

血清中の補体活性化因子検索の臨床的意義に関する研究

聖マリアンナ医科大学小児科 小坂橋靖, 丸山剛史, 生駒雅昭, 川合志緒子
国立小児病院研究検査科病理 清水興一

目 的

膜性増殖性糸球体腎炎, 溶連菌感染後急性腎炎およびループス腎炎等は, 血清の補体系が腎炎の発症および病状の進展に重要な役割を演じ, 血清補体価の低下が診断および病状把握に役立つことは報告されている。しかし, 血清補体価が低い時, 補体価が過去において活性化され, 現在はその回復の姿をみているのか, あるいは現在も補体活性化が引き続き惹起されているのか, 臨床において迷う所である。また, 血清補体価が正常の下限のとき, 正常なのか, 生体でわずかながら補体の活性化が生じているのか決めかねることも多い。さらに, 血清補体価が正常レベルで糸球体局所にC₃が沈着している症例は, 全身血には反映されない程度のわずかな補体活性化が生じている可能性も推察される。従って, 血清中に補体活性化因子が存在するか否か検索することは臨床的に意義深いと考え, 私共はC₃のC_{3c}へのconversionを交差免疫電気泳動法 (Clarke and Freeman 変法) にて観察することにより, 血清中の補体活性化因子の検索の臨床的意義について検討を行った。

方 法

日大の大井らの方法に準じ, 患者血清を native な状態, 患者血清と正常血清を等量混合し 37°C 30分 preincubation した状態, 患者血清と正常血清を等量混合し EGTA・Mg⁺⁺ 溶液中で 37°C 30分 preincubation した状態, および 56°C 30分と非働化した患者血清と正常血清を等量混合し, 37°C 30分 preincubation した状態のそれぞれの反応血清を泳動することにより, 補体活性化因子

の検出, 補体活性化 pathway の検索および C₃NeF 活性の検索を試みた。

結 果

1. 正常血清の泳動像について (写真1, 2)

正常血清の native な泳動像を写真1の上段に示す。C₃の山のみ認められる。正常血清と 4.0 mg/ml のザイモザン溶液を等量混合し, 37°C で 2分, 5分, 20分と preincubation し泳動したものを下段に示す。C₃の泳動像の陽極側に, つまり C₃の右側に C_{3c}の泳動像があらわれ, conversion の程度は C_{3c}の泳動像の山の高さ, 或はその面積に相関することが窺えた。

正常血清の 37°C 30分 preincubation した状態, EGTA・Mg⁺⁺ 中で 30分 preincubation した状態のそれぞれの泳動像を写真2に示す。37°C 30分 preincubation することにより正常血清も少量ながら C_{3c} への conversion が観察され, さらに EGTA・Mg⁺⁺ 中でも同様の変化が生じることから, 正常血清も native な状態では補体活性化因子は存在しないが, 37°C 30分の incubation により, 少量ながら alternative pathway を介して補体活性化が生じることが確認された。

2. partial lipodystrophy 症例

(表1, 写真3, 4)

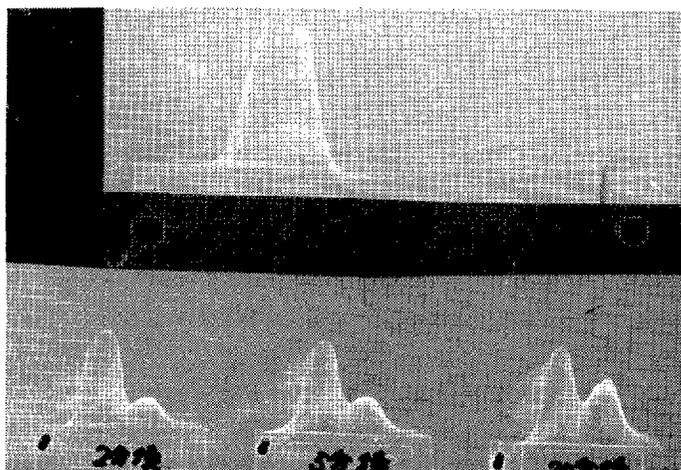
partial lipodystrophy を呈し血清 C₃ 値が常に低く, not detectable な持続性低補体血症の症例 (表1) で, 腎生検病理組織像は diffuse proliferative G.N. mild~moderate であった。本症例の native な状態の血清の泳動像が写真3の上段に示される。C₃の泳動像がわずかに認められ,

C₃の完全欠損は否定された。本症例の血清と正常血清を等量混合し、37°C 30分 preincubation 後の C₃の泳動像が中段に示される。C₃の C_{3c} への明らかな conversion が認められる。下段は本症例の血清と正常血清を等量混合し、EGTA・Mg⁺⁺ 溶液中で、37°C 30分 preincubation し C_{3c} への conversion を観察したものである。Ca⁺⁺の存在しない状態において C₃の大部分が C_{3c} へと

conversion されるのが認められる。つまり、本症例の血清中の C₃ 活性化因子は alternative pathway を活性化することが理解される。

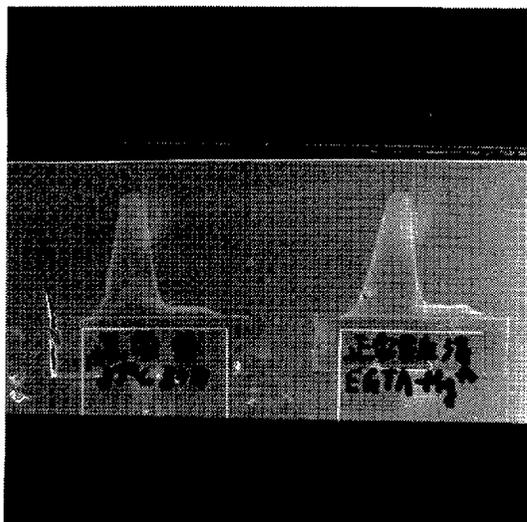
非働化した本症例の血清と正常血清を混合し、37°C 30分 preincubation 後泳動したものを写真 4 に示す。C_{3c} が泳動され、本症例の C₃ 活性化因子は C₃NeF 活性を有することが確認される。尚、同一サンプルの CIC は C₁q-binding assay 法で 5.9 μg/ml であり、その後も低補体血症は持続している。

写真 1 正常血清の泳動像



上段：正常血清の native な泳動像
下段：正常血清と 4.0 mg/dl のザイモザン溶液を等量混合し、37°C 2分、5分、20分と preincubation 後の泳動像

写真 2 正常血清の泳動像



正常血清の 37°C、30分 preincubation 後の泳動像と EGTA・Mg⁺⁺ 中で 37°C、30分 preincubation 後の泳動像

3. 膜性増殖性糸球体腎炎症例 (写真 5, 6)

MPGN 症例で C₃ 10 mg/dl 以下の低補体時期の native な血清の泳動像は、C₃ がわずかに泳動される。本症例の血清と正常血清を 37°C 30分 preincubation し泳動すると、C₃の C_{3c} への conversion が観察され、同一サンプルの CIC は 38.6 μg/ml と異常な高値を示した。本症例の血清と正常血清を等量混合し、EGTA・Mg⁺⁺ 中で 37°C 30分 preincubation し泳動すると、写真 5 の上段に示すように、Ca⁺⁺の存在しない状態において C_{3c} への conversion が確認される。下段は本症例の血清をあらかじめ非働化し、正常血清と等量混合し 37°C 30分 preincubation したもので、C_{3c} への conversion はほとんど確認されない。以上、本症例の血清中には C₃NeF とは異った、alternative pathway を活性化させる C₃ 活性化因子が存在することが窺えた。

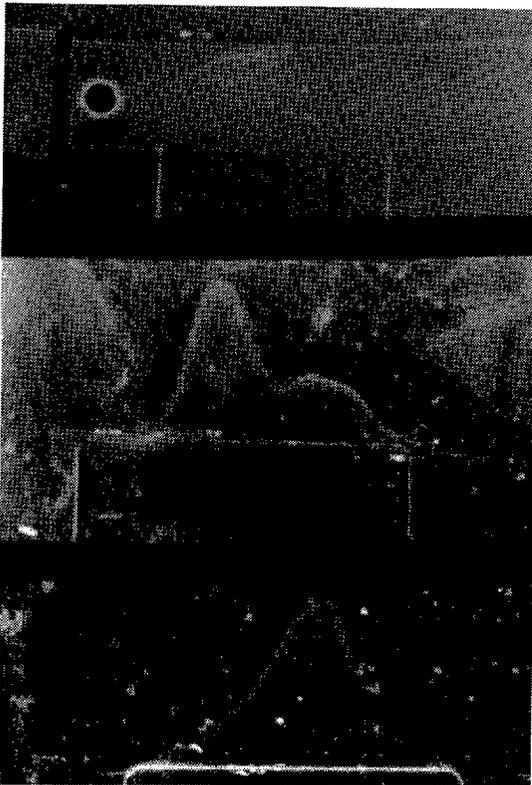
表1 partial lipodystrophy 症例の臨床経過

Case 2 (T.A.), born in 1974, M.

| | 1981 MAR | MAY | SEP | 1982 JAN | MAR | JUR | 1983 JAN | JUL |
|---------------------------------------|-------------|--------|-------|-------------|--------|--------|-------------|--------|
| Serum | | | | | | | | |
| Complement level | | | | | | | | |
| CH ₅₀ CH ₅₀ /ml | | | 8 ↓ | | 8 ↓ | | 13 | |
| C ₃ mg/dl | 12 | 17 | 9 ↓ | 9 ↓ | 9 ↓ | 18 ↓ | 18 ↓ | 18 ↓ |
| U/A | | | | | | | | |
| Protein | + | ± | - | ± | - | ± | + | - |
| Occult | +++ | +++ | ++ | +++ | ++ | - | +++ | +++ |
| Sediment | | | | | | | | |
| RBC | many/ | many/ | many/ | many/ | 20-25/ | 10-15/ | many/ | 20-30/ |
| WBC | many/ | 30-40/ | 7-8/ | 15-20/ | 1/ | 1/ | 3-4/ | 1/ |
| Hyaline Cast | 3/10 | | 1/3-4 | 1/10 | | | 7-8/ | |
| Granular Cast | 2/10 | 5/10 | 3-4/ | 1/3-4 | | | 1/10 | |
| Red Blood Cell Cast | | 1/10 | | | | 2/10 | | 1/10 |
| White blood Cell Cast | | 2/10 | 4/10 | 2/10 | | | | |

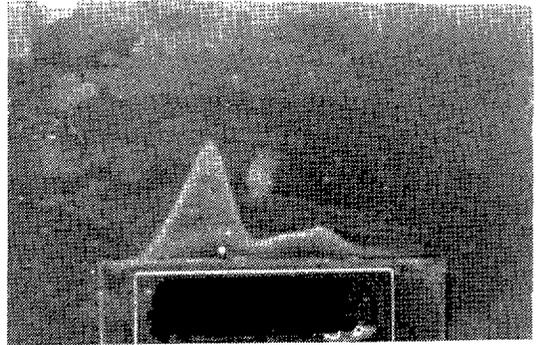
↑
Admission
Renal Biopsy & Detailed
Investigation of Serum Complement
were performed.

写真3 partial lipodystrophy 血清の泳動像



上段：native な血清の泳動像
 中段：本症例の血清と正常血清を等量混合し、37°C
 30分 preincubation 後の泳動像
 下段：本症例の血清と正常血清を等量混合し、EGTA
 ・Mg⁺⁺ 溶液中で37°C 30分 preincubation 後
 の泳動像

写真4 partial lipodystrophy 血清の泳動像

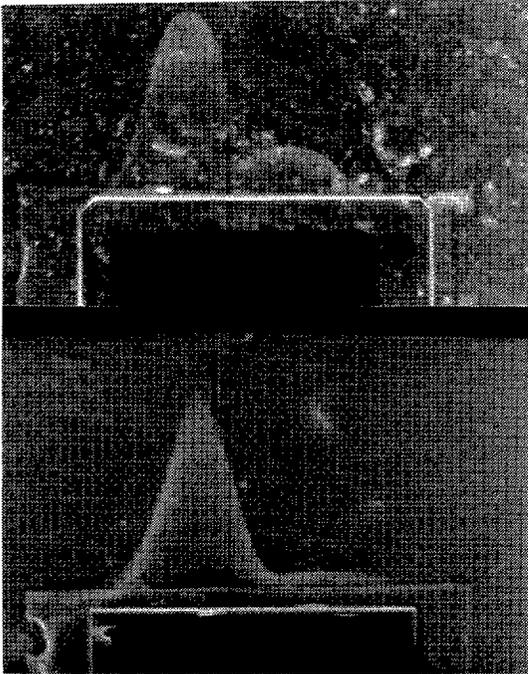


非働化した本症例の血清と正常血清を混合し、37°C
 30分 preincubation 後の泳動像

本症例は2年の経過の後に pulse therapy が施行され、臨床像の改善とともに血清補体価は正常化した。正常化した時点の本症例の血清を37°C 30分 preincubation し泳動すると、conversion はまったく観察されず、同一サンプルのCICは3.5 μg/mlであった。

C₃が正常の50~70%とやや低い、血尿のみの6症例に腎生検が施行され、3症例はMPGN、3症例は沈着なしのminimal changeを認めた。このMPGN 3症例は写真6に示すように、native な血清においていずれも少量ながらC_{3c}へのconversionが観察された。しかし、minimal changeの3症例はいずれもC_{3c}へのconversionは観察

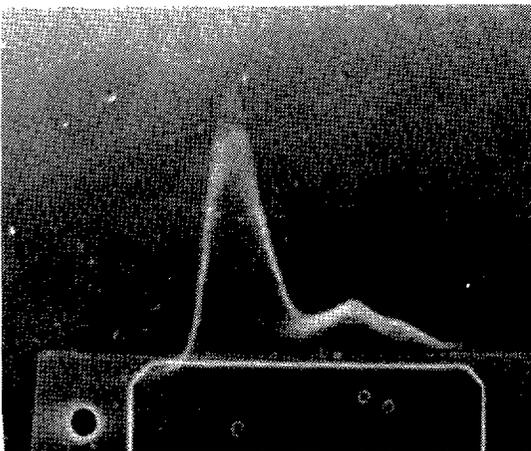
写真5 MPGN 症例の泳動像



上段：本症例の血清と正常血清を等量混合し、EGTA・Mg⁺⁺ 中で 37°C 30分 preincubation 後の泳動像

下段：非働化した本症例の血清と正常血清を等量混合し、37°C 30分 preincubation 後の泳動像

写真6 C₃が正常の50~70%とやや低い症例の泳動像



native な血清の泳動像

されず、C₃がやや低い症例における、native な血清の C_{3c} への conversion の観察は臨床的に意義深いと思われた。

4. ループス腎炎の一症例 (表2, 写真7)

ループス腎炎の女児例で、腎病理組織像は、wire-loop lesion を伴う diffuse proliferative lupus nephritis である。ステロイドによく反応し蛋白尿の減少、抗核抗体、抗 DNA 抗体の陰性化、CH₅₀ および C₃ の正常化を認めたが (表8)、C₄ は持続的に低く1年11ヶ月経過後の現在も C₄ は 2~4 mg/dl と低値がつづく。

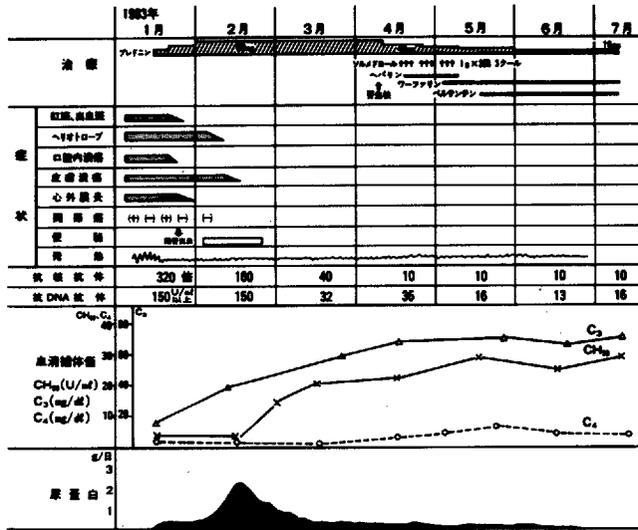
同一症例のステロイド治療前の native な血清の泳動像が写真7の上段に示される。C₃ の C_{3c} への conversion が確認される。本症例の血清を 37°C 30分 preincubation したあとの泳動像が下段に示される。同様に conversion が確認され補体活性化因子の存在が認められた。同一サンプルの CIC は 18.4 μg/ml と高値であった。

同一症例の1年8ヶ月後の泳動像をみると、C₄ のみ持続的に低値で C₃、CH₅₀ 抗核抗体、抗 DNA 抗体は正常化ないし陰性化した時点における泳動像は、native な血清も 37°C 30分 preincubation 後の泳動像もともに、C_{3c} への conversion は認められず、補体活性化因子の消失が窺えた。しかし、同一サンプルの CIC は 12.2 μg/ml と高値を示した。以上、本症例は CIC レベルと補体活性化因子が discrepancy を示し、さらに補体活性化因子が消失し、C₃ が正常化しているにもかかわらず、C₄ が持続的に低いことより、C₄ の partial deficiency の可能性が推察された。

考案およびまとめ

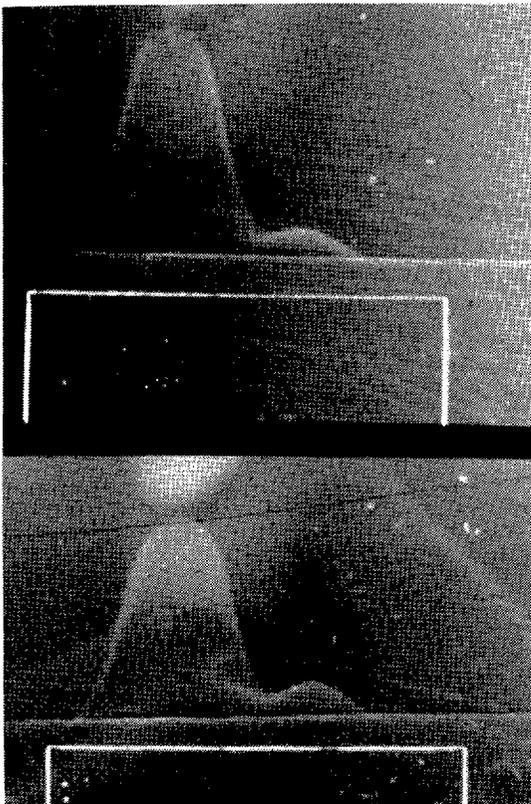
1. 正常血清にザイモザンを加え、incubation time をかえて、in vitro における C₃ conversion を観察すると、conversion の程度に応じた C_{3c} が観察され、C_{3c} の C₃ に対する山の高さ比、或は面積比を求めることにより、C₃ の交差免疫電気泳動法による観察には、ある程度の定量性が存在することが確認された。また、正常血清も 37°C 30分の preincubation により、わずかながら C₃ の

表2 ループス腎炎症例の臨床経過



(浜松赤十字病院小児科田村先生の症例)

写真7 ループス腎炎血清の泳動像



上段：本症例の native な血清の泳動像
 下段：本症例の血清を 37°C 30分 preincubation 後の泳動像

C_{3c}への conversion が惹起されることより、どの程度の conversion が惹起されれば補体活性化因子の存在を考慮するか否かに関しては、今後慎重に検討しなくてはならない。

2. MPGN 10症例中 8 症例に C_{3c}への conversion が認められ、補体活性化因子の存在が確認された。この補体活性化因子の性状は C₃NeF 様活性を有するもの、CIC と思われるものおよび判別のつかないものと、症例により様々であることが推察された。

3. この補体活性化因子は MPGN の臨床像と相関し、臨床像の改善とともに減弱ないし消失を認めた。しかし、補体活性化因子の存在は必ずしも CIC レベルとは相関しない。

4. C₃ が正常の 50~70%とやや低い MPGN 3 症例の native な血清において、すべて C_{3c}への conversion が観察されたことより、尿所見を伴う C₃が正常の下限の症例は、native な血清において、この conversion が確認されれば、MPGN の可能性が高いことが推察された。

5. 最近、MPGN およびループス腎炎症例に、補体成分の partial deficiency を高頻度に伴うことが報告されてきており、私共のループス腎炎の経験より、partial deficiency 診断における血清

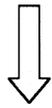
補体活性化因子の検索の意義が確認された。

§ 文献

1) 関 正人, 渡辺静彦, 小島弘之, 栃原啓子, 藤田宜是, 宮地秀尚, 大井洋之, 波多野道信: 腎疾患と補体 第20報, 低補体腎疾患患者血清における補体活

性因子の全国調査, 1 報. 第26回日本腎臓学会総会予稿集; 192, 於 京都, 1983.

2) McLean. R.H. and Winkelstein, J.A.: Genetically determined variation in the complement system: Relationship to disease. J. Pediatr., 105; 179, 1984.



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



目的

膜性増殖性糸球体腎炎, 溶連菌感染後急性腎炎およびループス腎炎等は, 血清の補体系が腎炎の発症および病状の進展に重要な役割を演じ, 血清補体価の低下が診断および病状把握に役立つことは報告されている。しかし, 血清補体価が低い時, 補体価が過去において活性化され, 現在はその回復の姿をみているのか, あるいは現在も補体活性化が引き続き惹起されているのか, 臨床において迷う所である。また, 血清補体価が正常の下限のとき, 正常なのか, 生体でわずかながら補体の活性化が生じているのか決めかねることも多い。さらに, 血清補体価が正常レベルで糸球体局所に C3 が沈着している症例は, 全身血には反映されない程度のわずかな補体活性化が生じている可能性も推察される。従って, 血清中に補体活性化因子が存在するか否か検索することは臨床的に意義深いと考え, 私共は C3 の C3c への conversion を交差免疫電気泳動法(Clarke and Freeman 変法)にて観察することにより, 血清中の補体活性化因子の検索の臨床的意義について検討を行った。