

# HBウイルス(HBV)腎症におけるHBeAgの免疫電顕による観察

武越靖郎, 永田康, 栃丸博幸, 伊丹儀友, 口蔵桂子, 鮑津泰史  
北海道大学小児科

## 序 言

HBV腎症とはHBV関連抗原が直接関与して発症した腎炎と言える。Combesら<sup>1)</sup>による最初の報告以来, HBV感染者に発症した膜性腎炎や膜性増殖性腎と診断されている症例の糸球体にHBsAgの沈着を認めたとの報告がなされてきた。<sup>2)</sup>一方, われわれはわが国において小児の膜性腎炎とHBsAg血症との間につよい相関を見出したが,<sup>3)</sup>さらに従来との報告とは異なり膜性腎炎の糸球体にHBsAgではなく, HBeAgの沈着しているのを明らかにするとともに, 小児の膜性腎炎の発症におけるHBV感染の重要性を示唆した。<sup>4)</sup>HBVはその本態について最もよく明らかにされているウイルスと考えられるが, これが発症に直接関与している本症において, その発症機序についてさらに詳しく明らかにすることは病因不明の他の腎炎の発症機序を究明する上で寄与する所が大きいと考えられる。今回, 発症後長期間経過し腎生検を行った症例と, 発症後比較的早期に腎生検を行った症例について, 免疫電顕により発症の直接的引き金であるHBeAgとともに免疫グロブリンやC3などの糸球体への沈着について検討を行う。

## 対象・方法

過去13年間に経験したHBV腎症の17例<sup>5)</sup>の中から2例が今回の検討の対象となった。

症例1は男児で5才の時に血尿を伴うネフローゼ症候群として発症し, 腎生検により膜性腎炎と診断され, 糸球体にHBeAgの沈着しているのが証明されていた。プレドニン投与後不完全寛解に入ったが, 6年後再発, 低補体血症も

認めるようになり, 再び腎生検を行った。糸球体病変はさらに進行しており, HBeAgとHBsAgの沈着が認められた。腎生検後, プレドニン投与によりネフローゼ症候群は不完全寛解したが, HBeAg陽性と低補体血症が持続している。

症例2は女児で, 8才の時学校検尿により血尿蛋白尿を発見され, 9才の時腎生検により膜性腎炎と診断された。当時血清HBeAgが陽性であり, 糸球体にHBeAgの沈着が認められている。

腎生検診断は光顕, 電顕, 蛍光抗体法により行われた。蛍光抗体法は先に報告した如く<sup>5)</sup>, FITC標識ウサギ抗ヒトIgG, IgA, IgM, C3および抗HBs抗体の各抗血清(Hoechst社)とFITC標識マウスモノクローナルIgG抗HBe抗体を用い直接法により行った。

免疫電顕はHRP標識抗ヒトIgG, IgA, IgM, およびC3(DAKO社)を用い直接法で, またHBeAgの検索については一次抗体としてマウスモノクローナルIgG抗HBe抗体<sup>6)</sup>を用い, 二次抗体にはHRP標識ウサギ抗マウスIgG抗体(DAKO社)を用い, 間接法でNakaneら<sup>7)</sup>の方法により固定および染色し, エポキシ包埋を行い, 厚さ70nmの切片を作成, 電顕観察を行った。同時に1 $\mu$ 切片も作成し光顕観察も行った。

## 成 績

蛍光抗体法所見は症例1ではIgGが3+, IgA, IgM, C3およびHBsAgが1+, HBeAgが1~2+の強さで糸球体係蹄壁を中心に,

メザンギウム領域にかけて顆粒状に沈着しているのが認められた。症例2ではIgGが3+, C3が2+, IgMおよびHBeAgが1+, IgAが±の強さで前者とほぼ同様の沈着様式で認められた。酵素抗体法のエポブロックより作成した1μ切片についての光顕観察でも、これとほぼ同様の所見が認められた。

免疫電顕ではHBeAgの染色は通常電顕でEDDが観察される部位すなわち糸球体基底膜の上皮下, 内皮下, 基底膜内, さらにはメザンギウム基質内などに認められた。症例1では, 多数観察されたEDDの全てがHBeAgにより染色されず, 染色されても, EDDの全体が同程度に染色されるものから部分的ないしは不均一に染色されるものまで多彩な所見を示した。また transmembranous Deposit 全体が染色されたり, HBeAgの染った上皮下の巨大なEDDが認められた一方, 内皮下にも新たなHBeAgの沈着を示唆する興味ある所見も観察された(写真1)。これに対し尿異常発見後1年間経過して腎生検を行った症例2ではほとんどのEDDが染色され, 且つ症例1よりも染色強度が強い印象を受けた。しかし巨大なEDDはやはり全体が染色されず, 不均一に染色されているのが認められた。また限局性ではあるが糸球体基底膜の内皮下がかなりつよく染色されている部位も認められた(写真2)。その他通常電顕ではEDDと認められるまでに至っていないと推測される部位にもHBeAgが染色された。IgGやC3などの局在もHBeAgのそれとほぼ同様の傾向がみられた。

### 考 察

小児におけるHBV腎症の中心的糸球体病変は膜性腎炎であり, 他に膜性増殖性腎炎やメザンギウム増殖性腎炎, 微小変化なども認められている。<sup>5)8)</sup> この膜性腎炎は特発性型とほぼ同様の所見を呈するものもあるがEDDが糸球体基底膜の各所やメザンギウム基質にも認められ, 時に軽度のメザンギウム細胞の増生を伴いルー

ズス腎炎の膜性腎炎型に近い所見を呈することも多い。<sup>5)9)</sup> さらには限局性の mesangial interposition を認め, 時には巨大な hump や transmembranous Deposit が認められるようになり, 膜性増殖性腎炎3型の所見を呈するものなど多彩である。<sup>5)9)</sup> このように多彩な糸球体病変を形造っている糸球体各部位のEDDとHBV関連抗原の局在が如何なる対応をするか興味を持たれた。今回はHBeAgについてのみの検索であったが, HBeAgの沈着は通常電顕で観察されるEDDの局在とほぼ同様の傾向がみられ, またIgGやC3などの局在もHBeAgのそれと同様の傾向がみられた。一方HBV感染に伴い血中へHBsAg<sup>10)</sup>やHBeAg<sup>11)</sup>の免疫複合体(IC)が生じていることはよく知られているが, HBV関連の膜性腎症では特発性型よりもCICの陽性頻度がはるかに高いことが報告されている。<sup>12)</sup> 今回の検索ではHBeAgを抗原とするICが糸球体の各所に沈着していることが示唆されたが, このような所見はHeymann腎炎<sup>13)</sup>などのようなin situ IC形成を介して発症する腎炎とは異なり, CICの糸球体係蹄壁への沈着により発症することを示唆しているものと考えられる。巨大なEDDの認められた症例1において, EDDの全てが染色されなかったのが目立ったが, これはそのような巨大なEDDが形成されるには長い経過が必要となることや, 早くに沈着したICは器質化し抗原性が失われてしまっていることなどによる所見とも考えられた。また染色されたEDDでも均一に染色されないのは, 前述の如く器質化により抗原性が失われてしまっているためとも考えられるが, 同時にEDDには抗原以外に抗体や補体成分など種々の血漿成分も含まれていることによることも推測された。

### 結 論

HBV関連の膜性腎炎でHBeAgを抗原とするICが糸球体基底膜やメザンギウムの各所に沈着しているのを示唆する所見が得られた。こ

の所見は Heymann 腎炎などの in situ IC 形成機序を介して発症する膜性腎炎とは異なり, CIC の糸球体係蹄壁への沈着により発症することを示唆しているものと考えられた。

#### 参 考 文 献

- 1) Combes R., Stastny P., Shorey J., Eigenbrodt E.H., Barrera A., Hull A.R., Carter N.W. Glomerulonephritis with deposition of Australia antigen-antibody complexes in glomerular basement membrane. *Lancet*. 2:234-237, 1971.
- 2) Hirshel B. J., Benusiglio L. H., Favre H., Chatelanat F., Humair L., Zubler R.H., Cruchaud A. Glomerulonephritis associated with hepatitis B. Report of a case and review of the literature. *Clin. Nephrol.* 8:404-409, 1977.
- 3) Takekoshi Y., Tanaka M., Shida N., Matsumoto S. Strong association between membranous nephropathy and hepatitis-B surface antigenaemia in Japanese children. *Lancet*. 2:1065-1068, 1978.
- 4) Takekoshi Y., Tanaka M., Miyakawa Y., Yoshiza H., Takahashi K. and Mayumi M.: Free "small" and IgA-associated "large" hepatitis Be antigen in the serum membranous glomerulonephritis. *New Engl. J. Med.* 300:814-819, 1979.
- 5) Takekoshi Y., Tanaka M., Nagata Y., Tochimaru H., Oka R., Matsumoto S.: Glomerulonephritis associated with hepatitis B virus infection in children. *Acta paediatr. Jpn.* 28:374-390, 1986.
- 6) Hirose H., Udo K., Kojima M., Takahashi Y., Miyakawa Y., Miyamoto K., Yoshizawa H., Mayumi M. Deposition of hepatitis Be antigen in membranous glomerulonephritis: Identification by F(ab'), fragments of monoclonal antibody. *Kidney Int.* 26:338-341, 1984.
- 7) 東海大学医学部病理学教室および同共 研細胞生物: 酵素抗体法—理論・手技解説とその応用, 渡辺慶一編集, 学際企画株式会社, 東京P 33-118, 1981.
- 8) Yamashita F., Kodowaki J., Hirooka Y., Ito H., Kitagawa T., Murakami M., Yamaguchi M., Sakai T., Sakai K., Matsuda I., Ko W., Mayumi M. Hepatitis B antigenemia-associated nephropathy: Clinical evolution and seroconversion. A report of the Asian study of renal disease in children. In: Brodehl J, Ehrich JHH, eds. *Pediatric nephrology, Proc. sixth Int Ped Nephrol Symp, Hannover FRG 1980. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo, 243-246.*
- 9) Yoshikawa N., Ito H, Yamada Y., Hashimoto H., Katayama Y., Matsuyama O., Hasegawa S., Hajikano H., Mayumi M., Matsuo T. Membranous glomerulonephritis associated with hepatitis B antigen in children. *Clin. Nephrol.* 23:28-34, 1985.
- 10) Carella G., Digeon M., Feldman G., Jungers P., Drower J., Batb JF. Detection of hepatitis-B antigen in circulating immune complexes in acute and chronic hepatitis. *Scand. J. Immunol.* 6:1297, 1977.
- 11) Stannard L.M., Lennon M. Hodgkiss

M., and Smuts H. : An electron microscopic demonstration of immune complexes of hepatitis Be antigen using colloidal gold as a marker. *J. Med. Virol.* 9:165-175, 1982.

12) Furuse A., Hattori S., Terashima T., Karashima S., Matsuda I. Circulating Immune complex in glomerulone-

phropathy associated with hepatitis B virus infection. *Nephron* 31:212-218, 1982.

13) Couser W.G., and Salant J.D. : In situ immune complex formation and glomerular injury. *Kidney Int.* 17:1-13, 1980.

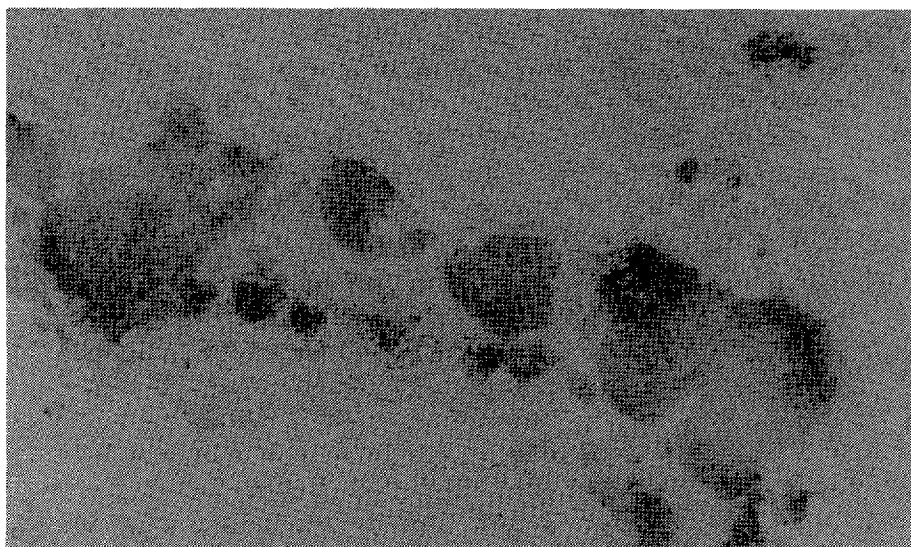


写真 1

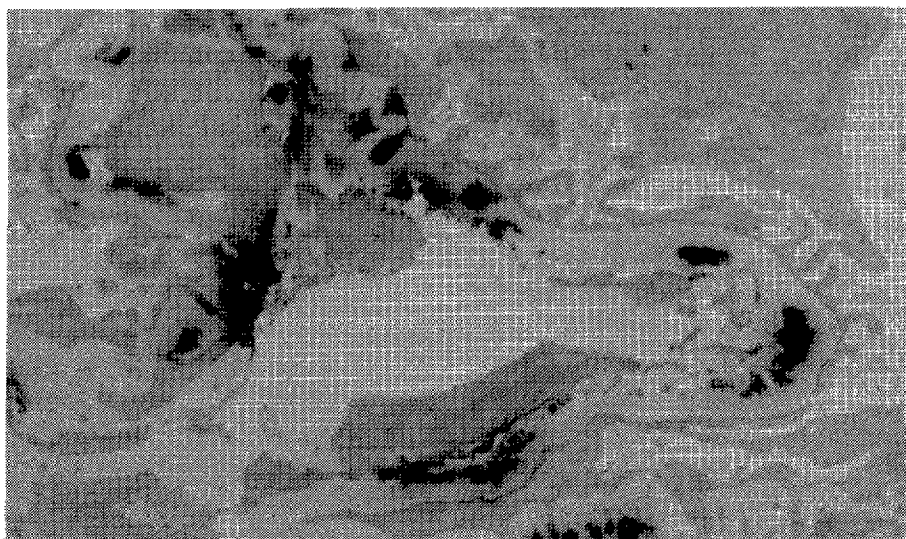
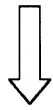
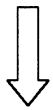


写真 2



**検索用テキスト** OCR(光学的文字認識)ソフト使用  
論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



#### 結論

HBV 関連の膜性腎炎で HBeAg を抗原とする IC が糸球体基底膜やメザンギウムの各所に沈着しているのを示唆する所見が得られた。この所見は Heymann 腎炎などの in situ IC 形成機序を介して発症する膜性腎炎とは異なり, CIC の糸球体係蹄壁への沈着により発症することを示唆しているものと考えられた。