

小児 I 型膜性増殖性糸球体腎炎における血中 Terminal Complement Complex の病態的意義

小林 靖明*¹ 長谷川 理*² 本田 雅敬*³

Clinical significance of the terminal complement complex in children with type I membranoproliferative glomerulonephritis

Yasuaki KOBAYASHI*¹, Osamu HASEGAWA*², and Masataka HONDA*³

*¹Division of Pediatrics, Ohtawara Red Cross Hospital, Tochigi, *²Department of Nephrology, Nishikubo Hospital, *³Tokyo Metropolitan Hachioji Children's Hospital, Tokyo, Japan

We measured the concentrations of terminal complement complex (TCC) in plasma (n=25) and urine (n=13) using an enzyme-linked immunosorbent assay in pediatric patients with type I membranoproliferative glomerulonephritis (MPGN). Frozen tissue from 18 renal biopsies was evaluated for the presence of TCC by direct immunoperoxidase staining. In the acute phase of the disease, TCC concentrations in plasma were elevated above 0.5 AU/ml in 14 of 25 patients (High TCC group), while the remaining 11 patients showed less than 0.5 AU/ml (Low TCC group). In the High TCC group, TCC was deposited more diffusely and intensely in the glomerulus, compared to that in the Low TCC group (p=0.034). Furthermore, urinary TCC concentrations in the High TCC group were higher than those in the Low TCC group (p=0.0001). The High TCC group showed not only a poorer response to steroid treatment, but also a poorer prognosis than the Low TCC group.

These results suggest that, in pediatric patients with type I MPGN, TCC in circulation may play a certain role in TCC formation in the glomerulus and in urine. The TCC concentration in plasma could be used as a marker of responsiveness to steroid treatment and long-term prognosis.

Jpn J Nephrol 2004 ; 46 : 419-425.

Key words : membranoproliferative glomerulonephritis, terminal complement complex, membrane attack complex, enzyme-linked immunosorbent assay

緒 言

I 型膜性増殖性糸球体腎炎 (Type I membranoproliferative glomerulonephritis : type I MPGN) は組織学的に糸球体糸球壁のびまん性肥厚, メサングウム細胞の増殖およびメサングウム基質の増加を伴い, 血清学的に C3 の持続的な低値を特徴とする原発性糸球体腎炎である。腎の免疫組織学的所見では C3, 免疫グロブリンなどの沈着がさまざまな程度に見られる。したがって, その病態には免疫複合体の関与とともに, 持続的な低 C3 血症を伴うことで示

される補体の活性化が重要な役割を果たしていると考えられている。Hasegawa ら¹⁾は type I MPGN 32 例の検討を行い, ステロイド剤 (以下, ス剤) に不応であった 12 例の血清 C5 値はス剤に反応を示した 20 例に比べ有意に低値であり, さらに血清 C5 低値例は血清補体後期反応成分も低値で長期的にも尿所見の改善がよくなかったことを報告した。また大井ら²⁾は, MPGN のうち持続的低 C3 血症でしかも低 C5 血症が持続した症例では, 治療に反応せず予後不良のものがあったと報告した。しかし今日なお, C5 以降の補体後期反応成分あるいは補体終末産物 (terminal

*¹ 大田原赤十字病院小児科, *² 西窪病院腎センター, *³ 都立八王子小児病院

(平成 16 年 4 月 23 日受理)

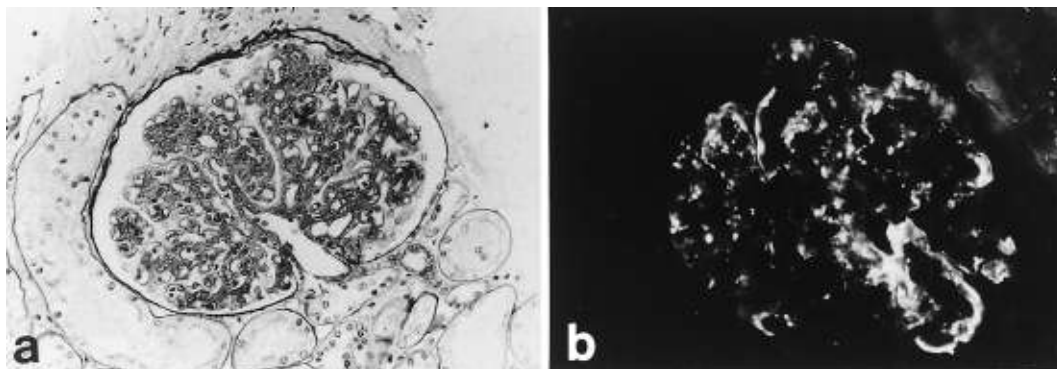


Fig. 1.

- a : Light microscopy of type I MPGN showing mesangial enlargement and thickening of capillary walls (PAS, $\times 400$)
 b : Immunofluorescence microscopy. Granular deposition of complement C3 in the glomerulus (fringe pattern) ($\times 400$)

complement complex : TCC) の本症病態への関与については明確でない部分が多い。そこでわれわれは、本症における TCC の病態的意義を知るために、小児期発症の type I MPGN 自験例についてその動向を検討し、本症の病態に果たす TCC の役割について考察を行った。

対象と方法

1. 対象症例

対象は、小児期発症の type I MPGN 25 例(男 14 例, 女 11 例。発症年齢 6 歳 11 カ月～14 歳 8 カ月, 平均 10 歳 11 カ月 $\pm$ 2 歳 4 カ月)である。初発症状は血尿および蛋白尿 9 例, ネフローゼ症候群 16 例である。すべての症例において腎生検で光顕上係蹄壁のびまん性肥厚, メサングウム細胞の増殖およびメサングウム基質の増加がみられ, また, 蛍光抗体法では C3 の粗顆粒状沈着が係蹄壁に沿って強く認められ type I MPGN と診断した (Fig. 1)。発症時の血清 C3 は全例低値であった(平均 $\pm$ SD=15.7 $\pm$ 13.4 mg/dl)。

これら 25 例について、病初期の血中 TCC の測定を後述の 2-A の方法により行った。このうち 18 例(男 9 例, 女 9 例)については腎組織上の TCC 沈着を後述の 2-B の方法で検討した。さらに 13 例(男 7 例, 女 6 例)については尿中 TCC の測定を 2-A の方法により行った。対照として、低補体血症を伴わない小児無症候性血尿(7 歳 10 カ月～13 歳 4 カ月)の血漿(n=8), 尿(n=5)検体を用いた。また腎組織の対照群として、低補体血症がなく腎組織上 C3 沈着を認めない 7 小児例の検体を用いた。

今回対象となった 25 例は、腎生検にて type I MPGN

と確定診断後、ス剤治療としてメチルプレドニゾロン 30 mg/kg/日を 3 日間静注の後プレドニゾロン (PSL) 1 mg/kg を隔日経口投与で 2 年間用いた。治療前にネフローゼ症候群を呈した症例では蛋白尿が 1 g/m²/日以下に減少したもの、血尿および蛋白尿を有した症例では尿所見が正常化ないしは定性で(±)以下に改善がみられたものをス剤治療反応例とした。反応例ではその後 PSL を 2 カ月毎に半減し中止とした。一方、2 年間のス剤治療により寛解が得られなかった不応例は、PSL を 0.5 mg/kg あるいは 10 mg/kg 隔日投与まで減量してこれを維持量とし、最長 120 カ月用いた。臨床的な予後については最終観察時点で異常尿所見の消失がみられた寛解例、腎機能に異常はみられないものの血尿や蛋白尿が残存している異常尿所見例、腎機能が悪化し透析治療が必要となった慢性腎不全例に分けた。

2. 測定項目と測定方法

A. 血中ならびに尿中 TCC 測定およびその方法

血漿ならびに尿中の TCC は、Kusunoki ら³⁾により作製され供与を受けた TCC の neoantigen に対する単クローン抗体 1B4 を用いて酵素免疫定量法 (ELISA サンドイッチ法) で測定した。すなわち、0.05 M 炭酸緩衝液 pH 9.5 で希釈し 2 μ g/ml とした 1B4 抗体 100 μ l を ELISA プレート (住友ベークライト) に 4°C で一晩固着させ、0.05 % Tween 20 を含んだ 0.01 M リン酸緩衝食塩水 pH 7.4 で洗浄後 1 % 牛血清アルブミン (BSA) でブロッキングを行った。再び洗浄後プレートに検体を加え 37°C で 30 分反応させた。検出抗体として 1,000 倍希釈ヤギ抗ヒト C7 抗体 (ペーリンガー) 100 μ l を 37°C、30 分反応させた後に洗浄し、これに 1,000 倍希釈 horseradish peroxidase (HRPO) 標識抗ヤギ IgG 抗体 (タゴ) 100 μ l を 37°C、30 分反応させ

た。洗浄後、基質として ABTS (0.05 M クエン酸・0.1 M リン酸緩衝液で 0.18 mg/ml に調整したもの 150 μ l) を用いて室温で発色させ、405 nm の波長で吸光度を測定した。検体中の TCC 濃度を決定するため、ザイモサンで活性化した正常ヒト血清を以下のように作製し用いた。すなわち、新鮮血清をザイモサン 10 mg/ml で 37°C、2 時間攪拌して補体を活性化し、遠心した上清を 100 μ l ずつ分注して -70°C で測定時まで保存した。ザイモサン活性化血清に含まれる TCC を 200 AU/ml として検体中の濃度を決定した。また、血漿および尿検体は補体の非特異的な活性化を防ぐため、最終濃度が 20 mM になるよう EDTA を入れて採取し、低温 (4°C) 遠心分離後凍結して -70°C で測定時まで保存した。

B. 腎組織 TCC 沈着の検討

1) 1B4 抗体からの Fab 分画の抽出と酵素標識

吉村⁴⁾の方法に従い、TCC の neoantigen に対する単クローン抗体 1B4 1 ml に 0.01 M リン酸緩衝食塩水 1 ml、飽和硫安液 1 ml を加え 4°C で 1 時間攪拌した。遠心分離 (10,000 回転, 10 分) 後、沈殿を取り、これを 1 ml のリン酸緩衝食塩水と 1 ml の飽和硫安液に懸濁し 4°C で 1 時間攪拌、再度遠心分離した。この沈殿に 0.5 ml の Na-K phosphate buffer pH 7.5 を加え、さらに 0.1 ml の 50 mM EDTA-2Na, 0.25 ml の 0.1 M cysteine-HCl, 1.4 ml の蒸留水, 1 mg/ml のパパイニン 0.15 ml を順次加えてよく混和した。これを 37°C で 20 時間加温し、0.1 ml の 0.5 M ヨードアセトアミド溶液を加え氷冷して 1 時間攪拌した。遠心分離して沈殿を取り除き Sephadex G-100 カラムにてゲル濾過し、280 nm での吸光度を測定し Fab を含む分画を集めた。次に、これを Protein-A sepharose カラム (ゲル 1 ml) に通し、未吸着分画を集め 280 nm での吸光度を測定した。回収された Fab を 4 mg/ml になるよう濃縮し、これを 2 l の 0.02 M 炭酸バッファー pH 9.5 で一晩透析した。

次いで、Wilson and Nakane⁵⁾の方法に従って過ヨウ素酸法による酵素標識を行った。すなわち、HRPO 6 mg を 1 ml の蒸留水に溶解し、0.1 ml の 0.15 M 過ヨウ素酸を加え室温で 20 分反応させた。これを 1 mM 酢酸緩衝液 pH 4.4 で一晩透析し、上述の Fab 溶液 1 ml を加え室温で 2 時間攪拌した。次いで氷水中で冷却しながら水酸化ホウ素ナトリウム溶液 0.1 ml を加え 6 時間攪拌した。これを Sephadex G-150 カラムにてゲル濾過し標識抗体を分離した。

2) 腎組織の酵素抗体染色 (直接法)⁶⁾

Periodate-lysine-paraformaldehyde (PLP) で固定された凍結腎生検検体をクリオスタットで 4 μ m に薄切し 30 分

室温で乾燥後、リン酸緩衝食塩水で 5 分間 3 回洗浄した。これに 1% BSA を含んだリン酸緩衝食塩水で 10 倍希釈した酵素標識 1B4 抗体を 0.2 ml 滴下した。室温で 1 時間反応させた後、リン酸緩衝食塩水で 15 分間、3 回洗浄を行った。これを DAB・H₂O₂ 発色液に室温で 5 分間置き、水洗したのち脱水・封入を行い鏡検した。組織染色強度は強陽性 (2+)、弱陽性 (+)、陰性 (-) の 3 段階に分け半定量的に評価した。

C. ロケット免疫電気泳動法⁷⁾ (Laurell 法) による血清 C5 の測定

50 ml のペロナール緩衝液 pH 8.6 に精製寒天 (アーガー) とアガロースをそれぞれ等量混和し 1.2% とした。この寒天ゲルを高温溶解後 45°C に温度を下げ、抗 C5 抗体 0.5 ml を加えよく攪拌し、水平板上に載せた泳動プレートに流し固まらせた。寒天層中に直径 3 mm の小孔をあけ血漿検体ならびに正常人血漿を入れて 7 V/cm で 120 分泳動した。泳動後各検体のロケット先端と小孔間の距離を測り、正常人血漿のロケットの長さに対する比 (% normal) を求めた。

3. 統計手法

各測定値は平均値 ± 標準偏差で表した。また、統計学的手法として one-factor ANOVA, Scheffé 法, Mann-Whitney's U test, Pearson の相関係数, Fisher の直接確率計算法を用い、 $p < 0.05$ を有意とした。

結 果

1. 血中 TCC の測定結果

Type I MPGN 25 例の血中 TCC 値は 0.06~2.11 AU/ml に分布した。このうち血中 TCC 値が 0.5 AU/ml を超える 14 例を High TCC 群、それ以下の 11 例を Low TCC 群とした。High TCC 群の血中 TCC 値は 1.06 ± 0.57 AU/ml、Low TCC 群の血中 TCC 値は 0.15 ± 0.08 AU/ml であった。対照 8 例は 0.06 ± 0.04 AU/ml であった。血中 TCC 値に関し High TCC 群と対照群、High TCC 群と Low TCC 群の間にはそれぞれ有意差が認められた ($p < 0.0001$)。Low TCC 群と対照群の血中 TCC 値には有意差はみられなかった (Fig. 2)。

2. 腎組織への TCC 沈着

Type I MPGN 18 例における腎組織 TCC 沈着の結果を Table 1 に示す。High TCC 群 13 例全例と Low TCC 群 5 例中 4 例で、メサンギウム領域および糸球体係蹄壁に沿って TCC の沈着が認められた (Fig. 3)。沈着の程度は

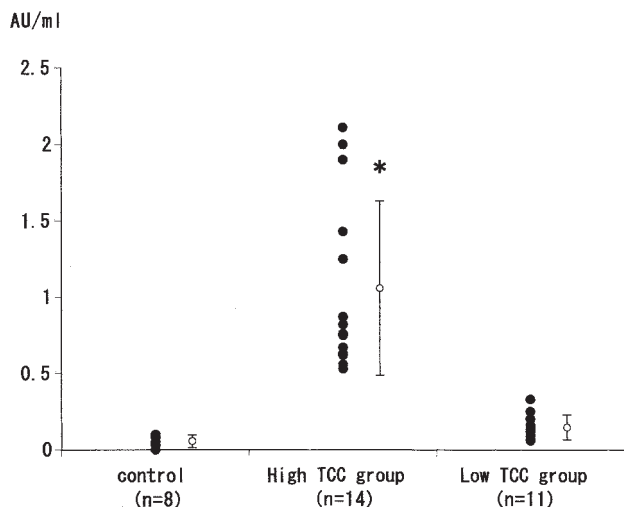
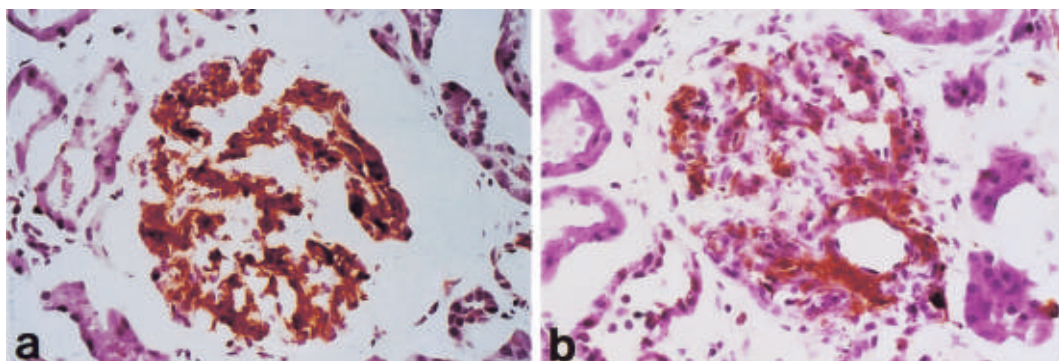


Fig. 2. TCC concentrations in plasma in patients with type I MPGN

* $p < 0.0001$ vs Low TCC group, Control



▼Fig. 3. Direct immunoperoxidase staining with 1B4(monoclonal antibody against a neoantigen of the human terminal complement complex)

a : strongly positive staining(2+) ($\times 400$)

b : weakly positive staining(+) ($\times 400$)

High TCC 群が Low TCC 群に比べ有意に強く染色されていた ($p = 0.034$)。対照群では 7 例全例が (-) であった。

3. 尿中 TCC の測定結果

Type I MPGN 13 例における尿中 TCC の測定を行い、High TCC 群の尿中 TCC は 0.73 ± 0.33 AU/ml, Low TCC 群では 0.03 ± 0.07 AU/ml であった。対照 5 例は 0.02 ± 0.04 AU/ml を示した。尿中 TCC に関して High TCC 群と対照群の間には有意差が認められた ($p = 0.0002$)。また、High TCC 群と Low TCC 群の間にも有意差がみられた ($p = 0.0001$)。一方、Low TCC 群と対照群の間には尿中 TCC に有意差は認められなかった (Fig. 4)。

4. 血中 TCC 値と血清 C5 値との関連

Type I MPGN 25 例における血中 TCC 値と血清 C5 値との関連を検討すると、両者の間には強い負の相関関係 ($r = -0.73$) が認められ、High TCC 群では Low TCC 群に比べ血清 C5 が低値をとる傾向がみられた (Fig. 5)。High TCC 群 ($n = 14$) の血清 C5 は $29 \pm 17\%$, Low TCC 群 ($n =$

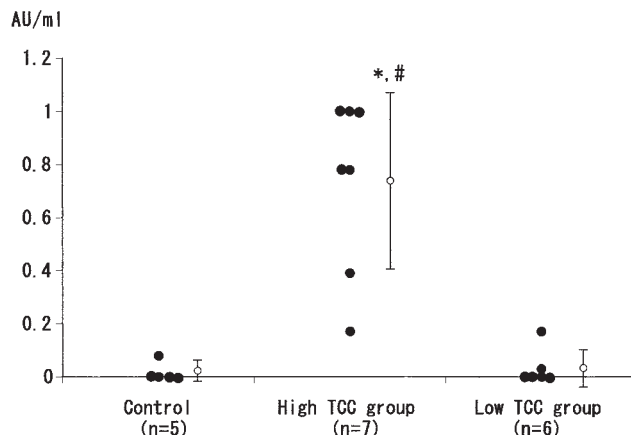


Fig. 4. TCC concentrations in urine in patients with type I MPGN

* $p = 0.0001$ vs Low TCC group

$p = 0.0002$ vs Control

11) の血清 C5 は $103 \pm 21\%$ であり、前者は後者に比べ血清 C5 が有意に低値をとった ($p < 0.0001$)。

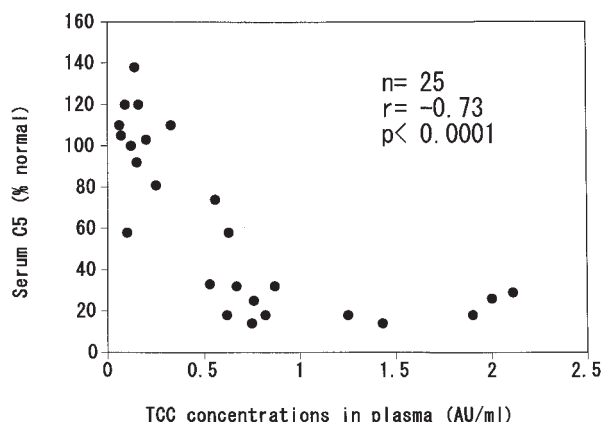


Fig. 5. Correlation between the TCC concentrations in plasma and the serum C5 levels in patients with type I MPGN

5. 血中 TCC 値と治療反応性ならびに予後との関連 (Table 2)

Type I MPGN 25 例のうち High TCC 群は治療反応性が不良であり, Low TCC 群と比較すると治療反応性に明らかな差がみられた ($p=0.007$)。また予後については High TCC 群と Low TCC 群の間には有意の差が認められた ($p=0.013$)。すなわち, 前者では尿所見の改善が後者に比し有意に低いものであった。

考 察

古典経路または第二経路により進められる血清補体の活性化は C3 で合流し, さらに後期反応成分である C5 から C9 が順次活性化され, 最終的に分子量 1×10^3 kDa 以上の巨大な膜傷害性複合体(membrane attack complex: MAC) が形成される。C5b-9 の重合体である MAC, C5b-7 に液性制御因子である S-protein(分子量 8 万, 接着因子の vitronectin と同一の蛋白)が結合した soluble MAC は TCC と総称されるが, 膜結合能をもつ MAC は強い膜傷害作用を有するとされ, soluble MAC についても S-protein が離れると膜結合能が回復するといわれている。MAC は細胞膜を傷害して細胞融解を起こすとされており, 有核細胞においてはその機能を大きく変化させ⁸⁾, 白血球, 血小板や単球などでは活性酸素や各種のプロスタグランジンの産生が増加するといわれている。

ヒトの type I MPGN は持続する低 C3 血症を呈することから, その病態への補体の関与が想定されている。本疾患における TCC の動向に関しては, これまでメサングウムや糸球体係蹄壁へ MAC もしくは poly C9 の沈着が認め

Table 2. Correlation between TCC levels in plasma and response to steroid treatment (a), and long-term prognosis (b) in patients with type I MPGN

	High TCC group [§]	Low TCC group [#]
No. of patients	14	11
(a)* Response	5	10
Non-response	9	1
(b) [¶] Remission	5	10
Abnormal urinalysis	5	0
Chronic renal failure	4	1

[§] TCC concentrations in plasma >0.5 AU/ml (follow-up period: 5.7~15.0 yrs, average: 9.5 yrs)

[#] TCC concentrations in plasma ≤ 0.5 AU/ml (follow-up period: 2.7~27.0 yrs, average: 16.5 yrs)

* $p=0.007$, High TCC group vs Low TCC group

[¶] $p=0.013$, High TCC group vs Low TCC group

られたという報告^{9,10)}や, 本疾患の一部で血中 TCC 高値が確認されたという報告^{3,11)}がみられる。しかし小児期に発症した本疾患における TCC の動向, さらに TCC と臨床的予後との関連についての報告は少ない。このため, われわれは本疾患における TCC の病態的意義をより明らかにする目的で本研究を行った。

血中 TCC の正常値についてはこれまで以下のように報告されてきた。すなわち, Hugo ら¹²⁾は正常人の 2/3 では $0.1 \sim 0.6 \mu\text{g/ml}$ の範囲にあり, 1/3 では検出限界以下であったと報告している。彼らはザイモサンで活性化した血清(ZAS)中には TCC が $220 \pm 40 \mu\text{g/ml}$ 存在したと述べた。また Kusunoki ら³⁾は 21 例の正常人の血中 TCC は $0.155 \sim 0.525$ AU/ml であったとしたが, 彼らは ZAS 中の TCC を 200 AU/ml とし検体中の濃度を決定したため, これは $0.17 \sim 0.58 \mu\text{g/ml}$ に相当する。一方, Matsell ら¹³⁾は正常成人の血中 TCC を $0.19 \pm 0.10 \mu\text{g/ml}$ と報告し, $+3$ SD である $0.49 \mu\text{g/ml}$ を超える値を高値とした。われわれの対照 8 例の血中 TCC は 0.06 ± 0.04 AU/ml ($0.066 \pm 0.044 \mu\text{g/ml}$) であり, 上述の報告に比べ低めであったが, これらのなかでは Matsell らの報告に近かった。このことから, 今回の検討では Matsell らに準じて血中 TCC の正常上限値を 0.5 AU/ml とし, これを超える値をとる例を High TCC 群, これ以下を Low TCC 群とした。

今回の検討から, 小児期発症の type I MPGN は病初期の血中 TCC 値により High TCC 群と Low TCC 群に分けられることが確認され, High TCC 群は Low TCC 群に比べス剤治療への反応が不良で長期予後が悪いことが明らかになった。Type I MPGN の治療にス剤が用いられる

ようになってから尿所見や腎機能の改善が明らかになり¹⁴⁾、有効な治療法として広く用いられている。病初期の血中 TCC 値とス剤反応性との関連につき検討を行ったものはこれまでみられなかったが、今回の結果から、血中 TCC 値は小児期 type I MPGN におけるス剤反応性の指標になるものと考えられた。

次に、type I MPGN における血中 TCC 値と腎組織 TCC 沈着との関連性について検討した。今回の検討では、High TCC 群は Low TCC 群に比べ腎糸球体における TCC 沈着が優勢に認められた。腎組織上の TCC 沈着に関しては、これまでさまざまな糸球体腎炎での報告がみられる^{10,15,16)}。しかし、血中 TCC と腎組織上の TCC 沈着との関連については多くは論じられていない。Kusunoki ら³⁾はさまざまな腎炎における血中 TCC と糸球体上の TCC 沈着を検討し、血中 TCC については SLE や MPGN で高値を示す傾向がみられるものの、膜性腎症、巣状糸球体硬化症、IgA 腎症、微小変化群では正常範囲にあるとした。一方、糸球体における TCC の沈着は SLE や MPGN ばかりでなく、膜性腎症、巣状糸球体硬化症、IgA 腎症でも IgG などの免疫グロブリンや C3 など補体成分とほぼ同様のパターンで認められたと報告した。腎炎の種類により血中 TCC と糸球体の TCC 沈着との結果に相違がみられた理由として、彼らは、血中 TCC の半減期は短く組織沈着した TCC に比べ血中濃度が速やかに正常化する可能性を指摘した。さらに immune deposit が SLE や MPGN では糸球体毛細血管の内皮細胞下に、IgA 腎症ではメサングウム領域に、膜性腎症では糸球体上皮細胞下に主に認められることから、補体が活性化される糸球体での部位が関係していると推察した。糸球体上に TCC が沈着する機序に関して、Okada ら¹⁷⁾は、TCC の分子量が約 1×10^3 kDa ときわめて大きく糸球体基底膜の size barrier を通過することは難しいため、糸球体上皮細胞下に TCC の沈着がみられる場合には循環血液中の TCC が trap されるのではなく、腎組織上で TCC が形成される可能性が高いと述べている。また Ogawa ら¹⁸⁾はヒト膜性腎症における上皮細胞下 vitronectin, C5b-9 および vitronectin receptor の沈着を検討し、vitronectin が C5b-9 に結合する部位は血中ではなく腎組織上の可能性が高いと述べた。したがって、膜性腎症のように上皮細胞下に免疫複合体の沈着がみられる腎炎では、TCC は主として腎組織上で形成される可能性が高いと考えられる。今回の検討で、High TCC 群は Low TCC 群に比べ腎糸球体の TCC 沈着が優勢に認められたが、これは、type I MPGN における

immune deposit 形成が基底膜の size barrier の影響を受けない内皮細胞下で主に行われていることと関係があると考えられる。すなわち、本疾患では腎組織で新たに形成される TCC だけでなく、循環血液中の TCC も腎組織での TCC 沈着に一定の役割を果たしている可能性が示唆される。

尿中 TCC についての今回の検討では、High TCC 群は Low TCC 群に比べより高値をとる傾向がみられた。尿中 TCC に関し Pruchno ら¹⁹⁾は、膜性腎症モデルである Heymann 腎炎では尿中に TCC が排泄されており、その量は糸球体への免疫複合体の沈着量に相関していたと報告した。尿中に TCC が排泄される機序として、膜性腎症モデルでは上皮細胞下沈着物中の TCC が上皮細胞中の multivesicular body に集まり細胞内を移動し、その分解産物が尿腔側に exocytosis されることが証明されている²⁰⁾。一方、MPGN などヒトの腎炎における尿中 TCC の形成機序はまだ明らかではない。Kusunoki ら³⁾によれば SLE や MPGN のみならず、血中 TCC の上昇を認めなかった膜性腎症、巣状糸球体硬化症、IgA 腎症においても尿中 TCC が検出されている。TCC において血中濃度に対する尿中排泄の割合は、分子量が同程度の IgM に比べはるかに高いことから、彼らは尿中の TCC が糸球体内あるいはそれ以降の過程で形成される可能性を示唆した。今回、High TCC 群は Low TCC 群に比べ、腎組織への TCC 沈着が優勢で尿中 TCC の排泄も多く認められた。このことは膜性腎症モデルと同様、ヒトの type I MPGN においても腎組織上の TCC 沈着量と尿中 TCC の排泄量との間に関連があることを示すものと考えられる。

Type I MPGN における血清 C5 値と血中 TCC 値の関係については両者の間に有意の負の相関が認められた。これまで腎炎において血清 C5 と血中 TCC の関係を調べた報告は少ない。そのなかで Horigome ら¹¹⁾は、SLE や MPGN において CH50, C3, C5 などの血清補体価と血中 TCC 値の間に有意の負の相関がみられ、SLE では classical pathway が、また MPGN では alternative pathway の活性化が TCC 産生に重要な役割を果たしている可能性を指摘した。今回の検討では、type I MPGN において補体後期成分の出発点となる血清 C5 の活性化が血中の TCC 産生に結びついていることが確認された。

結 語

小児期発症 type I MPGN の血中 (n=25)、腎組織 (n=

18) および尿中(n=13)TCCを酵素免疫定量法ならびに酵素抗体染色を用いて検討した。

1) Type I MPGN 25例は、血中TCC値が0.5 AU/mlを超えるHigh TCC群14例と0.5 AU/ml以下のLow TCC群11例に分けられた。High TCC群はLow TCC群に比べ糸球体におけるTCC沈着が優勢で尿中TCCの排泄も多くみられた。

2) High TCC群はLow TCC群に比べステロイド治療に対する反応性が低く長期予後も不良であった。

3) Type I MPGN 25例の血清C5値と血中TCC値の間には負の相関関係が強く認められた。

以上の結果から、type I MPGNにおいて血中TCCは腎組織ならびに尿中でのTCC産生に一定の役割を果たすものと推察された。また、病初期の血中TCC値がステロイド治療への反応性や長期予後の指標になることが示唆された。

謝 辞

稿を終えるにあたり、1B4抗体をご供与いただきました北海道大学医学部小児科学 楠 幸博先生、武越靖郎先生に深謝いたします。

文 献

- Hasegawa O, Ito H. Methylprednisolone pulse therapy (MPT) for children with type I membranoproliferative glomerulonephritis(MPGN): significance of complement profile on the therapy. In: Murakami K, Kitagawa T, Yabuta K, Sakai T(eds) Recent advances in pediatric nephrology. Amsterdam: Elsevier Science Publishers BV, 1987: 247-252.
- 大井洋之, 渡辺静彦, 大森史彦, 関 正人, 波多野道信. 持続性低補体MPGNの臨床像と補体の変動 特に, C5値よりみて. 第23回補体シンポジウム抄録集, 1986: 55-58.
- Kusunoki Y, Takekoshi Y, Nagasawa S. Using polymerized C9 to produce a monoclonal antibody against a neoantigen of the human terminal complement complex. J Pharmacobiodyn 1990; 13: 454-460.
- 吉村眞一. 酵素標識法. 渡辺慶一, 中根一穂(編)酵素抗体法1巻. 東京: 学際金画, 1992: 19-37.
- Wilson MB, Nakane PK. Recent developments in the periodate method of conjugating horseradish peroxidase (HRPO) to antibodies. In: Knapp W, Holubar K, Wick G(eds) Immunofluorescence and Related Techniques. Elsevier/North Holland Biochemical Press, 1978: 215-225.
- 和泉伸一, 渡辺慶一, 小松遵至. 凍結切片による光顕の酵素抗体法染色. 渡辺慶一, 中根一穂(編)酵素抗体法1巻. 東京: 学際企画, 1992: 51-98.
- Laurell CB. Quantitative estimation of proteins by electrophoresis in agarose gel containing antibodies. Anal Biochem 1966; 15: 45-52.
- Morgan BP. Complement membrane attack on nucleated cells: resistance, recovery and non-lethal effects. Biochem J 1989; 264: 1-14.
- Couser WG, Baker PJ, Adler S. Complement and the direct mediation of immune glomerular injury: A new perspective. Kidney Int 1985; 28: 879-890.
- Ootaka T, Suzuki M, Sudo K, Sato H, Seino J, Saito T, Yoshinaga K. Histologic localization of terminal complement complex in renal diseases. An immunohistochemical study. Am J Clin Pathol 1989; 91: 144-151.
- Horigome I, Seino J, Sudo K, Kinoshita Y, Saito T. Terminal complement complex in plasma from patients with systemic lupus erythematosus and other glomerular diseases. Clin Exp Immunol 1987; 70: 417-424.
- Hugo F, Krämer S, Bhakdi S. Sensitive ELISA for quantitating the terminal membrane C5b-9 and fluid phase SC5b-9 complex of human complement. J Immunol Methods 1987; 99: 243-251.
- Matsell DG, Wyatt RJ, Gaber LW. Terminal complement complexes in acute poststreptococcal glomerulonephritis. Pediatr Nephrol 1994; 8: 671-676.
- McEnery PT. The effect of prednisolone in a high-dose, alternate-day regimen on the natural history of idiopathic membranoproliferative glomerulonephritis. Medicine 1986; 64: 401-424.
- Rus HG, Niculescu F, Nanulescu M, Cristea A, Florescu P. Immunohistochemical detection of the terminal C5b-9 complement complex in children with glomerular diseases. Clin Exp Immunol 1986; 65: 66-72.
- Murphy BF, Davies DJ, Morrow W, d'Apice AJF. Localization of terminal complement components, S-protein and SP-40, 40 in renal biopsies. Pathology 1989; 21: 275-278.
- Okada M, Yoshioka K, Takemura T, Akano N, Aya N, Murakami K. Immunohistochemical localization of C3d fragment of complement and S-protein(vitronectin) in normal and diseased human kidneys: association with the C5b-9 complex and vitronectin receptor. Virchows Archiv A Pathol Anat 1993; 422: 367-373.
- Ogawa T, Yorioka N, Yamakido M. Immunohistochemical studies of vitronectin, C5b-9, and vitronectin receptor in membranous nephropathy. Nephron 1994; 68: 87-96.
- Pruchno CJ, Burns MW, Schulze M, Johnson RJ, Baker PJ, Couser WG. Urinary excretion of C5b-9 reflects disease activity in passive Heymann nephritis. Kidney Int 1989; 36: 65-71.
- Kerjaschki D, Schulze M, Binder S, Kain R, Ojha PP, Susani M, Horvat R, Baker PJ, Couser WG. Transcellular transport and membrane insertion of the C5b-9 membrane attack complex of complement by glomerular epithelial cells in experimental membranous nephropathy. J Immunol 1989; 143: 546-552.