

GBM およびメサンギウム基質内陰性荷電の検討 —ラットの加齢に伴う変化を中心として—

小児腎疾患の進行阻止に関する研究 逆流性腎症と慢性腎盂腎炎の進行阻止に関する研究

飯高和成, 上田善彦, 倉持祐子, 鷺谷 敦

ラットの加齢に伴うGBMおよびメサンギウム基質内陰性荷電の変化についてPEIを用いて検討した。また、静注法と浸透法の比較検討も行った。GBMでは、加齢に伴い $1\mu\text{m}$ あたりのPEI顆粒の減少がみられ、メサンギウム基質内でも同様に減少していた。陰性荷電の減少は、ラットの加齢に伴い出現する尿蛋白および糸球体硬化の一要因になると推察された。

陰性荷電, PEI, GBM, メサンギウム

序 言

小児期における難治性ネ症の代表的疾患にfocal glomerular sclerosis (FGS) がみられ、その原因は未だ不明である。また、逆流性腎症においても分節状硬化がみられるが、同様に硬化の原因は解明されていない。近年、蛋白尿および糸球体硬化の原因として、糸球体基底膜 (以下GBM) およびメサンギウム基質内の荷電障害が報告されている。しかしながら、加齢による荷電状態の影響についての詳細な検索は行われていない。

そこで、ラットを使用し、加齢に伴う荷電状態についての検索を行い、陰性荷電の変化が正常ラット尿蛋白の増加、ないし分節状硬化に影響を与えるかについて検討した。

対象・方法

生後2W, 1M, 3M, 6M, 12M, 18M齢のSprague-Dawley雄ラットを2匹ずつ用いた。検索方法は、cationic probeとしてpolyethylenimine (PEI) をSchurerら¹⁾の方法に準じて静注法および浸透法にて観察した。電顕写真は26645倍に拡大し、PEI顆粒を画像解析装置にて測定した。GBMでは、 $1\mu\text{m}$ 長さあたりのPEI顆粒数をlamina rara externa (LRE) およびlamina rara interna (LRI) para-

mesangium領域 (PM) について測定し、メサンギウム基質内では、 $0.1\mu\text{m}^2$ あたりの顆粒数の平均値について比較検討を行った。

さらに、GBMの観察では、capillary loopの末梢部 (peripheral), 基部 (proximal) およびparamesangium領域に分けて行い、1例について各々約50領域について測定し、メサンギウム領域では、central region (CM), paramesangial region (PM) およびsubendothelial region (SEM) に分けて観察し、1例について91領域から354領域について測定し、比較検討した。

結 果

[1] GBM陰性荷電の検索

1. LREについて

GBMのPEI浸透法の観察結果では、LREの $1\mu\text{m}$ あたりのPEI顆粒数は、(Table-1)のごとくであり、3領域の中では、paramesangium領域の個数が他領域に比して3M以降わずかに多くみられた。さらに、各領域別の検索では、末梢部で2W 17.95 ± 2.64 から18M 14.11 ± 2.77 と加齢とともにPEI顆粒の減少が認められた。また、基部およびparamesangium領域のいずれにおいてもほぼ同様の減少傾向を示したが、paramesangium領域に比し

飯 高 和 成, 上 田 善 彦, 倉 持 祐 子, 鷺 谷 敦

Kazunari Iidaka, Yoshihiko Ueda, Yuko Kuramochi, Atsushi Sagiya

Dokkyo Univ. School of Medicine Pathology II

て、末梢部および基部が加齢に伴い、わずかに減少程度が高度であった。

PEI静注法の観察結果では、3領域とも一般的に浸透法に比して顆粒数が多く、浸透法と同様に週月齢とともに顆粒数の減少が認められ、末梢部、基部に差はないが、paramesangium領域に比して加齢に伴いPEI顆粒の減少が高度であった (Table-2)。

2. LRIについて

LRIにおける浸透法の観察では、(Table-3) に示すごとく、末梢部で2 W 12.09 ± 2.71 , 18M 5.8 ± 2.2 と加齢とともにPEI顆粒の減少傾向を示し、基部でも同様に減少傾向が認められた。

静注法の観察では、全体的に浸透法に比して顆粒数が多く、加齢とともにわずかながら減少傾向を示していた。浸透法および静注法において末梢部と基部の間に加齢に伴いPEI顆粒の減少率に優位な差は認められなかった。

(2) メサンギウム基質陰性荷電の検索

1. メサンギウム基質全体の陰性荷電

浸透法によるメサンギウム基質全体 (CM, PM, SEM) の $0.1 \mu\text{m}^2$ あたりのPEI顆粒の平均値は (Table-4) に示すごとく、2 W 13.94 ± 2.02 , 18M 9.11 ± 1.86 と減少傾向を示し、6 M以降に統計学的に有意な減少が認められた。静注法に於けるメサンギウム基質全体の検索結果 (Table-5) では、2 W 14.78 ± 7.03 , 1 M 12.59 ± 2.45 , 18M 9.11 ± 2.42 と2 Wから18Mのいずれにおいても有意な減少を認めた。

2. メサンギウム基質各領域の陰性荷電

浸透法によるメサンギウム基質各領域 $0.1 \mu\text{m}^2$ あたりのPEI顆粒の平均値の検索 (Table-6) では、2 WのCM, PM, SEM各領域で、 13.91 ± 2.11 , 13.88 ± 1.70 , 14.00 ± 2.00 , 6 Mで、 10.45 ± 2.26 , 9.78 ± 1.73 , 12.06 ± 1.82 , 18 Mで、 7.92 ± 1.70 , 8.30 ± 1.90 , 9.64 ± 1.66 であり、3領域ともPEI顆粒の減少傾向を示し、とくに、6 M以降では統計学的に有意に減少

を示していた。また、各領域の比較では、2 Wから18MまでのいずれにおいてもSEM領域で他2領域よりも顆粒数が多く、3 M, 6 M, でPM領域が最も少なく、12M以降はCM領域が最も少なかった。

静注法 (Table-7) では、CM領域で2 W 13.62 ± 2.13 , 18M 8.82 ± 2.07 , PM領域で2 W 14.80 ± 1.97 , 18M 7.99 ± 2.06 , SEM領域で2 W 15.40 ± 2.83 , 18M 10.90 ± 2.13 であり、浸透法同様に3領域とも減少傾向を示し、6 M以降はいずれも有意にPEI顆粒の減少がみられた。各領域では、いずれの週月齢でもSEM領域が多く、PM領域が1 M以降で他2領域よりも減少していた。

3. 浸透法と静注法の比較検討

1) メサンギウム基質全体

メサンギウム基質全体では、3 MまでPEI顆粒数にばらつきが認められるが、6 M以降はほぼ同様な顆粒数で、統計学的にも両方法間に有意な差は認められなかった。

2) メサンギウム基質各領域

SEM領域では、静注法が浸透法に比してわずかに顆粒数が多くみられるが、3領域とも著明な相違はなく、とくに、CM, PM領域では6 M以降に浸透法と静注法に統計学的差異は認められなかった。

考 案

ラットにおいては、加齢に伴い尿蛋白の増加がみられ、また、加齢とともにヒトおよびラットにおいても分節状硬化が認められるようになる²⁾。さらに、近年逆流性腎症の確定診断の向上に伴い多数の報告がみられ、分節状硬化の報告も認められている。しかしながら、それら硬化の原因追求においては、hyperfiltration theory 以来多数の報告を認め、陰性荷電の減少³⁾、片腎摘出、高蛋白負荷などのover function, arteial cushionの機能異常などが考えられているが、未だ本態の究明には至っていない。われわれは、腎疾患モデルラットを作製する上で必要な、正常ラット

における糸球体陰性荷電の加齢による影響について検討した。PEI顆粒は、GBMのLREおよびLRIに主としてみられ、わずかにlamina densa内にもみられた。これらのことから、PEI顆粒はheparan sulfate proteoglycan (HSPG)と一致を示すと考えられ、一部膠原線維と結合していると考えられた。画像解析装置によるPEI顆粒の測定結果では、加齢に伴いGBMのPEI顆粒の減少がみられ、尿蛋白増加の一要因になると考えられた。また、加齢に伴いメサンギウム基質の増加およびGBMの肥厚、とくにlamina densaの肥厚がみられ、type IV collagenを中心とする膠原線維の増生と考えられた。それらのことにより、PEI顆粒、ないし陰性荷電のGBM肥厚による相対的減少と考えられた。同様のことは、GBM肥厚を示すストレプトゾトシン (STZ) 糖尿病ラットでも相対的減少が認められている。また、加齢に伴うGBM陰性荷電の減少は、どの部位で最も高度であるかを検索した結果、LRIでは差がなく、LREでは末梢部と基部との間に差はないが、paramesangium領域に比して末梢部および基部で減少傾向が認められた。メサンギウム領域では、加齢とともにPEI顆粒の減少がみられ、これらが高分子物質の取り込み亢進を招き、分節状硬化を来すものと考えられた。以上のことから、ヒト腎糸球体においても陰性荷電の検索には加齢に伴う変化について詳細な検索が必要であると考えられた。

静注法と浸透法の比較検討では、2W、1M、3MまでPEI顆粒数にばらつきが多くみられたが、それら若齢ではメサンギウム基質が乏しく、測定数が少なかったことが原因と考えられた。また、6M以降の浸透法と静注法に統計学的有意差が認められないことから、HSPGを主とする陰性荷電の検討では、両方法のどちらを使用しても有用であると考えられた。

結 語

1. 腎糸球体のGBMおよびメサンギウム基質

における陰性荷電の検索の結果、加齢に伴いPEI顆粒の減少が認められた。

2. GBMでPEI顆粒の減少がみられたが、加齢に伴うGBM肥厚による相対的減少と考えられた。

3. PEI顆粒の減少は、正常ラット尿蛋白増加、および分節状硬化の原因の一要因になると考えられた。

4. 浸透法と静注法では、陰性荷電の検索とくにメサンギウム基質において統計学的にも殆んど差がないと考えられた。

文 献

- Schurer J.W., Kalicharan D., Hoedemaeker P.H. J. and Molenaar I.: The use of polyethyleneimine for demonstration of anionic sites in basement membranes and collagen fibrils. *Cytochem* 26: 688-689, 1978.
- 上田善彦, 石飛文雄, 岡 一雄, 和田尚弘, 飯高和成: 片腎摘出, 片腎無形成および加齢におけるFSHS病変の検討. 第31回日本腎臓学会総会 (ポスター), 1988.
- Ueda Y., Wada N., Hirabayashi K., Ono H. and Iidaka K.: Study of anionic sites on the mesangium in aminonucleoside nephrosis. *Jap J Nephron* 31: 1001-1009, 1989.

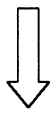
Table 1. Number of PEI particles per $1\mu\text{m}$ in each portion of LRI in aging rat by immersion method

	Periph.	Prox.	Parames.
2W	17.95±2.64	18.18±3.19	18.11±2.90
1M	21.17±2.68	21.60±2.91	18.41±3.04
3M	16.52±2.18	15.83±2.41	18.60±2.57
6M	15.12±2.56	17.32±3.10	18.15±3.16
12M	11.36±3.30	13.26±3.08	14.65±3.21
18M	14.11±2.77	14.36±2.46	16.69±2.76

(mean±S.D.)



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



ラットの加齢に伴う GBM およびメサンギウム基質内陰性荷電の変化について PEI を用いて検討した。また、静注法と浸透法の比較検討も行った。GBM では、加齢に伴い $1\mu\text{m}$ あたりの PEI 顆粒の減少がみられ、メサンギウム基質内でも同様に減少していた。陰性荷電の減少は、ラットの加齢に伴い出現する尿蛋白および糸球体硬化の一要因になると推察された。