

Weitere Befunde zur sog. Transplantatadaptation menschlicher Nieren* **

A. BOHLE und H. FISCHBACH

Pathologisches Institut der Universität Tübingen (Direktor: Prof. Dr. A. Bohle)

Eingegangen am 12. November 1969

Further Findings on Adaptation of Transplants of Human Kidneys

Summary. Fibroblasts and fibroblastoid cells with Barr's nuclear bodies were examined in the perivascular and intertubular tissue of 16 kidney-transplants that were removed between 14 days and one and a half year after transplantation. In some of them the renal function had been good until to the removal of the transplants. The results were as follows:

1. In 7 kidneys of male donors transplanted in female recipients between 9 and 14% of the fibroblasts and fibroblastoid cells in the interstitial tissue of the kidney had Barr's nuclear bodies.
2. When the recipient was male and the donor female 14 to 17% of "fibroblasts" with Barr's nuclear bodies were found.
3. In kidneys of female donors transplanted in female recipients between 15 and 22% "fibroblasts" contained Barr's nuclear bodies.
4. When both recipient and donor were male the percentage of interstitial fibroblastic cells with Barr's nuclear bodies in the above-mentioned was 0.3 to 0.6%.

These findings indicate that in the perivascular and intertubular tissue of the transplants a considerable number of fibroblasts and fibroblastoid cells come from the receiver. It is therefore possible that these cells are involved in the formation of the interstitial and perivascular connective tissue that is often increased in lately rejected transplants.

It is also shown that blood cells of the recipient are able to participate in the organization of thrombi in transplants, whereas there were no indications that the endothelization of the vessels of the transplant by the recipient is responsible for the adaptation of the transplant.

Zusammenfassung. Die Untersuchung von Fibroblasten bzw. fibroblastenartigen Zellen mit Barrschen Zellkernkörpern im perivasculären und intertubulären Gewebe von 16 Nierentransplantaten, die 14 Tage bis $1\frac{1}{2}$ Jahre nach der Übertragung zum Teil bei guter Funktion entfernt worden waren, führten zu folgenden Ergebnissen:

1. In 7 männlichen Spendernieren, die auf weibliche Empfänger übertragen worden waren, zeigten 9—14% der Fibroblasten bzw. fibroblastenartigen Zellen im Niereninterstitium Barrsche Zellkernkörper.
2. Bei der Konstellation Empfänger männlich — Spender weiblich schwankte der Prozentsatz von sog. Fibroblasten mit Barrschem Zellkernkörper zwischen 14 und 17%.
3. In weiblichen Spendernieren, die auf weibliche Empfänger transplantiert worden waren, wurden zwischen 15 und 22% „Fibroblasten“ mit Barrschen Zellkernkörpern gezählt.
4. Bei der Konstellation Empfänger und Spender männlich betrug die Zahl der Zellen mit Barrschen Zellkernkörpern in obiger Lokalisation 0,3—0,6%.

Aus diesen Befunden wird gefolgert, daß im perivasculären und intertubulären Bindegewebe der Transplantate die Zahl der vom Empfänger stammenden Fibroblasten bzw. fibroblastenartigen Zellen erheblich ist. Mit der Möglichkeit, daß diese Zellen z.T. an der Ausbildung des in chronisch abgestoßenen Transplantaten oft verbreiterten interstitiellen und perivasculären Bindegewebes der Niere beteiligt sind, wird gerechnet.

* Auszugsweise vorgetragen auf der Herbsttagung der Deutschen Gesellschaft für Pathologie in Wiesbaden 1969.

** Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

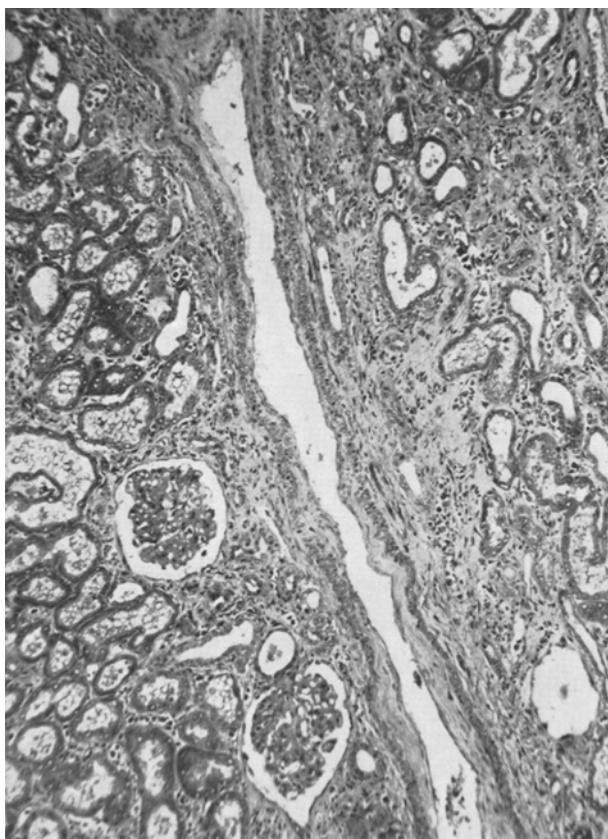


Abb. 1. 69/4/1481, weibl., 43 Jahre. Ausschnitt aus der Nierenrinde eines Transplantates mit perivasculärer und interstitieller Fibrose (Entfernung des Transplantates bei guter Funktion postmortal). Goldner-Trichrom-Färbung, Vergr. 85fach

Es wird außerdem darauf hingewiesen, daß an der Organisation von Thromben in Transplantaten Blutzellen des Empfängers teilhaben können, dagegen fanden sich keine Anhaltspunkte dafür, daß in einer Endothelisierung des Transplantates durch den Empfängerorganismus die Ursache der Transplantationsadaptation gesehen werden muß.

Es ist seit einigen Jahren bekannt (Murray u. Mitarb., 1964; Murray u. Wilson, 1966; Hamburger u. Mitarb., 1965; Woodruff, 1965; Amos, 1968; Barnes, Murray u. Atkinson, 1968), daß Transplantate, die in den ersten Monaten nach der Übertragung nicht abgestoßen werden, sich an den Empfängerorganismus „adaptieren“. Diese sog. Adaptation kann im günstigen Fall so weit gehen, daß nach erheblicher Reduktion der Immunsuppression keine Abstoßung mehr auftritt.

Die Ursache dieser „Transplantationsadaptation“ ist bisher nicht bekannt. Einige Autoren (Woodruff, 1965; Murray u. Wilson, 1966) haben vermutet, daß Empfängerantikörper das Spenderendothel besetzen und dadurch die Wirkung des Spenderantigens aufheben. Trentin (1966) hat dagegen die These vertreten, daß die Intima der Gefäße transplantiertener Organe vom Empfänger ausgekleidet werden.

Nachdem diese These insoweit von uns (Bohle u. Hinrichsen, 1969) bestätigt werden konnte, als uns durch Benutzung der Barrschen Zellkernkörper als Marker-chromosomen gelang nachzuweisen, daß die schaumzellreichen arteriellen Intima-beete, die in Transplantaten auftreten können, im wesentlichen aus Zellen des Empfängers bestehen, interessierte uns in weiteren Untersuchungen, ob ähnliche Prozesse wie in der Intima der Nierenarterien auch an anderen Orten des Transplantates ablaufen. Insbesondere fragten wir uns, ob an der Ausbildung der in chronisch abgestoßenen Transplantaten häufig auftretenden perivasculären und interstitiellen Fibrosen (Abb. 1) Blutzellen des Transplantatempfängers beteiligt sind. Darüber hinaus erschien es uns wichtig, in Ergänzung unserer früheren Untersuchungen (Bohle u. Hinrichsen, 1969) der Frage nach dem Schicksal der Endothelzellen, vor allem in länger überlebenden Transplantaten weiter nach-zugehen.

Methode

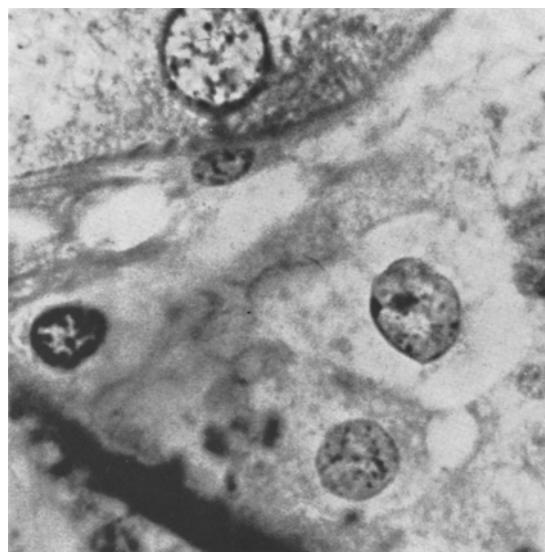
Wir haben aus diesem Grunde im Blindversuch in insgesamt 16 Transplantaten in der Adventitia bzw. im periadventitiellen Bindegewebe der großen Nierengefäße und im inter-tubulären Bindegewebe je 1000 Fibroblasten oder fibroblastenartige Zellen, d. h. Zellen mit rundlichem, rundlich-ovalem bis stabförmigem, nach Salzsäurehydrolyse chromatinarmem Kern — hinfert Fibroblasten genannt, (Abb. 2a u. b) obwohl es sich sicher nicht um eine einheitliche Zellgruppe handelt — auf das Vorkommen von Barrschen Zellkernkörpern an den Rändern ihrer Zellkerne untersucht. In einzelnen Transplantaten, darunter in einem 13 Monate gut funktionierendem Transplantat (Empfänger weiblich — Spender männlich), wurden außerdem die Endothelzellen der großen Nierenarterien und -venen sowie die subendothelialen Intimabeete, soweit vorhanden, auf das Vorkommen von Barrschen Zellkernkörpern durch-mustert.

Die Untersuchungen führten wir an 5 μ dicken in Formalin fixierten Paraffinschnitten durch, die nach vorheriger Salzsäurehydrolyse (Klinger u. Ludwig, 1957) mit Thionin bzw. Thioninpikrofuchsin gefärbt worden waren. Zur fotografischen Dokumentation der Befunde verwandten wir in Plexiglas eingebettete Semidünnschnitte, die nach vorheriger Säurehydrolyse nach Giemsa gefärbt worden waren.

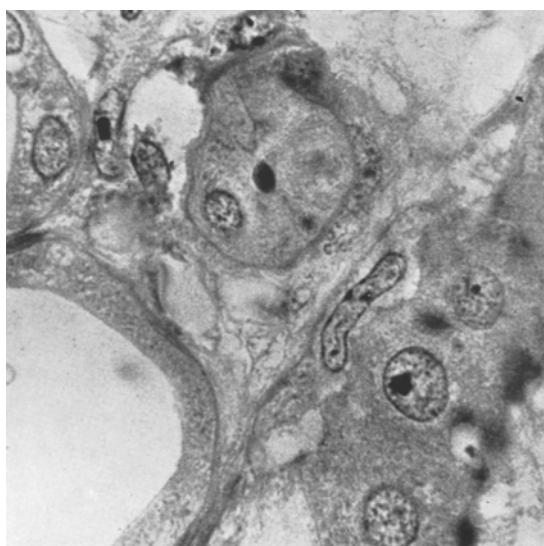
Ergebnisse

In 7 Transplantaten von männlichen Spendern auf weibliche Empfänger mit einer Laufzeit von 14 Tagen bis 13 Monate fanden wir im periadventitiellen Bindegewebe 9,0—14,0% „Fibroblasten“ mit Barrschen Zellkernkörpern (Tabelle). Im intertubulären Bindegewebe wurden bei den gleichen Fällen 10—14% Fibroblasten mit Barrschen Zellkernkörpern gezählt.

In 3 Transplantaten von weiblichen Spendern, die auf weibliche Empfänger übertragen worden waren und die 60—90 Tage nach der Transplantation untersucht wurden, betrug die Zahl der Fibroblasten mit Barrschem Zellkernkörper im periadventitiellen Bindegewebe 15—22,0% und im intertubulären Bindegewebe 18,0—20,0%. In 3 Transplantaten männlicher Spender auf männliche Empfänger, die nach 1, 4 und 18 Monaten wegen mangelhafter Funktion entfernt worden waren, fanden wir im perivasculären Bindegewebe 0,5—0,6 und im intertubulären Bindegewebe 0,3—0,6% Zellen mit Chromatinverdichtungen am Zellkernrand, die von Barrschen Zellkernkörpern nicht unterschieden werden konnten. In drei Transplantaten weiblicher Spender auf männliche Empfänger, die nach 93 Tagen bzw. nach 4 oder 6 Monaten abgestoßen wurden, lag die Zahl der Fibroblasten im perivasculären Bindegewebe zwischen 14,0 und 17,0 und im intertubulären Bindegewebe zwischen 14,0 und 17,0%.



a



b

Abb. 2a. 69/2/1777. Fibroblastenartige Zelle im intertubulären Bindegewebe eines Transplantates mit Barrschem Zellkernkörper und Nucleolus. Transplantatempfänger weiblich, Transplantatspender männlich. Zeit bis zur Entfernung des Transplantates 90 Tage. Giemsa-Färbung nach vorheriger Säurehydrolyse. Vergr. 3500fach. b Stabförmige Bindegewebszelle mit Barrschem Zellkernkörper und Nucleolus im intertubulären Bindegewebe eines Nierentransplantates. Empfänger weiblich, Spender männlich. Entfernung des Transplantates 94 Tage nach der Übertragung. Giemsa-Färbung nach vorheriger Säurehydrolyse. Vergr. 3500 fach

Die Endothelien der großen Gefäße zeigten bis zu $1\frac{1}{2}$ Jahren nach der Transplantation das Geschlecht des Spenders (s. Tabelle).



Abb. 3 a 69/4/1481 weibl., 43 Jahre alt. Ausschnitt aus der Rinde eines Transplantates mit stark verdickter Faserkapsel, die von capillären Spalträumen durchsetzt ist. Transplantatempfänger weiblich, Transplantatspender männlich. Transplantatentfernung 13 Monate nach der Übertragung. Goldner-Trichrom-Färbung, Vergr. 16fach. b Ausschnitt aus der Faserkapsel von a mit Fibroblast (linker oberer Bildrand) und Endothelzelle (unterer linker Bildrand) mit Barrschen Zellkernkörpern. Giemsa-Färbung nach vorheriger Säurehydrolyse. Semi-Dünn-schnitt. Vergr. 3500fach

So fanden wir in einem Transplantat (Nr. 7) eines männlichen Spenders auf einen weiblichen Empfänger, das bei guter Funktion 13 Monate nach der Übertragung unmittelbar postmortal entfernt wurde, nur in 2,0% von 2000 untersuchten Endothelzellen der großen Nierengefäße Barrsche Zellkernkörper. In dem gleichen Transplantat fanden wir dagegen in Zellen, die capilläre Spalträume einer stark verdickten Faserkapsel auskleideten (Abb. 3 a u. b), in 10% Barrsche Zellkernkörper. Die Fibroblasten dieser Kapsel zeigten in 14% Barrsche Zellkernkörper.

In einem weiteren Transplantat eines männlichen Spenders (Nr. 3) auf einen weiblichen Empfänger waren die intrarenalen Nierenvenenäste teilweise thrombosiert. In bereits endothelisierten, polypartigen Abscheidungsthromben betrug die Zahl der „Fibroblasten“ mit Barrschen Zellkernkörpern 13% (Abb. 4).

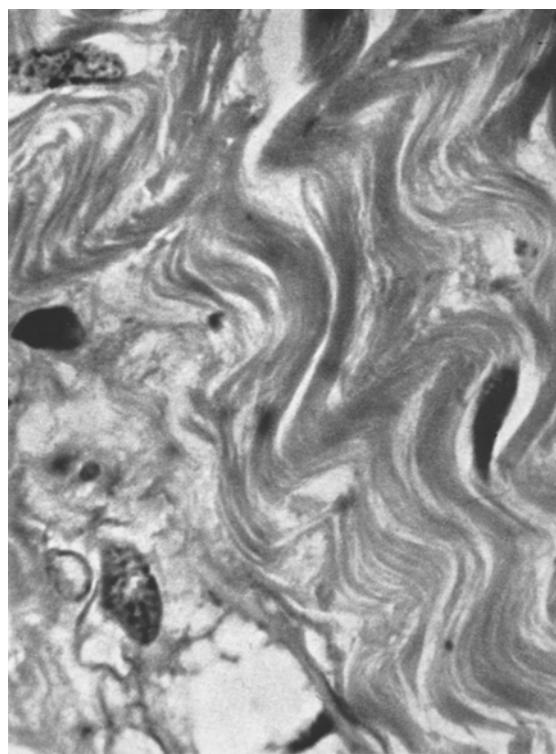


Abb. 3b

Tabelle. Übersicht über die Ergebnisse einer Auszählung von je 1000 Fibroblasten bzw. fibroblastenartigen Zellen auf das Vorkommen von Barrschen Zellkernkörpern im perivaskulären und intertubulären Bindegewebe von 16 Transplantaten sowie von je 1000 Endothelzellkernen bzw. Makrophagen oder fibroblastenartigen Zellen im subendothelialen Bindegewebe von 7 Transplantaten

Lfd. Nr.	Empfänger Alter	Ge- schlecht	Spender Ge- schlecht	Zeit bis zur Transplantat- entfernung	Barrsche Zellkernkörper			
					peri- vase.	inter- tubul.	sub- endoth.	Endo- thel.
1	S. E.	34	♀	♂	24 Tage	9	10	
2	Z. N.	39	♀	♂	14 Tage	13	12	
3	R. M.	27	♂	♂	90 Tage	14	14	10
4	T. L.	34	♂	♂	90 Tage	11	13	
5	M.	32	♀	♂	94 Tage		14	13
6	K. A.	25	♀	♂	6 Monate	9	10	
7	F.	43	♀	♂	13 Monate	10	12	2
8	B. H.	41	♀	♂	2 Monate	15	18	20
9	J. W.	19	♀	♂	64 Tage	18	18	16
10	J. Th.	36	♀	♂	90 Tage	22	20	14
11	L. A.	48	♂	♀	93 Tage	17	17	26
12	H. J. B.	28	♂	♀	4 Monate	14	14	17
13	R. E.	28	♂	♀	6 Monate	14	17	10
14	W. W.	21	♂	♂	1 Monat		0,3	
15	B. K.	34	♂	♂	4 Monate	0,5	0,6	
16	B. H.	25	♂	♂	18 Monate	0,6	0,4	0,6



Abb. 4. 68/3/994. Ausschnitt aus der Nierenrinde mit in Organisation befindlichem polypösem Abscheidungsthrombus in einem größeren Nierenvenenast. (Die Fibroblasten bzw. fibroblastenartigen Zellen dieses Thrombus enthielten in 13 % Barrsche Zellkernkörper.) Transplantatempfänger weiblich, Transplantatspender männlich. Zeit bis zur Entfernung des Transplantates 90 Tage. Goldner-Trichrom-Färbung, Vergr. 37fach

Aus diesen Befunden resultiert, daß die Transplantate entgegen der Annahme von Trentin wahrscheinlich nicht bzw. in ganz unwesentlichem Maße vom Empfängerendothel ausgekleidet werden, obwohl im Blute kreisende Zellen (wahrscheinlich Monocyt) nach den Befunden von Stump u. Mitarb. (1963) sich in Endothelzellen umwandeln können.

Wenn wir in den Endothelien einer stark verdickten Faserkapsel eines Transplantates, das von einem männlichen Spender auf eine Frau übertragen worden war, in einem relativ hohen Prozentsatz Barrsche Zellkernkörper fanden (Abb. 3a u. b), so wird dadurch obige Aussage nicht eingeschränkt. Es muß vielmehr angenommen werden, daß die verdickte Faserkapsel von dem das Transplantat umgebenden Gewebe des Empfänger gebildet wurde. Dafür spricht auch der Operationsbericht, aus dem zu entnehmen ist, daß das Transplantat mit dem Empfängergewebe verwachsen war.

Die Transplantationsadaptation muß daher auf andere Ursachen als von Trentin (1966) angenommen zurückgeführt werden. Im Blute kreisende Zellen des Empfängers spielen dagegen, wie nach den experimentellen Befunden von Still,

Ghani u. Dennision (1968) bzw. Ghani (1969) zu erwarten, bei der Organisation von Thromben auch in Transplantaten eine hervorragende Rolle.

Aus den vorliegenden Untersuchungen geht weiter hervor, daß Blutzellen des Empfängers sich nicht nur wie gezeigt (Bohle u. Hinrichsen) in der Intima der Arterien der Nierentransplantate etablieren, sondern daß im periadventitiellen und intertubulären Bindegewebe die Zahl der vom Empfänger stammenden „Fibroblasten“ beträchtlich ist. Das wird vor allem deutlich, wenn man die Zahl der „Fibroblasten“ mit Barrschen Zellkernkörpern in den genannten Bezirken bei der Konstellation Empfänger weiblich, Spender männlich betrachtet.

Ein Transplantat nimmt indessen nach unseren Untersuchungen die Infiltration von Empfängerzellen sowie die immunologischen Prozesse mit ihren Folgen nicht einfach passiv hin, sondern beantwortet dieselben mit einer Aktivierung seines eigenen Mesenchyms. Dies glauben wir u. a. der Tatsache entnehmen zu dürfen, daß bei der Konstellation Empfänger weiblich—Spender männlich der Prozentsatz der „Fibroblasten“ mit Barrschem Zellkernkörper mit der Dauer der Transplantation nicht zunimmt und außerdem niedriger bleibt als in weiblichen Spendernieren, die auf weibliche Empfänger übertragen wurden.

Was für das Interstitium gilt, trifft auch für unsere Befunde in der Intima der Nierenarterien zu. Auch hier erreicht die Zahl der „Fibroblasten“ mit Barrschen Zellkernkörpern nur Werte, die daran denken lassen, daß die obliterierenden Intimabeete nicht nur aus umgewandelten Blutzellen des Empfängers bestehen, sondern auch aus Zellen des organeigenen Mesenchyms.

Ob die von uns untersuchten „Fibroblasten“ sich z. T. in Fibrocyten umwandeln und dabei kollagene Fasern bilden, und das in chronisch abgestoßenen Transplantaten oft verbreiterte perivasculäre und interstitielle Bindegewebe aus Empfänger- und Spendergewebe besteht, wissen wir nicht, wir halten es jedoch für möglich.

Die hier mitgeteilten Befunde bestätigen und ergänzen im übrigen die experimentellen Untersuchungsergebnisse von Porter u. Calne (1960), Dempster u. Williams (1963) bzw. Yoshii u. Mitarb. (1963).

Porter u. Calne bzw. Dempster u. Williams hatten durch Markierung von Blutzellen der Empfänger nachweisen können, daß unter den Infiltratzellen in Transplantaten Zellen des Empfängers vorhanden sein müssen. Yoshii u. Mitarb., deren Publikation uns erst kurz vor Abschluß der eigenen Untersuchungen bekannt geworden ist, konnten mit Hilfe der von uns angewandten Methode nachweisen, daß in Hundenierentransplantaten bei beginnender Abstoßung Zellen des Empfängers auftreten. Unter 500 ubiquitär im Transplantat verteilten „Monocyten“ zeigten bei der Konstellation Spender weiblich—Empfänger männlich 1,2% der „Monocyten“ Barrsche Zellkernkörper. Waren Nieren männlicher Hunde auf weibliche Empfänger transplantiert worden, betrug die Zahl der „Monocyten“ mit Barrschen Zellkernkörpern 6,6%. Waren die Empfänger und die Spender weiblich, lag der Prozentsatz bei 11%, während bei der Konstellation männlich—männlich keine Barrschen Zellkernkörper gefunden wurden.

Sie können indessen nicht als Ausdruck der von der Klinik erhobenen Transplantationsadaptation gewertet werden, wenn auch bei ihrer Entstehung gleichsam an das Transplantat adaptierte Blutzellen der Empfänger, wahrscheinlich Monocyten oder sog. Stammzellen, die nach Burnet (1969) keine Rezeptoren für Antigene an ihrer Oberfläche tragen, eine wichtige Rolle gespielt haben dürften.

Literatur

- Amos, B.: Immunologic factors in organ transplantation. *J. Lab. clin. Med.* **44**, 767—775 (1968).
- Barnes, B. A., Murray, J. E., Atkinson, J.: Data from the kidney transplant registry: survival of secondary renal transplants and an analysis of early renal function. *Advance in Transplantation, Proc. 1st Int. Congr. Transplant. Soc.*, Munksgaard, p. 351—357 (1968).
- Bohle, A., Hinrichsen, K.: Morphologischer Beitrag zur sog. Transplantatadaptation. *Klin. Wschr.* **47**, 74—77 (1969).
- Burnet, M.: *Cellular immunology*. Melbourne: University Press; Cambridge: University Press 1969.
- Dempster, W. J., Williams, M. A.: Cellular infiltration in homotransplanted kidneys. *Brit. med. J.* **1963/I**, 18—23.
- Ghani, A. R.: The role of blood mononuclear cells in the organisation of mural thrombi. *J. Path. (Edim.)* **97**, 11—21 (1969).
- Hamburger, J., Crosmier, J., Dormont, J., Reveillaud, R.-J., Hors, J.-H., Alsina, J.: Homotransplantation rénale humaine. Résultats personnels chez 52 malades. *Presse méd.* **73**, 2793—2798, 2873—2878, 2911—2916 (1965).
- Klinger, H. P., Ludwig, K. S.: A universal stain for the sex chromatin body. *Stain Technol.* **32**, 235—244 (1957).
- Murray, J. E., Sheil, A. G. R., Moseley, R., Knight, P., McGavic, J. D., Dammin, G. J.: Analysis of mechanism of immunosuppressive drugs in renal homotransplantation. *Ann. Surg.* **160**, 449—473 (1964).
- Wilson, R. E.: The role of organ transplantation in biological research. *7th Intern. Transplantation Conference* p. 585 (1966).
- Porter, K. A., Calne, R. Y.: Origin of the infiltration cells in skin and kidney homografts. *Transplant. Bull.* **26**, 458 (1960).
- Still, W. J. S., Ghani, A. R., Dennison, S. M.: The organization of isolated mural thrombi in aortic grafts. *Amer. J. Path.* **51**, 1013—1030 (1968).
- Stump, M. M., Jordan, G. L., DeBakey, M. E., Halpert, B.: Endothelium grown from circulating blood in isolated intravascular dacron hub. *Amer. J. Path.* **43**, 361 (1963).
- Trentin, J. J.: The arterial obliterative lesions of human renal homografts. *7th Intern. Transplantation Conference* p. 654 (1966).
- Woodruff, M. F. A.: Biological and clinical aspects of organ transplantation. *Brit. med. Bull.* **21**, 176—180 (1965).
- Yoshii, T., Jolley, W. B., Hinshaw, D. B.: Cellular infiltration in homografted kidneys of dogs—origin of monocytic cells determined by the use of a sex chromatin label. *Surg. Forum* **14**, 212—214 (1963).

Prof. Dr. A. Bohle
Pathologisches Institut der Universität
74 Tübingen
Liebermeisterstr. 8