

各種小児腎疾患の自己抗体の解析

小児慢性腎炎の治療法の開発に関する研究 小児腎炎の病態病理に関する研究

柴田 整一*、名取 泰博*、宮沢 廣文**、山口 正司**

小児期に発症した各種腎炎（IgA腎症、紫斑病性腎炎、巣状糸球体硬化症、微少変化群）を対象として、その患者血清中の、ヒトの腎臓などに対する自己抗体の存在を検討した。その結果、小児期発症IgA腎症の多く及びFGS少数例の血清中に、腎や胎盤の抗原に対するIgG型またはIgM型の自己抗体が検出され、それらの抗体の疾患への関与の可能性が示唆された。

IgA腎症、巣状糸球体硬化症、自己抗体

序 言

ある種の糸球体腎炎では、血清中に自己抗体が検出されることが知られている。その代表的な例として、Goodpasture 症候群の患者血清中には、基底膜 collagen（IV型 collagen）の非 collagen 部分に対する抗体が検出され、その発症の原因と考えられている¹⁾。

最近になって、IgA腎症においてもその血清中に自己抗体が存在することが報告された。Cederholmらは、IgA腎症患者血清中にIV型 collagen に対するIgA抗体を検出し、その臨床経過との対応を議論している²⁾。またNomotoらは、ウシやウサギの組織を抗原とした実験から、IgA腎症患者血清中に、酸性の核蛋白に対する自己抗体を見いだしている³⁾。IgA腎症で見られる自己抗体が、その病態にどう関わっているかはまだ明らかではないが、発症機序解明の糸口として注目されている。

これらの研究の多くは、内科領域の患者を対象としており、小児患者についての研究は少ない。そこで我々は、IgA腎症をはじめとした種々の小児腎炎を対象として、その患者血清中の、ヒトの腎臓などに対する自己抗体の存在を検討した。

対象・方法

小児期に発症し、現在当センター小児科に受診している患者、IgA腎症9例（18～25才、20.8±2.9才）、紫斑病性腎炎7例（6～26才、16.0±7.3才）、FGS11例（14～25才、18.5±3.6才）、微少変化群7例（6～27才、17.0±7.5才）、計34例を対象とした。コントロールとして、風邪などで小児科に受診した患者6名と、正常の成人7名の計13名（4～35才、18.5±10.6才）の血清を用いた。

抗原として次の6種類を用いた。1) ヒト腎糸球体基底膜（GBM）を4℃24時間 pepsin 消化した上清、2) 超音波処理したヒト糸球体からGBMを軽い遠心で除き、超遠心により細胞膜画分（GCM）を集めた後、1% Triton X-100で可溶化した上清、3) ヒト腎尿管膜画分（Fx1A）を1% Triton X-100で可溶化した上清、4) ヒト胎盤基底膜（PIBM）を37℃3時間 trypsin 消化した上清、5) pepsin 消化ウシGBMより精製したIV型 collagen、6) 市販マウス laminin（BRL社）。

抗体の検出は、マイクロプレートを用いた酵素抗体法で行った。種々の抗原（lamininは0.2 μg、その他は1 μg）を含むPBS溶液をウェルにいれ4℃一晩放置してコートし、つい

国立病院医療センター*臨床研究部、**小児科

S. Shibata*, Y. Natori*, H. Miyazawa**, M. Yamaguchi**

National Medical Center, *Clin. Res. Inst. and **Pediatrics

図 1
Serum Immunoglobulins

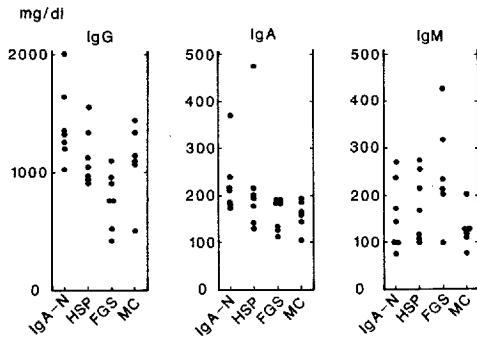


図 2
anti-GBM

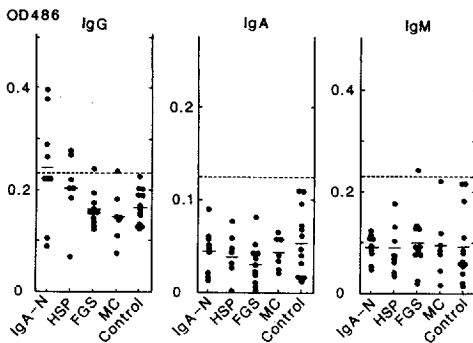


図 3
anti-GCM

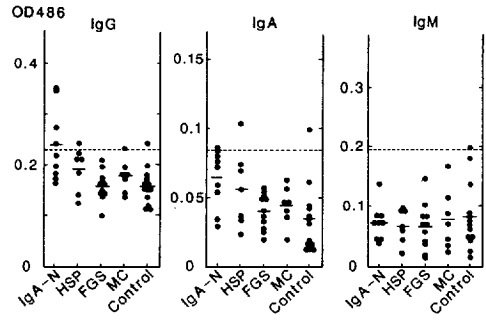
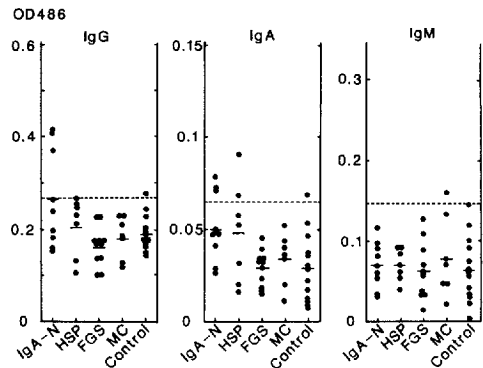


図 4
anti-Fx1A



成績

で被検血清 (200 倍希釈液)、biotin 標識抗ヒト IgG、IgA または IgM (Cappel 社製 IgG 抗体を biotin 化したもの)、peroxidase 標識 streptoavidin (BRL 社製) を順次反応させた後、o-phenylenediamine 基質溶液を加えて発色させ、その吸光度を測定した。

酵素抗体法の吸収実験は、ブランクまたは P1BM、GBM、Fx1A をコートした吸収用ウェルに被検血清 200 倍希釈液 100 μ l を入れて反応する抗体を吸収する操作を 1-3 回繰り返した後、上記の酵素抗体法により残存する抗体価を測定することにより行った。

高速液体クロマトグラフィーは、G3000 SW (東ソー) を用いたゲルろ過法により行った⁴⁾。

血清免疫グロブリン値は、IgG が FGS でやや低めだったほかは、いくつかの症例を除いて疾患間であまり変わらなかった (図 1)。IgA は IgA 腎症で、IgM は FGS では若干高めであった。

GBM に対する抗体は、IgA 腎症で 9 例中 4 例が、紫斑病性腎炎で 7 例中 2 例が、それぞれ高い値を示した (図 2)。IgA、IgM 型の抗体では特にめだつた結果はなかった。GCM に対する抗体価も、GBM の場合とほぼ同じ結果を示した (図 3)。Fx1A を抗原にすると IgA 腎症で IgG 型抗体がやや高いのに加えて、IgA 腎症や HSP で、IgA 型の抗体価も 9 例

図 5
anti-Placental BM

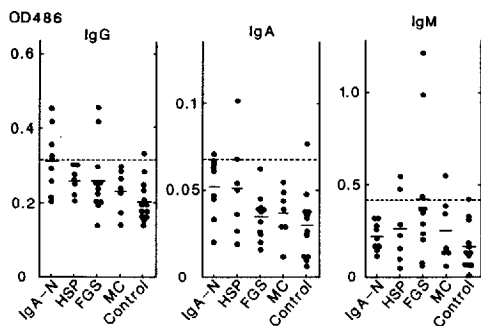
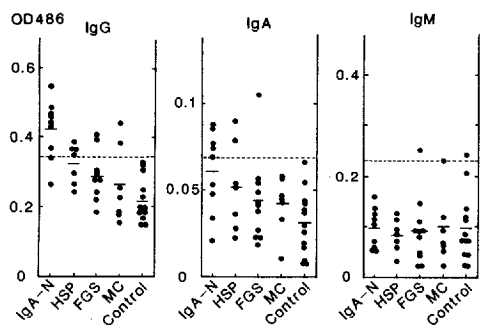


図 6
anti-collagen type IV



中 3 例、7 例中 2 例が、それぞれやや高い値を示した(図 4)。

P1BM に対しては、GBM の場合と同様に IgA 腎症で IgG 型の抗体が高く、9 例中 5 例で上昇していたが、FGS でも IgG で 11 例中 2 例、IgM では 3 例が高く、とくに IgM では高値を示した(図 5)。そのうち 2 例(17 才 ♂ および 17 才 ♀)は、IgG、IgM の両方で抗体価が高かった(後述)。

精製した基底膜抗原として用いたウシ IV 型 collagen では、IgA 腎症の症例の中で、IgG、IgA の抗体が高い例が多く見られ、IgA より IgG で、より顕著な傾向がみられた(図 6)。マウス laminin を用いても、collagen の場合

図 7
anti-laminin

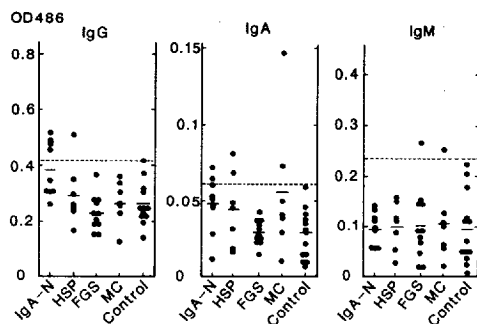
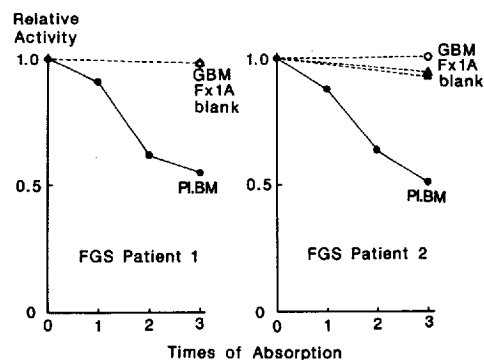


図 8
Absorption of Anti-Placental BM Antibody

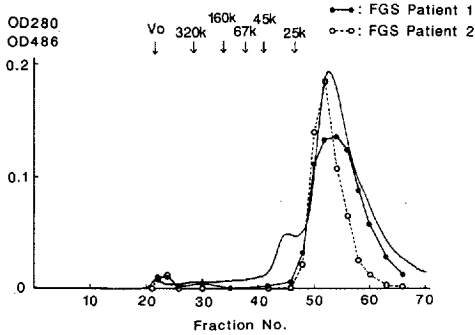


と同様の結果が得られた(図 7)。また微少変化群で、IgA 型の抗 laminin 抗体が高い例がみられた。

以上の結果の中で、FGS 患者血清中の IgM 抗 P1BM 抗体に注目し、特に高い抗体活性を示した 2 例について検討を加えた。酵素抗体法の吸収実験により、その抗原特異性を検討したところ、P1BM でのみ吸収されて、GBM とは交差せず、その特異性が確認された(図 8)。次にこの P1BM 画分を HPLC にかけて、各々の画分を患者血清と反応させ、対応する抗原を検討した(図 9)。その結果、両抗体ともたんば

図 9

Analysis of the Placental BM Antigen by HPLC



くのマインピークの抗原と反応したがそのピーク的位置は若干異なり、一方は前半部に鋭いピークとなり、他方はやや広いピークとなった。基準物質の分子量から、この抗原は分子量約1万前後と計算された。

考 察

小児期発症のIgA腎症においても、抗基底膜抗体、とくに抗collagen抗体が多くの症例で観察された。しかし本研究では、IgAよりもIgG型の抗体が、より顕著に観察され、スウェーデンのグループの報告^{2, 5)}とはやや異なる結果となった。また基底膜ばかりでなく、糸球体や尿管の細胞膜成分に対してもやや高い抗体価が観察された。これについては、その特異性について、今後詳しい検討が必要であろう。

一方、FGSにおいて、IgM抗胎盤基底膜抗体の高い症例が見いだされ、そのうち特に抗体価が高い2例では、IgG型抗胎盤基底膜抗体も有意に高かった。このIgM抗体は、糸球体基底膜とは反応しなかった。FGSにおいては、糸球体にIgMの沈着が観察されることが多く、興味ある知見ではあるが、残りの8例のFGS患者血清ではこの抗体は観察されなかったことなどから、この抗体と疾患との関係についてはまだ不明である。

文 献

- 1) Kefalides N.A.: The Goodpasture antigen and basement membranes. The search must go on. *Lab. Invest.* 56; 1-3, 1987.
- 2) Cederholm B., Wieslander J., Bygren P. and Heinegard D.: Patients with IgA nephropathy have circulating antibasement membrane antibodies reacting with structures common to collagen I, II, and IV. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 83; 6151-6155, 1986.
- 3) Nomoto Y., Suga T., Miura M., Nomoto H., Tomino Y. and Sakai H.: Characterization of an acidic nuclear protein recognized by autoantibodies in sera from patients with IgA nephropathy. *Clin. Exp. Immunol.* 65; 513-519, 1986.
- 4) Natori Y., Hayakawa I. and Shibata S.: Passive Heymann nephritis with acute and severe proteinuria induced by heterologous antibody against renal tubular brush border glycoprotein gp108. *Lab. Invest.* 55; 63-70, 1986.
- 5) Wieslander J., Bygren P. and Heinegard D.: Antiglomerular basement membrane antibody. Antibody specificity in different forms of glomerulonephritis. *Kidney Int.* 23; 855-861, 1983.



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



小児期に発症した各種腎炎(IgA 腎症、紫斑病性腎炎、巣状糸球体硬化症、微小変化群)を対象として、その患者血清中の、ヒトの腎臓などに対する自己抗体の存在を検討した。その結果、小児期発症 IgA 腎症の多く及び FGS 少数例の血清中に、腎や胎盤の抗原に対する IgG 型または IgM 型の自己抗体が検出され、それらの抗体の疾患への関与の可能性が示唆された。