

# 市川総合病院泌尿器科

## プロフィール

### 1. 教室員と主研究テーマ

教授	中川 健	長期生存、生着を目指した腎移植免疫抑制プロトコールの開発
講師	香野 日高	新規間質線維化抑制剤を用いた腎虚血再還流障害に対する効果と移植腎長期生着への応用
助教	萩生田 純	新規精子無力症原因遺伝子のスクリーニングとその治療
助教	環 聡	トロンボモジュリン添加灌流液による移植腎の限界冷阻血時間延長への試み
助教	梶田 司	淡明型腎細胞癌における三次リンパ様構造の特異性：予後解析および膀胱癌との比較検討

### 2. 成果の概要

#### 1) 長期生存、生着を目指した腎移植免疫抑制プロトコールの開発

免疫抑制剤の進歩により腎移植の短期成績は格段に向上したが、早期でのウィルス感染症、ステロイド関連合併症（白内障、大腿骨頭壊死 etc.）や長期での慢性抗体型拒絶による生着の問題やステロイド投与や動脈硬化、悪性腫瘍による死亡率の問題は未だ改善の余地を残す。新しい免疫抑制剤として mTOR 阻害剤の仕様が可能となり、これと従来からの免疫抑制剤の組み合わせを検討することによりステロイドを中止した上で長期成績のさらなる改善を目指した免疫抑制プロトコールの確立を進めている。従来にない CNI, MMF, mTOR 阻害薬の組み合わせで、ステロイドを早期に中止したプロトコールにより良好な短期成績が得られつつある。93%という従来にないステロイド離脱を達成しており、再開症例もなく経過している。また、CMV 感染症の軽減効果も認められている。今後、症例の蓄積と長期フォローを行うことで、慢性抗体型拒絶の改善、動脈硬化の軽減効果も大いに期待される所であり、長期の生着、生存に大きく貢献できるものと考えている。

（ 第 58 回日本移植学会総会、 第 56 回日本臨床腎移植学会 ）

#### 2) 新規間質線維化抑制剤を用いた腎虚血再還流障害に対する効果と移植腎長期生着への応用

Conophylline はタイ原産の熱帯植物 *Ervatamia microphylla* の葉から単離された薬剤であり、これの投与により糖尿病モデルラットの膵島の線維化抑制効果(Saito et al. *Endocrinology* 2012)や、肝硬変モデルラットでの肝線維化抑制効果 (Kubo et al. *Liver Int.* 2013) が報告されている。

今まで腎臓において Conophylline を投与した報告はなく、腎虚血再還流(IRI)モデルにおける腎間質線維化抑制効果につき検討する予定である。さらに膵島に対する Conophylline 投与の実験系においてはマクロファージの浸潤も減少させていることが報告されている。腎 IRI 後は炎症性サイトカインが放出され、マクロファージの遊走がおこり炎症が惹起されていることはわれわれが報告済み(Kono et al. *Transplantation*. 2013)であり、腎臓においても同様に Conophylline がマクロファージの浸潤を減少させているのであれば、IRI 時の腎機能障害、免疫の賦活化を軽減でき、移植腎の長期生着につながる可能性はあるものと考えている。腎虚血再還流後の 7 日目の腎組織は Masson-Trichrome 染色にて間質の著明な線維化を認めた。今後画像解析ソフトウェア ImageJ にて Masson-Trichrome 染色にて青く染まる領域を計算し、さらに Sircol collagen assay kit を用いて腎臓組織中の可溶性コラーゲンの定量を行い、これらが Conophylline 投与群と有意差があるか比較検討していく予定である。

（ 第 58 回日本移植学会総会、第 56 回日本臨床腎移植学会総会 ）

#### 3) 新規精子無力症原因遺伝子のスクリーニングとその治療

男性不妊症の原因の半数は特発性である。不妊症患者の 80%は精子無力症を伴っているとの報告があるがヒトで同定されている原因遺伝子は約 20 種類と少ない。

われわれは新規精子無力症原因遺伝子 *GALNTL5* の遺伝子変異が原因で精子無力症を呈したと考えられる 1 例の同定に成功した。*Galnt15* のヘテロ欠損雄マウスの実験では精子形成に関与する遺伝子であることが分かっているが機能の詳細は現在も解明中である。(Takasaki et al., *PNAS* 2014) さらに精子幹細胞のみに遺伝子変異を認めると考えられた 1 例の同定にも成功した。ヘテロ欠損を認めた 1 例に関して、Swim-up 法を用いて運動精子のみを選別し、運動精子中に変異を認めないことを証明した。変異を認めない精子を用いて ICSI を行い妊娠、出産に成功した (Hagiuda et al., *Hum Fertil* 2019)。今後さらなる患者のスクリーニングと新規のマーカータンパクを検索する予定である。

#### 4) トロンボモジュリンアルファによる長時間冷保存下における腎障害の軽減戦略

【背景】トロンボモジュリン (TM) は正常な血管内皮細胞に広く存在し、生理活性としてトロンビンと結合することで過凝固を抑制するだけでなく、抗炎症作用も有するため臓器保護作用が注目されている。近年、様々な動物実験で遺伝子組み換えトロンボモジュリンアルファ (rTM) が虚血再灌流障害を軽減させると報告されている。【目的】今回、灌流液に rTM を加えることで、長時間冷虚血による腎障害が軽減されるかを調査した。【方法】ドナー・レシピエントともに Lewis 種のラットを用いた。ドナー腎に灌流する UW 液に、rTM を加えた群 (A 群 (n=7)) と、rTM を加えない群 (B 群 (n=8)) に分けた。移植腎グラフトは灌流後に 24 時間冷所に保存してから腎移植を施行した。血液と尿は POD1,2,7 で採取してクレアチニンを計測し、急性腎障害マーカー NGAL も測定した。急性期の尿細管障害を評価するために移植後 2 時間で腎グラフトを摘出した。TUNEL 法で蛍光免疫も行い、TM の免疫染色も行った。

【結果】24 時間の冷虚血後の腎グラフとでは、TM の発現は大幅に減少していた。クレアチニンクリアランスでは、A 群は B 群と比べて有意に改善されていた (A 群 v s B 群 :  $0.68 \pm 0.09$  vs  $0.23 \pm 0.09$  (POD 1);  $1.22 \pm 0.40$  vs  $0.59 \pm 0.30$  (POD 2);  $2.63 \pm 1.42$  vs  $1.17 \pm 0.69$  (POD 7);  $p=0.02$ )。さらに NGAL では、A 群は B 群に比べて有意に低値であった (A 群 v s B 群 :  $6.5 \pm 1.7$  vs  $9.1 \pm 1.1$  (POD 1);  $4.3 \pm 1.1$  vs  $8.9 \pm 0.8$  (POD 2);  $p=0.02$ )。移植後 2 時間で摘出された移植腎グラフトの病理結果では、アポトーシス陽性細胞は rTM 添加群で有意に減少し、尿細管障害の指標である CAST も rTM 添加群で有意に減少していた。POD7 の移植腎病理では rTM 添加群で尿細管細胞の損傷と間質線維化が有意に少なかった。【結論】rTM を加えた灌流液は、尿細管細胞のアポトーシスを抑制することで長時間冷虚血後の腎グラフト障害を軽減させた。

#### 5) 淡明型腎細胞癌における三次リンパ様構造の特異性：予後解析および膀胱癌との比較検討

最近の研究では、B 細胞は宿主間質の微小環境下で三次リンパ様構造 (tertiary lymphoid structure : TLS) と呼ばれるリンパ系集合体を形成することが明らかになっている。特に悪性腫瘍では、成熟した TLS が抗腫瘍反応を誘導し、腫瘍の細胞性免疫を制御する抗原提示細胞として機能することが知られる。悪性腫瘍における TLS の存在は、ほとんどの疾患で予後良好に関係しているが、がんの種類によっては予後不良と関係しているものもある。本研究は、(1) ヒト淡明型腎細胞癌 (ccRCC) の予後および免疫原性プロファイルに及ぼす TLS の影響を明らかにすること、(2) 異なるタイプの泌尿器癌、すなわち ccRCC と膀胱癌の TLS の表現型の差異を明らかにすることを目的とした。まず ccRCC 組織 (n=105) を用いて tissue micro array を作成し、定量的免疫組織学的解析を行った。今回、CD20+B 細胞がクラスター化し、さらにその周囲を CD3+T 細胞が囲んでいるものを TLS と定義し、予後との関連を検討した。その結果、TLS の存在は予後不良と関連していることが明らかになった。さらに、ヒト膀胱癌組織 (n=51) についても、同様の解析を行ったところ、膀胱癌における TLS の存在は、良好な予後と関係していることが示され、腎癌とは正反対の結果となった。また、TLS の成熟度と空間分布は、両癌種で著しく異なっており、膀胱癌では、TLS は濾胞様胚中心組織でより成熟し、腫瘍内部に観察される可能性が高いことが判明した。本研究は、ccRCC における TLS の存在が、その他多くの癌腫とは違って、予後不良と有意に関連していることを示し、さらに ccRCC と膀胱癌の TLS の特徴を比較することで、両がん間の予後への影響、TLS の成熟度と空間分布、TLS を取り巻く免疫環境の相違を明らかにした。

Journal for ImmunoTherapy of Cancer 2022;10:e003883.

### 3. 学外共同研究

担当者	研究課題	学外研究施設		
		研究施設	所在地	責任者
中川 健	長期生存、生着を目指した腎移植免疫抑制プロトコールの開発	慶應義塾大学医学部	東京都新宿区信濃町35	大家 基嗣
萩生田 純 石川 博通	男性生殖機能障害の原因解明プロジェクト	産業技術総合研究所 糖鎖医工学センター	茨城県つくば市梅園 1-1-1	成松 久

### 4. 科学研究費補助金・各種補助金

研究代表者	研究課題	研究費 科研費の場合は種別も記載
江川 裕 人、佐藤 滋、湯沢賢 治、大段秀 樹、中川 健、小野 稔、布田伸 一、手良向 聡	遺伝子関連情報を基軸にした効率的免疫抑制管理による 革新的長期管理ロジック開発	日本医療研究開発機構 (AMED)

5. 研究活動の特記すべき事項

シンポジウム

シンポジスト	年月日	演題	学会名	開催地
中川 健	2022. 10 . 15.	Rituximab を中心とした全臓器 への交代治療戦略.	第 58 回日本移植学会 総会	愛知県 名 古屋市
萩生田 純、近内悠 一郎、梶田 司、環 聡、香野日 高、中川 健	2022. 11 . 12.	単孔式ならびに細径鉗子を使用 した腹腔鏡下ドナー腎採取術の 試み.	第 36 回日本泌尿器内 視鏡・ロボティクス学 会総会	兵庫県 神 戸市