犬同種腎移植後の急性拒絶反応に対する診断と治療に関する研究

第　2　編

メチルプレドニン大量投与の効果と移植腎組織所見の相関について

岡山大学医学部第一外科教室（指導：田中早苗教授）

田　中　浩　毅

（昭和50年11月21日受稿）

I．緒　言

第1編において[1]，ラット腎移植の場合と同じく，末梢血リンパ球のマクロファージ遊走阻止活性はrecipientの免疫状態を良く反映し，移植後の急性拒絶反応を臨床検査成績による判定に先んずること36～48時間前に陽性となってcheckが可能であり，メチルプレドニゾロン（MPSS）の大量投与で拒絶反応が抑制されるなら，臨床所見の改善に先んじて，マクロファージ遊走阻止活性も陰転することを明らかとした．本論文では，メチルプレドニンの大量投与時の移植腎組織所見を非投与時のそれと比較し，併せてメチルプレドニン投与時の副作用についても検討したので報告する．多種ある副腎皮質ホルモンの中よりメチルプレドニンの大量静注投与を選んだ理由は下記のごとくである．投与方法としては，静注法が筋注や経口投与よりも優れている．それは血中濃度が高く，血中消失が非常に早いため[2,3]拒絶反応の抑制に効果が大であり，上部消化管出血や糖尿病などの副作用の発生が低いといわれているからである．さらに，腎移植後5日目から24時間間隔で4回，メチルプレドニゾロン30mg/kgを投与すると，3回目の投与終了後24時間目に初めて組織学的に拒絶反応の改善をみたというFeduska[4]の論文より，一応3回投与を原則とした．

II．実験材料および実験方法

第1編に詳述したので要点を中心に述べる．

1，犬：体重10～30kgの雑種成犬71頭を次の2群に分つ．第1群：腎移植後未処置群．第2群：イムラン3mg/kg/日を毎日投与し，メチルプレドニゾロンは20mg/kg/日を急性拒絶反応と判定してから3日間連続静注した．

2．腎移植：出来るだけ大きさの近似した2頭を任意に1対とし，一側の腎を相互間で交換移植し，他側は剔出し，組織検査の対照材料として使用した．

3．移植腎の生検：臨床所見である尿量減少，血清クレアチニン，血清尿素窒素の上昇などより，拒絶反応と診断を下すと，直ちに開腹して腎生検を行い，メチルプレドニゾロン3回目静注後24時間して再び生検を行い，さらに死亡時に腎を摘出し，拒絶反応の程度を観察した．

4．移植腎における拒絶反応の組織学的診断：Calne[5]の基準による．移植時剔出した対側の腎，およびバイオプシーでえた移植腎組織よりそれぞれ標本を作製し，ヘマトキシリン・エオジン染色後，光顕により，拒絶反応を次の3段階に分つ．プラス1（＋）：細胞浸潤少数．プラス2（＋＋）：細胞浸潤中等度．血管変性中等度．健全な皮質組織が50％以上残っている．プラス3（＋＋＋）：細胞浸潤高度．血管の変性高度．健全な皮質組織50％以下．

III．実験結果

1．未処置群：平均生存日数は8.8±2.4日で急性拒絶反応は平均4.5±0.9日であった．この時，血清クレアチニンは6.3±3.1mg/dl，血清尿素窒素は82.8±37.6mg/dlであった（図1）．

移植後拒絶反応の過程を組織学的に観察すると，

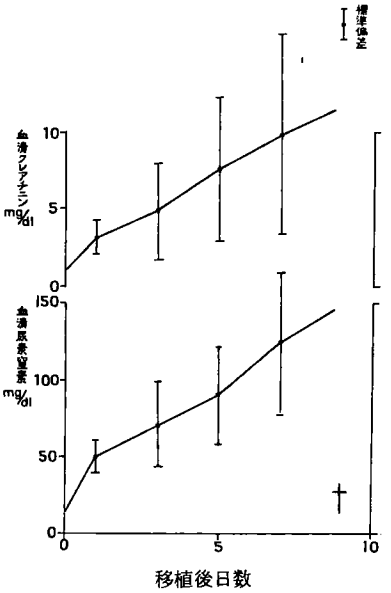


図1　未処置群

2～3日で糸球体は細胞浸潤にみまわれ（+），4日頃には小葉間動脈の狭少が起こり，糸球体数は減少し虫くい像が多くなる（++）．約1週間後には腎皮質は枯木様となる（+++）．解剖時の組織所見は健全な組織（**写真1**）と比較して，円形細胞浸潤と尿細管および血管の壊死，血管内血栓，多数の出血性栓塞が認められる（**写真2**）．

2．免疫抑制剤投与群：平均生存日数は17.5±2.6日で急性拒絶反応は平均6.3±1.1日であった．急性拒絶反応に対して MPSS を20mg/kg/日を3日間投与すると，血清クレアチニンは3.4±0.7mg/dlから2.4±0.7mg/dlと回復し，血清尿素窒素は68.6±23.5mg/dlから49.2±18.8mg/dlと低下し尿量も著しく増加した（**図2**）．

MPSS投与前後に開腹生検を行ない，充分に経過観察しえた6例について検討する（**表1**）．顕著な

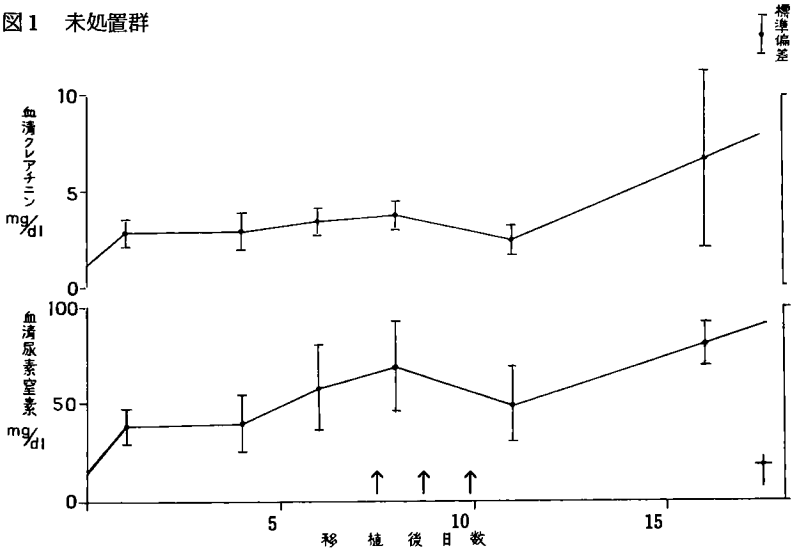


図2　MPSS 投与群（↑＝MPSS　20mg/kg 静注）

表1．MPSS投与前後の拒絶反応の変化

群	犬番号	MPSS 投与前			MPSS 投与後		
		拒絶反応の程度	血清クレアチニン (mg/dl)	血清尿素窒素 (mg/dl)	拒絶反応の程度	血清クレアチニン (mg/dl)	血清尿素窒素 (mg/dl)
a	062	+++	5.7	79.7	++	3.6	37.5
	044	+++	4.2	51.5	++	2.9	39.0
	059	+++	4.1	58.2	++	1.8	43.5
	061	+++	3.0	67.5	++	2.0	31.0
平　均			4.3	63.7		2.6	37.8
b	063	++	4.8	65.0	+～++	2.0	28.5
	045	++	2.7	62.8	+～++	2.3	39.0
平　均			3.8	63.9		2.2	33.8

効果があったa群は6例中4例で，効果の少ないb群は2例であった．a群において投与前の組織所見は糸球体および血管周囲の著明な円形細胞浸潤が認められ，糸球体，尿細管の変性は中等度であった（卅）（**写真3**）．披与後は糸球体，尿細管の変性は進行しているものの，間質の円形細胞浸潤は著明に改善された（卄）（**写真4**）．組織の改善と同時に臨床検査成績も改善され，血清クレアチニンは4.3mg/dlから2.6mg/dl，血清尿素窒素は63.7mg/dlから37.8mg/dlと低下している．

一方，b群においては投与前に円形細胞浸潤を中等度に認めた（卄）（**写真5**）．投与後にはわずかに減少したか不変の状態である（＋）～（卄）（**写真6**）．しかし，臨床検査成績ではa群と同様によく改善され，血清クレアチニンは3.8mg/dlから2.2mg/dl，血清尿素窒素は63.9mg/dlから33.8mg/dlと低下している．

尿毒症で死亡した時の組織所見は未処置群より円形細胞浸潤は少なく，むしろ，小葉間動脈内腔に血栓形成，内腔の閉塞を認め，膠原線維の増強を認め，内皮細胞の腫大，血管壁全層の浮腫状膨化を認める（**写真7**）．

MPSS投与の副作用として死因にはならなかったが，上部消化管出血が14例中2例（14％）にみられた．死因はほとんど尿毒症であるが肺炎に罹患した4例の内3例（21％）が肺炎のため死亡した（**表2**）．

表2．MPS投与群における合併症

犬番号	生存日数	合　併　症	死因
041	29	(－)	尿毒症
014	22	(－)	〃
045	22	肺　炎	肺　炎
019	20	(－)	尿毒症
042	19	肺　炎	肺　炎
013	17	(－)	尿毒症
034	17	(－)	〃
039	17	上部消化管出血	〃
007	15	〃	〃
040	15	肺　炎	〃
044	15	〃	肺　炎
059	15	(－)	尿毒症
062	13	(－)	〃
061	12	(－)	〃

Ⅳ．考　　案

移植腎の急性拒絶反応の治療は，ステロイド剤の大量静注，経口ステロイド剤の増量，イムランの増量，X線局所照射，抗リンパ球グロブリン，アクチノマイシンCの使用などが施行されている．本実験において，急性拒絶反応に対してMPSS 20mg/kg/日を3日間連続静注すると，血清クレアチニンは3.4±0.7mg/dlから2.4±0.7mg/dlと低下し，尿量も著しく増加した．

最近，急性拒絶反応にたいしてステロイド剤の大量点滴静注法に注目するものが多く，Goodwin[6]，Starzl[7]，Hume[8]らは腎移植患者で免疫抑制剤としてnitrogen mustardやcyclophosphamideを投与したにもかかわらず，強い拒絶反応がおこり大量のプレドニゾロンの投与によりこれを抑えきったと報告している．Bell[9]らは1gのプレドニゾロンを5％デキストローズ200mlに入れて，2時間以上かけて点滴静注することにより，副作用なしで18例の内15例（86％）に治療に成功している．ただし，腎腫脹や抵抗のある場合は，150 radの局所照射を追加している．KountzとCohn[10]も61例の生体腎移植症例で，移植直後より直接腎動脈内へカテーテルを挿入し，1g～2gのメチルプレドニゾロン，アクチノマイシンD，ヘパリンの混合物を1000mlの生食に溶かして注入している．その結果，術後3ケ月間の患者生存率は97％で，移植腎生着率は93％であったと報告し，Wood[2]らも1970年2月1日から1971年9月15日までに27例の生体腎移植と16例の屍体腎移植を施行し，全例にプレドニンを術前夜に500mg，術中1000mg，術後2日間1000mg，その後，500mg，250mg，125mgと漸減し拒絶反応がない時は退院するまで125mgを投与している．拒絶反応の時は生体腎移植には1～2gを投与し，まれに3～5日以上必要であった．屍体移植では1～2gを1～3週間投与した．その結果，患者生存率は72％で移植腎生着率は58％であった．

こういった報告を背景として，最近プレドニンの常用使用法はNajarian[11]の方法による施設が多い．予防としてメチルプレドニゾロン20mg/kgを手術当日の夕方，第1日目，第2日目に投与している．急性拒絶反応に対してメチルプレドニゾロン20mg/kgを5％デキストローズ200mlの中に入れ，3日間静注

している．われわれも，この Najarian[11] や Feduska[4] の方法を犬に応用したわけであるが，一応満足すべき結果であると考える．

プレドニンの大量静注により拒絶反応を抑える機構については種々いわれているが，Webel[12] によると拒絶反応に関与する移植免疫成立の抗原認識の段階が，プレドニンの大量投与により抑制される．Feduska[4] は犬の拒絶反応時にメチルプレドニゾロンの大量投与により，血管撮影の所見に改善は認められないが，移植腎への細胞浸潤の抑制，ピロニン嗜好性細胞の減少を認めることから，免疫のefferent are の阻害を考えている．

本実験において，急性拒絶反応に対して MPSS を大量静注すると，移植腎の組織所見は Calne[5] の基準によればプラス 3 (卅) からプラス 2 (廿)，またはプラス 2 (廿)からプラス 1 (+) ～2 (廿) とよく改善された．腎移植後の組織所見について Lindquist[13] は同系ラットを用いて観察している．免疫抑制剤を使用しない時，移植後 3 ～ 5 日で糸球体は高度の細胞浸潤にみまわれ，5 日目には糸球体毛細管に多核白血球が出現し，糸球体基底膜から内皮細胞質が遊離してくる．7 日目には糸球体には細胞浸潤が減少し，毛細管の中にフィブリンが多数集合してくる．われわれは雑種犬を用いたため，組織適合性が異なり拒絶反応に程度の差があることが想像される．これについて常光[14] は MLC における blast-formation の割合が18％以上の時，移植後 7 日目の移植腎の拒絶反応の程度は，Calne[5] の基準によりプラス 3 (卅) で，15％以下の時はプラス 1 (+) であったと述べている．一方，免疫抑制剤を使用した時，拒絶反応の程度は移植後の日数に関係ないものと考える．免疫抑制剤投与中に拒絶反応が出現した時，軽度の場合は間質の浮腫，局所的な単核細胞の浸潤と尿細管の萎縮が認められる．糸球体は減少し不正円形や虫くい像が著明となる．強度の場合は著明な細胞浸潤と線維化がみられ，糸球体は全体に減少し円形の糸球体はほとんどなく，虫くい像が顕著となる．

急性拒絶反応に対する MPSS の効果は，移植腎への細胞浸潤の抑制とピロニン嗜好性細胞の減少であるから，糸球体や尿細管に変化が起こる前の段階に早期に投与すれば，拒絶反応の改善に有効であることが明らかとなった．

MPSS 大量投与の効果は絶大であるが，肺合併症や消化管出血等の致命的な合併症を常に考慮して投与されるべきである．本実験では14例中 3 例が肺炎で死亡し，上部消化管出血が14例中 2 例に認められた．

副作用と合併症について Wood[9] らが述べている．副作用としてクッシング様顔貌を稀にみ，尋常性痤瘡はよくあるが重症ではなく，大量投与の時に脱力感，紅潮，不快，金属性味覚，筋力低下等が時々ある．合併症として創治癒の遷延，化膿，尿路感染症，消化管出血，膵臓炎，消化管穿孔，その他，肺梗塞，静脈血栓症等をあげている．Gordon[15] は合併症として尿路感染症，肺感染症 (肺炎，膿瘍)，敗血症，糖尿病，上部消化管出血等をあげている．特に肺合併症は死亡率が高く，Eickhoff[16] らによれば Pneumocystis carinii 性肺炎24例中，全例にペンタミジン 4 mg/kg/日を投与して，13例が救命され，11例が死亡している．腎移植後の上部消化管出血，ことにステロイド潰瘍の発症時期について，Starzl[17] は術後早期にしかも，拒絶反応時に多く，ステロイド使用期間の長短よりも，ステロイドの血中濃度が関係していると述べている．Lewicki[18] は腎移植患者死亡62例の剖検のうち，12例 (19％) が消化管出血で死亡していると述べ，約半数に直接死因と関係なく消化管出血，糜爛が存在していると報告している．われわれの犬を用いての実験でも，これらの報告をうなずける結果がえられたわけである．

臨床上プレドニンを使用する時，合併症を予防する手段として，抗生物質，抗潰瘍剤等を投与したにもかかわらず合併症が生じたら，移植腎も大切であるが患者の生命を最重要視して，合併症の治療を行なわなければならない．

V．結　　語

犬同種腎移植後の急性拒絶反応にたいして MPSS 20mg/kg/日を 3 日間投与すると，血清クレアチニンは3.4mg/dlから2.4mg/dlと回復し，14例中13例 (93％) で拒絶反応抑制に成功した．組織学的所見では 6 例中 4 例に著しい細胞浸潤の改善を認め，2 例では軽度な改善を認め，細胞浸潤の増加は 1 例も認めなかった．

MPSS の合併症として肺炎や上部消化管出血が認められた．肺炎は14例中 4 例 (29％) にみられ，その内 3 例 (21％) は肺炎で死亡した．上部消化管出血は14例中 2 例 (14％) にみられた．

擱筆に当り御指導と御校閲を賜わりたる恩師田中

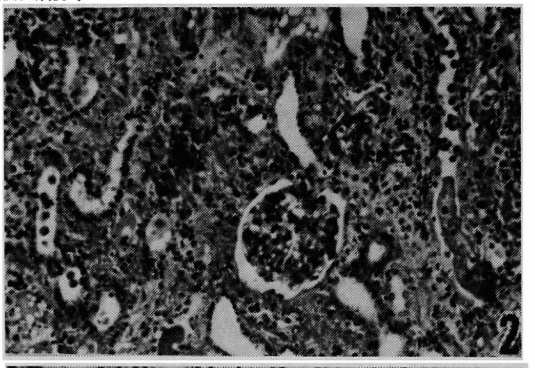
〔本論文の要旨は昭和49年11月第10回日本移植学会総会において発表した〕

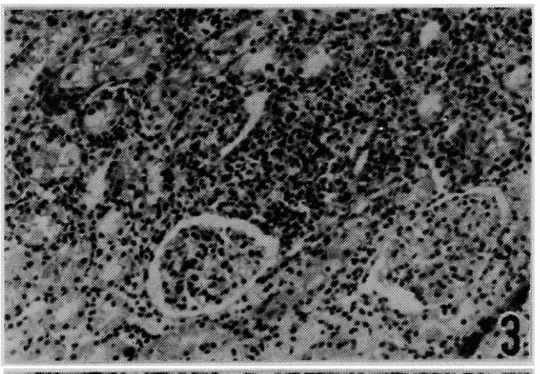
早苗教授に深甚の謝意を表すると共に，終始御助言，御援助を下さった折田薫三講師に深謝致します．

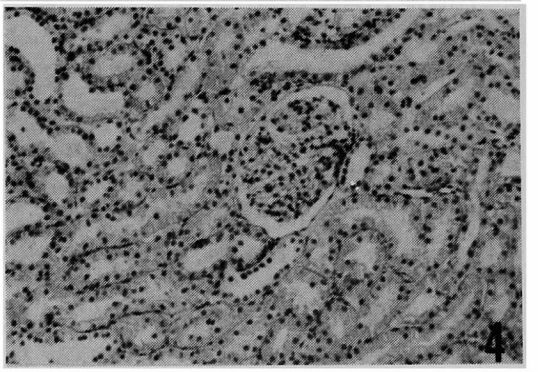
文　　献

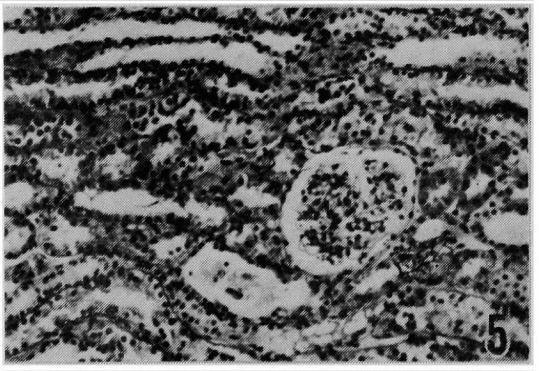
1) 田中浩毅：岡山医会誌，投稿中
2) Woods, J. E., Anderson, C. F., DeWeerd, J. H., Johnson, W. J., Donadio, J. V., Leary, F. J. and Frohnert, P. P.: J. Amer. Med. Aso., **223**: 896, 1973.
3) Turcotte, J. G., Feduska, N. J., Carpenter, E. W., McDonald, F. D. and Bacon, G, E.: Arch. Surg., **105**: 230, 1972.
4) Feduska, N. J., Turcotte, J. G., Gikas, P. W., Bacon, G. E. and Penner, J. A.: J. Surg. Res., **12**: 208, 1972.
5) Calne, R. Y., Davis, D. R., Medawar, P. and Wheeler, J. R.: Transplantation, **4**: 742, 1966.
6) Goodwin, W. E., Kaufman, J. J. Mims, M. M., Turner, R. D., Glassock, R. and Maxwell, M. M.: J. Urol., **89**: 13, 1963.
7) Starzl, T. E., Marchioro, T. L. and Waddell, W. R.: Surg. Gynecol. Obstet., **117**: 385, 1963.
8) Hume, D. M., Magee, J. H., Kauffman, H. M., Rittenbury, M. S. and Pront, G. R.: Ann. Surg., **158**: 608, 1963.
9) Bell, R. P. F., Briggs, J. D., Calman, K. C., Paton, A. M., Wood, R. F. M., Macpherson, S. G. and Kyle, K.: Lancet, **1**: 876, 1971.
10) Kountz, S. L. and Cohn, R.: Lancet, **1**: 338, 1969.
11) Najarian, J. S. and Simmons, R. L.: Transplantation., Philadelphia, Lea & Febiger, **470**, 1972.
12) Webel, M. L.: American Society of Nephrology, **22**: 88, 1971.
13) Lindquist, R. R., Guttmann, R. D. and Merrill, J. P.: Transplantation, **11**: 1, 1971.
14) Tsunemitsu, K.: Acta Medicinae Okayama, **25**: 65, 1971.
15) Gordon, C. V., Stephen, Z. F., Jan Dmochowski, Charles, B. C. and Richard, E. W.: Surg. Gynecol. Obstet., **138**: 225, 1974.
16) Eickhoff, T. C.: Transplantation proceedings, **5**: 1233, 1973.
17) Starzl, T. E.: Experiens in renal transplantation., W. B. Saunders Co., Philadelphia, **383**, 1964.
18) Lewicki, A. M., Saito, S. and Merrill, J. P.: Radiology, **102**: 533, 1972.

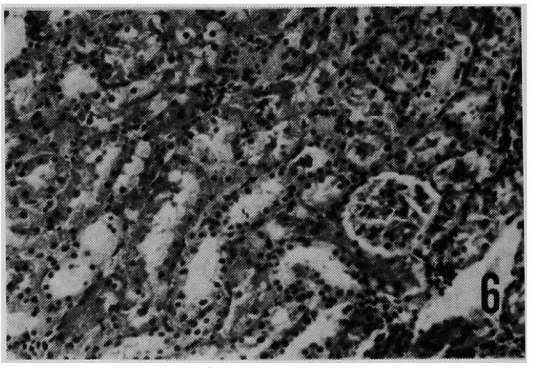
田中浩毅論文附図











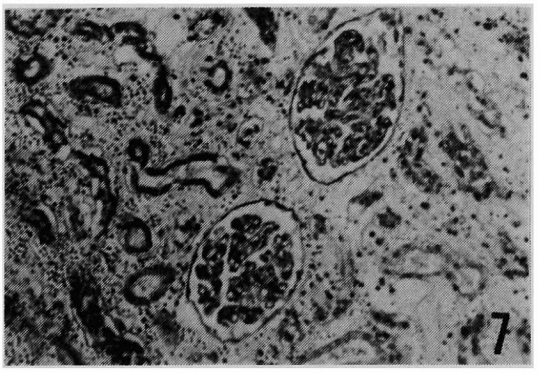


写真1：正常犬腎（H. E. 染色）×100

写真2：未処置群で尿毒症で死亡した時の腎（H. E. 染色）×100

写真3：MPSS投与前の腎（著効例）（H. E. 染色）×100

写真4：MPSS投与後の腎（著効例）（H. E. 染色）×100

写真5：MPSS投与前の腎（軽度な改善例）（H. E. 染色）×100

写真6：MPSS投与後の腎（軽度な改善例）（H. E. 染色）×100

写真7：免疫抑制剤投与群で尿毒症で死亡した時の腎（H. E. 染色）×100

Diagnosis and treatment of acute rejection after kidney homotransplantation in dog

Part 2. Correlation between the effect of a large dose of methylprednisolone administration and the finding of transplanted kidney tissue

Kohki TANAKA

Department of Surgery, Okayama University Medical School, Okayama, Japan

(Director: Prof. Sanae Tanaka)

ABSTRACT

For the acute rejection after kidney homotransplantation in dogs when 20 mg/kg/day of MPSS (methylprednisolone) had been administered for 3 days, serum creatinine recovered from 3.4 mg/dl to 2.4 mg/dl, and the rejection was successfully inhibited in 13 cases (93%) out of 14. By histological findings 4 out of 6 cases showed a marked improvement of cell infiltration, 2 cases a slight improvement, and there was not a single case showing any increase of cell infiltration.

As the complication of MPSS administration, there could be observed pneumonia and hemorrhage in the upper alimentary canal. Pneumonia occurred in 4 cases (29%) out of 14, of them 3 cases (21%) died from pneumonia. Hemorrhage in the upper alimentary canal was observed in 2 cases (14%) of the 14 studied.