

無症候性低分子量蛋白尿症（または先天性近位尿細管機能異常症）の5例

村上俊雄¹⁾、川上初美¹⁾、松山壮一郎²⁾、寺嶋隆則³⁾、辛嶋真如⁴⁾、服部新三郎⁴⁾

¹⁾山口大学小児科、²⁾兵庫県立こども病院、³⁾熊本中央病院、⁴⁾熊本大学小児科

1. 序言

先天性近位尿細管機能異常症 Congenital proximal tubular dysfunction¹⁾ または無症候性低分子量蛋白尿症 Asymptomatic low molecular weight proteinuria²⁾ は、岡田、鈴木らの提唱した新しい疾患である。その特徴は、1)比較的小量の蛋白尿である。2)血尿を伴うことは少ない。3)発育障害はない。4)男性に多い（今までの報告例は男性のみ）。5)小児期では腎機能は正常。6)腎形態異常がない。7)蛋白尿はアルブミンが少なく、尿中 β_2 -ミクログロブリンの著増、尿中リゾチームの出現、セルロース・アセテート膜電気泳動で α -グロブリン分画が高い、SDS-ポリアクリルアミド・ゲル電気泳動で分子量4万以下の分画が高い。

我々は、5名の本疾患患児（2組の兄弟例を含む）を経験したので、5種類の尿中低分子量蛋白のイムノプロット法による同定、それらの生検腎組織内の局在、光顕所見等について述べる。

2. 対象・方法

対象は本疾患患児5名（3歳～11歳）で、いずれも男子である（表1）。患児1と2、患児3と4は各々兄弟である。全例無症候性で3歳時健診または学校検尿で発見された。

血清クレアチニン、血中尿素窒素、血清 β_2 -ミクログロブリン、血清 α_1 -酸性糖蛋白は調べた限りでは正常範囲内だった。尿中 β_2 -ミクログロブリンは全例著増しており、尿中リゾチームの出現があった。尿中N-アセ

チル- β -D-グルコサミニダーゼ活性は患児2を除き上昇していた。排泄性腎盂造影は全例異常を認めなかった。

患児1と2の家族が飲用水としていた井戸水は、Cd, Pb, Cu, Fe, Hg, については許容値以下だった。

SDS-ポリアクリルアミド・ゲル電気泳動各々の患児の尿を10,000 rpmで10分間遠心後、その上清を限外濾過法で濃縮した。その濃縮尿を再び10,000 rpmで10分間遠心し、その上清を2-メルカプトエタノールで還元し、Laemmliの方法³⁾に従い、SDS-ポリアクリルアミド・ゲル(12.5% w/v)電気泳動した。

イムノプロット法による尿蛋白の同定

Jhonstoneらの方法⁴⁾に従った。略述すると、上述のようにSDS-ポリアクリルアミド・ゲル電気泳動した尿蛋白をニトロセルロース膜に電気泳動的に転写した。そのニトロセルロース膜に、 α_1 -酸性糖蛋白、 α_1 -ミクログロブリン、レチノール結合蛋白、リゾチームおよび β_2 -ミクログロブリンの抗血清を各々反応させ、よく洗った後、西洋わさびペロキシダーゼをラベルした2次抗血清を反応させた。よく洗った後、呈色反応を行った。各抗血清の入手元は省略する。

組織学的検査 患児1では経皮的に、患児3, 4, 5では開放性に腎生検を行った。光学顕微鏡の検査および蛍光抗体法は4例全例に、電子顕微鏡の検査は患児1を除いた3例に行った。

同定した蛋白の生検腎組織内分布 患児1と5の生検腎組織を用いて、同定した5種類の蛋白について、間接蛍光抗体法を行った。対照として、軽度の蛋白尿と血尿を有する2名の女子(12歳と7歳)の生検腎組織を用いた。組織学的にはいずれも minor glomerular abnormalities で、蛍光抗体法では傍糸球体部にC₃のみが沈着していた。

3. 成績

SDS-ポリアクリルアミド・ゲル電気泳動 結果は図1に示す。分子量4万以下の蛋白の占める割合は56%~67%だった(表1)。次に述べるイムノブロット法で同定されたレチノール結合蛋白(矢印)の電気泳動速度は患児1と2の2名と他の3名とでは異なっていた。

イムノブロット法による分子量5万以下の尿蛋白の同定 図2に示す如く、調べた5種類の蛋白(α_1 -酸性糖蛋白、 α_1 -ミクログロブリン、レチノール結合蛋白、リゾチームおよび β_2 -ミクログロブリン)はすべて同定し得た。

組織学的検査 結果は表2に示す。患児5では、ごく一部で尿細管上皮細胞の基底膜からの剥離が見られた。

同定した5種類の蛋白の生検腎組織内分布 表3と図3に示す。患児1は2名の対照患者と同様の所見を得たが、その蛍光強度は対照に比し弱かった。

4. 考察

分子量50,000以下の5種類の蛋白をイムノブロット法で同定できた。それらは、 α_1 -酸性糖蛋白(分子量44,000)、 α_1 -ミクログロブリン(分子量33,000)、レチノール結合蛋白(分子量21,000)、リゾチーム(分子量14,000)、 β_2 -ミクログロブリン(分子量11,800)である。本疾患では、尿蛋白のセルロース・アセテート膜電気泳動で α -グロ

ブリン分画が高いが、その α -グロブリン分画を取り出し、SDS-ポリアクリルアミド・ゲル電気泳動することにより、それらは主として、 α_1 -酸性糖蛋白、 α_1 -ミクログロブリン、レチノール結合蛋白の3つから成ることが分かった。現在、これら5種類のうち α_1 -ミクログロブリン、リゾチーム、 β_2 -ミクログロブリンは微量測定法が確立されているが、残りの α_1 -酸性糖蛋白とレチノール結合蛋白とが微量で測定されるようになれば、本疾患の診断は容易となる。

同定した蛋白の腎組織内分布の検索では、患児1では対照と同様の所見を得た。患児5では近位尿細管腔および上皮細胞内に当該蛋白を認めなかったが、遠位尿管以遠の管内円柱には5種類の蛋白を認めた。これらの所見から、本疾患では糸球体で濾過された低分子量蛋白の近位尿細管腔から上皮細胞内への転送が障害されており、その障害度は患者により異なることが考えられる。鈴木ら²⁾は4名の本疾患患者の β_2 -ミクログロブリン・クリアランスが4 ml/min/1.73 m²~37 ml/min/1.73 m²だったと報告しているが、このような患者間の差は上記の考えを支持する。

組織学的検査では、鈴木ら²⁾の報告と異なり4例のうち3例で巣状に尿細管萎縮や糸球体の硬化性病変を認めた。また散在性に管内円柱を認めた。患児5では、ごく一部で尿細管上皮細胞の基底膜からの剥離が見られた。5例のうち4例で、尿中N-アセチル- β -D-グルコサミニダーゼ活性は上昇していた。この4例のうち3例で、上記の組織学的変化を認めた。また本疾患患者では、尿沈渣に多数の円柱を認める。これらを考えあわせると本疾患患者では、尿円柱はできやすく、その円柱による尿細管の閉塞は、場合によっては尿細管の器質的障害や腎機能の悪化をもたらすものと考えられる。事実、患児5では血清クレアチニン値の一過性の上昇(0.5 mg/100 mlから1.2 mg/100 ml)を認めた。

本疾患が進行性であるか否かは、多くの症例の長期観察により明らかとならう。

5. まとめ

先天性近位尿細管機能異常症の5名を報告した。5種類の尿中低分子量蛋白 (α_1 -酸性糖蛋白, α_1 -ミクログロブリン, レチノール結合蛋白, リゾチーム, β_2 -ミクログロブリン) をイムノブロット法で同定した。同定した低分子量蛋白の腎組織内分布の検索から、本疾患では糸球体で濾過された低分子量蛋白の近位尿細管腔から上皮細胞内への転送が障害されており、その障害度は患者により異なることが推測された。組織学的検査では4例のうち3例で巣状に尿細管萎縮や糸球体硬化性病変を認めた。また散在性に管内円柱を認めた。尿中N-アセチル- β -D-グルコサミニダーゼ活性は5例中4例で上昇していた。本疾患は進行性であることが示唆された。

6. 参考文献

- 1) 岡田敏夫, 鈴木好文, 小西徹, 小林収: 小児期尿細管性疾患と蛋白尿, 小児科臨床, 37; 1197-1205, 1984.
- 2) Suzuki Y., Okada T., Higuchi A., Mase D., and Kobayashi O.: Asymptomatic low molecular weight proteinuria: a report on 5 cases. Clin. Nephrol., 23; 249-254, 1985.
- 3) Laemmli U. K.: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T₄. Nature, 227; 680-685, 1970.
- 4) Johnstone A., and Thorpe R.: Immunochemistry in practice. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1982.

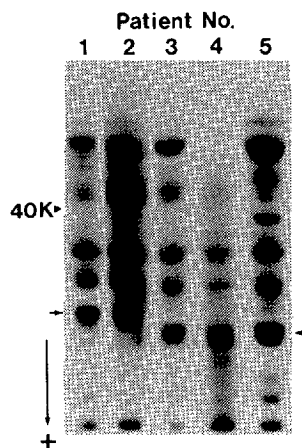


Fig. 1 SDS-polyacrylamide gel electrophoresis of the urinary proteins from the five patients with asymptomatic low molecular weight proteinuria. The electrophoretic mobility of retinol-binding protein from Patients 3-5 (right arrow) was faster than that from Patients 1 and 2 (left arrow). This was due to the degeneration during collection at room temperature of the samples from Patients 3-5.

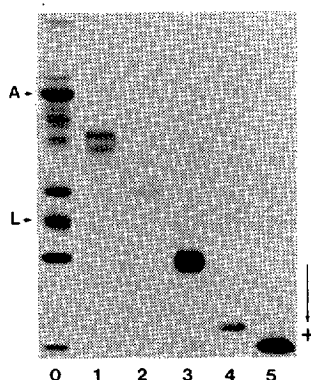


Fig. 2 Western blotting identification of five urinary low molecular weight proteins of Patient 1. 0: urinary proteins electrophoresed on SDS-polyacrylamide gel. A: albumin. L: light chains. 1-5: Western blotting analysis. 1: α_1 -acid glycoprotein, 2: α_1 -microglobulin, 3: retinol-binding protein, 4: lysozyme, and 5: β_2 -microglobulin identified.

Table 1 Laboratory data in patients with asymptomatic LMW proteinuria.

	Patient number				
	1	2	3	4	5
Age (yr)	11	10	7	3	3
Proteinuria (mg/100 ml)	20-120	0-10	40-110	60-140	30-280
Hematuria	-	-	-	-	+++
Glucosuria	-	-	-	-	-
Serum					
Creatinine (mg/100 ml)	1.0	1.0	0.5	0.4	0.5
Blood urea nitrogen (mg/100 ml)	17	11	11	12	16
β_2 -microglobulin (mg/dl)	1.7	1.1	NT	NT	NT
α_1 -acid glycoprotein (mg/100 ml)	46	NT	NT	NT	NT
Urine					
β_2 -microglobulin (μ g/l)	>8,000	>8,000	>8,000	7,800	>8,000
Lysozyme (μ g/ml)	125.7	2.4	82.0	82.2	163.2
N-acetyl-D-glucosaminidase (U/l)	9.6	2.3	18.7	24.2	12.0
Urinary LMW proteins (% of total urinary proteins)	67.0	59.3	62.6	65.8	56.0

LMW, low molecular weight. NT, not tested.

Table 2 Histological findings in renal biopsies.

	Patient number			
	1	3	4	5
Light microscopy				
No. glomeruli screened	19	34	38	44
Minor glomerular abnormalities	19	28	35	41
Global sclerosis	0	5	3	3
Segmental sclerosis	0	1	0	0
Tubules				
Atrophy	-	+	+	+
Intratubular casts	-	+	+	+
Glomerular deposits of IgA, IgG, IgM, C1q, C3, C6 or fibrinogen/fibrin				
No. glomeruli screened	3	5	10	7
Deposits	-	-	-	-
Electron microscopy				
No. glomeruli screened	ND	1/2	1	1
Abnormal findings in				
Glomeruli	-	-	-	-
Proximal tubules	-	-	-	-

ND, not done.

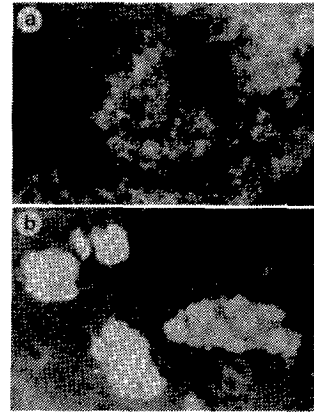


Fig. 3 Indirect immunofluorescence staining of low molecular weight proteins in the renal biopsies. a: Patient 1. Retinol-binding protein in the lumens and epithelial cytoplasm of the proximal tubules. b: Patient 5. α_1 -microglobulin in the casts in the lumens of the distal tubules.

Table 3 LMW-proteins in renal tissue.

LMW-proteins	Proximal tubules								Distal/collecting tubules			
	Lumens				Epithelial cytoplasm				Lumens (casts)			
	pt 1	pt 5	ct 1	ct 2	pt 1	pt 5	ct 1	ct 2	pt 1	pt 5	ct 1	ct 2
α_1 -acid glycoprotein	+	-	-	-	-	-	-	-	no	++		
		++	+			±	-		no	no		
α_1 -microglobulin	+	-	-	-	-	-	-	-	no	+++		
		+++	++			-	±		no	no		
Retinol-binding protein	+++	-	-	-	+++	-	-	-	no	+++		
		+++	++		+++	++			no	no		
Lysozyme	-	-	-	-	-	-	-	-	no	+++		
		±	-		-	-			no	no		
β_2 -microglobulin	+	-	-	-	+	-	-	-	no	++		
		++	++		++	++			no	no		

LMW, low molecular weight. no, no casts.



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



5.まとめ

先天性近位尿細管機能異常症の5名を報告した。5種類の尿中低分子量蛋白(1-酸性糖蛋白, 1-ミクログロブリン, レチノール結合蛋白, リゾチーム, 2-ミクログロブリン)をイムノプロット法で同定した。同定した低分子量蛋白の腎組織内分布の検索から, 本疾患では糸球体で濾過された低分子量蛋白の近位尿細管腔から上皮細胞内への転送が障害されており, その障害度は患者により異なることが推測された。粗織学的検査では4例のうち3例で巣状に尿細管萎縮や糸球体硬化性病変を認めた。また散在性に管内円柱を認めた。尿中N-アセチル-D-グルコサミニダーゼ活性は5例中4例で上昇していた。本疾患は進行性であることが示唆された。