

慢性拒絶反応のモニタリングと治療戦略

京 昌弘* 難波行臣* 高原史郎**

はじめに

慢性期における腎機能低下の原因は、慢性拒絶反応、腎炎(*de novo*, 再発)、薬剤性腎障害(免疫抑制薬を含む)高血圧、高脂血症、感染症など多様である。これらをごく初期に診断し、適切な治療を施行することによって移植腎機能低下をできるだけ防ぐことが移植腎モニタリングの目標である。

モニタリングには簡易で信頼性の高い手技が求められるが、現在これらを完全に満たすものではなく、尿や血液を用いた非観血的検査と腎生検などの観血的検査が併用されている。一般的には、非観血的検査により腎機能の低下程度を測り、その後に腎生検(episode 生検)にて診断を確定し治療を開始するか、計画的な腎生検(protocol 生検)により定期的に病態診断および治療を行う。

近年の免疫抑制薬の進歩によって、腎移植後の急性拒絶反応発生率は減少したが、依然として年間約5%の割合で移植腎機能は廃絶している。この移植腎機能廃絶原因の一つとして慢性拒絶反応があるが、最新の Banff 分類では、chronic T cell mediated rejection (chronic TCMR), chronic antibody mediated rejection (chronic ABMR) を明確に分けることが行われた。このことから、慢性拒絶反応に対する治療が診断に応じてより有効に行える可能性が高まっている。

今回われわれは慢性拒絶反応のモニタリングについて、最近の病理学、血清学的診断方法などの進歩、および治療方法の進歩と限界を含めて概説する。

移植腎慢性拒絶反応のモニタリング

移植腎のモニタリングは侵襲性の点から、非観血的および観血的検査の2つに分類される。

1. 非観血的検査

慢性拒絶反応を確実にモニタリングできる非観血的検査は現在のところ存在しない。しかしながら移植後数年を経て過度の免疫抑制薬減量などによる急性拒絶反応(以下、遅発性の急性拒絶反応とする)に対しては、TCMR に対する手法の応用が可能である。

われわれは、急性拒絶反応に対してパパンコロウ染色と免疫組織学的手法を用いた尿細胞診にて尿中単核球細胞、CD8, CD25 および HLA-DR 陽性細胞が増加することを以前に示したが¹⁾、この手法も遅発性の急性拒絶反応のモニタリングに対し有効な可能性があると思われる。

次に、免疫活性状態をモニタリングするものとしてサイトカインの測定があり、細胞傷害性 T cell の分泌顆粒中に存在する perforin, granzyme, Fas ligand に関する研究が以前より広く行われていた。Protocol 生検にて認めた拒絶反応(subclinical rejection)に対しては perforin によるモニタリングの感度が優れており、Fas ligand と granzyme B は特異性が高いことが報告されている²⁾。また、移植前後 IFN- γ の ELISPOT 法での評価や T cell の活性化状態で産生される sCD30 の測定により、移植患者の体内における免疫活性化状態をモニタリングすることができる³⁾。

Chronic ABMR の原因としては、ドナー特異的 HLA 抗体(donor specific antibodies : DSA)がある。chronic ABMR に対して Terasaki らは、移植前には DSA 陰性であった症例の経過中に DSA が出現した場合、それらの8.6%は移植腎機能喪失に至ったとしている⁴⁾。このことから、ELISA や Flow-PRA screening を用いて抗体のモニタリング(新たな抗体が出現した場合、Flow-PRA single antigen test まで行うことが望ましい)が有用とされている。これ以外に MHC

表 移植腎機能低下の鑑別診断

1. 急性拒絶反応
2. 慢性拒絶反応
3. 糸球体腎炎：再発または *de novo*
4. 薬剤性腎障害
5. 高血圧, 高脂血症
6. hyperfiltration
7. 感染：ポリオマウイルス腎炎, 腎盂腎炎, 膀胱尿管逆流症
8. 腎動脈狭窄
9. 尿路閉塞

class I related chain A (MICA) に対する抗体や I 型アンジオテンシン II 受容体活性化抗体が報告されているが、移植腎に対する危険度や傷害メカニズムについては研究中である^{5,6)}。

以上のことから、非観血的なモニタリングで比較的日常生活に用いやすいものは、尿細胞診法と抗 HLA 抗体の測定と思われるが、これらの非観血的モニタリング法はいずれも拒絶反応の可能性を指摘するのみで、確定診断には腎生検が必要である。

2. 観血的検査(移植腎生検)

非観血的検査では病態把握に限界があり、また、慢性期における腎機能低下の原因は、単一の病変によるものではなく複数の病変によることが多く、これらの病変は腎生検を行わなければ判定できないことが多い。鑑別しなければならぬ項目を表に示す。

Banff 05 分類にて chronic TCMR, chronic ABMR について診断条件が整えられた^{7,8)}。chronic TCMR については、動脈内膜の炎症細胞浸潤を伴う線維性肥厚が特徴的所見とされている。一方、chronic ABMR については、①DSA の存在、②傍尿管毛細血管(以下、PTC)への C4d 沈着、③間質の線維化、尿管の萎縮、動脈内膜の線維性肥厚、④transplant glomerulopathy (TG) に含まれる糸球体基底膜の二重化、これら 4 条件にて規定されているが、腎生検所見として TG は chronic ABMR に特徴的な所見とされている。TG は HLA-class II や HLA-class I の存在に関連があり⁹⁾、TG が認められた症例は生着率の低下に関連があるとされている¹⁰⁾。また、移植後 1 年以降の生検にて PTC の C4d 陽性率は 73 % であり、TG の存在と有意に相関があるとの報告がある¹¹⁾。

モニタリングとしての腎生検施行時期は、移植後 3 カ月での protocol 生検にて subclinical rejection は 33 % に認められたことや¹²⁾、移植後 3 カ月以降に糸球体に C4d 陽性像

を認めた症例の移植腎生着率の低下¹³⁾を考慮すると、移植後約 3 カ月で行うのが望ましい。

治療戦略

慢性期における移植腎機能低下の原因は拒絶反応のみでなく、薬剤性腎障害、高血圧、高脂血症、hyperfiltration、ウイルス感染、尿路感染などによる間質線維化が関与し、これらの因子が複雑に関わり合い移植腎機能低下を生ずる。すなわち、モニタリングで得られた情報から上記因子の重要度を検討し、慢性期における腎機能低下を防ぐための免疫抑制薬の使用方法を選択することになる。

今回は免疫学的因子と非免疫学的因子のうち、慢性期における免疫学的因子に対する治療戦略を述べる。

1. Chronic T cell mediated rejection に対する治療戦略

慢性拒絶反応の原因となる抗原としては、HLA 抗原が以前より考えられている¹⁴⁾。慢性拒絶反応の一つである chronic TCMR に対する治療戦略は、HLA 抗原適合度の高いドナーとレシピエントの選定にあることは改めて言うまでもない。さらに、腎毒性を有さず、DNA 合成阻害、免疫細胞間の相互作用抑制や B cell の増殖抑制などの作用により免疫抑制作用を示すミコフェノール酸モフェチル (MMF) の使用により chronic TCMR の抑制が期待されている¹⁵⁾。

また、急性拒絶反応を少なくとも 1 回以上生じた症例は、拒絶反応を発症していない症例に比較して、生着率が劣っていることは以前よりよく知られており¹⁶⁾、慢性拒絶反応を予防するためには早期からの拒絶反応の抑制が必要である。これに対しては、免疫抑制薬をシクロスポリン (CyA) からタクロリムス (TAC) に変更、またはアザチオプリン (AZA) から MMF に変更することで拒絶反応の発生率を抑えることが可能であるとの報告がなされている¹⁷⁾。

さらに、Rush らは protocol 生検を 1, 2, 3, 6, 12 カ月目に施行しえた所見より、borderline change (BL) で程度が軽微なものだけが 1 年目の組織像が正常であり腎機能も良好であったことを示し、繰り返す炎症により腎機能が低下する可能性が考えられるとした¹⁸⁾。この結果より、subclinical rejection と BL を治療することの有益性を報告している。ただし、Meehan らは BL 群に対する治療の必要性について、糸球体炎を含む症例、血清クレアチニン (sCr) 値上昇症例、Banff 分類での (i+t) スコアが 2 よりも大きい場合の治療の必要性を述べているが、さらに議論が必要とされている¹⁹⁾。Nankivell らは、CyA と MMF の組み合わせよりも

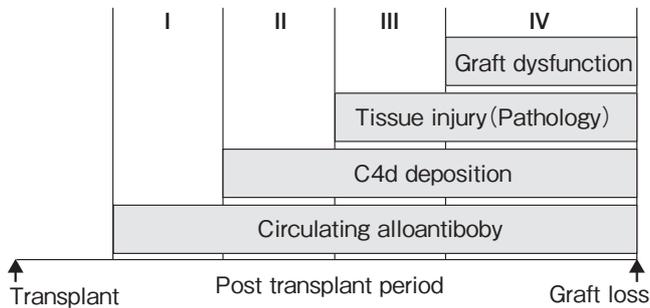


図 Chronic AMBR の段階仮説

TAC と MMF の組み合わせが比較的早期の subclinical rejection の予防に役立つことを示した²⁰⁾。薬剤投与プロトコルの違いがあり一概には結論できないが、使用する薬剤により慢性期の移植腎機能に与える影響が異なる可能性が考えられる。

一方、カルシニューリン阻害薬(CNI)使用下では短期の移植腎生着率は改善したが、長期の生着率は以前とあまり変化がないことも報告されている²¹⁾。CNI による薬剤性腎障害は移植後 10 年では 58.4% の症例に認められるが、subclinical rejection は 5.8% にしか過ぎず²²⁾、また、Cosio らの報告では、1 年目の TAC 使用量を 2 群に分け比較し、低用量群でも拒絶反応の発生頻度に差はなく、間質の線維化と尿細管萎縮の程度も軽減されている²³⁾。これらは、CNI の過剰投与は弊害があり、適正な投与量が移植腎機能低下を防ぐためには必要であることを示している。

さらに Grimbert らは、制御性 T 細胞の発達、分化を制御するマスター転写因子である Foxp 3 と granzyme B の mRNA 発現量を BL 群(15 例)と IA 群および非拒絶反応群を用いて比較し、BL 群では Foxp 3/granzyme B の比率が高く、浸潤 T 細胞の多くが細胞傷害性ではなく制御性 T 細胞である可能性を報告し、従来 BL 群に対して行われていた拒絶反応治療を選別し、必要な症例にのみ行いうる可能性を示した²⁴⁾。

これらのことから、chronic TCMR に対する治療戦略としては、移植腎に対するダメージが大きい移植後早期の拒絶反応を防止するため、抗 CD20 抗体なども含めた多剤併用の免疫抑制を行い²⁵⁾、その後は拒絶反応の予防と同時に薬剤性腎障害をできるだけ低減させることが必要である。

2. Chronic antibody mediated rejection に対する治療戦略

術前の脱感作療法や acute ABMR に対する治療法は、血漿交換、ガンマグロブリン療法、抗 CD20 抗体および脾臓摘出がすでに報告され比較的良好な成績を取めてい

る^{26~29)}。しかし、現在も chronic ABMR に対する最も効果的な治療法は定まっていない。その理由としては、chronic ABMR の病態解析が以下の仮説の段階であり、また、B 細胞や形質細胞の機能を効果的に抑制する薬剤が決定できていないためである。この段階的成立仮説とは、急性、慢性という概念はなく、①抗体の産生、②抗体による PTC や糸球体への C4d 沈着、③病理学的変化、④移植腎機能低下、という抗体による段階的な移植腎への影響を想定している(図)。このなかで①、②は可逆的であり、またどの段階であっても抗体と C4d の沈着が陰性化すれば活動性ではないと考えられている^{30,31)}。

また、Schwarz らは 3 年目の protocol 生検にて C4d 陽性の 11 症例に対して、CyA での維持免疫療法から抗体産生を抑制することを目的に、TAC、MMF を用いた維持免疫療法へ変更した結果、移植腎機能の低下を防ぐことはできず(移植腎喪失 4 例)、7 例に HLA class I 抗体または II 抗体を認めた³²⁾。このことから、すでに C4d 陽性の症例に対しては、TAC と MMF への変更では病態の改善は得られないことを示している。さらに ABMR では、抗原-抗体複合体が形成されることにより、補体古典経路が活性化され血管内皮の傷害が起こる。この傷害が激しい場合、間質出血などが生ずるため抗凝固抗血小板薬の併用も意義があると思われる。

今後は、ABMR の病態解明に基づき chronic ABMR の治療法が発展することが期待される。

おわりに

慢性期の拒絶反応モニタリングにおいて protocol 生検は腎組織の障害を判定する最良の方法であるが、今後は他の手法(DNA microarray, proteomics など)にて得られた情報を加え、さらに正確で信頼性の高い手法へと改善される必要がある。また治療戦略としては、現在用いられている薬剤の適切な使用方法の確立が必要である。

文 献

1. Kyo M, Toki K, Nishimura K, Fukunishi T, Nagano S, Namba Y, Gudat F, Dalquen P, Mihatsch MJ. Differential diagnosis of kidney transplant rejection and cyclosporin/tacrolimus nephropathy using urine cytology. Clin Transplant 2002 ; 16 (Suppl 8) : 40-44.
2. Aquino Dias EC, Veronese FJ, Santos Goncalves LF, Manfro RC. Molecular markers in subclinical acute rejection of renal transplants. Clin Transplant 2004 ; 18 : 281-287.

3. Gwinner W. Renal transplant rejection markers. *World J Urol* 2007 ; 25 : 445-455.
4. Terasaki PI, Ozawa M. Predicting kidney graft failure by HLA antibodies : a prospective trial. *Am J Transplant* 2004 ; 4 : 438-443.
5. Zou Y, Stastny P, Susal C, Dohler B, Opelz G. Antibodies against MICA antigens and kidney-transplant rejection. *N Engl J Med* 2007 ; 357 : 1293-1300.
6. Dragun D, Muller DN, Brasen JH, Fritsche L, Nieminen-Kelha M, Dechend R, Kintscher U, Rudolph B, Hoebeke J, Eckert D, Mazak I, Plehm R, Schonemann C, Unger T, Budde K, Neumayer HH, Luft FC, Wallukat G. Angiotensin II type 1-receptor activating antibodies in renal-allograft rejection. *N Engl J Med* 2005 ; 352 : 558-569.
7. Solez K, Colvin RB, Racusen LC, Sis B, Halloran PF, Birk PE, Campbell PM, Cascalho M, Collins AB, Demetris AJ, Drachenberg CB, Gibson IW, Grimm PC, Haas M, Lerut E, Liapis H, Mannon RB, Marcus PB, Mengel M, Mihatsch MJ, Nankivell BJ, Nickleit V, Papadimitriou JC, Platt JL, Randhawa P, Roberts I, Salinas-Madriga L, Salomon DR, Seron D, Sheaff M, Weening JJ. Banff '05 Meeting Report : differential diagnosis of chronic allograft injury and elimination of chronic allograft nephropathy ('CAN'). *Am J Transplant* 2007 ; 7 : 518-526.
8. Solez K, Colvin RB, Racusen LC, Haas M, Sis B, Mengel M, Halloran PF, Baldwin W, Banfi G, Collins AB, Cosio F, David DS, Drachenberg C, Einecke G, Fogo AB, Gibson IW, Glotz D, Iskandar SS, Kraus E, Lerut E, Mannon RB, Mihatsch M, Nankivell BJ, Nickleit V, Papadimitriou JC, Randhawa P, Regele H, Renaudin K, Roberts I, Seron D, Smith RN, Valente M. Banff 07 classification of renal allograft pathology : updates and future directions. *Am J Transplant* 2008 ; 8 : 753-760.
9. Sis B, Campbell PM, Mueller T, Hunter C, Cockfield SM, Cruz J, Meng C, Wishart D, Solez K, Halloran PF. Transplant glomerulopathy, late antibody-mediated rejection and the ABCD tetrad in kidney allograft biopsies for cause. *Am J Transplant* 2007 ; 7 : 1743-1752.
10. Mauiyyedi S, Pelle PD, Saidman S, Collins AB, Pascual M, Tolkoff-Rubin NE, Williams WW, Cosimi AA, Schneeberger EE, Colvin RB. Chronic humoral rejection : identification of antibody-mediated chronic renal allograft rejection by C4d deposits in peritubular capillaries. *J Am Soc Nephrol* 2001 ; 12 : 574-582.
11. Regele H, Bohmig GA, Habicht A, Gollowitzer D, Schillinger M, Rockenschaub S, Watschinger B, Kerjaszki D, Exner M. Capillary deposition of complement split product C4d in renal allografts is associated with basement membrane injury in peritubular and glomerular capillaries : a contribution of humoral immunity to chronic allograft rejection. *J Am Soc Nephrol* 2002 ; 13 : 2371-2380.
12. Morath C, Ritz E, Zeier M. Protocol biopsy : what is the rationale and what is the evidence? *Nephrol Dial Transplant* 2003 ; 18 : 644-647.
13. Lerut E, Naesens M, Kuypers DR, Vanrenterghem Y, Van Damme B. Subclinical peritubular capillaritis at 3 months is associated with chronic rejection at 1 year. *Transplantation* 2007 ; 83 : 1416-1422.
14. Vella JP, Spadafora-Ferreira M, Murphy B, Alexander SI, Harmon W, Carpenter CB, Sayegh MH. Indirect allorecognition of major histocompatibility complex allopeptides in human renal transplant recipients with chronic graft dysfunction. *Transplantation* 1997 ; 64 : 795-800.
15. Allison AC, Eugui EM. Mechanisms of action of mycophenolate mofetil in preventing acute and chronic allograft rejection. *Transplantation* 2005 ; 80 : S181-190.
16. Humar A, Kerr S, Gillingham KJ, Matas AJ. Features of acute rejection that increase risk for chronic rejection. *Transplantation* 1999 ; 68 : 1200-1203.
17. Bakr MA, Gheith OA, Ismael AM, Baz ME, Shehab El-Dein AB, Ghoneim MA. Rescue immunosuppressive therapies in living-related renal allotransplant : a long-term prospective randomized evaluation. *Exp Clin Transplant* 2008 ; 6 : 48-53.
18. Rush DN, Jeffery JR, Gough J. Sequential protocol biopsies in renal transplant patients. Clinico-pathological correlations using the Banff schema. *Transplantation* 1995 ; 59 : 511-514.
19. Meehan SM, Siegel CT, Aronson AJ, Bartosh SM, Thistlethwaite JR, Woodle ES, Haas M. The relationship of untreated borderline infiltrates by the Banff criteria to acute rejection in renal allograft biopsies. *J Am Soc Nephrol* 1999 ; 10 : 1806-1814.
20. Nankivell BJ, Chapman JR. Chronic allograft nephropathy : current concepts and future directions. *Transplantation* 2006 ; 81 : 643-654.
21. Meier-Kriesche HU, Schold JD, Kaplan B. Long-term renal allograft survival : have we made significant progress or is it time to rethink our analytic and therapeutic strategies? *Am J Transplant* 2004 ; 4 : 1289-1295.
22. Nankivell BJ, Borrows RJ, Fung CL, O'Connell PJ, Allen RD, Chapman JR. The natural history of chronic allograft nephropathy. *N Engl J Med* 2003 ; 349 : 2326-2333.
23. Cosio FG, Amer H, Grande JP, Larson TS, Stegall MD, Griffin MD. Comparison of low versus high tacrolimus levels in kidney transplantation : assessment of efficacy by protocol biopsies. *Transplantation* 2007 ; 83 : 411-416.
24. Grimbert P, Mansour H, Desvaux D, Roudot-Thoraval F, Audard V, Dahan K, Berrehar F, Dehouille-Poillet C, Farcet JP, Lang P, Le Gouvello S. The regulatory/cytotoxic graft-infiltrating T cells differentiate renal allograft borderline change from acute rejection. *Transplantation* 2007 ; 83 : 341-346.
25. Ponticelli C, Yussim A, Cambi V, Legendre C, Rizzo G, Salvadori M, Kahn D, Kashi H, Salmela K, Fricke L, Heemann U, Garcia-Martinez J, Lechler R, Prestele H, Girault D. A randomized, double-blind trial of basiliximab immunoprophylaxis plus

- triple therapy in kidney transplant recipients. *Transplantation* 2001 ; 72 : 1261-1267.
26. Glotz D, Antoine C, Haymann JP, Julia P, Duboust A, Bariety J. Intravenous immunoglobulins and kidney transplantation in patients with anti-HLA antibodies. *Adv Nephrol Necker Hosp* 2000 ; 30 : 221-233
27. Montgomery RA, Zachary AA, Racusen LC, Leffell MS, King KE, Burdick J, Maley WR, Ratner LE. Plasmapheresis and intravenous immune globulin provides effective rescue therapy for refractory humoral rejection and allows kidneys to be successfully transplanted into cross-match-positive recipients. *Transplantation* 2000 ; 70 : 887-895
28. Becker YT, Becker BN, Pirsch JD, Sollinger HW. Rituximab as treatment for refractory kidney transplant rejection. *Am J Transplant* 2004 ; 4 : 996-1001.
29. Kaplan B, Gangemi A, Thielke J, Oberholzer J, Sankary H, Benedetti E. Successful rescue of refractory, severe antibody mediated rejection with splenectomy. *Transplantation* 2007 ; 83 : 99-100.
30. Colvin RB, Smith RN. Antibody-mediated organ-allograft rejection. *Nat Rev Immunol* 2005 ; 5 : 807-817.
31. Colvin RB. Antibody-mediated renal allograft rejection : diagnosis and pathogenesis. *J Am Soc Nephrol* 2007 ; 18 : 1046-1056.
32. Schwarz C, Regele H, Huttary N, Wahrmann M, Exner M, Nagy-Bojarsky K, Kletzmayer J, Horl WH, Bohmig GA. Rescue therapy with tacrolimus and mycophenolate mofetil does not prevent deterioration of graft function in C4d-positive chronic allograft nephropathy. *Wien Klin Wochenschr* 2006 ; 118 : 397-404.