

# 逆流性腎症と慢性腎盂腎炎に関する研究

## 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

牧 淳, 宮田 曠, 山本 隆, 木下智弘, 森口直彦, 藤山忠清,  
金崎光治, 片岡 知, 松井甲三, 道簾 巖

尿路感染症惹起性大腸菌には特定の限られたクローン株があり, これらのクローン株は組織障害性(瘢痕形成)が強い。一方, 生理的に尿中に排泄されるTamm-Horsfall glycoprotein (THGP) に対するモノクローナル抗体による検査で, 尿の腎内逆流が考えられない対照腎の, 光顯的にも正常な糸球体ボウマン嚢に接した部分にも epitope が認められ, 従来, 逆流性腎症の発病機序の一つと推定されてきた THGP の自己免疫による組織障害(瘢痕形成)は考え難い。しかし, THGP と尿細管性蛋白の一種である尿中 free light chains とは非免疫学的結合が認められ, この結合が腎尿細管の閉塞ひいては瘢痕形成を促進することが推察された。

大腸菌, Tamm-Horsfall glycoprotein, free light chain

はじめに

逆流性腎症は予後不良な疾患であり, その発病予防は発病要因の一つと考えられている慢性腎盂腎炎の治療とともに小児期腎・尿路疾患対策の重要な問題となっている。しかし, その発病機序については未だ不明である。そこで, 本論文では, 以下の3点についての検討, すなわち,

(1) 尿路感染症の原因菌として最も多く検出される大腸菌の諸抗原と, 腎盂腎炎の惹起や病巣拡大との関係

(2) 逆流性腎症発病の一因ではないかと考えられている Tamm-Horsfall glycoprotein (THGP) の役割

(3) 尿蛋白組成からの逆流性腎症や慢性腎盂腎炎の病因解析

についての検討結果を報告する。

研究対象ならびに方法

対象となった尿路感染症患者は全て本院で入院加療を受けた各種尿路感染症患者である。

大腸菌の検出は, 既報<sup>1)</sup>の通り, VITEK system で行い, P-線毛の検出は教室で作成したモノクローナル抗

体を用いた蛍光抗体法により行った<sup>1)</sup>。大腸菌の O1, O2, O4, O6, O75 の O-抗原性 (Pyelonephritopathogenic O-antigen; PNP-O) ならびに K1 抗原性はそれぞれの特異抗血清 (Difco Lab) による菌体凝集反応法により検討した。

大腸菌の O-, K-抗原の抽出は Bolanos & Dewitt の方法<sup>2)</sup>により行なった。

THGP の分離は Dawnay ら<sup>3)</sup>の方法による塩析法を用いた。モノクローナル抗体の作成は PAI-myeloma cell と THGP 感作マウス脾細胞との融合法により既報<sup>1)</sup>の通り作成した。

尿中 free light chain (FLC) は Mono Q カラム, sephadex G100 superfine を用いて myeloma 患者の pooled urine から分離精製し, dot-immunobinding 法<sup>4)</sup>により定量した。

結果

P-線毛陽性大腸菌は急性あるいは反復性腎盂腎炎例から多く検出され, K1 陽性大腸菌も急性腎盂腎炎から多く検出された。一方, PNP-O 抗原陽性大腸菌は, さまざまな病型の尿路感染症

※近畿大学医学部小児科学教室

Sunao Maki, Hiroshi Miyata, Takashi Yamamoto, Tomohiro Kinoshita, Naohiko Moriguchi, Tadakio Fujiyama, Mitsuharu Kanazaki, Satoru Kataoka, Kozo Matsui, Iwao Michihata  
Dept. of Pediatr. Kinki Univ. School of Medicine

から分離され、とりわけ慢性型の腎盂腎炎例に多く認められた(表1)。しかし、これらの抗原型と膀胱尿管逆流現象(VUR)の有無とは有意な相関性が認められなかった。

O抗原の好中球の活性酸素産生刺激性をみると、phorbol-myristate-acetate(PMA)を刺激物としたときに比べて、ルミノール依存性Chemiluminescence(CL)のピークは早く出現しており、PMAとは異なった機序により刺激していると考えられた。また、O1, O6, O44, O75の抗原によるCL値はO1, O44で大きく、標準株からのO14より明らかに強い刺激性が認められた。しかし、K1抗原には好中球の活性酸素刺激性は認められず、K7, K74でも同様であった。O14 K7, O44 K74, O1 K1, O2 K1の大腸菌の好中球への貪食率ではO1 K1が有意に低く、尿路感染症原因菌のO1 K1には好中球への貪食に抵抗性が認められた。

THGPに対するモノクローナル抗体を作成したところ6種のhybridomaが得られたが、タンニン酸処理赤血球を用いたinhibition assayでは、各々のhybridomaは4種の異なったepitopeを認識していた。minimal change nephrosisで間質病変を認めず、refluxや尿路感染症の合併を認めなかった生検腎や腫瘍のために摘出された対照腎の、光顕的にも正常な部位を用いて、THGPに対するモノクローナル抗体で蛍光染色したところ、いずれのモノクローナル抗体も尿細管細胞も染色した。しかし、一種のモノクローナル抗体では尿細管細胞以外に、ホウマン嚢に接した部分にも抗体と反応する蛍光が認められた(写真1)。

尿路感染症患者尿中にはFLC、 $\beta_2$ -

microglobulin、N-acetyl glucosaminidase(NAG)など種々な尿細管性蛋白排泄の増加が認められた。しかし、FLCはVURの手術的治療後や感染症の治癒後も長期間にわたって多量の排泄が認められた。VUR例の腎皮質の癥痕化の程度をSmellieの分類により4段階に分類し、癥痕の程度に応じて1~4点までのスコアを定め、左右腎のスコアの合計点を求めた。このスコアの合計点と尿中FLC量とは正の相関が認められ、癥痕の高度なものほどスコアが大きかった。等電点電気泳動やSDS-ゲル電気泳動の分析ではTHGPはpI 3.25, mw 90 kD, FLCはpI 5.55~6.15, mw 26 kDとpIに差異がみられたので、microenzyme immunoassay法を利用して、両蛋白の非免疫的結合性を検討したところ、FLCとTHGPとはdose dependentに結合した。

#### 考 察

今回の尿路感染症分離大腸菌の分析結果から、P線毛保有大腸菌は腎盂腎炎のinitiatorとして重要であり、腎盂腎炎惹起性O抗原は活性酸素刺激性が強く、本症の慢性化ならびに組織障害性(癥痕形成)に重要な因子となっていることが推察された。一方、K抗原は好中球の貪食に抵抗を示すことも確認された。したがって、これらの特定の抗原を有した一定のクローン株が腎盂腎炎の発病ならびに慢性化に関与していることが推察された。

また、THGPに対するモノクローナル抗体による分析結果から、逆流性腎症の発病機序としてMcGivenら<sup>5)</sup>のTHGPの間質内へのback flowによる障害説やFasthら<sup>6)</sup>の自己免疫による障害説には疑問のあることが明らかに

なった。

また、逆流性腎症例の尿蛋白分析の結果から、FLCとTHGPとは非免疫的に結合することが証明されたが、このようなTHGPの非免疫的結合についてはSchachnerら<sup>7)</sup>も菌体蛋白との間に認めている。

逆流性腎症への進展は、このように、特定の菌による強い組織障害(慢性腎盂腎炎)と、生理的に存在するTHGPの特異な物理化学的性質による尿管内閉塞が加わって癥痕が拡大されることが一因ではないかと推察された。

### 文 献

- 1) 宮田曠, 他: 日本小児科学会誌 93:1305, 1989
- 2) Bolanos, R. and Dewitt, C.W.: J. Bact. 91:987, 1966
- 3) Downay, A. et al: Biochem. J. 185:679, 1980
- 4) Miyata, H. et al: Acta Pediatr. Jpn. 29:727, 1987
- 5) McGiven, A. R. et al: J. Clin. Path. 31:620, 1978
- 6) Fasth, A. et al: J. Pediatr. 95:54, 1979
- 7) Schchner, M. S. et al: Kidney Int. 31:77, 1987

表1. 各種尿路感染症から分離された大腸菌の抗原性

The clinical diagnosis and the numbers of the phenotypes of Escherichia coli

Diagnosis	PAP-pili		PNP-O			K 1		
	pos	neg	pos	neg	n.e.	pos	neg	n.e.
Acute pyelonephritis	10**	6	8*	7	1	5*	11	0
Recurrent pyelonephritis	6**	3	3	4	2	1	7	1
Acute cystitis	1	7	4*	2	2	2	6	0
Chronic pyelonephritis	1	7	6**	2	0	0	8	0
Non specific urinary tract infections	2	14	4	6	6	3	11	2
Asymptomatic bacteriuria	3	17	10**	8	2	1	19	0
Control patients	3	28	4	23	4	1	29	1

Numbers were indicated those of strains.  
pos: positive, neg: negative, n.e.: not examined.  
\*\* indicated  $p < 0.01$  and \* indicated  $p < 0.05$  from controls.

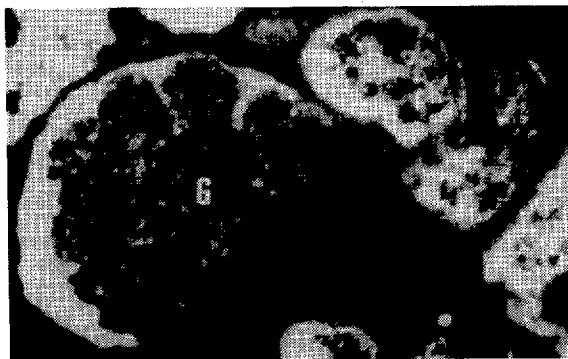


写真1. 腫瘍のために摘出された対照腎の、光顯的にも正常な部位の、THGPに対するモノクローナル抗体による蛍光染色 ×400  
尿管細胞のほか、ボーマン嚢に接した部分にも抗体と反応する蛍光が認められた。



## 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



尿路感染症惹起性大腸菌には特定の限られたクローン株があり、これらのクローン株は組織障害性(瘢痕形成)が強い。一方、生理的に尿中に排泄される Tamm-Horsfall glyco-reotein(THGP)に対するモノクローナル抗体による検査で、尿の腎内逆流が考えられない対照腎の、光顕的にも正常な糸球体ボウマン嚢に接した部分にも epitope が認められ、従来、逆流性腎症の発病機序の一つと推定されてきた THGP の自己免疫による組織障害(瘢痕形成)は考え難い。しかし、THGP と尿細管性蛋白の一種である尿中 free light chains とは非免疫学的結合が認められ、この結合が腎尿細管の閉塞ひいては瘢痕形成を促進することが推察された。