

# 糸球体内間質型 (I型, III型) コラーゲンとコラーゲン合成酵素 prolyl hydroxylase

## 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

吉岡加寿夫, 東田万智, 竹村 司, 赤野則久, 牧 淳

各種の糸球体腎炎において間質型コラーゲンが糸球体のfibro-scleroticな過程に関与していることがこれまでの研究で明らかになった。本年度の研究では糸球体内の間質型コラーゲンの由来を明らかにする目的で, コラーゲン合成酵素の一つであるプロリン水酸化酵素 (prolyl hydroxylase, PH) の存在を蛍光抗体法, 免疫電顕で検索した。Ⅲ型コラーゲンが糸球体内に陽性を示した各種腎炎 20 例のうち 10 例において, PHが糸球体内の半月体やメサンギウム内に認められた。このことは, 糸球体内の間質型コラーゲンの少なくとも一部は, 糸球体局所で合成, 分泌されていることを示唆する。

糸球体腎炎, 間質型コラーゲン, プロリン水酸化酵素

### 1. 緒言

各種の腎疾患でみられる糸球体の硬化や硝子化には, 細胞外基質成分の量的ならびに質的变化が重要な役割を果たしていると考えられる。我々は, 先に間質型コラーゲンである I 型, Ⅲ型コラーゲンが, 各種腎炎でメサンギウム領域や半月体, 硝子化糸球体内に認められることを報告した<sup>1,2)</sup>。この研究では, 糸球体内の間質型コラーゲンの由来を明らかにする目的で, コラーゲン合成酵素の一つである PH の発現の有無を免疫組織的に検索した。

### 2. 対象と方法

#### 1) 抗体

I 型およびⅢ型コラーゲンに対するモノクローナル抗体は, 和歌山医大病理, 大島章教授より供与されたもの<sup>1,2)</sup>を使用した。また, PHはモノクローナル抗体 (富士薬品) を用いて染色した。蛍光抗体間接法, および免疫電顕<sup>3)</sup> (金コロイド法) にてそれぞれの局在を観察した。

#### 2) 対象

腎疾患患者 20 例で, その内訳は IgA 腎炎 6 例, 紫斑病性腎炎 6 例, 巣状糸球体硬化症 3 例, 膜性増殖性腎炎 2 例, 逆流腎症 2 例, 急速進行性腎炎 1 例であった。また, 腎外傷, 腎腫瘍, 腎結石で摘出された腎組織のうち, 光顕と蛍光抗体法にて異常の認められなかった 4 症例を正常腎として使用した。

### 3. 成績

PH は, 正常腎組織の観察では, 尿管上皮細胞の胞体内に弱く染色されたが, 糸球体内には陰性ないし痕跡程度であった。Ⅲ型コラーゲンが糸球体内 (メサンギウム, 半月体, 硝子化糸球体) に認められた 20 症例 (対象の項に示したもの) のうちの半数に, PH が陽性であった。PH の局在を表に示したが, Ⅲ型コラーゲンの局在とおおむね一致していた。図 1 は, 紫斑病性腎炎例の連続切片での I 型コラーゲン, Ⅲ型コラーゲン, PH の染色像を示す。I 型, Ⅲ型コラーゲンが陽性であった半月体中にこの酵素の発現が認められた。図 2 は, Ⅲ型コラーゲンがメサン

近畿大学医学部小児科

Kazuo Yoshioka, Machi Thoda, Tsukasa Takemura,  
Nori-hisa Akano, Sunao Maki

Department of Pediatrics, Kinki University School of Medicine

ギウム内に強く染色された膜性増殖性腎炎の例で、PHが糸球体内の細胞に認められ、また、一部の尿細管上皮細胞にも強く発現していた。この症例の免疫電顕での観察では、糸球体内のメサンギウム細胞と上皮細胞の胞体内にPHが認められた。

#### 4. 考察

糸球体の器質化には正常な状態で糸球体に存在する細胞外基質—IV型コラーゲン、ラミニン、フィブロネクチン、等—がきわめて重要な役割を果たしている<sup>4)</sup>が、それに加えて、正常では糸球体中に見られない間質型コラーゲンの役割も無視できないと考えられる<sup>1,2)</sup>。Ⅲ型コラーゲンのメサンギウムへの出現は、メサンギウム基質の拡大と平行しており、またI型コラーゲンはⅢ型よりも出現の頻度は低く、量的にも少ないものの、糸球体の不可逆的器質化に関与していると考えられる。メサンギウムになぜ間質型コラーゲンが出現するのかについては、間質からの流入と糸球体細胞自身による合成とが考えられる。今回のコラーゲン合成酵素の検討から、糸球体内の間質型コラーゲンには、糸球体自身の細胞によって合成されたものがあることが明らかになった。最近の動物実験の報告においても、passive Heymann腎炎でI型コラーゲンの $\alpha_1$  chain geneの発現が糸球体上皮細胞でみられており、また、抗メサンギウム抗体による腎炎やアミノヌクレオシド腎症の糸球体内に間質型コラーゲンの存在が認められている<sup>5,6)</sup>。さらに、これらコラーゲンのmRNAの発現も証明されている。糸球体障害の過程で、糸球体細胞が正常と異なるmatrix成分を産生、分泌しう

ると考えられ、同じような機序がヒト腎炎でもおこっていることを我々の成績は示唆している。

#### 文献

- 1) Yoshioka K, Takemura T, Thoda M, Akano N, Miyamoto H, Ooshima A, Maki S: Glomerular localization of type III collagen in human kidney disease. *Kidney Int*, 35:1203-1211, 1989
- 2) Yoshioka K, Thoda M, Takemura T, Akano N, Matsubara K, Ooshima A, Maki S: Distribution of type I collagen in human kidney diseases in comparison with type III collagen. *J. Pathol*, 162:141-148, 1990
- 3) Yoshioka K, Takemura T, Murakami K, Akano N, Matsubara K, Aya N, Maki S: Identification and localization of epidermal growth factor and its receptor in the human glomerulus. *Lab Invest*, 63:189-196, 1990
- 4) Yoshioka K, Takemura T, Matsubara K, Miyamoto H, Akano N, Maki S: Immunohistochemical studies of reflux nephropathy: The role of extracellular matrix, membrane attack complex and immune cells in glomerular sclerosis. *Am J Pathol*, 129:223-231, 1987
- 5) Salant DJ, Fogel MA, Natori Y, Minto AW, O'meara YM,

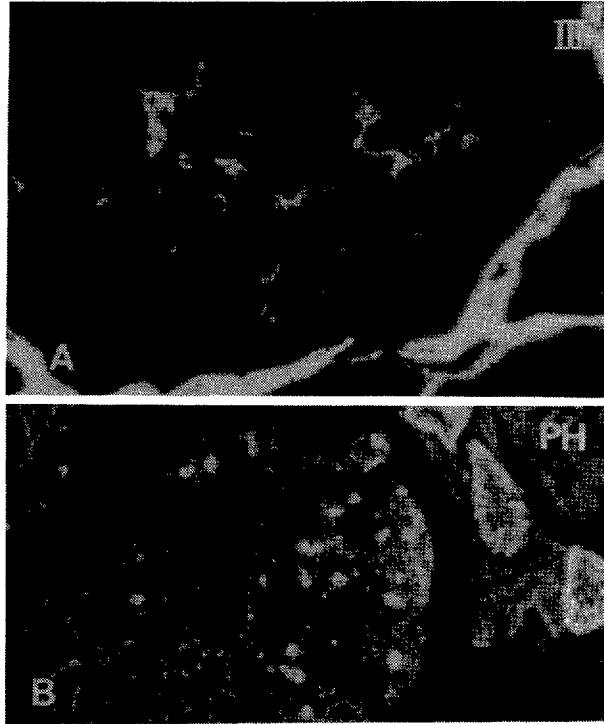


図2) 膜性増殖性腎炎での糸球体中のⅢ型コラーゲン (A) とプロリン水酸化酵素 (B) の観察

表) Glomerular localization of prolyl hydroxylase in human kidney disease

	No. of patient PH (+) / Total	Localization		
		Mesangium	Crescents	Sclerosis
IgA N	2/6	1	1	
HSPN	3/6	3	1	
FGS	1/3			1
MPGN	2/2	2		
Reflux N	1/2	1		
RPGN	1/1	1	1	
Total	10/20	8	3	1

Abramson DR, Smith B: Expression of type I collagen mRNA in glomeruli of rats with passive Heymann nephritis (PHN). JASN 1:554, 1990

6) Ebihara I, Nakamura T, Suzuki S, Tomino Y, Koide H: Altered expression of matrix genes in glomeruli with focal glomerular sclerosis (FGS). JASN 1:549, 1990

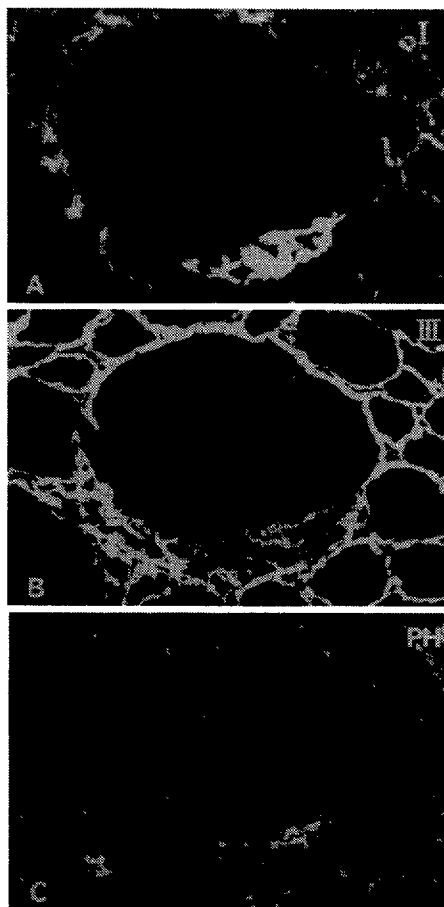


図1) 半月体中のI型コラーゲン(A), III型コラーゲン(B), プロリン水酸化酵素(C)の蛍光抗体法による観察(紫斑病性腎炎の症例)



## 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



各種の糸球体腎炎において間質型コラーゲンが糸球体の fibro-sclerotic な過程に関与していることがこれまでの研究で明らかになった。本年度の研究では糸球体内の間質型コラーゲンの由来を明らかにする目的で、コラーゲン合成酵素の一つであるプロリン水酸化酵素 (prolyl hydroxylase, PH) の存在を蛍光抗体法, 免疫電顕で検索した。Ⅲ型コラーゲンが糸球体内に陽性を示した各種腎炎 20 例のうち 10 例において, PH が糸球体内の半月体やメサンギウム内に認められた。このことは, 糸球体内の間質型コラーゲンの少なくとも一部は, 糸球体局所で合成, 分泌されていることを示唆する。