

腎移植における組織適合性の検討

西野主真*, 増山淳子*, 多葉田祥代*, 井上恭一*, 藤巻雅夫*
 森田 猛**, 川田やす子**, 泉野 潔**, 飯田博行**, 片山 喬**
 富山医科薬科大学附属病院輸血部*・透析部**

はじめに

1964年より Terasaki¹⁾が、主要組織適合抗原²⁾ (major histocompatibility complex : MHC) の適合度をドナーの選択に応用して以来、腎移植をはじめとする各種の臓器移植において HLA 検査は必須項目と考えられ、最近では移植臓器の生着と、HLA の関連性についてより詳細な検討がなされている。本学においても1986年より15例の腎移植が行われ、その一部の症例の HLA 検査に、著者らも携わって来た。今回は、本学で行われた腎移植症例のドナー及びレシピエントの HLA 抗原について検討し、HLA 抗原の適合性と移植腎の生着率との関連性を検討したので報告する。

対象および方法

対象は本学で腎移植を施行された12例（生体腎7例、死体腎5例）のドナー及びレシピエントで、HLA 抗原の検索は、Terasaki⁸⁾による microtoxicity test によって行った。

1. 末梢リンパ球の採取及び調整方法^{3), 4)}

末梢リンパ球の採取は30mlのヘパリン加末梢血より Ficoll-Conray 比重遠心法により行い、クラス I で 1 μ l 4,000個、クラス II では、1 μ l 10,000個のリンパ球となる様細胞調整した。

2. HLA タイピング

抗血清：表 1⁵⁾ に示すごとく A 座20種、B 座38種、C 座 8 種、DR 座12種の抗血清を用いた。

マイクロプレートの作成^{3), 6)}：上記の抗血清を60穴のテラサキトレーに各々 1 μ l ずつ分注して -80°C で冷凍保存した。

microtoxicity test：さきに調整したリンパ球浮遊液 1 μ l を各穴に分注し、クラス I は、室温で

30分間、クラス II は、37°C 60分間インキュベーションの後、ウサギ補体 5 μ l を加え、クラス I で60分、クラス II で120分室温で、反応させ、propidium-iodide (PI) 染色^{7), 8), 9)} を行い、蛍光量を Leitz MPV-MTI を用いて測定し最終判定とした。

3. 測定結果の判定³⁾

各穴全体を観察して、死細胞の割合を5段階に判定し、以下のごとくスコアづけを行った。

- スコアー 8：死細胞の割合 70~100%
- スコアー 6：死細胞の割合 40~ 70%
- スコアー 4：死細胞の割合 20~ 40%
- スコアー 2：死細胞の割合 10~ 20%

表 1 現在公認されている HLA 抗原

A	B	C	DR
A1	B5	B49(21)	Cw1 DR1
A2	B7	Bw50(21)	Cw2 DR2
A3	B8	B51(5)	Cw3 DR3
A9	B12	Bw52(5)	Cw4 DR4
A10	B13	Bw53	Cw5 DR5
A11	B14	Bw54(w22)	Cw6 DRw6
Aw19	B15	Bw55(w22)	Cw7 DR7
A23(9)	B16	Bw56(w22)	Cw8 DRw8
A24(9)	B17	Bw57(17)	DRw9
A25(10)	B18	Bw58(17)	DRw10
A26(10)	B21	Bw59	DRw11(5)
A28	Bw22	Bw60(40)	DRw12(5)
A29(w19)	B27	Bw61(40)	DRw13(w6)
A30(w19)	B35	Bw62(15)	DRw14(w6)
A31(w19)	B37	Bw63(15)	DRw52
A32(w19)	B38(16)	Bw64(14)	DRw53
Aw33(w19)	B39(16)	Bw65(14)	
Aw34(10)	B40	Bw67	
Aw36	Bw41	Bw70	
Aw43	Bw42	Bw71(w70)	
Aw66(10)	B44(12)	Bw72(w70)	
Aw68(28)	B45(12)	Bw73	
Aw69(28)	Bw46		
	Bw47	Bw4	
	Bw48	Bw6	

(注) ある抗原がいくつかの subtype に分かれた場合、その subtype の属する抗原特異性を () 内に示した。

スコアー1：死細胞の割合 0～10%

蛍光色素である PI は、DNA の結合する性質を有し、死細胞膜の細胞膜を通過するが、生細胞膜は通過しないことを利用して、染色され死細胞はオレンジ色に染色され、尖光を放って観察される。

結果

本学で行われた7例の生体腎移植成績と5例の死体腎移植成績と各症例の HLA 抗原は表2に示すごとくである。○印は適合抗原、□印は交差反応性抗原¹⁰⁾である。生体腎移植は、全て親子間の移植であり、その HLA 抗原は、ハプロタイプ¹⁰⁾の遺伝であるため半分は同一の HLA 抗原を有する。死体腎移植においては、親子間の遺伝系でなく、各 HLA の一致するものが選ばれている。死体腎例の症例3においては、1年6ヶ月後に、graft lossがあったが、

表2 生体腎および死体腎移植例における HLA 抗原

Case No.		Class I			Class II		拒絶反応				
		A	B	C	DR	急性	慢性				
1	Donor	②	⑨	⑫	⑥①	5	6	2回	-		
	Recipient	②	⑨	⑫	⑥①						
2	Donor		⑫	⑬				3回	+		
	Recipient		⑫	⑬							
3	Donor	2	②④	④④	④⑥	⑧	⑬	-	-		
	Recipient	②④	31	④④	39	⑧	⑬				
4	Donor	⑨		⑤	12		2	2回	-		
	Recipient	⑨		15	⑤⑤	3	4				
5	Donor	②	②④	⑥①	59	1	⑨	4	⑬	1回	+
	Recipient	②	②④	⑥①	46		⑨	8	⑬		
6	Donor	24	②⑥	④	6	①	7	④		2回	-
	Recipient	②⑥	34	④④		①		④			
7	Donor	②⑥		⑥②		⑨		②		2回	-
	Recipient	②⑥		35	⑥②	⑧		②	8		

腎移植例の HLA (死体腎)

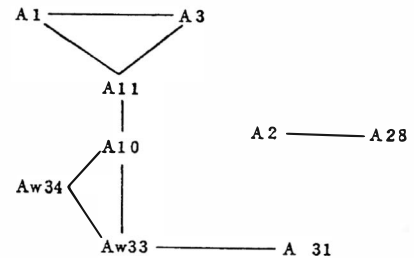
Case No.		Class I			Class II		拒絶反応				
		A	B	C	DR	急性	慢性				
1	Donor	⑪	③③	12	⑤④	①		④	6	-	-
	Recipient	⑪	③③	⑤④		①		④			
2	Donor	24	③③	④④				⑥		-	-
	Recipient	③③		④④				⑥			
3*	Donor	⑪	②④	54	67	1	7	②	④	2回	+
	Recipient	⑪	②④	52				②	④		
4	Donor	②⑥		④④	59	1		2	⑧	-	-
	Recipient	②⑥		④④	61	3		4	⑥		
5	Donor	⑪	33	④④				3		-	+
	Recipient	③	9	5	⑫			2			

*: 1年6ヶ月後 graft loss.

○: 適合抗原 □: 交差反応性抗原

本例では、B座に一致する抗原が見い出せなかった。また、図1¹⁰⁾は、A座及びB座の交差反応性抗原であるが、表2の□印で表した生体腎症例4のB座

Cross reaction with A antigens



Cross reaction with B antigens

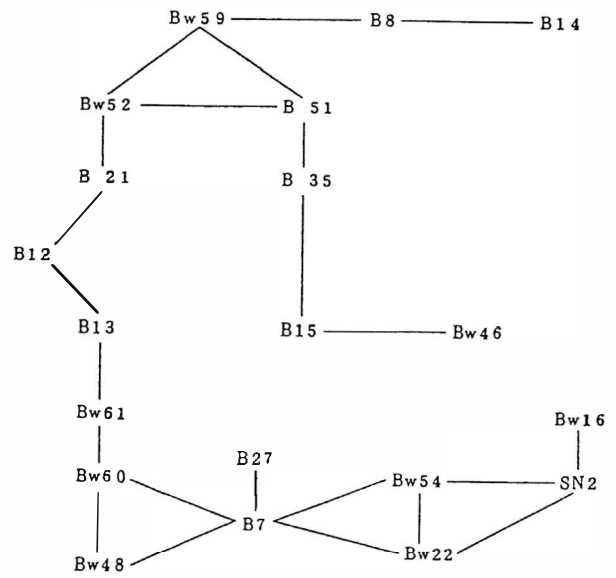


図1 A座およびB座の交差反応性抗原

(B5とB35)、症例6のB座(Bw4とB44)、死体腎の症例5のA座(A3とA11)は、同一抗原と認識される。これらの交差反応性抗原を含めた、抗原一致率をA、B、C、DR各座2個計8個の抗原について検討すると、死体腎移植例において抗原一致率がより高率であった。しかし、レシピエントのみの抗原検索については、ホモタイプ、ヘテロタイプの区別が困難であることもあり、かかる際には、両親及び同胞の HLA 抗原検索が必要で、今回の生体腎症例、症例6及び症例7はこのような方法で抗原決定を行った。

考察

HLA 抗原は、第6染色体短腕部に存在する MHC 領域によりコード化された遺伝子群の支配を受け存

在している。この領域は、ほとんどの真核細胞表面上に表現されている MHC クラス I 抗原, HLA-A, B, C を支配する領域と, B 細胞, マクロファージなどの限定された細胞にのみ表現される細胞特異的な MHC クラス II 抗原, HLA-DP, DQ, DR を支配する HLA-D 領域及び, 補体成分 C₂, C₄ のクラス III 抗原を支配する遺伝子領域から構成されている。

日本人における HLA 抗原系の遺伝子頻度¹¹⁾では, A 座では A2 が 23.2%, A11 が 9.6%, A24 が 36.5% で, これら三者により A 座全体の 69.3% を占めている。B 座においては, B35, B44, B51, Bw52, Bw54, Bw61, Bw62 の 7 抗原で全体の 65.1%, C 座では, Cw1, Cw3, Cw7 で全体の 51.5% を占めている。DR 座についても, DR2, DR4, DR8, DR9 の 4 抗原で全体の 70.8% を占めている。

図 2 は, HLA 抗原の遺伝形式のモデルであるが, HLA 抗原は, 減数分裂によって, 親から子供へ, 半数体を単位にハプロタイプで遺伝していく。図 2 に示す HLA 抗原モデルでは, 患者と同胞 1 が完全一致し, かかる組合せによる臓器移植の成功率が高いものと考えられる。しかし, 近年家族構成の核家族化により, 同胞の数は通常 2 人であり, 同胞間で HLA が, 一致することは少ない。本学においても,

同胞間の腎移植はなく, 全て親子間の移植であるため, ハプロタイプのみ合致した型の移植が行われた。死体腎移植では, HLA が完全に一致した適合移植が行われる可能性はあるが, 本学においては, かかる完全一致例はなく, 表 2 の死体腎移植例の中では, 症例 1 と症例 2 とが, 比較的高い一致率と考えられた。

HLA 抗原の A 座と B 座の適合性と生着率との関連について, 柏木ら^{12), 13)}は, 10 年後の生着率を見ると, ミスマッチ 0 以下では, 75% 以上の生着率であるのに対し, ミスマッチ 1 以上では, 50% 以下と低下する。完全不一致では, 1 年後での生着率は, 0% であると報告している。クラス II 抗原の DR についても同様で, ミスマッチ 0 では, 60% の生着率を示しているのに対して, ミスマッチ 1 以上では, 50% 以下であるとしている。今回本学の移植例の検討では, 拒絶反応において, 生体腎例と死体腎例に大きな差がみられた。すなわち生体腎例で 7 例中 6 例 (85.7%) が急性拒絶反応を示したのに対し, 死体腎例では, 5 例中 1 例 (20%) が拒絶反応を示したにすぎず, HLA の合致率と拒絶反応の発現頻度の間に相関があると考えられた。慢性拒絶反応については, 移植後の年数が短期間であるため, 急性と慢性の鑑別が困難で, 今後数年間の経過観察が必要と考えられる。

Terasaki らの死体腎移植の報告^{14)~18)}によると, クラス I, クラス II とともに, ミスマッチ 0 が最良であるが, ミスマッチ腎移植における HLA の重要性の順位として, 第 1 に, HLA-DR 抗原, 第 2 に HLA-B 抗原の適合性が, 挙げられ, 20 年後の生着率について, ノンミスマッチの死体腎移植例が, 生体親子間の移植例より生着率は高いと述べている。今回の死体腎移植症例 3 においては, B 座に適合抗原が存在せず, 1 年 6 ヶ月後に graft loss となり, 腎移植における B 座の抗原一致の重要性が確認された。この他にも, ドナー及びレシピエント間のリンパ球混合培養あるいは, クロスマッチ, パネルセル細胞に対するスクリーニングテスト, ドナーに対するリンパ球交差試験等の, 種々の検査法を組み合わせ

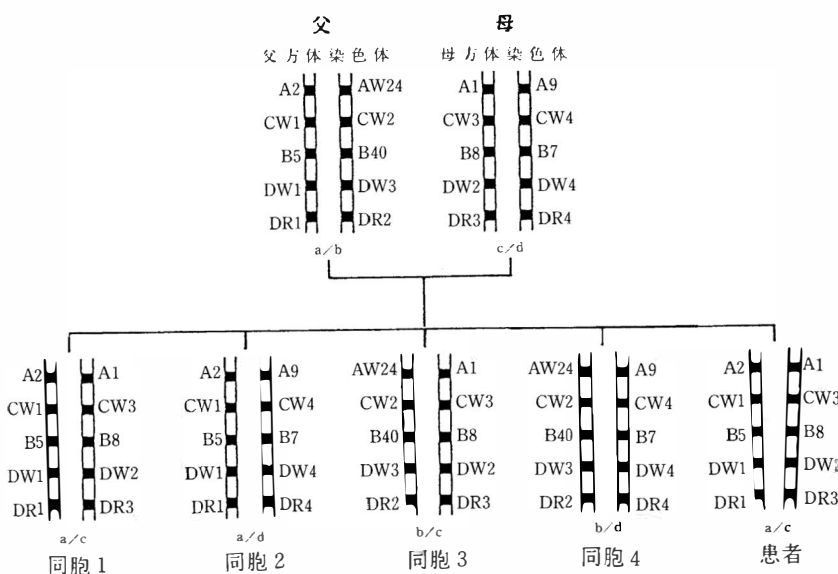


図 2 HLA 抗原半数体の遺伝様式 (5 人の同胞のある家族での理論的分配を示す)

た総合的な方法により、適合度の高いドナー、レシピエントの組合せを選択することが重要と考えられた。

結 論

本学における腎移植例を対象にドナー、レシピエントの HLA を検索し、生着率との関連性を検討し、以下の結果を得た。

1. 拒絶反応の回数は生体腎例で多く見られその原因として生体腎における HLA ミスマッチが考えられた。
2. graft loss となった死体腎移植症例では、B locus の不一致がみられ、腎移植における B locus の重要性が示唆された。

文 献

- 1) Terasaki P. I. and McClelland J. D. : Microdroplet assay of human serum cytotoxins. *Nature* **204** : 998-1000, 1964.
- 2) 辻公美 : ヒト主要組織適合抗原系 human major histocompatibility complex. *最新医学* **177** : 1239, 1977.
- 3) ヘキスト診断薬講習会 : ヒト主要組織適合抗原検査法. ヘキストジャパン(株)編 : 36-51, 1980.
- 4) 関口進, 高田肇 : リンパ球機能検査法 7 HLA 抗原細胞免疫機能検査のすべて. *月刊 Medical Technology* **13** : 215-224, 1985.
- 5) 第 9 回日本 HLA ワークショップ共同報告書 : 1985.
- 6) 大森耕一郎, 柏原英彦 : HLA-A, B, C, DR タイピング. *臨床免疫* **14** : 112-118, 1982.
- 7) 小寺良尚 : 蛍光色素を用いたリンパ球幼若化反応ならびにリンパ球による標的細胞障害反応の迅速測定法. *移植* **21** : 54-59, 1986.
- 8) 福西孝信, 橋本光男 : HLA タイピングへの応用. *臨床免疫* **20** : 835-841, 1988.
- 9) 門脇修一郎, 狩野光子 : Propidide (PI) 蛍光測定によりリンパ球 mitogen 反応の assay. *臨床免疫* **30** : 854-860, 1988.
- 10) 佐治博夫 : 輸血と HLA. *HLA ハンドブック* (辻公美編) : 189-190, 1987.
- 11) 徳永勝士, 十字猛 : 日本人の HLA 分布. *日本臨床* (春増刊) **42** : 335-344, 1984.
- 12) 柏木 登 : 移植における HLA の役割. *HLA ハンドブック* (辻公美編) : 261-269, 1987.
- 13) 大谷文雄, 柏木登 : 臓器移植における HLA の意義. *実験医学* **4** : 415-422, 1986.
- 14) 高原史朗, 園田孝夫 : 腎移植 1 成人. *HLA ハンドブック* (辻公美編) : 287-298, 1987.
- 15) 長谷川昭 : 腎移植 2 小児腎移植における HLA-A, B, DR 適合性の効果. *HLA ハンドブック* (辻公美) : 299-310, 1987.
- 16) 第 1 回ベリタス HLA 講演会 : 1986.
- 17) 第 2 回ベリタス HLA 講演会 : 1988.
- 18) ベリタス社編 : ペリフリーズ社コンプリメントニュース **5** (1) : 11-15, 1985.