

を 1/2000 の濃度で加え室温にて 1 時間振とうする。TBST にて 10 分 5 回洗浄後 enhanced chemiluminescence (ECL) blotting system (Amersham Pharmacia Biotech, Uppsala, Sweden)にて検出した。

6) Gab1 の活性化

tyrosine kinase 受容体の下流に位置し、シグナル伝達に重要な tyrosine リン酸化 docking protein であり、上皮の形態形成に重要な役割を果たすことが知られている Gab1 の活性化は免疫沈降法にて検討した。50-200 μ g の蛋白質に 35 μ l の protein A/G-Sepharose (Amersham Pharmacia Biotech)/RIPA buffer を加え 4°C で overnight 振とうし pre-cleaning を行った。上清に一次抗体 (polyclonal anti-Gab1 antibody : Upstate biotechnology, Lake Placid, NY) を添加し 4°C で 1 時間 incubate した後、再び 35 μ l の protein A/G-Sepharose (Amersham Pharmacia Biotech)/RIPA buffer を加え 4°C で 1 時間振とうさせ、RIPA buffer にて沈殿を洗い、Laemmli sample buffer に溶解した後 SDS-PAGE にかけた。

C. 結果

1) Pkd1(del2-6)胎仔心臓に認められた DORV および VSD は心臓神経堤細胞の異常な遊走に起因し、ET-1 やその受容体であるエンドセリン A 受容体などの遺伝子欠損マウスの表現型として知られている。polycystin-1 は神経堤細胞由来臓器においても発現が認められるため、polycystin-1 が

ET-1 のシグナル伝達に関与している可能性があると考えられる。そこでまず定常状態の MEF におけるエンドセリン A 受容体(ETA)、エンドセリン B 受容体(ETB)の発現を RT-PCR にて比較した。internal control として GAPDH を用いたがどちらの受容体の発現も野生型とホモ欠損型との間で差を認めなかった(図 4)。

2) ET-1 はその受容体と結合し G 蛋白 q さらに SOS、growth factor receptor bound protein2(Grb2) などの adaptor molecule から Raf、Ras を介して下流の MAPK である ERK を活性化する事が知られている(図 5)。

そこで野生型、ヘテロ欠損型、ホモ欠損型 MEF を ET-1 にて刺激し ERK のリン酸化を gel shift assay で検討した。野生型、ヘテロ欠損型と比べて、ホモ欠損型ではほとんどリン酸化が認められなかった(図 6)。つまり、polycystin-1 は ET-1 のシグナルを ERK に伝える pathway に関与していることが示唆された。また ET-1 以外に ERK を活性化する刺激に高浸透圧刺激が知られている。先の結果が ET-1 特異的なものか調べるため高浸透圧刺激における ERK の活性化を検討したところ、ET-1 と同じように野生型、ヘテロ欠損型では ERK2 の著明なリン酸化が認められたのに対してホモ欠損型ではほとんどリン酸化が認められなかった(図 7)。この高浸透圧刺激による ERK の活性化には mitogen-activated protein kinase (MAPK)の一つである c-Jun N-terminal

kinase (JNK)を介するエンドセリンとは別のシグナル伝達が関与していることが知られている。以上の結果から、ホモ欠損型 MEF では MAP kinase-ERK kinase (MEK)、JNK を介する MAPK の活性化が阻害されていた。

3) また、MAPK は immediate early gene として知られる c-fos、c-jun の遺伝子産物のヘテロダイマーである AP-1 を活性化することが知られている。AP-1 はさまざまな遺伝子発現を調節していることが知られ、その target の一つが c-MYC である。そこで、胎生 12.5 日胎仔心臓での c-MYC の発現を、Western blotting 法にて検討したところ、ホモ欠損マウスが野生型と比べて有意に低下していた。したがって胎仔心臓における c-MYC の発現低下には polycystin-1 欠損による ERK の活性化の阻害が関与している可能性が考えられた(図 8)。

D. 考察

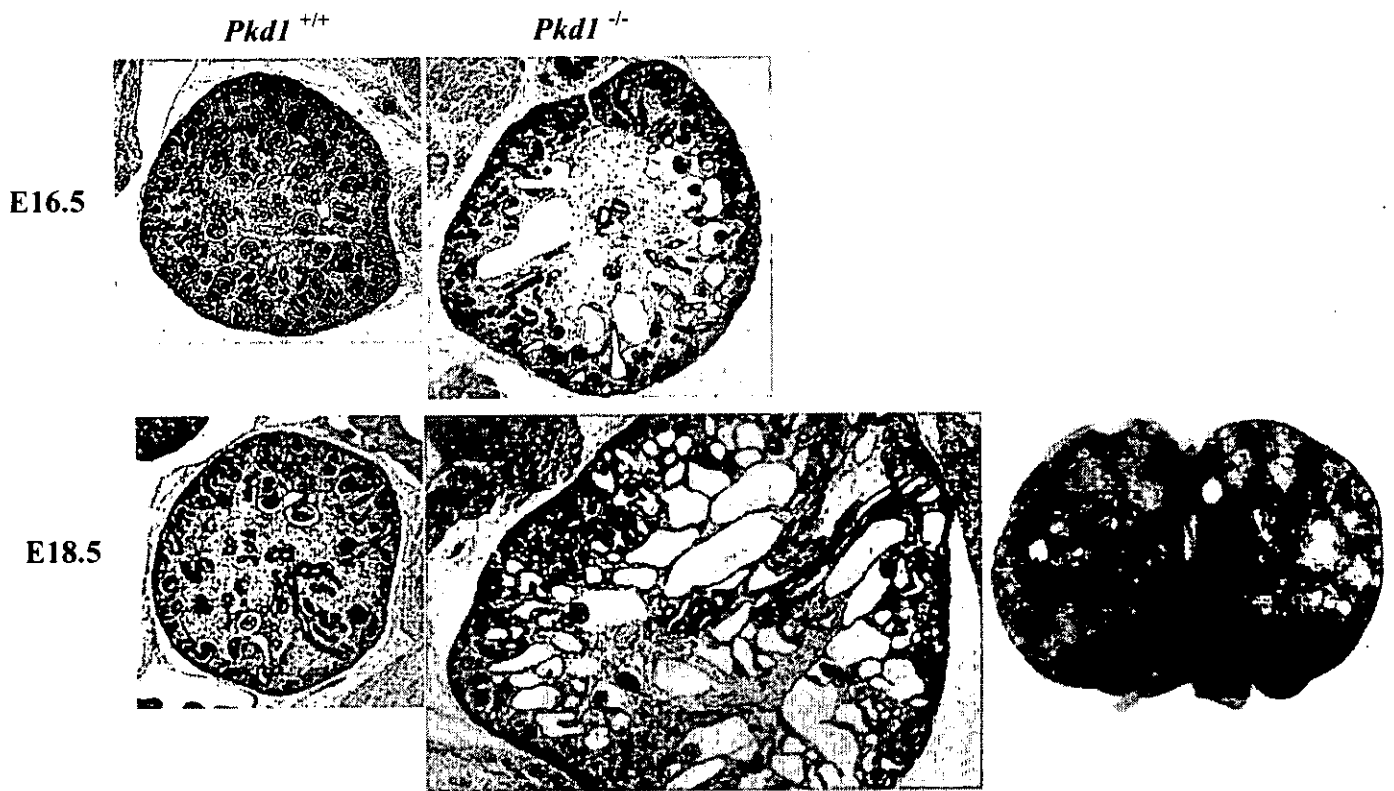
Pkd1(*del2-6*)にみられた総動脈管形成異常は心臓神経堤細胞の異常な遊走に起因し、ET-1欠損マウスやエンドセリンA受容体欠損マウスにおいても認められる。polycystin-1は神経堤細胞由来臓器においても発現が認められたため、polycystin-1が ET-1の signaling pathway に関与している可能性があると考えられる。今回 MAPK/ERK gel shift assayにおいて野生型がET-1刺激により急速なERK2のリン酸化を認めたのに対して、ホモ

欠損型ではERK2のリン酸化が減弱していた(図6)。また、MAPKKの一つであるJNKを介するエンドセリンとは別のシグナル伝達が関与している高浸透圧刺激(図7)においてもERKの活性化が阻害されていた。従っていずれの刺激によってもpolycystin-1が欠失していることでERKの活性化が阻害されていると思われた。また、MAPKはimmediate early geneとして知られるc-fos、c-junの遺伝子産物のヘテロダイマーであるAP-1を転写促進し、さらにAP-1はc-MYCを転写促進する。従って胎仔心臓におけるc-MYCの発現低下にはpolycystin-1欠損によるERKの活性化の阻害が関与している可能性も考えられた(図8、9)。

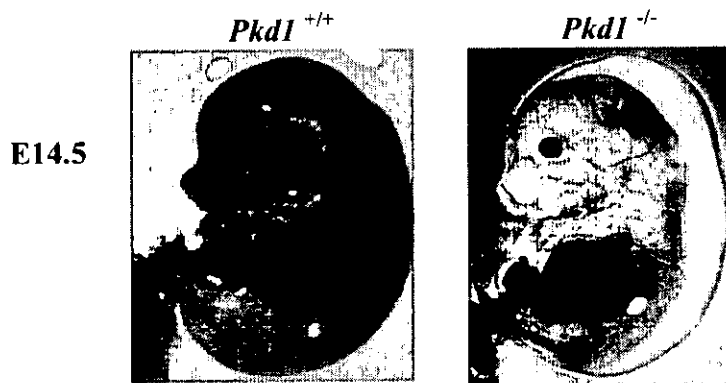
E. 結論

Pkd1 遺伝子欠損マウスにおいて MAPK/ERK2の情報伝達系の異常が認められたことから、polycystin-1が MAPK/ERK2のシグナル伝達に関与していることが示唆された。

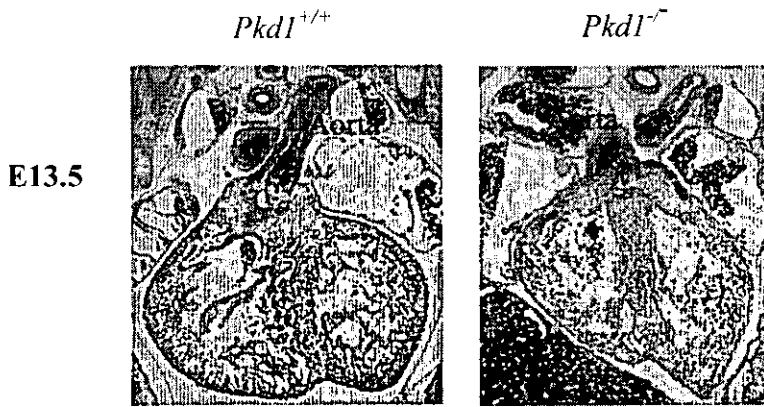
(図1) 胎仔腎



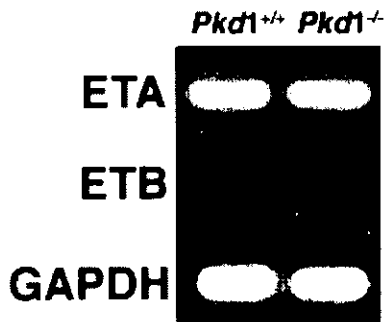
(図2) ホモ欠損マウスの胎生致死



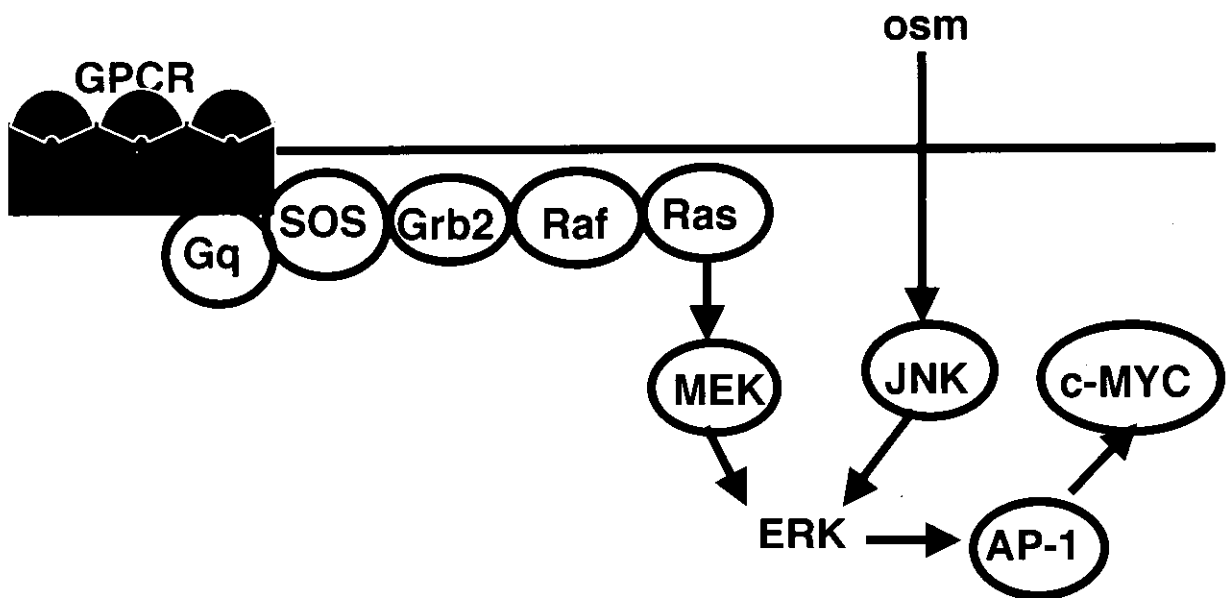
(図3) 胎仔心



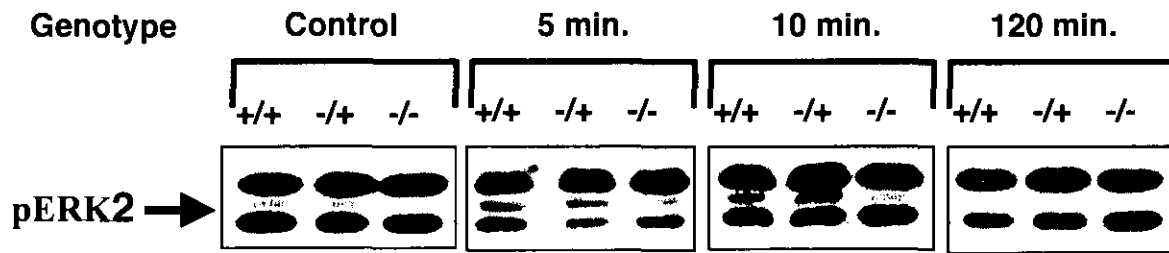
(図4) エンドセリン A 受容体の発現



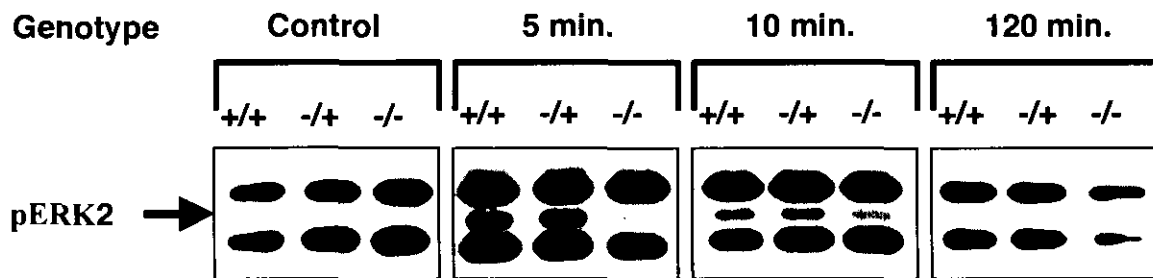
(図5)



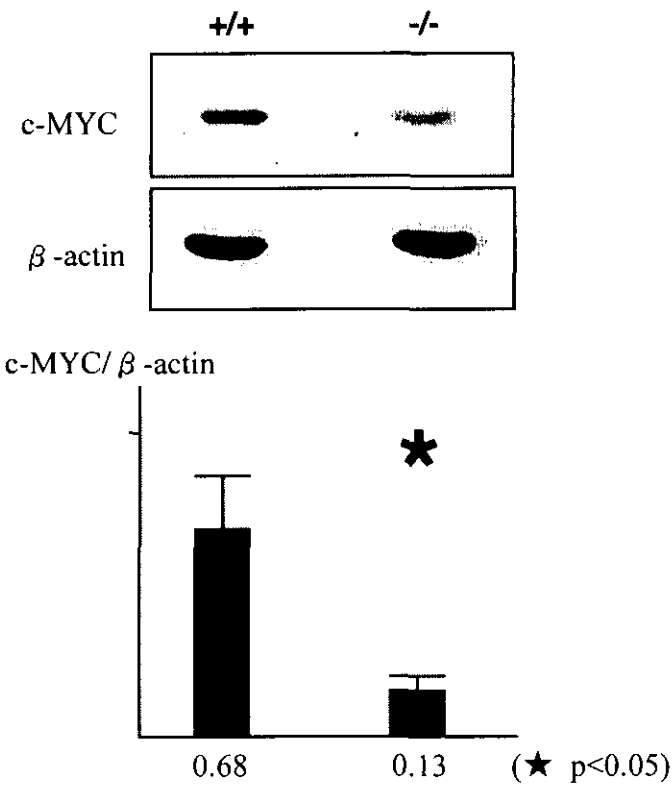
(図 6) ERK gel shift assay(ET-1)



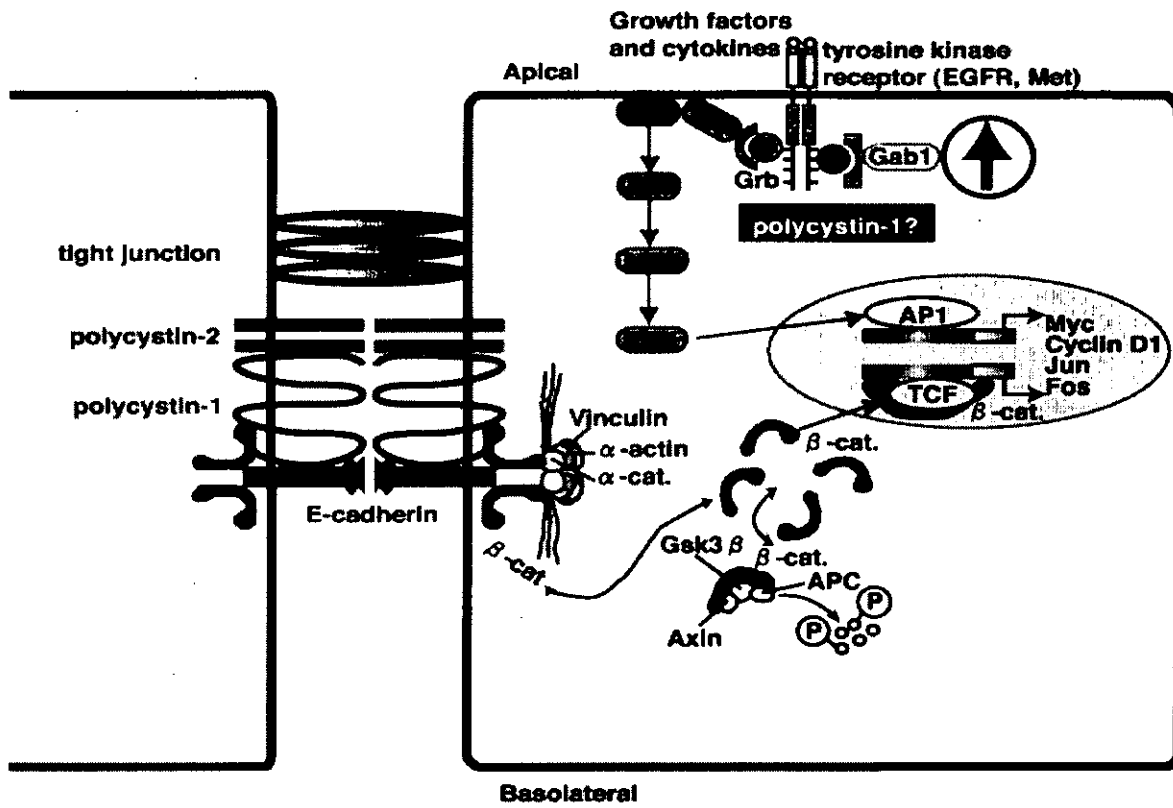
(図 7) ERK gel shift assay (high-osm)



(図 8) 胎仔心における c-MYC の発現



(图9)



厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
各個研究報告書

「**嚢胞腎起因蛋白ポリシスチンとその関連蛋白の相互作用および機能解析**」

研究協力者 二瓶 宏、土谷 健
東京女子医科大学医学部第四内科

研究要旨

分子生物学的には、転写、DNA複製、シグナル伝達、細胞増殖などの過程においては、通常2種類以上の蛋白質の相互作用が関与しているとされている。特定された遺伝子による蛋白機能の解析が必要な上に、この遺伝子と相互作用を有し、結合する蛋白の同定、検索も重要な意義を持つものと考えられる。

A. 研究目的

ポリシスチンは基本的に膜蛋白であり、ポリシスチン 1 および 2 の細胞内 C 末端の相互作用が指摘され、両者の共合体が Ca イオンチャンネルとして作用する可能性も報告されている。しかし、ポリシスチンに関連する他の蛋白の報告は未だ少なく、Two Yeast Hybrid System により同定された関連蛋白の報告が数例あるのみである。今後、本疾患の病因解明にはポリシスチン 1 と 2 の関連、さらにその他の関連蛋白との相互作用の基礎的研究が必要である。本研究では、すでにこれまでの Two Yeast Hybrid system の検討で CD2 Associated Protein（以下 CD2AP）とポリシスチン 2 との相互作用を推定している。ポリシスチン 2 の C 末端を bait として Two Yeast Hybrid System により同

定された CD2AP の細胞内共発現、正常腎および嚢胞腎などにおける組織学的検討を加える。

B. 研究方法

- 1) Two Yeast Hybrid Systemにより同定したCD2APの細胞内共発現および正常腎および嚢胞腎の組織学的検討。
- 2) グルタチオン-S-トランスフェラーゼ（以下GST）融合蛋白を抗原としたCD2 Associated Protein（以下CD2AP）に対するポリクローナル抗体を作製した。
- 3) またPKD2遺伝子およびCD2AP遺伝子を発現ベクターに挿入し、培養細胞内で発現、既存の抗ポリシスチン2抗体と今回作製したポリクローナル抗体にて細胞内の共発現を検討した。

4) CD2AP蛋白自体の性質を検討するため、腎での発現および病態下（腎虚血によるoxidant stress負荷）での発現をラット腎において検討した。

C. 結果

CD2AP の抗体は腎臓の尿細管に染色されるが、さらに膵臓などの輸送上皮に広くその存在が確認された。細胞内のポリシスチンとの共発現は、免疫沈降法でも確認された。

CD2AP 自体は、虚血腎モデルにおいて mRNA,蛋白レベルで強発現が確認されたが、これはほかの臓器でも発現誘導が観察された。組織でもポリシスチンとともに染色性が亢進していた。

D. 考察

ポリシスチン 1 と 2 との相互作用のみならず、その他の関連蛋白の発現とその関連性の解析は PKD pathway の解明、すなわち発症原因の究明に重要である。特に CD2AP は、相同性の強いヒト遺伝子 METS-1 の C 末端を bait として使用した Yeast hybridization でも互いの遺伝子が陽性遺伝子として選択されていることから、ポリシスチン 2 と CD2AP 両蛋白の関連の可能性は高いと考えられる。いまだ実際の共役性、存在様式など細胞内での相互の関わりを示す情報はない。

CD2AP 自体は、虚血などによる負荷で腎において強発現が確認されたが、これはほかの臓器でも発現誘導

が観察され、ポリシスチンなどの特異的機能蛋白に対して、その機能の安定、保持、保守などの特性を持つ可能性が推測された。

E. 結論

ポリシスチンの関連蛋白として、CD2AP が相互作用を有する可能性が高く、今後は細胞内シグナルの機構解明が必要と考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 知的所有権の出願・登録状況

なし

H. 研究発表

1. 論文発表

Schon P, Tsuchiya K, et al. Identification, genomic organization, chromosomal mapping and mutation analysis of the human INV gene, the ortholog of a murine gene implicated in left-right axis development and biliary atresia. *Hum Genet* 110:157-165, 2002.

2. 学会発表

Nishimura S, et al. Increasing expression of CD2AP in renal ischemic injury. アメリカ腎臓学会 11/12-17, San Diego 2003

病理總括研究班
分担・各個研究報告

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
病理分科会分担研究報告書

「急速進行性腎炎症候群に関する調査研究-肺腎症候群の病理学的背景-」

分担研究者 重松秀一

信州大学医学部病理学教授

研究協力者 洞 和彦、江原孝史*

(信州大学医学部付属病院血液浄化療法部、*信州大学医学部病理学)

研究要旨

急速進行性糸球体腎炎あるいは血管炎症候群では急性呼吸障害と急性腎不全が随伴して起こることが多い。この両臓器に共通した病態、組織障害が惹起されている可能性を検証するため、実験、剖検病理学的検討を行った。その結果、肺および腎には毛細血管レベルの脈管炎が生じていることが明らかにされた。

A. 研究目的

急速進行性腎炎にはしばしば肺出血や間質性肺炎を伴う。一方血管炎症候群の中でも肺腎症候群を呈する患者は多い。腎および肺に共通した病態が想定される。これを実験病理学的にあるいは剖検例について検証することを目的とする。

B. 研究方法

肺腎症候群（肺腎出血病）のモデルとなりうるいくつかの実験腎炎（馬杉腎炎、血清病腎炎、自家感作性腎炎）および肺腎症候群を呈した後剖検された7症例の肺腎組織を病理組織学的、免疫組織学的に検討する。とくに血管構築の障害を詳しく観察するため両組織の毛細血管基底膜をVI型コラーゲン、ラミニン PAM 染色で

観察した。

（倫理面への配慮）

実験は信州大学動物実験施設内で動物愛護上の配慮をして行った。

C. 結果

糸球体では免疫学的背景に関係なく、糸球体基底膜からのフィブリンの析出や出血を伴う破綻性の変化が見られ、尿腔内へのマクロファージを主とする炎症細胞流入がみられ、さらに上皮細胞を混じた細胞性半月体に進展していた。肺では肺泡毛細血管基底膜にフィブリン析出や出血を伴う破綻性の変化が見られる他、間質の浮腫、肺泡上皮細胞の剥離、マクロファージの肺泡腔内への流出、類上皮細胞による結節病変の形成、

さらに終末細気管支上皮の増殖が見られ、糸球体における半月体と同質の組織障害の展開をみせた。腎肺とも組織硬化への進展（線維性半月体および糸球体虚脱、胞隔線維化および肺胞内器質化）が見られるところも存在した。

D. 考察

抗基底膜抗体、免疫複合体あるいは好中球細胞質抗体（ANCA）の有無に関わらず、腎糸球体、肺胞毛細血管壁にはその基底膜に壊死性の障害あるいは透過性亢進を起す障害があり、糸球体では管外増殖性糸球体腎炎、肺胞では間質性肺炎で見られる諸像（硝子膜形成、び慢性肺胞障害 DAAD、肺胞出血、剥離性肺胞炎）が見られた。このことは腎糸球体、肺胞レベルでの血管炎すなわち毛細血管炎 (capillaritis) が共通して惹起されているということであり、種々の免疫学的因子はいずれもこの endovasculitis の惹起にかかわっていることが示唆された。

E. 結論

肺腎症候群では肺胞および糸球体の毛細血管レベルでの脈管炎が惹起されており、共通した急性炎症細胞反応、基質障害が認められる。

F. 研究発表

1. 学会発表

1) Shigematsu H, Horio T, Yamamoto M, Tazawa Y, Yokoyama T. The

granulo-matous development of glomerulotubular disease. 26th International Congress of the International Academy of Pathology. 5-10 October 2002, Amsterdam, The Netherlands.

2) Shigematsu H, Yamamoto M, Tazawa Y, Horio T, Yokoyama T. How and where does the granulomatous inflammation appear in renal tissue? The 9th Asian Pacific Congress of Nephrology, 16-20 February 2003, Pattaya, Thailand

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
各個研究報告書

「IgA 腎症診療指針の予後組織分類改訂に関する第1報：組織病変評価
に関する分類法 lumped system と split system の比較」

研究協力者 城 謙輔（国立千葉東病院）

共同研究者 鈴木理志、重松秀一*（国立千葉東病院、*信州大学医学部病理学）

研究要旨

IgA 腎症の予後判定基準に、組織分類がその細目として対応している。その分類法は lumped system であり組織学的予後予測の観点から優れた分類であるが、急性活動性病変と慢性病変が並列的に扱われており、治療選択の観点からさらなる改訂が望まれている。それに対立する分類法が split system である。本年度は、症例の組織病変をどのように定量化し、それをどのように臨床に役立てていくかの試案を呈示する。第1の研究はIgA 腎症の各組織病変をスコア化し、急性活動性病変(activity index)と慢性病変(chronicity index)のそれぞれの総和と1日蛋白量の3つの要素から個々の症例に対するステロイド治療の適応チャートを作成した。第2の研究はIgA 腎症組織病変の臨床予後予測因子としての評価を統計学的に解析し、ステロイド治療効果のある病変とない病変に関するエヴィデンスを得た。

A. 研究目的

IgA 腎症の予後判定基準では、1.予後良好群、2.予後比較的良好群、3.予後比較的不良群、4.予後不良群の4群に分類され、それに対応して、腎生検光顕標本における組織分類が細目として対応している。その分類法は lumped system であり組織学的予後予測の観点から優れた分類であるが、急性活動性病変と慢性病変が並列的に扱われており、治療選択の観点からさらなる改訂が望まれている。それに対立する分類法が split system で

あり、これまで重松分類が使用されている。この分類は、急性活動性病変と慢性病変を観念的に切り離し、そのそれぞれを構成する病変に関してその程度をスコア化する方式をとっているが、臨床的観点からの実証性、病変のスコア化における複雑性と再現性の観点から改良の余地がある。本年度は、lumped system と split system の分類法をどのように融合させ、症例の組織病変をどのように定量化して臨床に役立てていくかの試案を呈示することを目的とした。

B. 研究方法

腎生検により糸球体数 8 ヶ以上、生検後 2 年以上経過観察しえた国立佐倉病院の IgA 腎症内科症例 275 例を対象とした。疾患活動性を示す形態的要素として、メサンギウム細胞の増殖(AGm)、活動性管内病変(AGi)、管外性の細胞性半月体(AGe)、そして間質内炎症細胞浸潤の程度(Ai)を、疾患の慢性病変を示す形態的要素として、球状糸球体硬化(CGs)、メサンギウム基質の増加(CGi)、線維性半月体(CGe)、間質巾の線維性拡大の程度(Ci)を定量的にスコア化した。また、Activity Index(AI)を AGm+ AGi+ 2xAGe+ Ai、Chronicity Index(CI)を CGs+ CGi+ CGe+ Ciとした。STの定義として1日30mg以上を4週間以上使用した症例をST有(ST)、それ以外をST無(non-ST)とした。臨床予後の指標として、蛋白尿の改善・増悪については、ST開始12ヶ月後、1日蛋白尿1g/day未満あるいは50%以上軽減した症例を有効、それ以外を無効とした。腎機能予後は、血清クレアチニン値(Cr)2mg/dlをendpointとして、観察期間中それに達するまでの月数で表示し、達しない症例を腎機能維持群とした。蛋白尿の増悪・改善にはLogistic解析、腎機能維持・増悪にはCox解析を用いた。

(倫理面への配慮)

患者情報および病理診断のデータベースの蓄積と利用に関しては、疫学的手法を用いた研究等の適正な推

進の在り方に関する専門委員会の「疫学的手法を用いた研究等に関する倫理指針」に準拠して倫理委員会の承諾を得つつ、腎生検に際して、十分な説明のもとに患者から書面にて同意書を取る。また、同意書の提出後であっても、同意書を撤回することができる様に配慮した。

C. 結果

腎生検時点でのAIとCIスコア、そして1日尿タンパク量(UP)をもとにステロイド療法適応性を以下に分類した。まずステロイド不适当群はCIが5点以上であるもの、ステロイド不要群はCIが5点未満でしかもAIが5点未満、UPが1g未満であるもの、ステロイド必要群はCIが5点未満でしかもAIが5点以上あるいはUPが1g以上であるものとした。ステロイド治療不适当群ではステロイド使用の有無にかかわらず腎機能保持が困難であった。ステロイド治療不要群ではステロイド使用の有無にかかわらず腎機能が保持された。そして、ステロイド治療必要群ではステロイド使用により明らかな腎機能保持効果が確認された。

また、上記の組織病変の8要素について臨床予後の観点から単変量解析をした結果、尿蛋白増悪に関して、AGi、AGe、Ai、CGeがSTに反応する病変として選ばれた。腎機能悪化に関しては、AGeとAiがSTに反応する病変として選ばれた。

D. 考察

腎生検時点での尿タンパク量を 1g/日、AI を 5 点、CI を 5 点として分類されるステロイド療法の適応を不適当、不要、必要の 3 グループに分類したことについての判断は、いずれも明確に腎機能予後と結びつき、この CI、AI、尿タンパクの 3 因子からステロイド療法の適応のチャートを呈示することができた。

しかし、AI と CI の臨床予後への影響に関してはこれまで実証的なデータがなかったため、AI と CI を構成する各病変の臨床予後に対する影響について統計的な解析を行った。その結果、AI の構成要素がステロイド反応性で、CI の構成要素が非反応性であることがほぼ裏付けられたが、臨床予後（蛋白尿、腎機能）やステロイド反応性が各病変間で一様でないことも明らかとなった。

E. 結論

IgA 腎症の治療方針に役立つ組織分類改訂を目指して、split system の臨床への応用の事例を呈示した。これまでの lumped system では、急性活動性病変に対して積極治療、慢性病変に対して消極治療の判断が出来なかったが、split system では、それが可能で治療方針と予後の双方に使用できことが実証された。しかし、判断操作が依然として煩雑であり、再現性の検証が今後の課題である。lumped system と split system の両者の長所をどのように取り入れて改訂版

を作製していくかのたたき台とした。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Hagiwara M, Suzuki S, Joh K: The effect of continuance of proteinuria on the decline of renal function in adult IgA nephropathy: A middle term study on 625 patients. *Nephrology* 2002; 7 (Sppl.) A104-105

2. Joh K, Yamaguchi Y, Sakamoto K, Arita S, Iwashita C, Yamada K, Kashiwabara H: Immunohistochemical analysis of tubulointerstitial changes of chronic allograft nephropathy. *Transplant Proc* 35, 2003; 213-218.

3. Joh K, Nakasato T, Suzuki S, Hamaguchi K: Histological lesions as predictors for the effectiveness of steroid therapy in adult IgA nephropathy: Uni- and multivariate analysis. *Nephrology* 2003,8 (Sppl.); A107-110

4. Sakai K, Muramatsu M, Ogiwara H, Kawamura T, Arai K, Aikawa A, Ohara T, Mizuiri S, Joh K, Naito I, Hasegawa A: Living related kidney transplantation in a patient with autosomal-recessive Alport syndrome. *Clin Transpl* 2003;17:4-8.

5. Kurosaka D, Yoshida K, Yasuda J, Yokoyama T, Kingetsu I, Yamaguchi N, Joh K, Matsushima M, Saito S, Yamada A: Inhibition of arthritis by systemic administration of endostatin in passive murine collagen induced arthritis. *Ann Rheum Dis* 2003; 62:677-679.

6. Fujimoto M, Maezawa Y, Yokote K, Joh K, Kobayashi K, Kawamura H, Nishimura M, Roberts AB, Saito Y, Moro: Mice lacking Smad3 are protected against streptozotocin-induced diabetic glomerulopathy. *Biochem Biophysiol Res Com* 2003; 305:1002-1007.
7. Nishimura M, Terawaki H, Hoshiyama Y, Joh K, Hamaguchi K, Yamada K: Renal ultrasonography is useful for evaluating diabetic renal failure. *Clin Nephrol* 2003; 59:174-179.
8. Shiihara T, Kato M, Kimura T, Matsunaga A, Joh K, Hayasaka K: Microcephaly, cerebellar atrophy and focal segmental glomerulosclerosis in two brothers: A possible mild form of Galloway-Movat syndrome. *J Child Neurol* 2003; 18:147-149.
9. Suzuki S, Joh K: Applicability of steroid therapy for 275 adult IgA nephropathy patients using a histological scoring system and degree of proteinuria. *Clin Exp Nephrol*. 2004 (in press)

2. 学会発表

1. Joh K, Nakasato T, Suzuki S, Hamaguchi K: Histological lesions as predictors for effectiveness of steroid therapy in IgA nephropathy; Uni-and multivariate analysis on 275 adult patients. *J Am Soc Nephrol*, 14:149A, 2003. 36st Annual Meeting for American Society of Nephrology. San Diego, USA, 2003
2. Higurashi M, Nishimura M, Yagui K,

Hashimoto N, Muraguchi M, Ohya Y, Joh K, Yamada K: Involvement of CXC chemokines in the development of diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 14:401A, 2003. 36st Annual Meeting for American Society of Nephrology. San Diego, USA, 2003

疫学に関する調査研究班（Ⅰ）

分担・各個研究報告

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
疫学に関する調査研究班（I）分担研究報告書

「IgA 腎症患者の予後調査－7年間の追跡調査」

分担研究者 遠藤 正之
東海大学医学部腎代謝内科助教授

研究要旨

IgA 腎症患者全国疫学調査で把握された患者の7年後の予後調査を行なった。腎機能予後を規定するのは、収縮期血圧高値、高度蛋白尿、血清総蛋白低値、血清クレアチニン高値、重症度の高い初回腎生検所見、が独立した予後不良因子である事が証明された。

A. 研究目的

わが国における IgA 腎症患者の予後と進行因子を明らかにするために、1995 年の IgA 腎症患者全国疫学調査で把握された患者の7年後の予後調査を行なった。

B. 研究方法

全国の病院から抽出した内科・腎臓内科・小児科を対象に1995年に全国疫学調査でIgA腎症患者5,324人のデータベースを構築した。このうち3,409人を予後調査の対象患者として選択して、今回の調査では、すでに死亡や慢性透析療法への導入が判明した者などを除く2,285人を対象とし、2002年11月より開始した。

（倫理面への配慮）

患者氏名その他プライバシーに関する項目は調査しなかった。また発

表においては個人を特定しえない形式である。患者データベースは患者氏名と臨床データのファイルが別々に保管されており、患者データを直接閲覧出来ない形になっている、

C. 結果

2,133人の予後調査票が返送され（回答率93.3%）、追跡データの更新が可能であった。1995年1月以降に、207人の慢性透析療法への新規導入が確認された。また透析導入なく死亡した症例が16例報告された。尿蛋白が(－)または(±)、血清クレアチニン値が1.25mg/dl以下（値の逆数は0.80以上）、初回腎生検所見が予後良好群に分類された場合の7年累積透析導入率は低く、それぞれ0.7%、2.5%、2.7%であった。これに対し、血清クレアチニン値が上昇している場合の透析導入率は高く、血清クレアチニ

ン値が 2.50 mg/dl を超える場合で 90.1%、1.68-2.50 mg/dl で 68.5%、1.26-1.67 mg/dl で 25.9%に達した。初回腎生検所見が予後比較的良好群、予後比較的不良群、予後不良群に分類された場合の透析導入率はそれぞれ 3.9%、14.4%、43.2%であった。比例ハザードモデルによる多変量解析では、収縮期血圧高値、高度蛋白尿、血清総蛋白低値、血清クレアチニン高値、重症度の高い初回腎生検所見、が独立の予後不良要因として挙げられた。

D. 考察

これまでの国内外の少数れでの報告と同様に、IgA 腎症の予後に影響するのは、高血圧、高度蛋白尿、腎生検での高度障害であった。我が国において多数例で検討されている意義は大きいと考えられる。

E. 結論

IgA 腎症患者の腎機能予後を規定するのは、収縮期血圧高値、高度蛋白尿、血清総蛋白低値、血清クレアチニン高値、重症度の高い初回腎生検所見、が独立した予後不良要因である。

F. 健康危険情報

なし

G. 知的所有権の出現登録状況

なし

H. 研究発表

1. 論文発表

Wu Q, Jinde K, Endoh M and Sakai H: Costimulatory molecules CD80 and CD86 in human crescentic glomerulonephritis. Am J Kidney Dis 41: 950-961, 2003.

2. 学会発表

なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
各個研究報告書

「各種腎炎組織における T 細胞活性化補助刺激分子 CD80 および
CD86 の発現について」

研究協力者 呉 瓊
東海大学医学部腎代謝内科

研究要旨

各種の糸球体腎炎において抗原提示補助分子のCD80/CD86は浸潤T細胞の活性化に関係しており、CD80/CD86の発現は腎生検時の腎機能と相関している。 Monocytes/Macrophagesと尿細管上皮細胞がそれぞれCD86とCD80を発現してT細胞への抗原提示に重要な抗原提示細胞として働いている。

A. 研究目的

抗原提示細胞(APC)上の CD80 と CD86 は T 細胞の活性化に重要な補助刺激分子である。各種の腎炎組織中での発現とその意義を調べた。

B. 研究方法

IgA 腎症(IgAN)、半月体形成性糸球体腎炎(CrGN)、膜性腎症(MN)、微小変化型ネフローゼ症候群(MCNS)と非IgA メサングウム増殖性糸球体腎炎(PGN)の腎組織上での CD80、CD86、CD45RO、CD68、CD14、HLA-DR と ICAM-1 の発現と臨床データを検討した。ヒト近位尿細管上皮細胞を培養し、INF- γ と LPS 刺激前後の CD80/CD86 の mRNA の発現および CD80/CD86 蛋白の発現を RT-PCR 法とフローサイトメトリー法で調べた。ミラー切片を利用して、抗原提

示細胞の種類を同定した。

(倫理面への配慮)

患者氏名その他プライバシーに関わる項目は発表していない。また発表においては個人を特定しえない形式である。

C. 結果

CD80/CD86 は各種腎炎組織中で同じ分布をしていた。CD86 は糸球体内と間質に発現していて、CD80 は一部の尿細管上皮細胞のみに認められた。CD86 は半月体あるいはボーマン嚢と癒着する部位及び対応する傍糸球体領域に強く発現していた。CD86 陽性細胞数は CD45RO、CD68、CD14 の陽性細胞数と相関があった。傍尿細管間質の CD86 陽性細胞数は、IgAN、MN と CrGN 患者の腎生検時の腎機能と相関が認められた。尿細管の CD80

陽性率は IgAN 患者の腎生検時の腎機能と相関が認められた。一部の CD80 陽性尿細管上皮細胞は同時に HLA-DR 陽性であった。大部分の CD86 陽性細胞は CD68、CD14 陽性であった。ヒト近位尿細管上皮細胞の培養実験では、INF- γ と LPS の刺激を加えた後に CD80 mRNA の発現を RT-PCR 法で確認できたが、CD86 mRNA の発現は認められなかった。また、CD80 蛋白の発現もフローサイトメトリー法で確認した。

D. 考察

ヒトの各種糸球体腎炎の発症、進展において、溶連菌感染後急性糸球体腎炎以外では、免疫複合体を構成する特異抗原は不明である。一方多くの糸球体腎炎では糸球体および間質に CD 細胞の浸潤が観察され、腎炎の進行に関与している。本研究ではこの T 細胞の活性化に必要な補助刺激分子 CD80/CD86 が尿細管上皮や浸潤マクロファージに発現していることが証明された。これはヒトの糸球体腎炎では何らかの抗原刺激とそれに続く抗原のプロセッシング、CD4 T 細胞への抗原提示が持続的に行われている証拠である。これらの一連の過程を阻害する事が、糸球体腎炎の将来の治療法なり得ると考えられる。

E. 結論

CD80/CD86 は腎炎組織中の T 細胞の集積に関係し、腎機能の悪化にも

関係している。Monocyte/macrophages が重要な APC として働いている。尿細管上皮細胞も間質の T 細胞の活性化に関与している。

F. 健康危険情報

なし

G. 知的所有権の出願・登録状況

なし

H. 研究発表

1. 論文発表

Wu Q, Jinde K, Endoh M and Sakai H: Costimulatory molecules CD80 and CD86 in human crescentic glomerulonephritis. Am J Kidney Dis 41: 950-961, 2003.

2. 学会発表

なし