

# Fibronectin Glomerulopathy 4 家系 5 症例の 臨床病理学的特徴と形態学的検討

上 杉 憲 子   片 淵 律 子\*   田 口   尚\*\*   津 留   徳\*\*\*  
坂 田 則 行   竹 林 茂 夫

Clinicopathological and morphometrical analysis of 5 cases from  
4 families of fibronectin glomerulopathy

Noriko UESUGI, Ritsuko KATAFUCHI\*, Hisashi TAGUCHI\*\*,  
Mamoru TURU\*\*\*, Noriyuki SAKATA, and Shigeo TAKEBAYASHI

Second Department of Pathology, School of Medicine, Fukuoka University,

\* Division of Nephrology, Fukuoka Red Cross Hospital, Fukuoka,

\*\* Second Department of Pathology, Nagasaki University School of Medicine, Nagasaki,

\*\*\* Department of Pediatrics, Chikushi Fukuoka University Hospital, Fukuoka, Japan

Fibronectin glomerulopathy (FNG) is an inherited disease, characterized by massive fibronectin (FN) deposits in the glomeruli. We semiquantitatively analyzed glomerular lesions and their progression in 5 cases with FNG from 4 different families : a 4 year-old male, a 19 year-old female, a 27 year-old male, a 58 year-old male (the father of the former case) and a 75 year-old male. All subjects showed a 201 times higher value of mean glomerular-tuft area (GA) and a 2.0 times higher mean number of mesangial cells (No. of MC) relative to control ( $p < 0.001$ ). Strong positive correlations were observed between GA and the No. of MC ( $r = 0.86$ ,  $p < 0.001$ ). The younger cases showed markedly higher value of GA and No. of MC than the older cases. Mean individual capillary luminal area was decreased in all but one case and the mean total capillary luminal area, which is roughly estimated as the glomerular filtration area, was less changed compared with the control. The number of capillary loops tended to increase, indicating elongation of the capillary loops.

The fractional area of FN (%FN), collagen IV (%Coll. IV) and laminin (%Lam) were high in all cases except for the first Bx in the 27 year-old case. The %FN strongly correlated with %Coll. IV and %Lam ( $r = 0.86$ ,  $r = 0.69$ ,  $p < 0.001$ , respectively).

Serial biopsy (Bx) with a 10 year-interval was examined in the 27 year-old case and his father : GA and No. of MC were increased 1.4 and 1.9 times in the son, compared with his first Bx ( $p < 0.001$ , respectively), while no change was observed in the father. The %FN, %Coll. IV and %Lam were significantly increased in their second Bx ( $p < 0.001$ ).

These results suggest that 1) enlargement of the glomeruli in FNG is caused by intraglomerular accumulation of FN, Coll. IV and Lam and proliferated mesangial cells, 2) there is a strong influence from the aging factor, and 3) compensatory elongation of the loops (increase in the capillary luminal area) may maintain the glomerular filtration.

Jpn J Nephrol 1999 ; 41 : 49-59.

**Key words** : mesangial cell, ECM in fibronectin glomerulopathy

## 緒 言

フィブロネクチン沈着症 (fibronectin glomerulopathy : FNG) は Ström ら<sup>1)</sup>(1995)によって最近認識された原因不明の遺伝性腎疾患で、腎糸球体内へのフィブロネクチン (fibronectin : FN)の多量の沈着を特徴とする<sup>1-8)</sup>。発症年齢は10歳半から30歳前後が多く、臨床的には慢性腎炎様の経過をたどり、半数近くの患者が高血圧を合併し<sup>1,2)</sup>、25%前後の患者が透析に至っている<sup>1,2)</sup>。免疫組織学的には血清由来のFNの糸球体内沈着が著明であること、移植腎に再沈着がみられたことより<sup>9)</sup>、FNは糸球体内で産生されるより、血中由来であるという意見が優勢である<sup>1,2)</sup>。しかし患者の血中FN値は正常値を示すなど不明の点も多く残されている<sup>1)</sup>。肥厚した糸球体の細胞外マトリックスには、FNだけでなくIV型コラーゲン (Coll. IV)、テネイシン、アミロイドPなどの沈着がみられ、FNとこれら細胞外マトリックスとの関連性については定説がない<sup>1-4)</sup>。Abtらは糸球体内の細胞外マトリックスの増加に比べて細胞増加の軽いことも本症の特徴と述べている<sup>2)</sup>。本症の糸球体病変は徐々に進行すると考えられているが<sup>1-3)</sup>、これに関する糸球体病変の経時変化についてはまだ報告されていない。

今回、われわれは年齢の異なる4家系5症例(4~75歳)の臨床および形態計測を含む病理学的検索を行い、症例間での糸球体病変の相違を検討し、同時に父子例で10年後の再生検による病変の経時変化と、本症の特徴である高度糸球体病変にかかわらず腎機能が長期維持される理由についても検討したのでここに報告する。

## 対象と方法

### 1. 症 例

腎生検にて診断されたFNG、4家系5名の患者で、症例1: 4歳男児、症例2: 19歳女性、症例3: 27歳男性(症例4の息子)、症例4: 58歳男性、症例5: 75歳男性であった。

### 2. 方 法

腎生検の光顕標本はホルマリン固定後、HE染色、Periodic acid Schiff(PAS)染色、Periodic acid methenamine silver(PAM)染色、Masson trichrome染色およびCongo red染色を行った。凍結切片では色疫グロブリン(IgG, IgA, IgM)と補体(C<sub>3</sub>, C<sub>1q</sub>)を直接蛍光抗体法にて観察した。使用した抗体はFITCラベル抗-IgG(DAKO, USA)、-IgA(DAKO)、-IgM(DAKO)、-C<sub>3</sub>(DAKO)-C<sub>1q</sub>

(DAKO)であった。電顕試料は1.4%グルタルリン酸緩衝液pH7.3で固定後、OsO<sub>4</sub>で再固定し、エポン包埋し、超薄切後ウラニール鉛二重染色を行い、JEM100cxにて観察した。免疫組織化学的検索には、ホルマリン固定パラフィン包埋標本を用い、alkaline phosphatase-antialkalin phosphatase法とlabeled streptavidin biotin法にて検討を行った。使用した抗体は抗-血漿由来フィブロネクチン(FN, DAKO)、-細胞由来フィブロネクチン(Biohit, USA)、-IV型コラーゲン(Shiseido, Japan)、-III型コラーゲン(Southern Biotech., USA)、-I型コラーゲン(Vector, USA)、-ラミニン(Chemicon, USA)、-ヘパラン硫酸(heparansulfate proteoglycan, HSPG, Sigma, USA)、-アミロイドA(DAKO)、-アミロイドP(DAKO)、- $\alpha$ -smooth muscle actin( $\alpha$ -SM, DAKO)、単球/マクロファージ(HAM56, DAKO)を用いた。

このうち細胞外マトリックスの染色には、前処理として0.05% pronase(DAKO)処理または0.1% pepsin処理を行い、HAM56の染色では熱処理を行った。糸球体の形態計測にはcomputer analysis program(Nikon Cosmosone)を用い、光顕PAM染色標本を用いてRumpeltら<sup>10)</sup>の方法に従い、硬化糸球体を除く最大断面を呈する糸球体において糸球体面積(glomerular tuft area : GA)の測定を行った。また同糸球体にてYoshikawaら<sup>11,12)</sup>の方法に従ってメサンギウム領域細胞数(浸潤細胞を除く)も算定した。同時に糸球体内の総細胞数を算定した。

さらにこれら個々の糸球体毛細血管の面積はTothらの方法<sup>13)</sup>に従って測定し、その平均値(mean capillary luminal area : MCA)とそれらを合計した糸球体当たりの面積(mean total capillary luminal area : TCA)を求めた。同時に糸球体毛細血管数も求めた(number of capillary lumens)。

糸球体細胞外の各種マトリックスの沈着を半定量的に検討するため、FN、IV型コラーゲン、ラミニンの各々のfractional area(%FN, %Coll. IV, %Lam)を10×10mmの格子付き接眼レンズを用い400倍でpoint counting法<sup>14)</sup>を用いて算定した。また同様に糸球体内の $\alpha$ -smooth muscle actin陽性細胞のfractional areaをpoint counting法にて調べた。浸潤HAM陽性細胞数を各糸球体ごとに算定した。各症例で、糸球体面積とメサンギウム細胞数は、年齢にマッチし、腎機能正常で、腎生検で光顕、直接蛍光抗体法、電顕上、異常を認めない正常対照例(4~5歳3例、15~20歳4例、20~30歳5例、40~60歳4例、70~80歳3例)と比較検討した。再生検がなされている症例3と

Table 1. Clinical findings

Case	No. 1	No. 2			No. 3		No. 4		No. 5
Sex	Male	Female			Male	Male		Male	
Family history	Yes	unknown			Yes	Yes		Yes	
Age at onset	3	12			14	40?		75?	
Symptom at onset	PU	PU			PU	PU		PU	
Bx		1st	2nd	3rd	1st	2nd	1st	2nd	
Age at Bx	4	14	16	19	17	27	48	58	
Symptom at Bx	NS, HU, HT	PU	PU	NS, HU	PU	PU	PU	NS, HU	
Hypertension	Yes	No	No	No	No	No	No	No	
Renal dysfunction	No	No	No	No	No	No	No	Yes	

No. 3 is a son of No. 4.

Abbreviations are PU : proteinuria, NS : nephrotic syndrome, HU : hematuria.

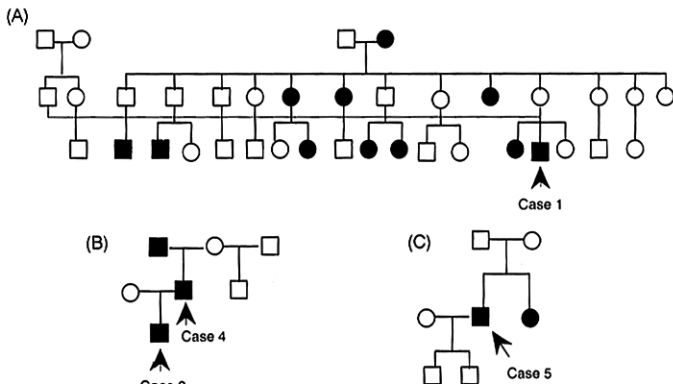


Fig. 1. Pedigree of the three families

Symbols are ● : female with nephropathy, ■ : male with nephropathy.

症例4では1回目腎生検と10年後に施行された2回目腎生検との間で、糸球体面積(GA)、糸球体内総細胞数、メサンギウム細胞数やfractional areaの経時的変化について比較検討を行った。統計処理は、2群間または経時変化の比較ではunpaired t testを用い、相関関係はSpearmanの順位相関を用いて検討しp<0.05を有意とした。

## 結果

### 1. 病歴, 家族歴

全症例の臨床経過をTable 1に示す。すべてchance proteinuriaで発見され、経過中の蛋白尿の増加、あるいはネフローゼ症候群の出現を認めた。症例1は尿蛋白指摘から1年後に急速に高血圧、血尿、ネフローゼ症候群など腎炎様症候群を発症し、腎生検が行われた。現在高血圧は降圧剤でコントロールされ、蛋白尿も1g以下で外来経過

観察されている。症例2は14歳と16歳時に腎生検を受けている。症例3は症例4の息子で、初回腎生検(17歳)から10年後(27歳)に、なお0.5g/日程度の蛋白尿が続くため、第2回目の腎生検が施行された。40歳ごろに蛋白尿で発症した症例4は48歳で第1回目の腎生検を受けたが、ネフローゼ症候群と血尿を呈したため、10年後に58歳時に第2回目の腎生検が施行された。症例5は70歳で初めて蛋白尿を指摘され、75歳時ネフローゼ症候群が出現したため腎生検が施行された。3家族の腎疾患について家系図をFig. 1に示す。症例1ではFig. 1Aに示すように家系内に多数の腎疾患患者を認め、高血圧、脳出血の既往のある者も認めた。症例3と症例4は父子例である(Fig. 1B)。症例5の姉も蛋白尿が指摘されている(Fig. 1C)。

### 2. 検査成績

症例1, 2と症例3, 4の1回目腎生検時のクレアチニンクリアランス(Ccr)はいずれも正常値であった(Table 2)。ただ、症例4では第2回目生検時のCcrは低下し、血清クレアチニンも上昇していた。一方、血中のFNは症例1, 2, 5で計測されたがいずれも正常範囲内であった。症例1では血中レニン、アンギオテンシン、17OS, 17OHCS, アドレナリン、ノルアドレナリンはいずれも正常範囲内であった。また、肝機能や免疫血清学的所見にも異常はなかった。

### 3. 組織所見

すべての症例で糸球体は正常対照と比べ著明に肥大し、PAS陽性物質が糸球体のメサンギウム領域に広く沈着し、そのためメサンギウム領域も拡大していた(Fig. 2A)。症例5では、PAM染色で糸球体基底膜に断裂が認められ、毛細血管係蹄腔は拡大していた(Fig. 3)。尿細管、間質の細胞浸潤や線維化は症例4の2回目生検では認められた

Table 2. Laboratory findings at biopsy

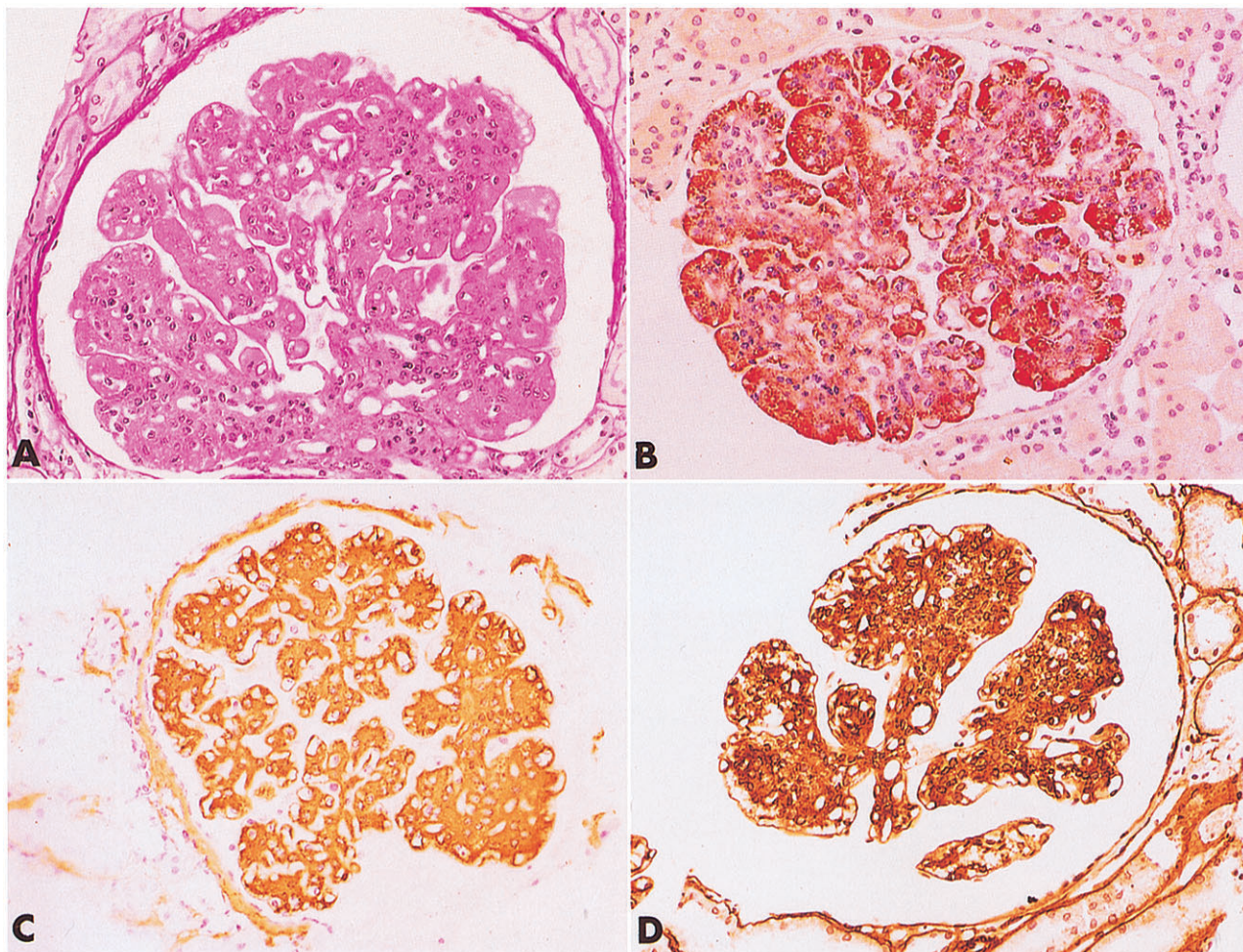
Case	No. 1	No. 2	No. 3		No. 4		No. 5
Biopsy		3rd	1st	2nd	1st	2nd	
Age at biopsy (y. o)	4	19	17	27	48	58	5.1
<serum>							19
TP (g/dl)	4.9	4.4	7.4	6.7	6.3	5.6	0.9
BUN (mg/dl)	12	11	16	14	ND	22	216
Cre (mg/dl)	0.2	0.6	1	0.8	0.8	1.6	
Chol (mg/dl)	363	396	ND	188	184	296	
TG (mg/dl)	182	177	ND	126	ND	ND	ND
C3 (mg/dl)	89	81	88	65	57	61	ND
C4 (mg/dl)	24	21	27	21	18	27	ND
Fibronectin (ug/ml)	182	274	ND	ND	ND	ND	295
Ccr (mg/dl)	130	123	96	ND	111	58	ND
<urynalysis>							
PU (g/day)	8	7	0.5	1	2	12	2.1
PU	3+	3+	1+	2+	2+	4+	3+
HU	2+	3+	0	0	0	2+	2+

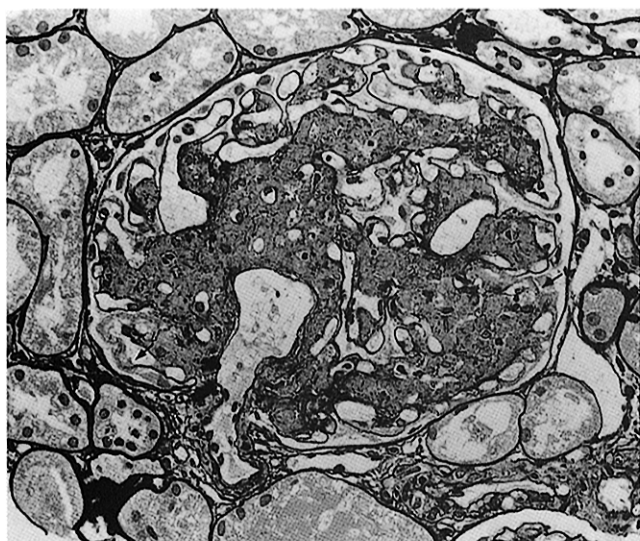
Abbreviations are ND : not done, PU : proteinuria, HU : hematuria.

▼ Fig. 2. Histological and immunohistochemical features of the glomerulus in Case 2 (A~C) and Case 1 (D)

The glomerulus of Case 2 (A) was significantly enlarged with PAS positive materials and showed prominent lobulation and increased the number of mesangial cells. Fibronectin deposits (B) were prominent in peripheral loop or paramesangium. They were observed faintly and diffusely in mesangium. While collagen type IV (C) and laminin (D) was located mainly in mesangium and also along peripheral loops.

A : PAS staining,  $\times 150$ , B : fibronectin,  $\times 150$ , C : collagen type IV,  $\times 150$ , D : laminin,  $\times 150$





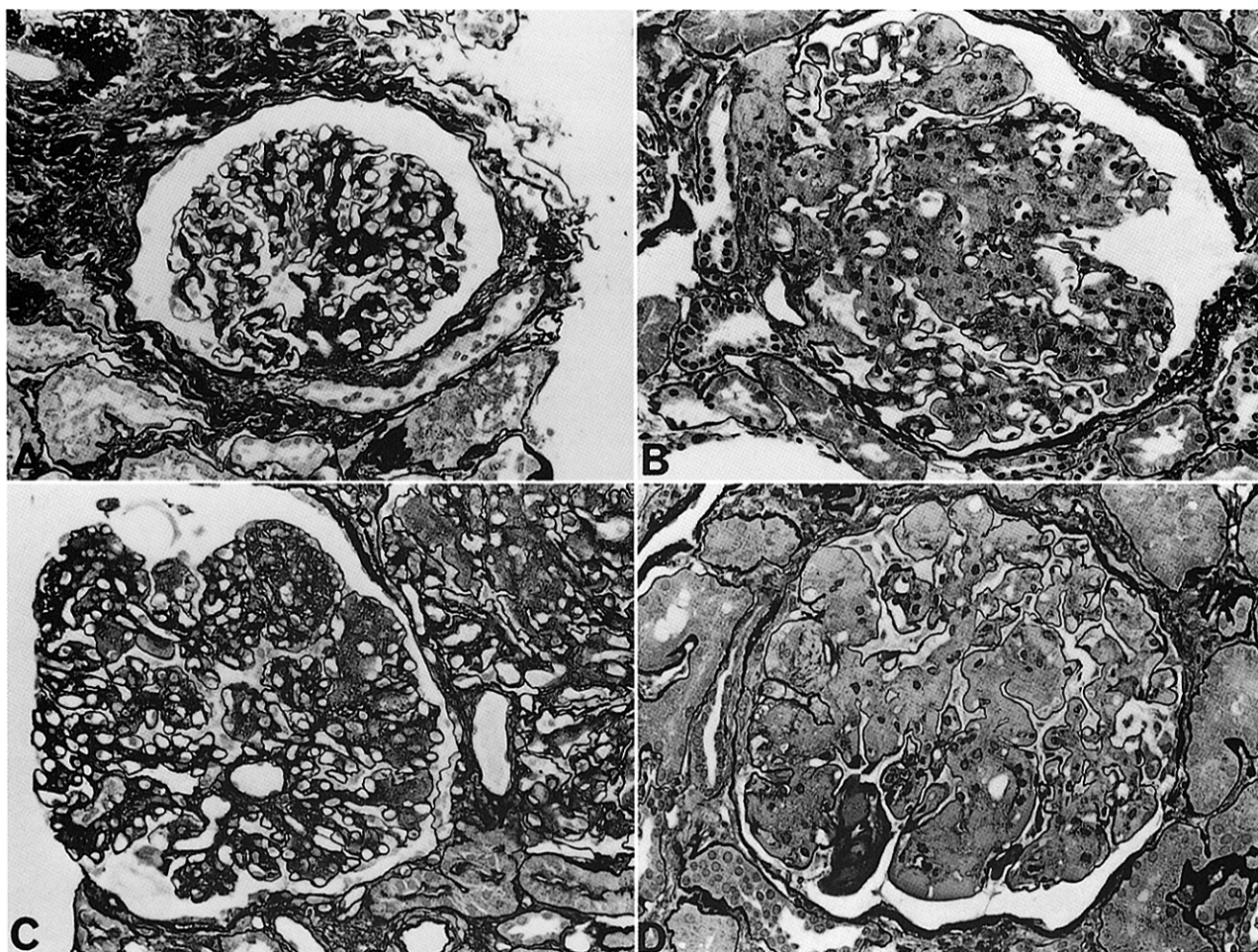
◀Fig. 3. Histological appearance of the glomerulus in Case 5

The glomerulus was enlarged and showed severely expanded mesangium and focal disruption of basement membrane. Capillary lumens were often dilated. Mesangial cells were not increased and the cellularity was decreased. PAM staining, ×150

▼Fig. 4. Comparison of histological feature of glomeruli between 1st and 2nd biopsy sample of Case 3(A, B) and Case 4(C, D)

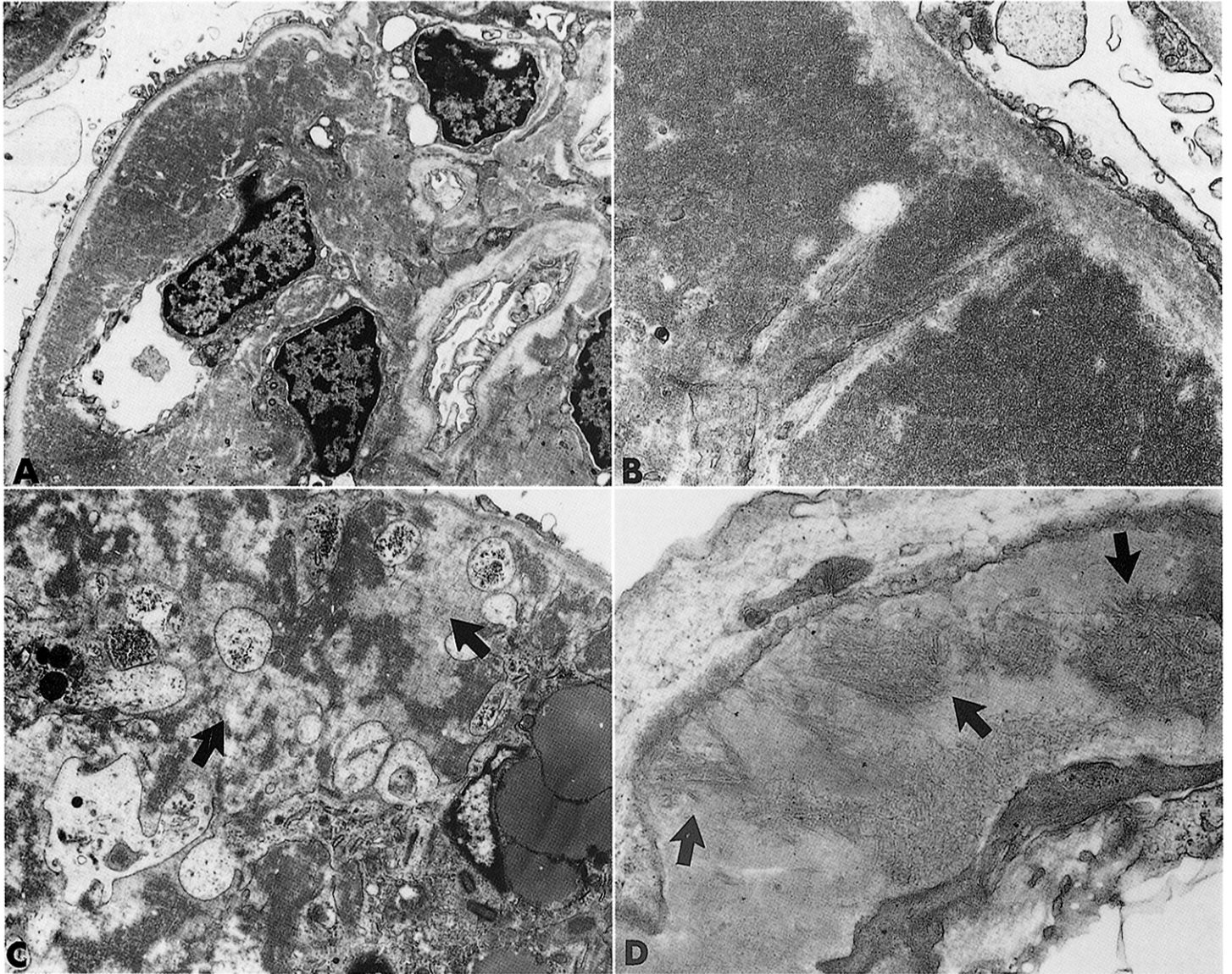
The glomerulus showed mild mesangial expansion in the 1st Bx sample of Case 3 at his age of 17 (A), while it was much enlarged and lobulated in the 2nd Bx sample after 10 years (B). Case 4, the father of Case 3, showed moderate mesangial expansion of glomerulus at the 1st Bx at 48 y. o. (C). At the 2nd Bx (D) 10 years later, the glomerulus was lobulated and showed more prominent mesangial expansion and decreased capillary luminal area. The glomerular tuft areas were not significantly increased compared with those of the 1st Bx.

A : 1st Bx of Case 3, B : 2nd Bx of Case 3, C : 1st Bx of Case 4, D : 2nd Bx of Case 4, PAM staining, ×150



が、他の症例では認めないかごく軽度であった。10年後に再生検を行った症例3、4の2回目の生検(Fig. 4B, D)ではともに糸球体分葉化が認められ、症例3の場合、メサンギウム細胞もマトリックスも増加していた(Fig. 4B, D)。

しかし症例4ではマトリックスの増加のみ認められ、細胞増加や糸球体肥大の進行は認められなかった。免疫グロブリンや補体の糸球体内沈着は主にメサンギウム領域に認められ、その詳細は以下の通りであった。



**Fig. 5. Electronmicroscopical observation in Case 1, 2 and 5**

Electronmicroscopy showed the prominent deposition of fine granular material in paramesangium and mesangium and narrow capillary lumen(A). Basement membrane was intact(A~C). At higher magnification(C), the deposit consisted of fine granular structures. Translucent areas(arrows) were occasionally observed among those granular deposits(B). In the Case 5 the thick fiber(12~15 nm)(arrows), resembling those in immunotactoid glomerulopathy, were occasionally observed and invaded to the basement membrane.  
 A : Case 2,  $\times 4,000$ , B : Case 2,  $\times 21,000$ , C : Case 1,  $\times 4,600$ , D : Case 5,  $\times 21,000$

症例1: IgG(2+), IgA(1+), 症例2:  $C_{1q}$ (±), 症例3: 1回目生検: IgA(1+), 2回目生検: IgG(2+), IgA(2+),  $C_3$ (2+), 症例4: 1回目生検, IgG(2+), IgA(1+), 2回目生検: IgG(2+), IgA(1+),  $C_3$ (1+),  $C_{1q}$ (1+), 症例5: IgG(2+), IgA(1+),  $C_3$ (1+)。その他はいずれも陰性であった。

#### 4. 電顕所見の結果

すべての症例において、パラメサンギウムからメサンギウム領域にかけて細顆粒状物質がびまん性に沈着し、elec-

tron dense deposit を形成していた(Fig. 5A, B, C)。この沈着部位と免疫組織化学法によるFNの沈着態度はよく一致していた。沈着物には細顆粒以外に特別な配列を示す所見はなく、一部には less-osmiophilic な部分が混在していた(Fig. 5C, 矢印)。なお症例5では上記の所見に加えパラメサンギウムの一部に直径12~15 nmの単管状の構造物の錯走した像がみられ、糸球体基底膜へ浸潤していたが(Fig. 5D, 矢印)、コンゴレッド染色は陰性であった。糸球体硬化所見は症例4の2回目生検と症例5に認めら

Table 3. Morphological change of glomeruli of FNG (above) with comparison of age related control (below)

FNG case	No. 1	No. 2	No. 3		No. 4		No. 5	average
Age at Bx	4	19	17	27	48	58	75	
			1st Bx	2nd Bx	1st Bx	2nd Bx		
Number of glomeruli investigated	12	18	16	9	10	5	8	
Glomerular tuft area (GA) ( $\times 10^{-4} \text{mm}^2$ )	383 $\pm$ 10 <sup>(a)</sup> [3.8]	470 $\pm$ 60 <sup>(a)</sup> [3.1]	197 $\pm$ 41 <sup>(a)</sup> [1.3]	293 $\pm$ 57 <sup>(a)</sup> [1.7]	284 $\pm$ 58 <sup>(a)</sup> [1.7]	272 $\pm$ 70 <sup>(a)</sup> [1.6]	285 $\pm$ 72 <sup>(b)</sup> [1.9]	285 $\pm$ 72 <sup>(a)</sup> [1.9]
Mean capillary area (MCA) ( $\times \mu\text{m}^2$ )	72 $\pm$ 76 [1.3]	61 $\pm$ 53 <sup>(a)</sup> [0.58]	55 $\pm$ 41 <sup>(a)</sup> [0.52]	51 $\pm$ 37 <sup>(a)</sup> [0.45]	65 $\pm$ 90 <sup>(a)</sup> [0.64]	42 $\pm$ 32 <sup>(a)</sup> [0.41]	111 $\pm$ 101 <sup>(a)</sup> [1.32]	64 $\pm$ 22 <sup>(a)</sup> [0.74]
Total capillary area (TCA) ( $\times 10^{-4} \text{mm}^2$ )	27 $\pm$ 8 [1.23]	26 $\pm$ 9 <sup>(a)</sup> [0.52]	38 $\pm$ 8 <sup>(c)</sup> [0.76]	33 $\pm$ 5 [0.83]	51 $\pm$ 2 <sup>(c)</sup> [1.24]	24 $\pm$ 4 [0.59]	50 $\pm$ 3 <sup>(a)</sup> [2.17]	35 $\pm$ 16 [0.94]
No. of capillary loop/gI	43 $\pm$ 10 [1.1]	49 $\pm$ 10 [1]	76 $\pm$ 9 [1.5]	70 $\pm$ 26 [1.5]	80 $\pm$ 26 <sup>(c)</sup> [2.2]	44 $\pm$ 20 [1.2]	48 $\pm$ 18 [1.6]	58 $\pm$ 21 <sup>(a)</sup> [1.5]
No. of mesangial cell/gI	102 $\pm$ 28 <sup>(a)</sup> [3.1]	133 $\pm$ 30 <sup>(a)</sup> [3.7]	36 $\pm$ 8 <sup>(c)</sup> [1]	105 $\pm$ 15 <sup>(a)</sup> [2.6]	56 $\pm$ 14 <sup>(a)</sup> [1.4]	50 $\pm$ 4 <sup>(b)</sup> [1.3]	51 $\pm$ 13 <sup>(b)</sup> [1.4]	80 $\pm$ 42 <sup>(a)</sup> [2.2]
No. of glomerular cells	242 $\pm$ 45 <sup>(a)</sup> [2.8]	259 $\pm$ 38 <sup>(a)</sup> [2.7]	117 $\pm$ 22 <sup>(b)</sup> [1.2]	176 $\pm$ 40 <sup>(a)</sup> [1.7]	143 $\pm$ 33 <sup>(a)</sup> [1.4]	101 $\pm$ 17 <sup>(c)</sup> [1]	122 $\pm$ 25 <sup>(b)</sup> [1.6]	160 $\pm$ 61 <sup>(a)</sup> [1.7]
HAM56 positive cells/gI	6.6 $\pm$ 2.1	25 $\pm$ 2.8	1 $\pm$ 0.5	0.7 $\pm$ 0.2	6.5 $\pm$ 1.7	7 $\pm$ 0.5	10 $\pm$ 1.7	
Controls, range of age	4-5	15-20	20-30		40-60		70-80	
No. of cases	3	4	5		4		3	
mean age at Bx	4.6 $\pm$ 0.7	18 $\pm$ 1.2	27.2 $\pm$ 3.0		54.2 $\pm$ 4.8		75.6 $\pm$ 2.2	
Sex (M/F)	3/0	2/2	3/2		4/0		3/0	
No. of glomeruli investigated	24	25	21		25		8	
GA ( $\times 10^{-4} \text{mm}^2$ )	100 $\pm$ 19	152 $\pm$ 40	172 $\pm$ 49		172 $\pm$ 10		154 $\pm$ 50	150 $\pm$ 30
MCA ( $\times \mu\text{m}^2$ )	54 $\pm$ 37	106 $\pm$ 85	114 $\pm$ 94		102 $\pm$ 85		90 $\pm$ 23	90 $\pm$ 23
TCA ( $\times 10^{-4} \text{mm}^2$ )	22 $\pm$ 7	50 $\pm$ 11	49 $\pm$ 19		41 $\pm$ 22		23 $\pm$ 9	37 $\pm$ 14
No. of capillary loop/gI	37 $\pm$ 2	48 $\pm$ 10	47 $\pm$ 7		37 $\pm$ 12		29 $\pm$ 12	39 $\pm$ 8
No. of mesangial cell/gI	33 $\pm$ 6	36 $\pm$ 1	41 $\pm$ 2		38 $\pm$ 2		36 $\pm$ 5	36 $\pm$ 3
No. of glomerular cells	88 $\pm$ 20	97 $\pm$ 20	102 $\pm$ 17		102 $\pm$ 20		73 $\pm$ 13	93 $\pm$ 12

Data are expressed as mean  $\pm$  standard deviation. <sup>(a)</sup> $p < 0.001$  vs age-matched control, <sup>(b)</sup> $p < 0.05$  vs age-matched control, <sup>(c)</sup> $p < 0.001$  vs previous Bx, [ ] : ratio to case/age-matched control

れた。

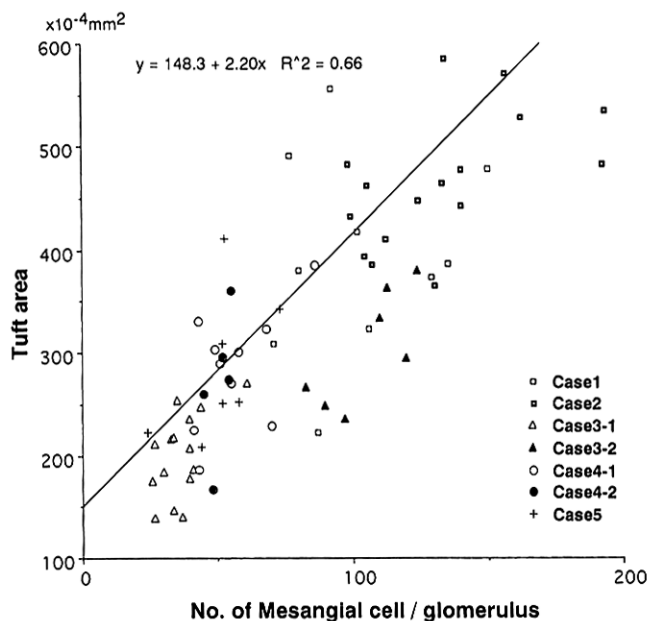
### 5. 糸球体形態計測

糸球体形態計測の結果を Table 3 に示す。糸球体面積は、症例により異なるが、いずれも対照に比較し有意に増大していた(平均 2.1 倍)。総糸球体細胞とメサンギウム細胞とはほとんどの症例で増加していた(それぞれ対照の平均 1.7 倍, 2.2 倍)。これらを発症年齢の差でみると、特に若年者で(症例 1, 2, 3 の 2 回目生検), 糸球体面積の拡大は著明(平均 2.4 倍)で総細胞数も増加し(平均 2.8 倍), メサンギウム細胞も著明に増加していた(平均 3.1 倍)。しかし中高年齢発症者では(症例 4, 5)糸球体面積や糸球体総細胞数, メサンギウム細胞数の増加の程度はそれぞれ対照の 1.7, 1.3, 1.4 倍で, 若年者に比べ軽度であった。

経年的変化の検討では, 若年症例(症例 3)の 10 年後では糸球体面積は約 1.4 倍に, メサンギウム細胞数は 2.6 倍に増加していたが, 中年発症例(症例 4)の 10 年後の糸球体面積やメサンギウム細胞数には経年変化はなかった。

糸球体ごとの検討ではメサンギウム細胞数と糸球体面積 (Fig. 6,  $r = 0.81$ ,  $p < 0.001$ )の間に強い相関が認められた。一方, 症例 5 を除き, 個々の糸球体毛細血管面積 (MCA) は減少し(対照の平均 0.56 倍,  $p < 0.001$ ), 係蹄の狭小化を示したが, 糸球体毛細血管の面積の総和 (TCA) の減少の程度は前者に比べて軽い傾向にあった(対照の平均 0.89 倍,  $p < 0.017$ )。

糸球体毛細血管数は, 糸球体沈着物の少ない症例では増加していたが, 沈着の著明な症例(症例 1, 2 と症例 4 の 2



**Fig. 6. Relationship between number of mesangial cells and glomerular tuft area**

Number of mesangial cells in a glomerulus strongly correlated with glomerular tuft area (GA) ( $p < 0.001$ ).

回目生検)では対照と差はなかった。

以上より、FNGにおいては糸球体面積とメサンギウム細胞数は明らかに増加し、その増加の程度は若年者に強く、また経年変化では若年発症者により激しい変化が認められた。濾過面積に関する毛細血管の面積の総和は症例5を除いて不変またはやや低下したが、個々の毛細血管の狭小化に比べ、比較的良好に維持されていた。

## 6. 免疫組織化学

全症例でFNの著明な糸球体内沈着を認めた。FN染色は係蹄に沿って強く認められ、メサンギウムの中心部寄り

でやや粗であった(Fig. 2B)。一方、IV型コラーゲン(Fig. 2C)とラミニン(Fig. 2D)は主にメサンギウム領域に著明に沈着し、糸球体基底膜にも認められた。

Table 4にFN、IV型コラーゲン、ラミニンの症例ごとのfractional area(% FN, % Coll. IV, % Lam)を示す。症例1, 2, 5では% FN, % Coll. IV, % Lamが高値を呈し、糸球体内での沈着量の多いことを示していた。一方、症例3, 4の% FN, % Coll. IVは1回目に比べ2回目生検で有意に上昇していた。また% Lamは症例4では10年後に有意に増加したが、若年者の症例3では明らかな差はなかった。

Fig. 7に% FNと% Coll. IVや% Lamとの相関を示す。% FNと% Coll. IV, % Lamとの間に強い正の相関を認めた(それぞれ、 $r = 0.81, p < 0.001, r = 0.69, p < 0.001$ )。つまりFNの沈着の多い糸球体ほど、IV型コラーゲンやラミニンも多く沈着していた。メサンギウム沈着物では細胞由来FN、アミロイドA、アミロイドPは全例に陰性、III型コラーゲンは症例1, 2, 5で部分的に陽性であった。I型コラーゲンは全例に陰性であった。ヘパラン硫酸は正常糸球体と同様にFN症例の基底膜に発現していたが、沈着物には陰性であった。 $\alpha$ -smooth muscle陽性細胞は症例3, 4の1回目生検を除いて、全例にいろいろの程度に認められた(Table 4)。

## 考 察

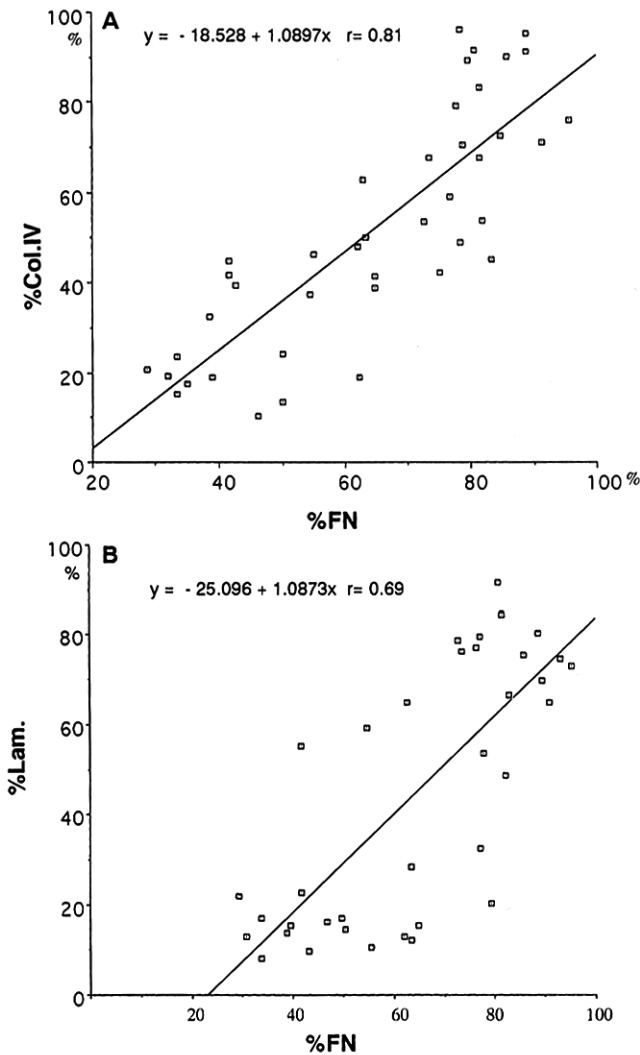
FNの沈着はFNGのみならずメサンギウム増殖性腎炎や糖尿病、その他の腎疾患にもみられ、FNGとの鑑別が問題となる。われわれは今回4家系5症例を以下の点からFNGと診断した。①臨床的には、症例2を除いてすべて腎疾患の家族歴を有し、②すべての症例で糸球体は肥大

**Table 4. The fractional area of FN, Coll. IV, Laminin and  $\alpha$ SM**

Case	No. 1	No. 2	No. 3		No. 4		No. 5
Bx			1st	2nd	1st	2nd	
No. of glomeruli investigated	10	16	5	12	10	4	7
%FN	86 ± 5	86 ± 5	36 ± 11	66 ± 13	38 ± 7	81 ± 5	65 ± 13
%Coll. IV	84 ± 8	81 ± 10	14 ± 2	36 ± 11	31 ± 12	58 ± 10	53 ± 11
%Lam	79 ± 6	58 ± 8	16 ± 5	22 ± 12	15 ± 5	71 ± 12	70 ± 10
% $\alpha$ SM	10 ± 7	29 ± 9	0	3 ± 3	0	8 ± 4	33 ± 16

Data are expressed as mean ± standard deviation. \* $p < 0.001$ , between the 1st and 2nd Bx





**Fig. 7. Relationship between %fibronectin and %collagen type IV(A) or %laminin(B)**

The fractional area of fibronectin-positive area showed a strong correlation with that of collagen IV positive area ( $p < 0.001$ ) and laminin positive area ( $p < 0.001$ )

し、係蹄からメサンギウムにかけてPAS陽性物質が著明に沈着、③同部位に一致してFNの強い発現を認め、④電顕的にこれら沈着物は主に細顆粒状物質で構成され、⑤全例で蛋白尿を主症状とし、糸球体病変が強いわりに腎機能は正常を維持、または極めて緩徐に進行する特徴を有していた。これらの所見はこれまで報告されたFNGの特徴に符合する<sup>1,2)</sup>。

これまでの報告では、FNGのメサンギウム領域で細胞数やその密度は減少しているものから著明に増加しているものまでいろいろで、一定した見解がなかった<sup>1-7)</sup>。しかしこれらはいずれも報告者の光顕による主観的観察であ

り、形態計測はなされておらず、客観性に乏しい。われわれの形態計測結果からは、糸球体面積の拡大はメサンギウム細胞を含む糸球体細胞の増殖と細胞外マトリックスの著しい増加によるものであった。

FNGの糸球体病変は発症年齢によっても異なっていた。若年発症の症例(症例1, 2, 3の2回目生検)では糸球体面積の拡大や総糸球体細胞数、メサンギウム細胞数の増加が目立ち、17歳発症例(症例3)の経年変化ではこれらの著明な変化がみられた。一方、中年発症者(48歳, 症例4)では、経年的にFNの沈着は増加したが、メサンギウム細胞の増加や糸球体面積の拡大は認められなかった。Abtら<sup>7)</sup>やTuttleら<sup>6)</sup>の著明なメサンギウム細胞の増加を認めた例も、15歳および20歳代の若年者であった。このことから糸球体の肥大やメサンギウム細胞数の増加はFNGの発症年齢に強く影響されることが示唆された。

糸球体毛細血管数の増加は、逆流性腎症をはじめとして代償性肥大を伴う糸球体によくみられる現象で<sup>15,16)</sup>、一般に幼少年期で代償性肥大はより強くみられる<sup>15)</sup>。FNGでも糸球体毛細血管は延長し、血管腔の数は増加するが、沈着物の更なる増加に伴い血管腔が閉塞、その数が減少したと考えられた。血管腔数の増加は、沈着物やメサンギウム細胞増加による係蹄の狭小化を代償して、それにより糸球体濾過面積の維持機能が働き、腎機能の低下を防止していると考えられた。症例2では明らかに平均および総毛細血管面積の低下を認めたが、毛細血管数の増加はなく、GFRは正常であった。つまり糸球体基底膜単位面積当たりの濾過量が増加し、hyperfiltration状態を維持していると思われた。FNGにおいて、糸球体沈着物の増加による毛細血管の狭小化にもかかわらず、腎機能が長期に正常に保たれ、もし低下しても進行が緩徐である理由は糸球体濾過面積の比較的維持やhyperfiltrationによると思われる。

FNGの糸球体には、FN以外の様々な細胞外マトリックス成分、IV型コラーゲン、III型コラーゲン、I型コラーゲン、アミロイドP、テネイシン、ビトロネクチンなどの沈着が報告されている<sup>14)</sup>。しかし、その沈着の程度は症例により異なり、FNの沈着との関係については不明である。Strömら<sup>1)</sup>がまとめた症例のなかにはIV型コラーゲンの沈着範囲がFNのそれと同程度である例や、IV型コラーゲンはメサンギウム領域には陽性であるが沈着物に陰性である例なども報告されている。またこれまでの報告ではラミニンの沈着はごく軽度か陰性と報告されている<sup>14)</sup>。今回のわれわれの検討では、IV型コラーゲンやラミニンはPAS陽性物質やFNの沈着したメサンギウム領域にも局

在しており、電顕上ではメサンギウム領域で細顆粒状に見えたFN領域と透明な部位も観察された。この領域はおそらくFNだけではなく、IV型コラーゲンやラミニンの蓄積も混在していると考えられた。

FNGの糸球体におけるFNをはじめとする細胞外マトリックスの蓄積のメカニズムはなお明らかでない<sup>1)</sup>が、本研究の結果から、FNGの初期(症例3, 4, 1回目生検)ではFNの沈着が目立ち、IV型コラーゲンやラミニンの沈着はごく軽度であった。しかし10年後には明らかにIV型コラーゲン、ラミニンの沈着増加を認めた。つまり、FN以外の細胞外マトリックスは二次的に糸球体内に沈着した可能性がある。一方、培養細胞や実験腎炎の検討から、糸球体における細胞外マトリックス産生の担い手は形質転換したメサンギウム細胞や浸潤マクロファージであると報告されている<sup>17-20)</sup>。われわれの検討では、FNGにおいてメサンギウム細胞が著しく増加し、 $\alpha$ -smooth muscleに陽性の形質転換が発現し、しかもマクロファージが有意に浸潤し、メサンギウム細胞数と糸球体面積との間には強い正の相関が認められた。つまりFNGにおいても、FNをはじめIV型コラーゲンやラミニンの一部は浸潤マクロファージや形質転換したメサンギウム細胞により産生された可能性もある。

症例5(75歳)では、糸球体基底膜は断裂し、いくつかの係蹄が癒合拡大し、免疫組織学的には基底膜の一部ではヘパラン硫酸が陰性となり、電顕的にはimmunotactoid glomerulopathyに類似したmicrofibrilがパラメサンギウムから一部の糸球体基底膜へ出現し進展していた。Strømら<sup>1)</sup>もmicrofibril構造物の基底膜への侵入を伴う沈着を一部の家系に認めている。またRostagnoら<sup>21)</sup>はimmunotactoid glomerulopathyでは流血中にimmunoglobulin-fibronection complexが増加し、糸球体にも沈着してくると報告している。われわれの症例中のこのimmunotactoid glomerulopathy様の所見をもつ症例5は、本来FNGの亜型とすべきなのかそれとも別の原因によるものか、なお議論の余地を残している。

以上をまとめると

1) FNGの糸球体肥大を伴う病変には、FNの著明な沈着とメサンギウム細胞の強い増加とその形質転換およびマクロファージの侵入がみられ、FNの沈着だけではなくIV型コラーゲンやラミニンの蓄積も増加し、病変形成に関与していた。

2) 糸球体肥大とメサンギウム細胞の増加の割合は発症年齢の因子に強く影響される。

3) 糸球体での細胞外基質の増加にもかかわらず、腎機能が長期間保たれる理由の一つには糸球体係蹄延長による濾過面積の代償性維持が考えられた。

## 文 献

1. Strøm EH, Banfi G, Krapf R, Abt AB, Mazzucco G, Monga G, Gloor F, Neuweiler J, Riess R, Stosiek P, Hebert LA, Sedmak DD, Gudat F, Mihatsch MJ. Glomerulopathy associated with predominant fibronectin deposits: A newly recognized hereditary disease. *Kidney Int* 1995; 48: 163-170.
2. Abt AB, Cohen AH. Newer glomerular diseases. *Seminars in Nephrology* 1996; 16: 501-510.
3. Mazzucco G, Maran E, Rollino C, Monga G. Glomerulonephritis with organized deposits: A mesangiopathic, not immune complex-mediated disease? *Hum Pathol* 1992; 23: 63-68.
4. Assmann KJM, Koene RAP, Wetzels JFM, Familial Glomerulonephritis characterized by massive deposits of fibronectin. *Am J Kidney Dis* 1995; 25: 781-791.
5. Burgin M, Hofmann E, Reutter FW, Gurtler BA, Matter L, Briner J, Gloor F. Familial glomerulopathy with giant fibrillar deposits. *Virchows Arch A Path Anat and Histol* 1980; 388: 313-326.
6. Tuttle SE, Sharma HM, Bay W, Hebert L. A unique familial lobular glomerulopathy. *Arch Pathol Lab Med* 1987; 111: 726-731.
7. Abt AB, Wassner SJ, Moran JJ. Familial lobular glomerulopathy. *Hum Pathol* 1991; 22: 825-829.
8. Sato H, Matsubara M, Rie Marumo, Soma J, Kurosawa K, Taguma Y, Saito T. Familial lobular glomerulopathy: First Case Report in Asia. *Am J Kidney Dis* 1998; 31: E3.
9. Reutter FW, Gloor F, Hofmann E. Familial glomerulopathy with giant fibrillar deposits, recurring in a renal transplant. (abstract). *Kidney Int* 1986; 19: 1263.
10. Rumpelt HJ, Sterinke A, Thoenes W, Alport-type glomerulopathy: evidence for diminished capillary loop size. *Clin Nephrol* 1992; 37: 57-64.
11. Yoshikawa N, Cameron AH, White RHR. Glomerular morphometry I: nephrotic syndrome in childhood. *Histopathology* 1981; 5: 239-249.
12. Yoshikawa N, Cameron AH, White RHR. Glomerular morphometry II: familial and nonfamilial haematuria. *Histopathology* 1981; 5: 251-256.
13. Toth T, Takebayashi S. Glomerular hypertrophy in relapsing minimal change nephropathy. *Nephron* 1996; 74: 64-71.
14. Sinniah R, Khan TN. Morphometric assessment of tubulointerstitial damage in renal disease. *Curr Topics in Pathol* 1995; 88: 99-115
15. Akaoka K, White RHR, Raafat F. Glomerular mor-

- phometry in childhood reflux nephropathy, emphasizing the capillary changes. *Kidney Int* 1995 ; 47 : 1108-1144.
16. Matsumae T, Fukuzaki M, Takebayashi S, Naito S. Two different pathways of glomerular enlargement in adults with focal and segmental glomerulosclerosis. *Am J Nephrol* 1998 ; 18 : 21-27
  17. Barnes JL, Hastrings RR, Garza M. Sequential expression of cellular fibronectin by platelets, macrophages and mesangial cells in proliferative glomerulonephritis. *Am J Pathol* 1994 ; 145 : 585-597.
  18. Barnes JL, Torres ES, Mitchell RJ, Peters JH. Expression of alternatively spliced fibronectin variants during remodeling in proliferative glomerulonephritis. *Am J Pathol* 1995 ; 147 : 1361-1371.
  19. Alonso J, Gomez-Chiarri M, Ortiz A, Seron D, Condom E, Lopez-Armada MJ, Largo R, Barat A, Egido J. Glomerular up-regulation of E III A and V 120 fibronectin isoforms in proliferative immune complex nephritis. *Kidney Int* 1996 ; 50 : 908-919.
  20. Rupperecht HD, Schocklmann HO, Sterzel RB. Cell-matrix interactions in the glomerular mesangium. *Kidney Int* 1996 ; 49 : 1575-1582.
  21. Rostagno A, Vidal R, Kumar A, Chuba J, Niederman G, Gold L, Frangione B, Ghiso J, Gallo G. Fibrillary glomerulonephritis related to serum fibrillar immunoglobulin-fibronectin complexes. *Am J Kidney Dis* 1996 ; 28 : 676-684.