

糸球体結節病変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

腎アミロイドーシス・糖尿病性腎症の結節病変における各種コラーゲンの局在を検討した。腎アミロイドーシスではⅢ型・Ⅳ型・Ⅵ型コラーゲン及びラミニンは結節内にはみられなかった。糖尿病性腎症ではⅣ型・Ⅵ型コラーゲン及びラミニンは結節内に増加していたが、Ⅲ型コラーゲンはみられなかった。以上より、両疾患の糸球体内結節は異なる機序で形成され、結節に対する糸球体内細胞の反応も異なっていることが示唆された。

Ⅲ型・Ⅳ型・Ⅵ型コラーゲン，ラミニン，腎アミロイドーシス，糖尿病性腎症

研究方法：我々はこれまで、各種腎疾患とコラーゲンの関係について、1)膜性増殖性腎炎Ⅰ型では、正常糸球体ではみられない間質型コラーゲンであるⅠ型コラーゲン及びⅢ型コラーゲンが早期よりメサンギウム領域に出現し、しかも急性型に比して慢性型において著明に認められること¹⁾。2)IgA腎症・紫斑病性腎炎では、組織変化が高度になるに従い糸球体内に間質型コラーゲンが出現すること²⁾。3)巣状糸球体硬化症では、糸球体硬化病変の進展にはⅢ型コラーゲンよりもメサンギウム基質を構成している成分であるⅣ型コラーゲン・Ⅵ型コラーゲン・ラミニン、特にⅥ型コラーゲンが強く関与していること³⁾、を報告してきた。

一方、腎糸球体に結節性病変を呈する疾患としては、腎アミロイドーシス・糖尿病性腎症などが知られているが、それらの結節病変における各種コラーゲンの局在についてはほとんど知られていない。今回我々は、各種コラーゲンの抗体を用い、結節病変におけるコラーゲンの関与について検討したので報告する。

検討した症例は、腎アミロイドーシス5例(原発性1例・二次性4例)・糖尿病性腎症4例である(表1)。

表1 検討症例

Amyloidosis										
Case	Sex	Age	Type	Disease	Serum A ₁ μ (g/dl)	BUN (mg/dl)	Creat. (1/μ ² /day)	Urinalysis G.S.	Proteinuria (g/dl)	
T.S.	F	65	Primary		3.0	52.1	ND	-	+++	ND
N.U.	M	32	Secondary	Castlemans system	2.2	47.7	ND	++	+++	13
F.K.	M	55	Secondary	Unknown	2.7	16.7	S2	-	+++	5
H.K.	F	44	Secondary	Rheumatoid arthritis	3.1	41.6	38	-	+++	3.2
Y.H.	F	50	Secondary	Rheumatoid arthritis	3.6	8	41.4	-	+++	2.6

Diabetes Mellitus										
Case	Sex	Age	Duration (yrs.)	Serum A ₁ μ (g/dl)	BUN (mg/dl)	Creat. (1/μ ² /day)	Urinalysis Glucose	O.S. Protein	Proteinuria (g/dl)	
N.Y.	M	57	Unknown	3.8	29	27.5	-	+	+++	13
H.B.	M	57	10	3.5	32	41.4	+++	-	+++	5
H.Y.	M	62	10	1.8	18	27.5	+++	-	+++	3.2
Y.H.	F	65	10	4.1	33	30	-	-	+++	2.6

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種コラーゲン及びラミニンの結節病変における局在を蛍光抗体間接法にて検討した。方法は前回の方法を用いた³⁾(表2)。つまり、組織の固定はDB固定液を用い、Unmaskingには0.1%トリプシン溶液を用いた。Blokingには、二次抗体を作製した動物種の正常血清及びVector社製Bloking

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

Kit を用いた。一次抗体は前回報告した抗体を用いた。二次抗体にはビオチン標識抗 IgG 抗体を、蛍光標識には ロータミン・アビジンを使用した。

表2 方法

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 Bloking 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)
V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 (EHS 腫瘍由来)
5. 二次抗体	
Goat ビオチン標識抗ウサギ IgG 抗体	
Horse ビオチン標識抗マウス IgG 抗体	
(vector laboratories, Inc.)	
6. 蛍光標識	
ロータミン・アビジン (E-Y laboratories, Inc.)	

結果：腎アミロイドーシスの腎糸球体内結節部では、III型コラーゲンは結節内にはみられず、結節周囲にわずかに反応を示していた(図1A)。IV型コラーゲンも結節内には認められず、周囲にわずかに反応していた(図1B)。VI型コラーゲンは結節内にはみられず、結節周囲にわずかに反応していた(図1C)。ラミニンは結節内には認められなかった(図1D)。これらの所見は、原発性・続発性アミロイドーシスとも同様であった。

また、今回検討した糖尿病性腎症の腎組織内には、明かな糖尿病性結節性病変はみられず、結節の早期ではないかと思われる部位のみであった。それらの初期の病変と思われる部位では、IV型・VI型コラーゲン及びラミニンは結節状に強い反応がみられた(図2BCD)。III型コラーゲンは、糸球体血管極には反応がみられたが、結節部の反応はみられなかった(図2A)。

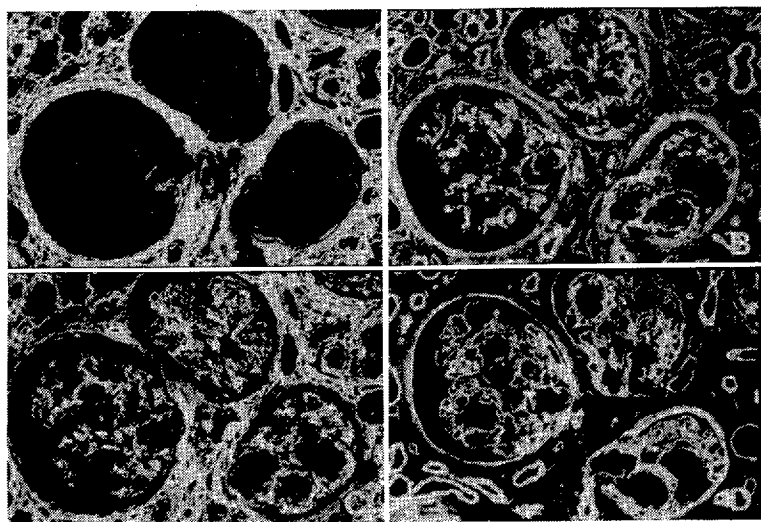


図1 腎アミロイドーシスにおける蛍光所見
A：III型コラーゲン B：IV型コラーゲン
C：VI型コラーゲン D：ラミニン

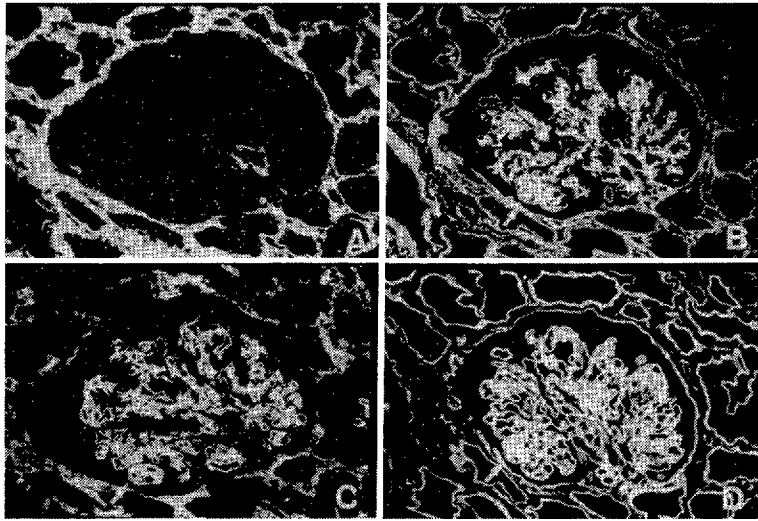


図2 糖尿病性腎症における蛍光所見

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

考案：腎アミロイドーシスはアミロイド細線維を主とするアミロイド物質が腎臓に異常沈着する疾患であり、時に糸球体内に塊状の結節を形成することが知られている。原発性アミロイドーシスでは免疫グロブリン Light chainが、続発性アミロイドーシスでは血清アミロイドA蛋白がその前駆物質であるとされている⁴⁾。今回の各種コラーゲン及びラミニンに対する抗体を用いた検討では、腎アミロイド沈着物はメサンギウム基質成分を含んでおらず、またその周囲にも基質成分は増加していなかった。メサンギウム領域に免疫グロブリンの沈着がみられるIgA腎症・紫斑病性腎炎・膜性増殖性腎炎ではメサンギウム領域の拡大と共にIV型・VI型コラーゲン、ラミニン、ファイブロネクチンの増加が観察されており^{1) 2) 3)}、腎アミロイドーシスにおける細胞外基質の反応はこれらの疾患とは異なっていた。また、この反応は原発性・続発性ともに同様の所見であった。このことは、腎ア

ミロイドーシスでは、その沈着物質は周囲の細胞にコラーゲンなどの細胞外基質成分の産生を促す作用が少ないことが考えられた。

一方、糖尿病性腎症においては、結節部位にIV型・VI型コラーゲン及びラミニンの増加がみられた。今回検討した糖尿病性腎症では免疫グロブリンの沈着はなく、免疫学的機序の関与は少ないと考えられた。このことより、糖尿病性腎症では、IgA腎症・紫斑病性腎炎・膜性増殖性腎炎とは異なり非免疫学的機序により、IV型・VI型コラーゲン・ラミニンなどのメサンギウム基質成分の産生が亢進し結節性病変を形成することがと示唆された。

今回の検討では、腎アミロイドーシスと糖尿病性腎症における結節は異なる機序で形成されることが考えられた。つまり、腎アミロイドーシスでは糸球体内細胞の反応を伴わないアミロイド物質の沈着が、糖尿病性腎症では非免疫学的機序による糸球体

内細胞による細胞外基質の産生亢進が結節形成に参与していることが示唆された。

我々はこれまで各種腎疾患とコラーゲンなどの細胞外基質との関係について特異抗体を用いて検討し、糸球体成分であるIV型コラーゲン・VI型コラーゲン・ラミニン・ファイブロネクチンの増加、正常糸球体ではみられないI型コラーゲン・III型コラーゲンなどの間質型コラーゲンの出現が、腎糸球体病変の進行・慢性化に参与していることを報告してきた。今後さらに、I型コラーゲン・III型プロコラーゲンのcDNAを用いた腎糸球体でのin situ hybridizationを行い腎糸球体における病的な細胞外基質成分の産生細胞を同定しその産生機序を明らかにすることにより、糸球体病変の進行・慢性化の機序を解明する必要があると思われる。

文献

- 1) 服部新三郎, 牛嶋 正, 松田一郎, 宇宿源太郎: 膜性増殖性糸球体腎炎におけるI型, III型膠原線維の存在について. 厚生省心身障害研究 小児慢性腎疾患の予防管理・治療に関する研究. 昭和62年度研究報告書 p116-117, 1988
- 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) 牛嶋 正, 服部新三郎, 松田一郎, 宇宿源太郎: 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. 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. 平成1年度研究報告書 p30-32, 1990

- 4) Karen Mackay, Lilian(Morel-Maroger) Striker, Giuseppe d'Amico, Gary E. Striker: Dysproteinemias and Paraproteinemias. In Renal Pathology with Clinical and Functional Correlations volume II, edited by C. Craig Tisher, Barry M. Brenner: J.B. Lippincott Company p.1363-1416, 1989



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



腎アミロイドーシス・糖尿病性腎症の結節病変における各種コラーゲンの局在を検討した。腎アミロイドーシスでは Ⅰ型・Ⅱ型・Ⅲ型コラーゲン及びラミニンは結節内にはみられなかった。糖尿病性腎症では Ⅰ型・Ⅱ型コラーゲン及びラミニンは結節内に増加していたが、Ⅲ型コラーゲンはみられなかった。以上より、両疾患の糸球体内結節は異なる機序で形成され、結節に対する糸球体内細胞の反応も異なっていることが示唆された。