

# 東邦大学学術リポジトリ

Toho University Academic Repository

タイトル	Pathological analysis of early transplant glomerulopathy in renal allografts using low vacuum scanning electron microscopy
別タイトル	移植腎抗体関連拒絶反応に伴う早期移植糸球体症における、光顕・低真空走査電顕 (LVSEM)・透過電顕 (TEM)を用いた評価の検討
作成者 (著者)	馬場(大西), 弘夏
公開者	東邦大学
発行日	2021.03.17
掲載情報	東邦大学大学院医学研究科 博士論文 内容の要旨及び審査結果の要旨.
資料種別	学位論文
内容記述	主査：中島耕一 / タイトル：Pathological analysis of early transplant glomerulopathy in renal allografts using low vacuum scanning electron microscopy / 著者：Hiroka Onishi, Hideyo Oguchi, Kazunobu Shinoda, Tetuo Mikami, Taichi Arai, Yutaka Yamaguchi, Ken Sakai / 掲載誌：Nephron / 巻号・発行年等：144(suppl 1):71-78, 2020
著者版フラグ	none
報告番号	32661甲第992号
学位記番号	甲第680号
学位授与年月日	2021.03.17
学位授与機関	東邦大学
DOI	10.1159/000512136
その他資源識別子	<a href="https://www.karger.com/Article/FullText/512136">https://www.karger.com/Article/FullText/512136</a>
メタデータのURL	<a href="https://mylibrary.toho.u.ac.jp/webopac/TD70378240">https://mylibrary.toho.u.ac.jp/webopac/TD70378240</a>

# 博士學位論文

論文内容の要旨

および

論文審査の結果の要旨

東邦大学

馬場（大西）弘夏より学位申請のため提出した論文の要旨

学位番号甲第 680 号

学位申請者： ば ば おおにし ひろ か  
馬 場 (大西) 弘 夏

学位論文： Pathological analysis of early transplant glomerulopathy in renal allografts using low-vacuum scanning electron microscopy

(移植腎抗体関連拒絶反応に伴う早期移植糸球体症における、光顕・低真空走査電顕 (LVSEM)・透過電顕 (TEM)を用いた評価の検討)

著者： Hiroka Onishi, Hideyo Oguchi, Kazunobu Shinoda, Tetuo Mikami, Taichi Arai, Yutaka Yamaguchi, Ken Sakai

公表誌： Nephron DOI: 10.1159/000512136

論文内容の要旨：

移植糸球体症は腎移植患者において移植腎喪失の危険因子となり不可逆的な変化であると報告されている。移植糸球体症の病変は、毛細血管のリモデリングを反映しており、糸球体内皮細胞への持続的な障害が基底膜新生をきたし毛細血管係蹄壁の二重化を呈するとされる。移植糸球体症を評価する cg スコアがバンフ 1997 分類で制定された。その後、2011 年 haas らの論文で、透過電子顕微鏡で観察される早期の構造変化は急性抗体拒絶反応群でより多く認められ、これらに治療介入を行うとその後の移植糸球体症病変への移行を有意に抑制することができると示された。2013 年のバンフ分類の改訂で、移植糸球体症の評価がこれまでの cg0 から cg3 までの 4 段階評価から、新たに cg1a を追加した 5 段階評価に変更された。光学顕微鏡では糸球体基底膜の二重化がはっきりしないが、透過電子顕微鏡を用いると捉えることのできる新生基底膜病変を cg1a とし積極的に治療介入することの重要性が認識されるようになった。しかし、一部の施設では透過電子顕微鏡を使用することができないことや標本作製を含めた作業的にすべての移植腎生検において透過電子顕微鏡で観察することは非現実的であることが言及されている。低真空走査型電子顕微鏡は光学顕微鏡の観察で用いる PAM 切片を用いて迅速かつ簡便に観察することができ移植腎領域において応用が期待されている。今回我々は、低真空走査型電子顕微鏡(以下、LVSEM)を用いて腎移植患者の早期移植糸球体症を評価した。

東邦大学医療センター大森病院で2016年1月から12月までに行った移植腎生検154例のうち光学顕微鏡（以下、LM）でcg0と評価されたAABMR (acute antibody-mediated rejection) 9例9検体と2016年1月から2017年12月までに行った移植腎生検345例のうちLMでcg1b、cg2と評価されたCAABMR (chronic active antibody-mediated rejection) 8例9検体を用いて検討した。本研究でのcg1aの定義は、透過電子顕微鏡（以下、TEM）で1か所以上の係蹄で基底膜二重化病変が観察できるものとし、AABMR9検体のうち4検体をcg0、5検体をcg1aとして検討した。パラフィン切片は厚さ1 $\mu$ mにスライスした。PAM染色しLMで観察したのちにカバーガラスを外し、LVSEM（日立製作所TM-3030）を用いて観察した。すなわち、LMとLVSEMを用いて同一糸球体の基底膜を観察することができた。コントロール群としてIgA腎症2例2検体、微小変化型ネフローゼ症候群2例2検体を同様に観察した。結果として、cg1aの1検体を除くすべての検体で、LVSEMで観察したほうがTEMで観察するよりも多くの糸球体数を観察することができた。さらに、LM、TEMを用いて新生基底膜病変が確認できなかったcg0の4検体では、LVSEMを用いて観察するとすべての糸球体で基底膜二重化病変を確認することができた。つまり、これまではAABMRと評価されていた検体がLVSEMを用いてより多くの糸球体、毛細血管係蹄数を観察することでCAABMRと評価される可能性が示唆された。これらの研究結果から、AABMRのごく初期の段階で発症する基底膜二重化病変をLVSEMではより検出することができると示唆された。また、LMですでに基底膜二重化病変が観察されているcg1bおよびcg2の9検体では、LVSEMで観察したほうが二重化を認める糸球体1個あたりの二重化係蹄数の割合が高かった。TEMの観察では毛細血管係蹄数にばらつきが認められた。これはTEMで観察できる糸球体数が少ないことによるサンプリングの問題であると推測され、LVSEMを用いてより多くの糸球体を観察することでサンプリングエラーが解消される可能性がある。以上のことから、LVSEMではLM、TEMに比べて多くの糸球体、毛細血管係蹄を観察することができ、移植腎の抗体関連型拒絶反応における早期糸球体症の検出に有用である可能性が示唆された。

## 1. 学位審査の要旨および担当者

学位番号甲第 680 号	氏 名	馬 場 (大西) 弘 夏
学位審査担当者	主 査	中 島 耕 一
	副 査	常 喜 信 彦
	副 査	高 橋 啓
	副 査	赤 坂 喜 清
	副 査	船 戸 弘 正

### 学位論文の審査結果の要旨 :

本研究は、光学顕微鏡の観察で用いる PAM 切片を用いて迅速かつ簡便に観察することができる低真空走査型電子顕微鏡(以下、LVSEM)を用いて腎移植患者の早期移植糸球体症を評価しその有用性を検討したものである。移植糸球体症は腎移植患者において移植腎喪失の危険因子となり不可逆的な変化で、糸球体内皮細胞への持続的な障害が基底膜新生をきたし毛細血管係蹄壁の二重化を呈するとされる。移植糸球体症の早期発見、早期治療介入が移植腎の定着に重要である。しかしこれら急性抗体拒絶反応群でより多く認められる早期の構造変化は主に透過電子顕微鏡 (TEM) と光学顕微鏡 (LM) で観察されてきた。2013 年のバンフ分類の改訂で、光学顕微鏡では糸球体基底膜の二重化がはっきりしないが、透過電子顕微鏡を用いると捉えることのできる新生基底膜病変を cg1a とし積極的に治療介入することの重要性が認識されるようになったことが本研究の背景である。

今回申請者は、東邦大学医療センター大森病院で行った移植腎生検 154 例のうち光学顕微鏡 (以下、LM) で cg0 と評価された AABMR (acute antibody-mediated rejection) 9 例 9 検体と LM で cg1b、cg2 と評価された CAABMR (chronic active antibody-mediated rejection) 8 例 9 検体を用いて検討した。結果として、cg1a の 1 検体を除く全ての検体で、LVSEM で観察したほうが TEM で観察するよりも多くの糸球体数を観察することができ、cg0 の 4 検体では、LVSEM を用いて観察するとすべての糸球体で基底膜二重化病変を確認することができた。また cg1a の 5 検体でも同様に、LVSEM を用いるとすべての糸球体で基底膜二重化病変を観察することができた。さらに cg1b および cg2 の 9 検体では、LVSEM で観察したほうが二重化を認める糸球体 1 個あたりの二重化係蹄数の割合が高かった。これらの結果から LVSEM の観察は、AABMR のごく初期の段階で発症する基底膜二重化病変をより検出できる可能性、LM、TEM に比べて多くの糸球体、毛細血管係蹄を観察することができ、移植腎の抗体関連型拒絶反応における早期糸球体症の検出に有用である可能性が示唆された。2020 年 12 月 23 日に開催された学位審査会において、評価病変として基底膜二重化病変に着目した理由、LVSEM での検出感度、染色方法や切片の厚さの観察結果に対する影響、本観察方法の普及による診断基準改定の可能性や治療成績の改善への見通し、また LVSEM の有用性を広めてゆく工夫などの質問に対して、申請者はいずれも的確に回答した。以上より本研究は TEM では観察できない早期の糸球体病変を PAM 染色切片の LVSEM 観察で検出できることを示した意義深い研究で学位取得に値する研究内容であると審査委員全員一致で判断された。