

尿中ウロキナーゼの量的質的検討

小児慢性腎炎の治療法の開発に関する研究 小児慢性腎炎の薬物療法に関する研究

小板橋 靖, 生駒 雅昭, 宮平つね子, 柴若 継雄, 山口 義哉,
目黒 嵩

①尿中UKは生物活性, 免疫活性つまり抗原量ともに腎炎群に高く, 特に活動期に高く腎機能低下群では低かった。②zymographyによる尿中UKの質的分析では, 活動性腎炎群では55Kに半月体形成を伴ったUK活性が認められたが, 100KにはUK-UK-I complexの活性は認められなかった。③尿中UKは腎疾患および病期により量的に変動するとともに, 質的に変化することが確認された。

Urokinase, Urokinase inhibitor, UK-zymography, Kidney diseases

序 言

私共は, これまで, 各種小児腎疾患を対象に尿中ウロキナーゼ活性(UK活性)を測定し, 同一の組織像でも病像により, また, 同一の症例でも病期により, UK活性が量的に変動すると報告してまいりました。今回, UKの量的変動とともに質的变化を検討するため, UK活性のみならずUK抗原量, UKインヒビター活性を測定し, 同時にUK関連蛋白質のzymographyによる解析を行いました。

対象と方法

対象は腎疾患49症例で, その内訳は, 特発性ネフローゼ(INS)のネフローゼ期6症例, その寛解期7症例, IgA腎症10症例, 膜性増殖性腎炎(MPGN)7症例, 紫斑病性腎炎(PN)7症例, 腎機能低下症例(RF)9症例, 増殖性腎炎及びReflux Nephを含めてその他3症例であります。

方法は文献にて示しますように, 尿中ウロキナーゼは3種類の方法で測定されました。つまり, プラスミノゲンリッチのフィブリン平板法を用いてfibrinolytic activity (FA)が, 合成基質S-2444を用いてamidolytic activity (AA)が, さらにウサギ抗

UK抗体をラテックス粒子に感作したUKラテックス法を用いてimmunological activity (IA)がそれぞれ測定されました。また, 尿を水で1晩透析し, SDS-PAGE後, zymographyにより尿中ウロキナーゼの質的検討がなされました。さらに尿中UKインヒビター(UK-I)活性は抗UK-affinityカラムを使用した林らの方法で測定されました。

結 果

1) 尿中UKのfibrinolytic activity(図1)

尿中のUK活性をfibrinolytic activityすなわち線溶活性として, 各種腎疾患毎に検討したものです。正常コントロールの線溶活性は 5.81 ± 4.0 ウロキナーゼ単位/mlで, 各疾患群のそれは, ほぼ正常範囲内で, 腎機能低下群RFでは低く, MPGNの1症例, 増殖性腎炎のスライド中othersの1症例が高値を示しました。

2) 尿中UKのamidolytic activity(図2)

尿中UK活性をamidolytic activityとして各種腎疾患毎に検討したものです。正常コントロールのamidolytic activityは 6.21 ± 3.06 ウロキナーゼ単位/mlで尿中fibrinolytic activityとほぼ一致していました。

聖マリアンナ医科大学 小児科

Yasushi KOITABASHI, Masaaki IKOMA, Tsuneko MIYAHIRA,
Tsuguo SHIBAWAKA, Yoshiya YAMAGUCHI and Takashi MEGURO
Department of Pediatrics, St. Marianna University School of
Medicine.

しかし、各種腎疾患群では先のスライドの fibrinolytic activity のデータと比較して、高値を示す症例が多く、また、腎機能低下群RFでは全体的に低値例が多く観察されました。

3) 尿中UKの immunological activity (図3)

尿中UKを Immunokogical activity, つまりUKの抗原量として検討したものです。腎機能低下群RFを除いて、各種腎疾患群ではコントロールに比較して抗原量の高い症例が多く認められた。

次に、zymography を用いて、ウロキナーゼの質的分析を試みました。

4) 各種腎疾患における尿中UK活性, UK-I活性およびUKの zymography による検討 (図4)

小児腎疾患を特発性ネフローゼ (INS), 活動性腎炎, 非活動性腎炎, 腎機能低下症例の4群に分け上段に示す。尿中UK活性およびUK-I活性と、尿所見, 血液生化学所見とを対比しました。尿中UK活性は, fibrinolytic activity (FA)と amidolytic activity (AA)で表わされています。特発性ネフローゼ (INS)では, FA, AAおよびUK-I活性は左はじのコントロールとほぼ同様に認められています。

しかし、その他の腎疾患群においては、UK-I活性の存在は、非活動性腎炎の1症例を除いて、病像に係わりなく、すべて認められません。

正常コントロールのUKの zymographyのパターンは図4に示されていますように、33Kに low mol UKが、55Kにsingle typeのUKが、100KにUK-UK-I complexが観察されます。

55KのUK活性が最大で、他の正常コントロールも同様のパターンで観察されました。蛋白尿消失時の特発性ネフローゼ (INS)の zymography は、33KのUK活性が最大で、正

図1. 尿中UKの fibrinolytic activity

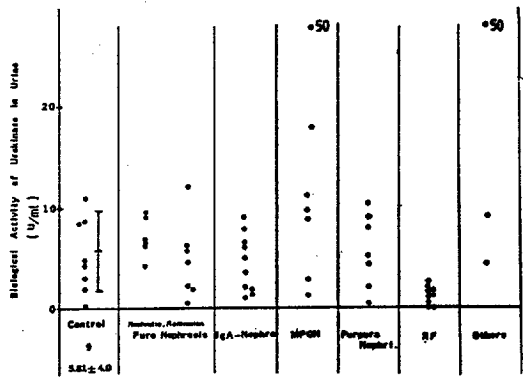


図2. 尿中UKの amidolytic activity

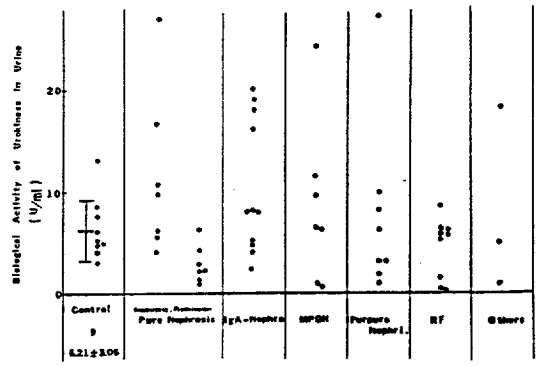
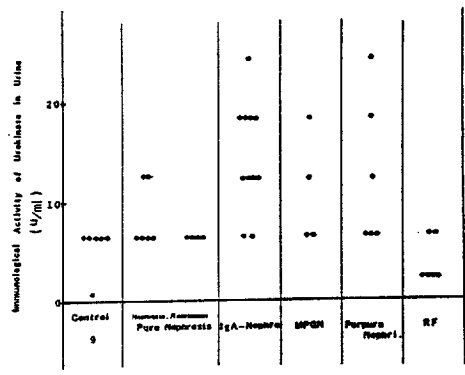


図3. 尿中UKの immunological activity



常パターンとは異なっていました。その他の腎疾患群では55Kに三角印で示す半月体形成を伴ったUKが観察され、特に活動性腎炎グループの症例1,3。腎機能低下グループの症例1,2において顕著でした。一方、55Kに半月体形成が確認できた症例はいずれも100KにUK-UK-I complexの存在は認められませんでした。尚、腎機能低下症例1,2は尿所見もつよく、臨床経過より活動性腎炎と思われました。次に腎機能低下グループ症例1の臨床経過に伴う、zymographyによる尿中UKの質的变化を検討しました。

5) 臨床経過に伴う、UK活性、UK-I活性、UKのzymographyパターンの変動(図5)

症例は肉眼的血尿で発症した12歳女児例で臨床経過より慢性腎炎が疑われました。

発症時BUN 69mg/dl, CRTNN 2.3mg/dlと腎機能低下の状態、尿蛋白(+), 尿潜血(##)で入院後、安静と食事療法により数日で腎機能の正常化、20日目には尿中蛋白の陰性化が認められましたが、血尿が4ヶ月経過した現在もつづいています。症状の改善に伴ってUKのFAは9→18ウロキナーゼ単位/mlに上昇し、UK-I活性も8月12日には出現しています。zymographyの観察では臨床的活動期と思われる8月5日に55Kに半月体形成を伴ったUKの存在がはっきり認められますが、臨床像の回復に伴って半月球は小さくなり12日には消失しています。逆に33Kの所にlow mol UKが経過を追って大きく出現してきております。またこの間、一度も100Kの所にUK-I complexの存在は認められませんでした。

図4. 各種腎疾患における尿中UK活性、UK-I活性、およびUKのzymographyによる検討

cases	Control	I N S			Active Nephritis Gr.			Inactive Nephritis Gr.			Renal Dysfunction Gr.		
		1	2		1	2	3	1	2	3	1	2	3
Urine UK (U/ml)													
FA	9.0	4.4	12.5		9.0	5.0	50.0	4.4	9.0	18.0	9.0	0	1.0>
AA	2.3	3.0	2.3		1.5	9.7	18.8	0.8	0.9	0.7	5.2	9.0	1.5
UK inhibitor	3.2	1.1	7.4		0	0	0	1.6	0	0	0	0	0
FA zymograms													
U/A Prot.	(-)	(±)	(±)		(##)	(+)	(##)	(±)	(-)	(+)	(##)	(##)	(##)
Ocult	(-)	(-)	(-)		(##)	(##)	(##)	(#)	(-)	(-)	(+)	(##)	(+)
Sed.RBC	(-)	(-)	(-)		30~40	20~30	3 0	8~10	3~5	(-)	many	many	6~8
Blood Chemistry													
BUN	14	13	17		20	10	10	20	10	8	53	.54	39
CRTNN	0.6	0.5	0.3		0.6	0.6	0.3	0.9	0.7	0.8	1.6	4.6	2.9
T. Prot.	7.8	6.1	7.8		7.4	7.1	5.6	7.2	6.9	7.5	6.7	6.5	5.7
T. Chol.	142	261	206		150	187	326	200	157	142	127	113	138 (IPO)

考 案

以上の結果をまとめますと

1. 尿中UKは腎疾患で量的変動とともに質的变化が確認されました。
2. 尿中UKは生物活性、免疫活性つまり抗原量ともに腎炎群に高く特に活動期に高く、腎機能低下では低かった。
3. zymographyによる尿中UKの質的分析では、正常尿は33K, 55Kと100KにUK活性が認められ、55Kの活性が最大であった。腎機能低下群を含め腎疾患群は100KのUK-UK-I complexが消失する症例が多かった。活動性と思われる腎炎症例は、たとえ腎機能低下症例でも55Kに半月体形成を伴ったUK活性が認められたが、100KにはUK-UK-I complexの活性は認められなかった。

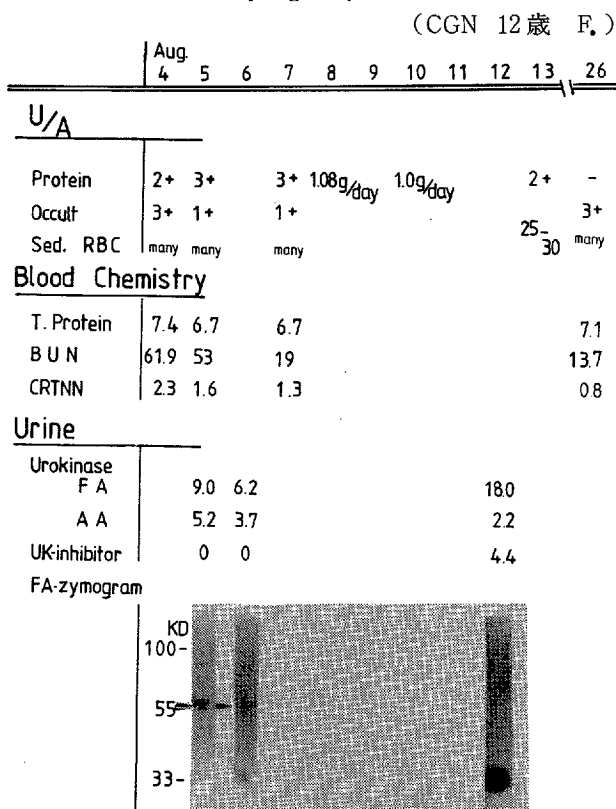
林らがすでに成人例の腎疾患症例において55Kの半月体形成に関して報告しておりますが、single typeのhigh mol UKの近くにUK-inhibitorが泳動されるため、UKが直接UK-inhibitorのinhibitionを受けて半月体が形成されることを示しました。また、この半月体形成と尿中UK-inhibitor活性の存在とは一致した成績がありました。しかし、今回の小児例の検討では、半月体形成症例のほとんどの症例に尿中UK-inhibitor活性の存在は認められず、成人のデータとは異なっておりました。

以上、同一の組織像でも病像により、また、同一の症例にても病期により、尿中UKの量的変動とともに、UKの質的变化の存在することが認められました。

文 献

1) Hayashi, S. and Yamada, K. : Assay of urokinase activity in plasm with a chro-

図5. 臨床経過に伴うUK活性, UK-I活性
UKの zymography パターンの変動



mogenic substrate. *Thromb. Res.* 22: 573 - 578, 1981.

2) Koitabashi, Y., Ikoma, M., Miyahira, T., Shibawaka, T., Maruyama, T. and Mizuhara, H. : Urokinase activity of the urine in various kinds of kidney disease. *Pediatr. Neph.* 1 (1) : 124 - G53, 1987.

3) Hayashi, S. and Yamada, K. : Urokinase-type plasminogen activator in ascites obtained from the patient with mammary cancer. *Thromb. Res.* 38 : 459 - 467, 1985.

4) Hayashi, S. : Zymographic analysis of urokinase, urokinase complexes and urokinase inhibitor (UKI) in urine of kidney diseases. Eighth International Congress on Fibrinolysis, Aug. 1986 (Vienna).



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



尿中 UK は生物活性,免疫活性つまり抗原量ともに腎炎群に高く,特に活動期に高く腎機能低下群では低かった。zymographyによる尿中UKの質的分析では,活動性腎炎群では55Kに半月体形成を伴ったUK活性が認められたが,100KにはUK-UK-I complexの活性は認められなかった。尿中UKは腎疾患および病期により量的に変動するとともに,質的に変化することが確認された。