の二重化の広がりタンパク尿の程度に関係することを見出した (図 6)。この抗ヒト内皮細胞抗体は、Caveolae 関連分子のひとつである plasmalemmal vesicle-associated protein-1 (PV-1) を認識する。正常腎での分布は、PTC や静脈の内皮に存在し、糸球体毛細血管・リンパ管・動脈の内皮には分布しない (図 7)。

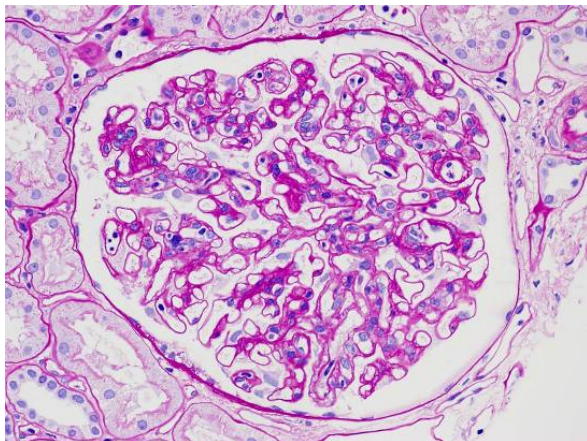


図 5 TGP PAS 反応

糸球体係蹄の肥厚・二重化と内皮下腔の拡大が見られる。

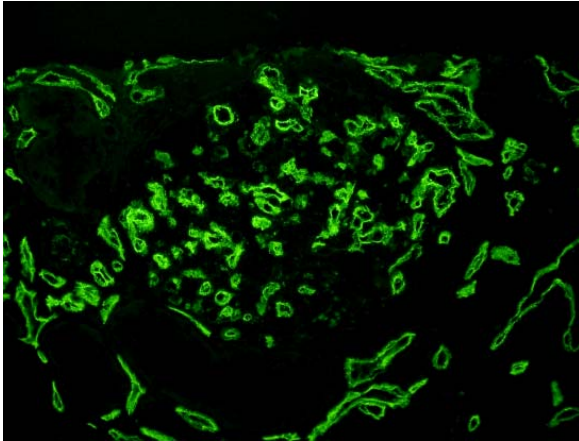


図6 TGP\*

TGPでは、PTCおよび中央部の糸球体内皮に陽性である。

\*抗ヒト内皮細胞マウスモノクローナル抗体 (Clone : PAL-E) 蛍光抗体法【新鮮凍結切片】

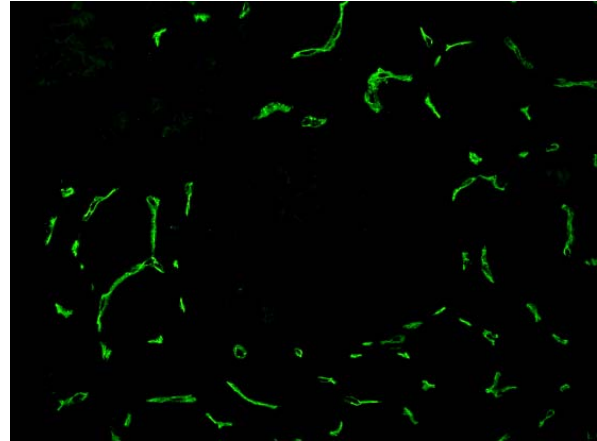


図7 正常腎 生着前 (0h) 生検\*

正常腎では、PTCに陽性で中央部糸球体は陰性である。

## 2. 移植腎におけるウイルス感染症

移植後ウイルス感染症は、レシピエント内に潜伏していたウイルスや、ドナーから持ち込まれたウイルスが免疫抑制療法により再活性化されることにより発症することが多い。移植後に問題となるウイルスは、サイトメガロウイルス (CMV) ・ Epstein-Barr ウイルス (EBV) ・ アデノウイルス ・ ポリオーマウイルス (BK) などである。また、CMV ・ アデノウイルス ・ BK ウイルスは、移植腎の尿細管間質性腎炎を主体とする腎症を引き起こし、腎機能障害の鑑別診断として重要である。

最近、BK ウイルス感染症が、移植腎機能障害を引き起こすことが注目されている。特に、拒絶反応に対する強力な治療後やタクロリムスとミコフェノール酸 (MMF) の組合せで免疫抑制が維持されている例で、BK ウイルス腎症の報告が多い。組織学的には、BK ウイルスが尿細管上皮細胞に感染する事により、すりガラス状や顆粒状に変性腫大した核内封入体や間質および尿細管への細胞浸潤が特徴であり、拒絶反応との鑑別が困難な事がある。(図8) しかし、症例によっては特徴的な核内封入体を認めず、確定診断には抗 SV40T-Ag 抗体を用いた免疫染色が必要である(図9)。我々の施設では、移植腎生検全例に免疫染色を施行している。

### ■BK ウイルス腎症

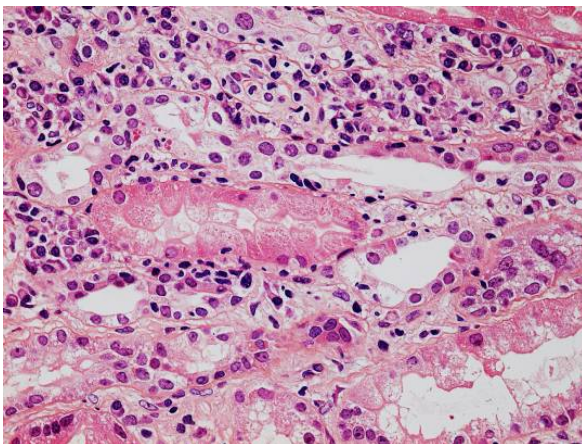


図8 H&E 染色

間質および尿細管への細胞浸潤を認める。

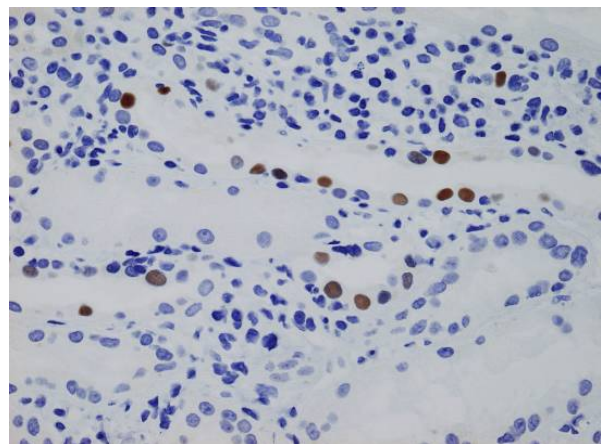


図9 抗 SV40T-Ag マウスモノクローナル抗体 (Clone : Ab-2)

酵素抗体法【パラフィン切片】

遠位尿細管の核に陽性を示す。

また、移植後比較的早期に遭遇する移植後リンパ球増殖症 (posttransplant lymphoproliferative disorder: PTLD) の多くは、EBV の感染あるいは再活性化に関連した B 細胞系の異常増殖として発症する。時に、T 細胞あるいは NK 細胞による PTLD の報告もある。本症の診断は病理組織によるところが大きく、移植腎に発生する PTLD は拒絶反応と鑑別が困難なことが多い。PTLD は成熟した形質細胞の増生から幼若あるいは異型性を示す B 細胞が巣状あるいは帯状に浸潤するが、尿細管炎は目立たない。時に急性拒絶反応が随伴して起き、移植腎が廃絶されることもある。

■移植後リンパ球増殖症 (PTLD) と細胞性拒絶反応が合併した症例(図 10, 11, 12)

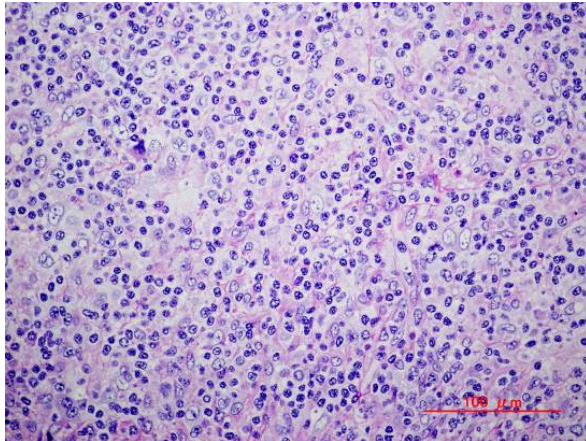


図 10 PTLD に合併した細胞性拒絶反応像  
PAS 反応

軽度異型を示す大型と小型リンパ球浸潤像を示す。

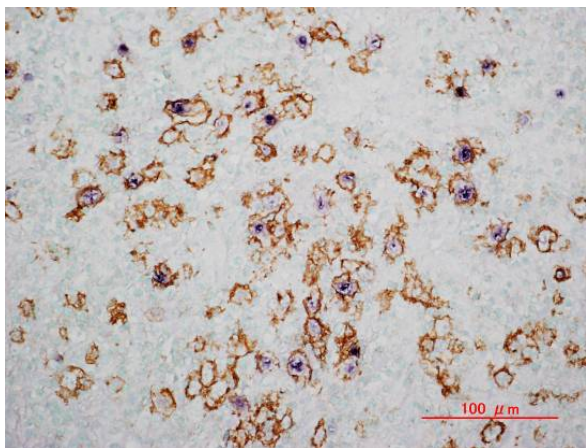


図 11 抗 CD20 マウスモノクローナル抗体 (Clone : L26) 酵素抗体法と EBER ISH 法の二重染色 【パラフィン切片】

CD20 陽性細胞に一致して ISH 法で EBER 陽性を示す。

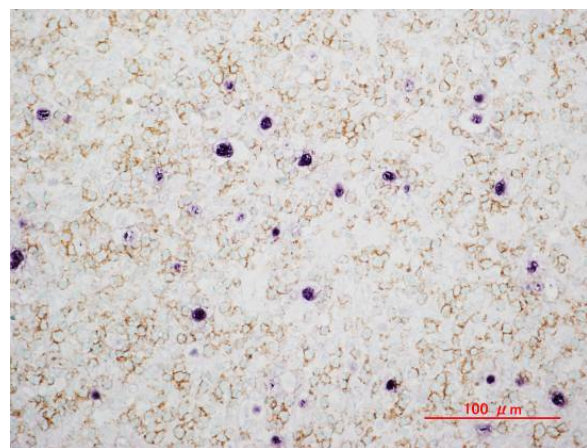


図 12 抗 CD45RO マウスモノクローナル抗体 (Clone : UCHL1) 酵素抗体法と EBER ISH 法の二重染色 【パラフィン切片】

CD45RO 陽性細胞は EBER 陰性である。

最近では、PTLD との鑑別が重要な B 細胞浸潤型拒絶反応、形質細胞優位な拒絶反応やドナー由来リンパ球の反応性増殖などの報告もある。この場合、EBV の感染の有無は ISH 法で、リンパ球の同定は免疫染色で確定診断する。男女間での移植であれば、ドナー由来の細胞の同定は、X・Y 染色体を fluorescence *in situ* hybridization (FISH) 法などで証明することも可能である。免疫染色や ISH 法、FISH 法を併用して診断することも必要である。

■移植後、早期に形質細胞浸潤を認め溶血性貧血をきたし、FISH 法にてドナー由来のリンパ球増殖を確認した腎移植例（ドナー：男性、レシピエント：女性）（図 13,14,15,16,17,18,19）

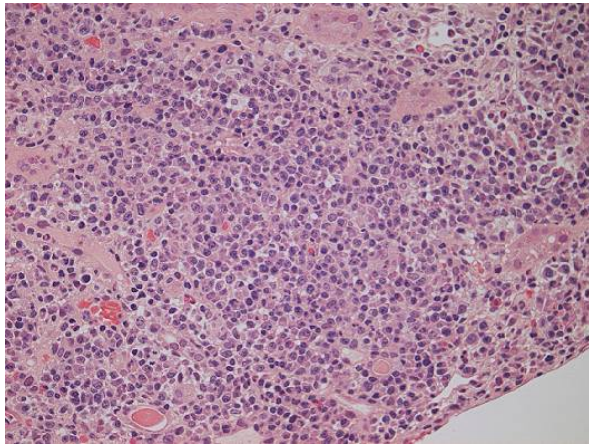


図 13 H&E 染色  
形質細胞主体の単核球浸潤を示す。

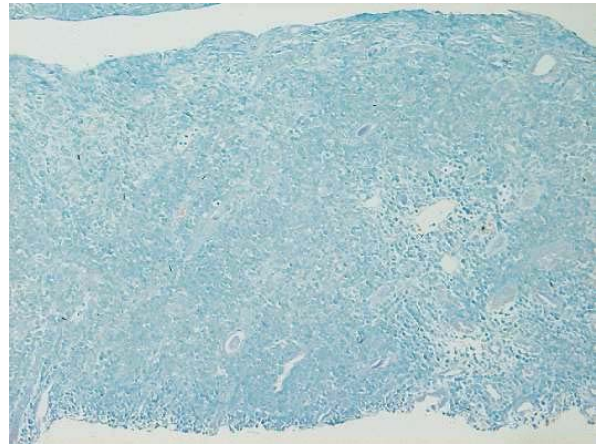


図 14 EBER ISH 法【パラフィン切片】  
EBER は ISH 法で陰性を示す。

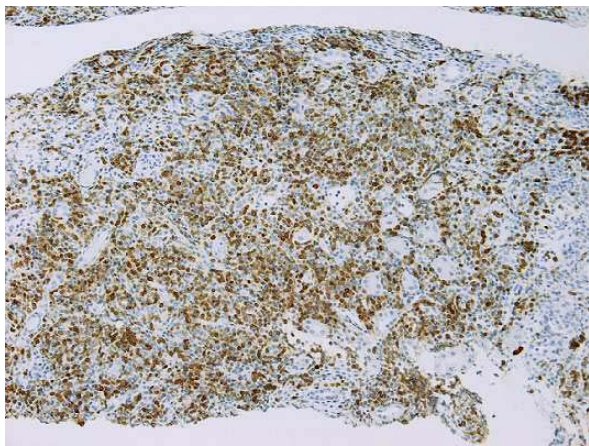


図 15 抗 CD79a マウスモノクローナル抗体 (Clone : JCB117) 酵素抗体法【パラフィン切片】  
浸潤細胞は CD79a 陽性で形質細胞主体の B 細胞である。

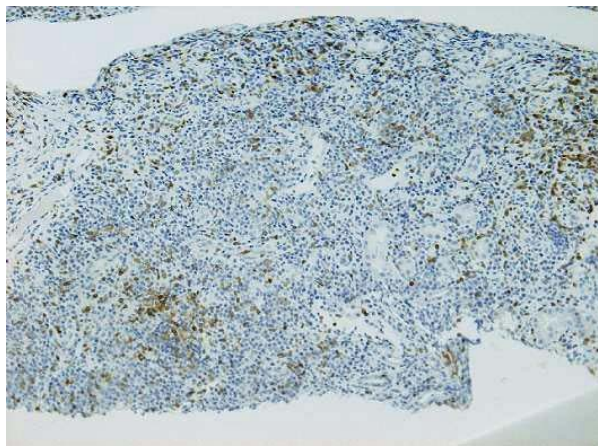


図 16 抗 CD3 マウスモノクローナル抗体 (Clone : SP1) 酵素抗体法【パラフィン切片】  
浸潤細胞の一部は CD3 陽性の T 細胞である。

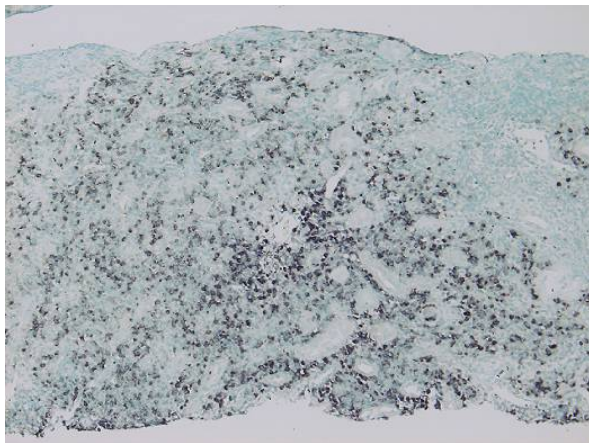


図 17  $\kappa$  ISH 法【パラフィン切片】



図 18  $\lambda$  ISH 法【パラフィン切片】

形質細胞は ISH 法で  $\kappa \cdot \lambda$  とともに陽性である。

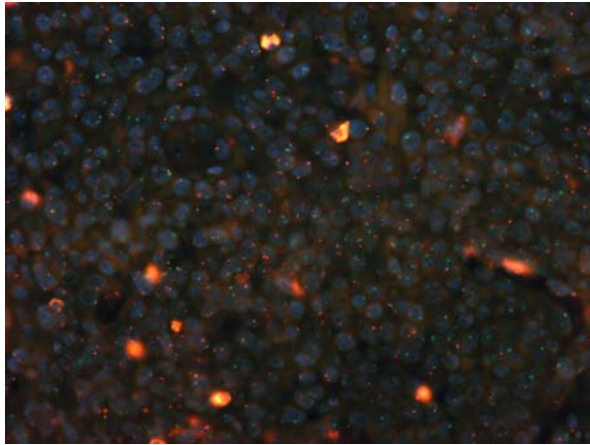


図 19 X 染色体 (赤) , Y 染色体 (緑) 染色体 FISH 法【パラフィン切片】

浸潤細胞のほとんどは Y 染色体 (緑) が陽性であることから、ドナー由来のリンパ球が増殖したと判断された。

### 3. 移植腎にみられる腎炎

移植腎を経由して、ドナーからレシピエントに持ち込まれる腎炎に、メサンギウム IgA 沈着症、膜性腎症 (図 20,21,22) および糖尿病腎症などがある。最も頻度が高いのは、メサンギウム IgA 沈着症である。ドナーから持ち込まれる腎炎では、尿検査や腎機能に異常を認めることは少なく、腎炎糸球体への免疫グロブリンや補体の沈着も軽度のことが多く、パラフィン標本による免疫染色では判断が難しいことがある。

再発腎炎には、巣状糸球体硬化症、IgA 腎症、膜性増殖性糸球体腎炎 (図 23,24,25)、膜性腎症、ANCA 関連腎炎およびルーブス腎炎などがある。De novo 腎炎には膜性腎症、巣状糸球体硬化症および IgA 腎症 (図 26,27) などがある。

#### ■ドナーより持ち込まれた膜性腎症

移植腎の膜性腎症は、発症が早期で見つかり IgG の沈着も細顆粒状で軽度の場合が多く評価が難しい。このため、蛍光抗体法 (新鮮凍結切片) より感度が低い酵素抗体法 (パラフィン切片) で、IgG の染色が陰性になることがある。補体複合体に対する抗 C5b-9 抗体は、膜性腎症の IgG の染色パターンにほぼ同じで蛍光抗体法や酵素抗体法でも安定した染色性が得られる。

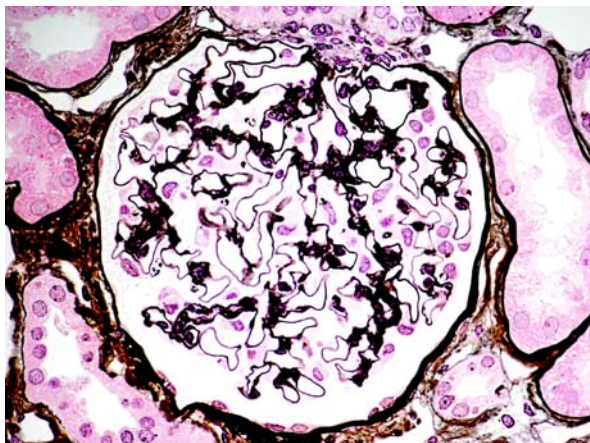


図 20 膜性腎症 PAM 染色

PAM 染色で糸球体基底膜の肥厚やスパイク形成をほとんど認めない。基底膜の一部に泡沫様像を認める。

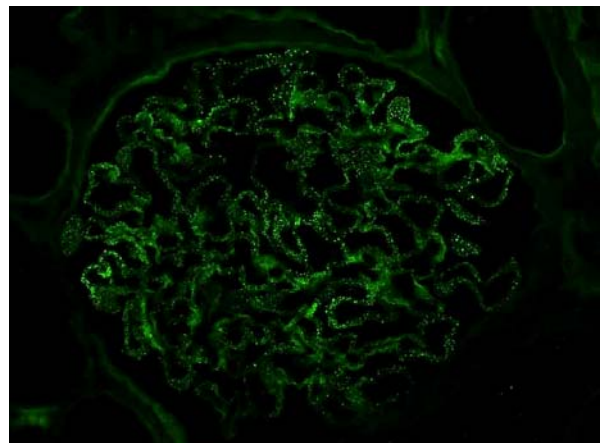


図 21 FITC 標識抗 IgG ウサギポリクローナル抗体 蛍光抗体法【新鮮凍結切片】

IgG が糸球体基底膜に顆粒状に陽性である。

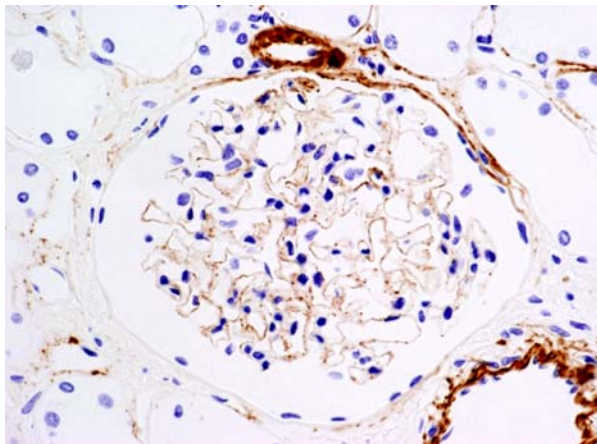


図22 抗C5b-9マウスモノクローナル抗体  
(Clone : aE11) 酵素抗体法  
【パラフィン切片】

パラフィンを用いた免疫染色では、IgGは陰性であったが、C5b-9では糸球体基底膜に顆粒状に陽性を示した。

■再発性膜性増殖性糸球体腎炎

移植後再発しやすい腎炎の1つである膜性増殖性糸球体腎炎 (membranoproliferative glomerulonephritis:MPGN) は、メサンギウム細胞の増殖と基質の増加、糸球体係蹄壁の肥厚・二重化を特徴とする。免疫染色では、主に補体のC3cが係蹄壁に沿った著明な沈着を特徴とし、時にIgG・IgM・IgAならびにC1qの沈着も見られる。C3cの染色性も、IgGと同様に蛍光抗体法に比べ酵素抗体法(パラフィン切片)で感度が低い場合がある。

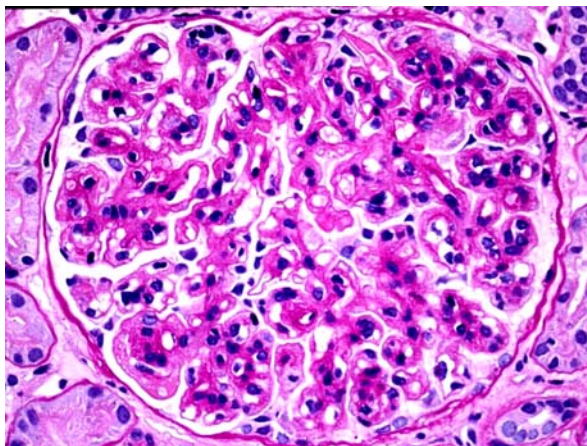


図23 PAS反応

メサンギウム細胞の増殖と基底膜の二重化を認める。

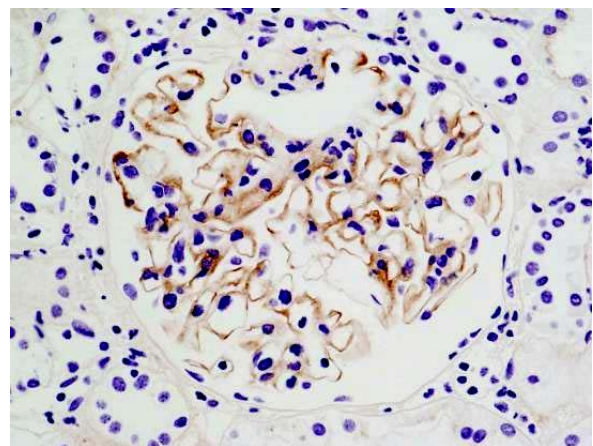


図24 抗C3cウサギポリクローナル抗体  
酵素抗体法【パラフィン切片】

メサンギウム領域から基底膜にC3cの沈着を認める。

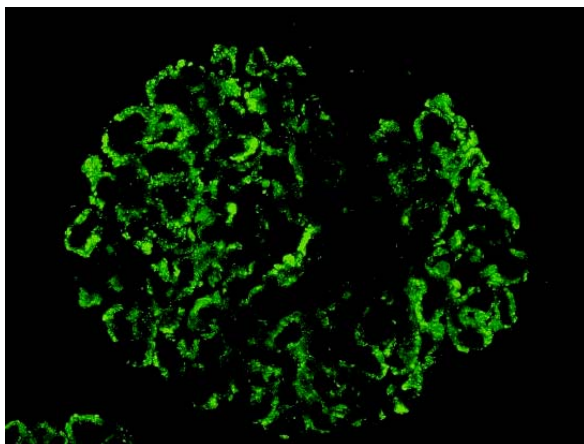


図25 FITC標識抗C3cウサギポリクローナル抗体  
蛍光抗体法【新鮮凍結切片】

メサンギウム領域から基底膜にC3cの沈着を認める。

■移植後発症した IgA 腎症 (De novo 腎炎)

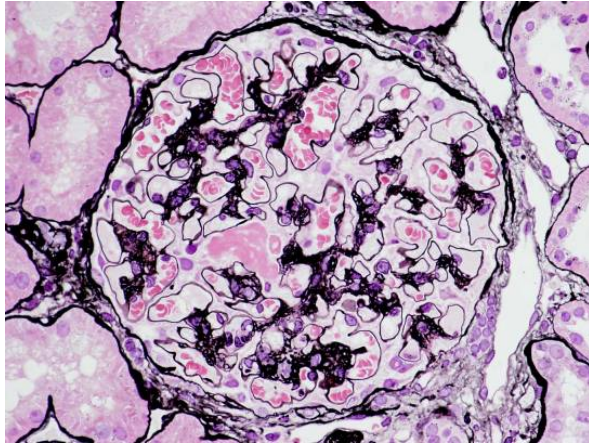


図 26 PAM 染色

メサンギウム細胞の増殖と基質の増加が認められる。

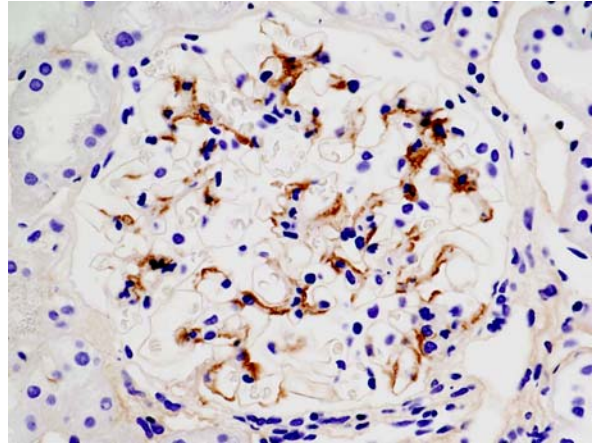


図 27 抗 IgA ウサギポリクローナル抗体  
酵素抗体法【パラフィン切片】

メサンギウム領域に IgA の沈着を認める。

移植腎生検を病理学的に解析することは、患者に対して適切な治療および術後管理を行ううえで非常に重要である。最近、有効な免疫抑制剤の開発により拒絶反応が著しく抑えられてきたが、それに伴い生着した腎臓の機能障害も多様化してきている。ドナーから持ち込まれる腎炎や再発性腎炎、移植後ウイルス感染症などを考慮し、凍結標本を用いた蛍光抗体法を含めた免疫染色と ISH 法、FISH 法を併用して診断することも必要である。

謝辞

東京女子医科大学腎臓外科 寺岡 慧教授、同泌尿器科 田邊 一成教授、  
東京慈恵会医科大学柏病院 山口 裕教授および各教室員の皆様に深謝いたします。