

巣状糸球体硬化症における各種コラーゲンの関与について

小児腎疾患の進行阻止に関する研究 進行阻止に関する免疫・遺伝・病態生化学的研究

牛嶋 正¹，服部新三郎²，松田一郎¹，宇宿源太郎³

巣状糸球体硬化症の硬化過程における各種コラーゲンの関与について検討。半月体形成のない巣状糸球体硬化症では硬化病変が進むに従いⅢ型コラーゲンはメサンギウム・係蹄領域に散在性に出現、その分布はⅥ型コラーゲンよりも弱い。Ⅵ型コラーゲン・ラミニンは硬化部位に増加。Ⅵ型コラーゲンは硬化糸球体において係蹄周囲に強く反応が見られた。以上より巣状糸球体硬化症の硬化病変の進展にはⅣ型・Ⅵ型コラーゲン・ラミニン、特にⅥ型コラーゲンが何等かの役割を果たしている可能性が考えられた。

Ⅲ型コラーゲン，Ⅳ型コラーゲン，Ⅵ型コラーゲン，ラミニン，巣状糸球体硬化

研究方法：検討した症例は、巣状糸球体硬化症 6例(ネフローゼ発症型 3例，無症候性蛋白尿発症型 3例)で、対照群として慢性増殖性腎炎 1例，IgA腎症 2例，紫斑病性腎炎 1例を用いた。検討方法は、パラフィン包埋トリプシン処理連続切片を用い、Ⅲ型・Ⅳ型・Ⅵ型の3種コラーゲン、ラミニンの巣状糸球体硬化症の硬化糸球体内における局在を蛍光抗体間接法にて検討した。用いた方法を表1に示した。

表1. 方法

パラフィン切片による蛍光抗体間接法

1. 組織固定
Duboseque-Brazil 固定液
2. Unmasking
0.1% トリプシン溶液 37°C 60分
3. blocking
4% 正常動物血清
Avidin / Biotin Blocking kit
(Vector laboratories, Inc.)
4. 一次抗体
Ⅲ型コラーゲン マウス単クローン抗体
(和歌山県立医科大学 大島 章教授より供与)
Ⅳ型コラーゲン ウサギ多クローン抗体 (ヒト胎盤由来)
Ⅵ型コラーゲン ウサギ多クローン抗体 (ヒト胎盤由来)
ラミニン ウサギ多クローン抗体 (E.H.S 腫瘍由来)
5. 二次抗体
Goat ビオチン標識ウサギIgG 抗体
Horse ビオチン標識マウスIgG 抗体
(vector laboratories, Inc.)
6. 蛍光標識
ローダミン アビジン
F I T C -アビジン
(E-Y laboratories, Inc.)

組織の固定にはDB固定液を用い、Unmasking はCurrenらの方法¹⁾を用いた。一次抗体は前回報告した抗体を用いた²⁾。各々の抗体は ELISAにて相互に交叉のない

ことを確認した。二次抗体は、ビオチン標識抗IgG抗体を用いた。蛍光標識、ローダミン-アビジンを使用し、一部の症例ではF I T C -アビジンを用いた二重蛍光染色を行った。

結果：巣状糸球体硬化症の組織変化の少ない腎糸球体では、Ⅲ型コラーゲンは糸球体内には認められなかった(図1A)。Ⅳ型・Ⅵ型コラーゲンは、主にメサンギウム領域、一部末梢係蹄領域にも反応がみられ(図1B・C)、ラミニンは主に末梢係蹄領域に線状に認められた(図1D)。これは前回報告した組織変化の少ない糸球体の凍結切片と同様の所見であった。硬化病変の進んだ糸球体では、Ⅳ型コラーゲン・ラミニンは、末梢係蹄領域・メサンギウム領域共に強く反応がみられ、一部の末梢係蹄では基底膜の二重化様の所見も認められた(図2B・D)。これらの糸球体では、Ⅵ型コラーゲンは、正常糸球体では僅かにしか反応しない末梢係蹄領域に強く反応を示していた(図2C)。Ⅲ型コラーゲンは、Ⅵ型コラーゲンと同様の分布でメサンギウム領域・末梢係蹄領域に出現していたが、散在性でありⅥ型コラーゲンに比べその反応は僅

1:熊本大学医学部小児科, 2:熊本大学医療技術短期大学部,

3:熊本大学医学部遺伝医学研究施設発生分化

Tadashi Ushijima¹, Shinzaburo Hattori², Ichiro Matsuda¹, Gentarou Usuku³

かであった(図2 A)。さらに硬化病変が進んだ糸球体では、Ⅳ型・Ⅵ型コラーゲン及びラミニンは、硬化した糸球体全体に強く反応していたが(図3 B・C・D)、Ⅲ型コ

ラーゲンは周囲の間質の強い反応にもかかわらず、糸球体内の反応は僅かであった(図3 A)。

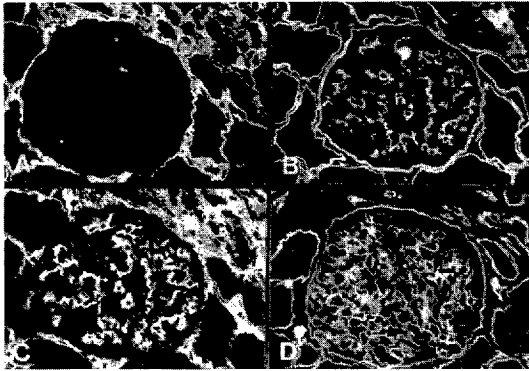


図1. 巣状糸球体硬化症糸球体蛍光所見
組織変化の少ない糸球体の連続切片。
A: Ⅲ型コラーゲン, B: Ⅳ型コラーゲン
C: Ⅵ型コラーゲン, D: ラミニン

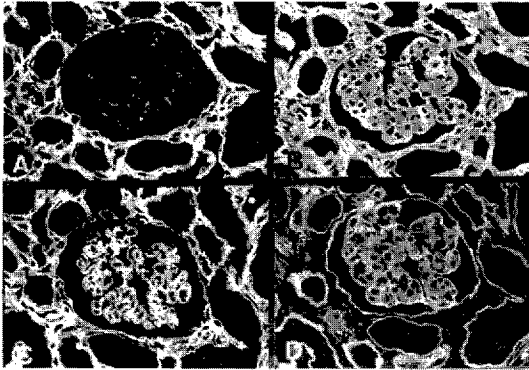


図2. 巣状糸球体硬化症糸球体蛍光所見
硬化糸球体の連続切片。
A: Ⅲ型コラーゲン, B: Ⅳ型コラーゲン
C: Ⅵ型コラーゲン, D: ラミニン

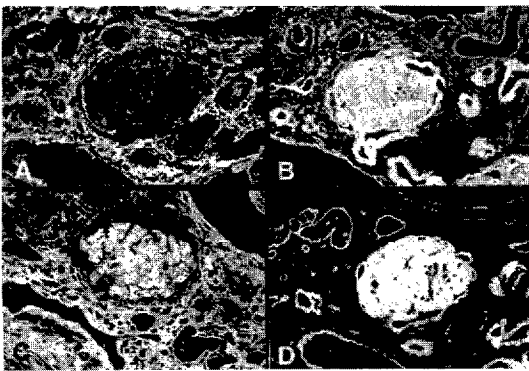


図3. 巣状糸球体硬化症糸球体蛍光所見
図2よりも硬化の進行した糸球体の連続切片。
A: Ⅲ型コラーゲン, B: Ⅳ型コラーゲン
C: Ⅵ型コラーゲン, D: ラミニン

考 察：前回我々は、膜性増殖性糸球体腎炎Ⅰ型及び組織変化が高度なⅠgA腎症・紫斑病性腎炎の腎糸球体内に、正常ではみられないⅢ型コラーゲンが出現していることを報告し、間質型コラーゲンが慢性化機序に関与している可能性を示した²⁾。今回は、糸球体硬化過程におけるコラーゲンの役割を検討する目的で、半月体形成のみられない巣状糸球体硬化症の腎糸球体内における各種コラーゲンの局在を特異抗体を用いて検討した。今回は、各種コラーゲンの局在部位の関係を明確にするためにパラフィン包埋連続切片を用いたが、トリプシン処理にて凍結切片と同様の反応性がみられており、今回用いた方法でコラーゲンの局在を検討することが可能であると考えた。硬化糸球体では、Ⅳ型コラーゲン・ラミニンは、末梢係蹄領域・メサンギウム領域共に強く反応が見られたが、一部の末梢係蹄では基底膜の二重化様の所見も観察された。電顕的には、より進行した巣状硬化部位ではメサンギウム細胞が末梢係蹄壁に進入し、いわゆる circumferential mesangial interposition(CMI)を示すことが報告されており³⁾、基底膜成分であるⅣ型コラーゲン・ラミニンが二重化様の所見を示したことは、このCMIを反映しているものと思われた。また、正常糸球体では係蹄領域には僅かにしか認められないⅥ型コラーゲンが硬化糸球体の係蹄領域に強く反応していた。これは、係蹄壁に進入したメサンギウム細胞がⅥ型コラーゲンを産生し、係蹄壁に沈着していることを示していると思われた。Ⅵ型コラーゲンの糸球体における機能については不明であるが、係蹄壁に強く沈着することにより係蹄壁の柔軟性を障害する可能性もあり、硬化病変の進展にⅥ型コラーゲンが何等かの役割を果たしていることも考えられた。Ⅲ型コラーゲンは、硬化糸球体では、散在性にメサンギウム領

域・末梢係蹄領域に出現していたが、硬化糸球体に半月体形成がみられないことより、これらのⅢ型コラーゲンを産生している細胞は糸球体内細胞、特にメサンギウム細胞であることが示唆された。連続切片及び二重蛍光染色では、Ⅲ型コラーゲンの分布はⅥ型コラーゲンの分布に類似していたが、その程度はⅥ型コラーゲンよりも弱く、またより進行した硬化病変でも周囲間質における強い反応にもかかわらず糸球体内の反応は僅かであったことより、巣状糸球体硬化症の糸球体硬化過程にはⅢ型コラーゲンは必ずしも関与していないことが示唆された。これらの結果より、巣状糸球体硬化症の硬化病変の進展には、間質型コラーゲンであるⅢ型コラーゲンは必ずしも関与しておらず、むしろ正常腎糸球体の構成成分であるⅣ型・Ⅵ型コラーゲン及びラミニン、特にⅥ型コラーゲンが何等かの役割を果たしている可能性が考えられた。

文 献：

- 1) Curren R.C., Gregory J.: Demonstration of immunoglobulin in cryostat and paraffin sections of human tonsil by immunofluorescence and immunoperoxidase techniques. J.Clin.Pathol. 31:974-983, 1978
- 2) 牛嶋 正, 服部新三郎, 松田一郎, 宇宿源太郎: IgA腎症, 紫斑病性腎炎における各種コラーゲンの存在について 厚生省心身障害研究 小児腎疾患の進行阻止と長期管理のシステム化に関する研究. 昭和63年度研究報告書 p14-16, 1989
- 3) 甲田 豊: 糸球体の巣状硬化病変形成過程の電子顕微鏡的観察. 日腎誌 30:313-329, 1988



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



巣状系球体硬化症の硬化過程における各種コラーゲンの関与について検討。半月体形成のない巣状系球体硬化症では硬化病変が進むに従いⅠ型コラーゲンはメサンギウム・係蹄領域に散在性に出現、その分布はⅤⅠ型コラーゲンよりも弱い。ⅤⅠ型コラーゲン・ラミニンは硬化部位に増加。ⅤⅠ型コラーゲンは硬化系球体において係蹄周囲に強く反応が見られた。以上より巣状系球体硬化症の硬化病変の進展にはⅣ型・ⅤⅠ型コラーゲン・ラミニン、特にⅤⅠ型コラーゲンが何等かの役割を果たしている可能性が考えられた。