

## 急速進行性糸球体腎炎症候群(RPGN)の病型における MCAF/MCP-1の意義

坂井宣彦 和田隆志 古市賢吾 高枝知香子 清水美保  
岩田恭宜 吉本敬一 清水和朗 小林健一 竹田慎一<sup>\*1</sup>  
木田 寛<sup>\*2</sup> 向田直史<sup>\*3</sup> 松島綱治<sup>\*4</sup> 横山 仁<sup>\*5</sup>

The role of monocyte chemotactic and activating factor(MCAF)/monocyte chemoattractant protein (MCP)-1 in subgroups of rapidly progressive glomerulonephritis

Norihiko SAKAI, Takashi WADA, Kengo FURUICHI, Chikako TAKAEDA,  
Miho SHIMIZU, Yasunori IWATA, Kei-ichi YOSHIMOTO, Kazuaki SHIMIZU,  
Ken-ichi KOBAYASHI, Shin-ichi TAKEDA<sup>\*1</sup>, Hiroshi KIDA<sup>\*2</sup>, Naofumi MUKAIDA<sup>\*3</sup>,  
Kouji MATSUSHIMA<sup>\*4</sup>, and Hitoshi YOKOYAMA<sup>\*5</sup>

First Department of Internal Medicine, <sup>\*5</sup>Division of Blood Purification, School of Medicine, <sup>\*3</sup>Department of Molecular Pharmacology, Cancer Research Institute, Kanazawa University, <sup>\*1</sup>Department of Internal Medicine, Kurobe City Hospital, <sup>\*2</sup>Department of Internal Medicine, Kanazawa National Hospital, Ishikawa, <sup>\*4</sup>Department of Molecular Preventive Medicine, School of Medicine, University of Tokyo, Tokyo, Japan

To elucidate the role of monocyte chemotactic and activating factor(MCAF)/monocyte chemoattractant protein(MCP)-1 in the pathogenesis of rapidly progressive glomerulonephritis(RPGN), we determined the urinary levels of MCAF/MCP-1 in 20 healthy subjects, 30 patients showing RPGN with crescents, and 39 patients with various types of renal diseases without crescents. We divided RPGN into two subgroups, the acute type and the insidious type, with regard to the declination rate of reciprocals of serum creatinine with time as previously reported. In addition, we divided the patients with RPGN into anti-neutrophil cytoplasmic antibody(ANCA)-related diseases and immune complex(IC)-mediated diseases with regard to etiology. Urinary levels of MCAF/MCP-1 were significantly higher in patients with RPGN as compared with those of other renal diseases and healthy volunteers ( $21.8 \pm 4.5$  vs.  $11.6 \pm 3.5$ ,  $1.0 \pm 0.1$  pg/ml  $\cdot$  creatinine, respectively,  $p < 0.01$ , mean  $\pm$  SEM). There was no difference in the urinary levels of MCAF/MCP-1 between the acute and insidious types of RPGN patients. In addition, there was no difference in the urinary levels of MCAF/MCP-1 between the patients with ANCA-related and IC-mediated diseases. Urinary levels of MCAF/MCP-1 in patients with RPGN were correlated well with the percentage of both total crescents and fibrocellular/fibrous crescents and the number of CD68-positive infiltrating cells in the interstitium. Immunohistochemical examinations revealed that MCAF/MCP-1-positive cells were detected in tubular epithelial and endothelial cells and mononuclear infiltrated cells in the interstitium. Moreover, elevated urinary MCAF/MCP-1 levels in patients with RPGN, regardless of subgroups, were dramatically decreased during methylprednisolone pulse therapy-induced convalescence.

These results suggest that MCAF/MCP-1 may be involved in the pathogenesis of RPGN via macrophage recruitment and activation.

Jpn J Nephrol 1999 ; 41 : 704-711.

**Key words** : MCAF/MCP-1, chemokine, rapidly progressive glomerulonephritis, crescentic glomerulonephritis

## はじめに

急速進行性糸球体腎炎(RPGN)は、病理学的には半月体形成を伴い、臨床で、数週から数カ月の経過で末期腎不全に至る予後不良な疾患である<sup>1)</sup>。RPGNには一次性、二次性糸球体疾患が包括されるため、これまでかかる症候群は、病因により抗糸球体基底膜抗体型、免疫複合体(IC)型、抗好中球細胞質抗体(anti-neutrophil cytoplasmic antibody: ANCA)関連型およびその他の pauci-immune 型などに分類して検討されてきた<sup>1)</sup>。ところで腎機能低下速度の観点から、これまでわれわれは血清クレアチニンの逆数(1/Cr)を指標とすることにより、病因の如何を問わず本症候群を急性型と潜行型の2つの病型に分類できることを報告してきた<sup>2,3)</sup>。加えて、この分類により疾患活動性が一過性であり予後比較的良好な急性型に対して、進行は緩徐であるが経過の遷延する潜行型と、臨床上の相違も示してきた<sup>2,3)</sup>。しかしながら、病理学的な特徴である半月体形成ならびに間質病変を生じる共通の分子生物学的背景については十分な検討がなされていない。

RPGNにおいては、その病因および病型を問わず糸球体ならびに間質にマクロファージ(MΦ)の浸潤を認めることが特徴である。MΦはサイトカイン、ケモカインといった各種炎症性メディエーターを放出することに加え、糸球体上皮細胞はじめ腎固有細胞との相互作用により、半月体形成をはじめとするRPGNの病態に重要な役割を果たしていることが示唆されている<sup>4-7)</sup>。

近年MΦ/単球の遊走・活性化に monocyte chemotactic and activating factor(MCAF)/monocyte chemoattractant

protein-1(MCP-1)の重要性が指摘されている。MCAF/MCP-1は、IL-1, TNF- $\alpha$ などの炎症性刺激により、免疫担当細胞はじめ線維芽細胞、血管内皮細胞など様々な体細胞で産生される<sup>8,9)</sup>。さらに腎固有細胞である尿管管上皮細胞や糸球体メサンギウム細胞もMCAF/MCP-1を*in vitro*で産生することに加え<sup>10,11)</sup>、ヒト腎疾患<sup>7,12-14)</sup>および動物実験腎炎モデル<sup>5)</sup>において、腎炎の発症・進展に果たすMCAF/MCP-1の重要性が指摘されてきた。しかしながら、これまでRPGNの病型・病因別におけるMCAF/MCP-1の関与は詳細に検討されていない。

そこで、今回われわれはRPGNの発症・進展における共通因子としてMΦの浸潤・活性化に注目し、その遊走・活性化因子であるMCAF/MCP-1の意義を病型・病因別に検討するとともに、ステロイド治療に伴うMCAF/MCP-1の動態についても検討したので報告する。

## 対象および方法

## 1. 症 例

1971年1月から1998年11月までに金沢大学およびその関連施設に入院し、腎生検組織または剖検にて腎病変を確認しえた69例と健常者20例の計89例(男性45例、女性44例、平均年齢 $52.9 \pm 2.0$ 歳)を対象とした(Table 1)。69例のうち30例は全糸球体の50%以上に半月体形成を認め臨床的にRPGNを呈した。その内訳は、ANCA関連型22例、IC型8例であった。残りの39例は半月体形成を認めず臨床的にもRPGNを呈さなかったIgA腎症15例、ループ腎炎18例、微小変化型ネフローゼ症候群5例、ク

Table 1. Patients' profile

Diagnosis	No. of patients (male : female)	Mean age	Urinary MCAF/MCP-1 (pg/mg · creatinine)
Healthy subjects	20(10 : 10)	57.1	1.0 $\pm$ 0.1
RPGN	30(18 : 12)	62.4	21.8 $\pm$ 4.5
ANCA-related	22(12 : 10)	65.1	25.3 $\pm$ 7.1
Immune complex type	8(6 : 2)	55.0	17.8 $\pm$ 3.0
Non-RPGN	39(17 : 22)	43.5	11.6 $\pm$ 3.5
IgA nephropathy	15(9 : 6)	50.5	4.5 $\pm$ 1.0
Lupus nephritis	18(4 : 14)	39.8	14.0 $\pm$ 5.7
MCNS	5(3 : 2)	32.6	1.6 $\pm$ 0.4
Cryoglobulinemia	1(1 : 0)	59.0	45.7
Total	89(45 : 44)	52.9	10.8 $\pm$ 1.2

Values are mean  $\pm$  SEM. ANCA : anti-neutrophil cytoplasmic antibody, MCNS : minimal change nephrotic syndrome, RPGN : rapidly progressive glomerulonephritis, MCAF/MCP-1 : monocyte chemotactic and activating factor/monocyte chemoattractant protein-1

リオグロブリン血症 1 例であった。また、血清クレアチニンの逆数(1/Cr)を経時的にプロットして求めた近似直線の傾きから、RPGN 群を急性型(傾き $-1.0 \times 10^{-2} \text{d/l/mg/day}$ 未満)と潜行型(傾き $-1.0 \times 10^{-2} \text{d/l/mg/day}$ 以上)の 2 群に分類した<sup>2)</sup>。

## 2. 方法

### (1) 病理学的検査

光学顕微鏡、電子顕微鏡および免疫蛍光抗体法による観察は通常の方法に従った<sup>2)</sup>。また半月体の記載に関しては、WHO の基準に準じて細胞性、線維細胞性および線維性の 3 型に分類し<sup>15)</sup>、観察可能であった全糸球体に占める半月体を有する糸球体の割合を半月体形成率とした。間質病変については、間質細胞浸潤、線維化および尿細管萎縮の程度をそれぞれ、なし、斑状、帯状、びまん性の 4 段階に分け、それぞれ 0, 1, 2, 3 度とスコア化した。

### (2) 尿中 MCAF/MCP-1 測定

治療前として腎生検日に早期中間尿を 10ml 採取し、室温で 5 分間遠心し細胞成分を除去した後、上清を $-70^\circ\text{C}$ で測定日まで保存した。測定は enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 法により行った<sup>12)</sup>。平底型マイクロプレートウエル(Nunc, Roskilde, Denmark)に抗ヒト MCAF/MCP-1 マウスモノクローナル抗体(clone ME69)を固相化し、試料を加え $4^\circ\text{C}$ で 1 晩反応させた。各ウエルを洗浄した後、抗ヒト MCAF/MCP-1 ウサギポリクローナル抗体を加えた。再度洗浄の後、アルカリフォスファターゼ標識抗ウサギ IgG ヤギ抗体を加え、1M ジエタノールアミン(pH9.8)に 1 mg/ml リン酸 p-ニトロフェニールを添加した基質で発色させた。発色後、マルチプレートリーダーにて吸光度(405 nm)を測定した。なお、MCAF/MCP-1 の測定感度は 40 pg/ml 以上であり、尿中クレアチニン値で補正した。健常者 20 例(Table 1)の尿を正常コントロールとした。また、RPGN 例ではステロイドパルス療法を含む免疫抑制療法後も尿中 MCAF/MCP-1 値を測定した。

### (3) 免疫組織染色法

新鮮標本を OCT コンパウンドに包埋し、ドライアイス-アセトンで冷却した n-ヘキサンにより凍結した後、クリオスタット(Tissue-Tek Systems, Miles, Naperville, IL)により $6 \mu\text{m}$ に薄切した。その凍結薄片標本を、抗ヒト MCAF/MCP-1 マウスモノクローナル抗体(clone 26 J 2)を用いた間接アビジン-ビオチンアルカリフォスファターゼ法(Vectastain ABC kit, Vector Laboratories, Burlingame, CA)にて組織 MCAF/MCP-1 蛋白の局在を同定し

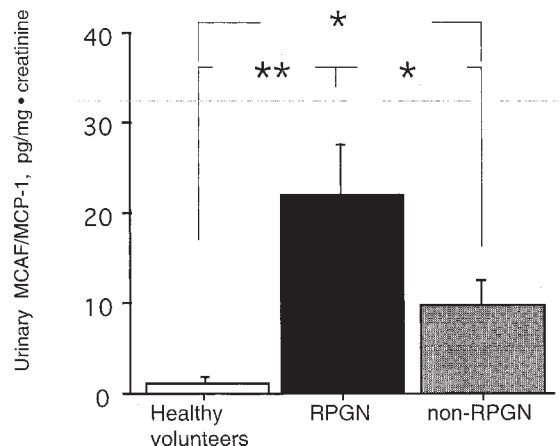


Fig. 1. Urinary MCAF/MCP-1 levels

Values are mean  $\pm$  SEM. Significant difference determined by ANOVA test, \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$

た<sup>12)</sup>。なお、内因性アルカリフォスファターゼ活性は、レバミゾール添加にて阻害した。なお、本染色の特異性を検討する目的で、マウスコントロール IgG を用いた免疫組織染色ならびに十分量のコンビナントヒト MCAF/MCP-1 により吸収した抗体を用いた免疫組織染色を行った。加えて腎内 M $\Phi$  の同定として CD 68 陽性細胞を確認した。すなわち、パラフィン包埋された組織を脱パラフィン化し、proteinase K にて処理後、抗ヒト CD 68 マウスモノクローナル抗体(clone KP 1; DAKO, Glostrup, Denmark)を用いて上記の方法にて染色した。なお、糸球体内 M $\Phi$  は 1 糸球体当たりの CD 68 陽性細胞数をカウントして求め、間質内 M $\Phi$  は無作為に 200 倍にて 10 視野以上 CD 68 陽性細胞数をカウントし、その平均値をとった。

### (4) ANCA 同定

Myeloperoxidase ないし proteinase 3 を固相化したプレートを用いた ELISA にて測定した(SRL CO., Tokyo, Japan)<sup>16)</sup>。

### (5) 治療

RPGN 群では、全例にメチルプレドニゾロン(m-PSL)パルス療法(500~1,000 mg/日, 3 日間)に加え、経口プレドニゾロン療法(20~40 mg/日)が施行された。

### (6) 統計学的処理

統計処理は、Student's *t* 検定, ANOVA 検定, Spearman および Pearson 相関係数により行った。また  $p < 0.05$  を統計学的に有意差ありと判定した。なお、数値は平均  $\pm$  標準誤差で示した。

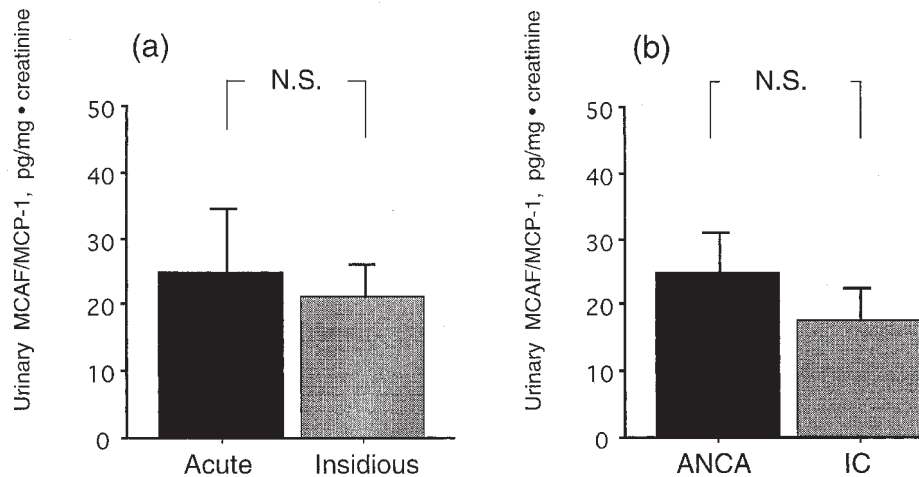


Fig. 2. Comparison of urinary MCAF/MCP-1 levels before treatment with regard to disease onset (a) and etiology (b)

Values are mean  $\pm$  SEM. N.S. : not significant

Table 2. Correlation between urinary levels of MCAF/MCP-1 and pathological findings in patients with RPGN

Pathological findings	r	p
Glomerulus		
Total crescent	0.422	0.05
Cellular	-0.109	NS
Fibrocellular/fibrous	0.455	< 0.05
CD68 positive cells	0.295	NS
Interstitium		
CD68 positive cells	0.749	< 0.01
Cell infiltration	0.324	NS
Fibrosis	0.036	NS
Tubular atrophy	0.072	NS

NS : not significant

## 結 果

### 1. RPGNにおける尿中MCAF/MCP-1値

治療前尿中MCAF/MCP-1値は、RPGN群で $21.8 \pm 4.5$  pg/mg • creatinineと、non-RPGN群 $11.6 \pm 3.5$  pg/mg • creatinineおよび健常者群 $1.0 \pm 0.1$  pg/mg • creatinineに比し有意に高値( $p < 0.01$ )であった。一方、non-RPGN群も健常者群に比し有意に高値( $p < 0.05$ )であった(Fig. 1)。

### 2. 病型別における尿中MCAF/MCP-1値

RPGN群を急性型12例(傾き;  $-2.0 \pm 0.3 \times 10^{-2}$  dl/mg/day; 男性8例, 女性4例, 平均年齢68.2歳)と潜行型18例(傾き;  $-0.442 \pm 0.1 \times 10^{-2}$  dl/mg/day; 男性10例, 女性8例, 平均年齢58.6歳)の2群に分け, 治療前尿中MCAF/MCP-1値を比較検討した。尿中MCAF/

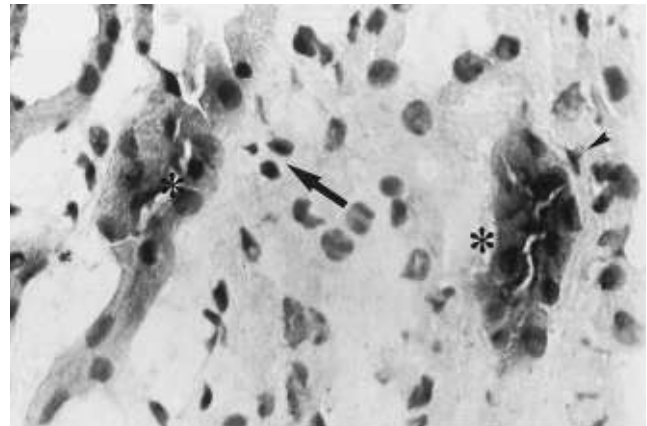


Fig. 3. Immunohistochemical examination

Expression of MCAF/MCP-1 was detected by using a specific monoclonal anti-human MCAF/MCP-1 antibody as described in Materials and Method. The sections were observed under light microscopy at originally  $\times 200$  magnification. MCAF/MCP-1 positive cells were detected mainly in endothelial (arrowhead), tubular epithelial cells (asterisks), and infiltrated cells (arrow) in the interstitium.

MCP-1値は急性型( $25.4 \pm 10.4$  pg/mg • creatinine), 潜行型( $20.4 \pm 3.7$  pg/mg • creatinine)ともにnon-RPGN群, 健常者群に比し有意に高値であったが( $p < 0.01$ ), 両病型間には有意差は認められなかった(Fig. 2 a)。

### 3. 病因別における尿中MCAF/MCP-1値

また, RPGN群を病因によりANCA関連型22例(男性12例, 女性10例; いずれもP-ANCA陽性)とIC型8例(男性6例, 女性2例; ループス腎炎3例, IgA腎症4例, クリオグロブリン血症1例)の2群に分け, 同様に比較検討した(Table 1)。ANCA関連型( $25.3 \pm 7.1$  pg/mg •

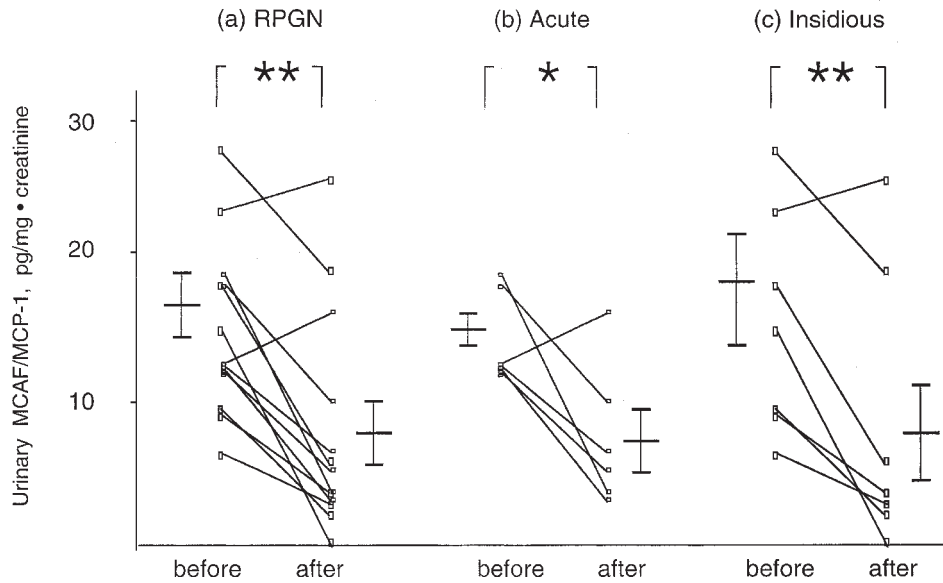


Fig. 4. Alteration of urinary MCAF/MCP-1 levels following methylprednisolone pulse therapy in patients with RPGN (a ; n=13), in patients with acute onset (b ; n=6) and insidious onset (c ; n=7)

Bars indicate mean  $\pm$  SEM. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$

creatinine), IC 型 ( $17.8 \pm 3.0$  pg/mg $\cdot$ creatinine) のいずれも non-RPGN 群, 健常者群に比し有意に高値であった ( $p < 0.01$ ) が, 両病因間に有意差は認められなかった (Fig. 2 b)。

#### 4. 尿中 MCAF/MCP-1 値と組織所見との相関

RPGN 30 例において治療前尿中 MCAF/MCP-1 値は線維細胞性・線維性半月体形成率と有意な正相関が認められた ( $r=0.455$ ,  $p < 0.05$ ,  $n=31$ , Table 2)。しかし, 総半月体形成率とは相関の傾向を示すのみで ( $r=0.422$ ,  $p=0.05$ ,  $n=31$ , Table 2), 細胞性半月体形成率との間には相関を認めなかった。一方, 治療前の尿中 MCAF/MCP-1 値と間質病変との比較において, 間質内 CD 68 陽性細胞数と有意な正相関が認められた ( $r=0.749$ ,  $p < 0.01$ , Table 2)。しかし, 間質の細胞浸潤, 線維化, 尿細管萎縮の程度とはいずれも相関を認めなかった。

#### 5. MCAF/MCP-1 の腎における局在

腎局所での MCAF/MCP-1 の局在を明らかにするため, 免疫組織染色を施行した。MCAF/MCP-1 は間質, 特に尿細管上皮細胞, 尿細管周囲毛細血管内皮細胞および浸潤単核細胞に陽性であった (Fig. 3)。なお, マウスコントロール IgG ならびにリコンビナントヒト MCAF/MCP-1 で吸収した抗体を用いた染色では, いずれも陰性であった。

#### 6. ステロイド治療に伴う尿中 MCAF/MCP-1 の動態

RPGN 群 30 例全例に, m-PSL パルス療法に加えて経口ステロイド剤が投与され, そのうち急性型 6 例 (男性 5 例, 女性 1 例), 潜行型 7 例 (男性 3 例, 女性 4 例) の計 13 例は, 治療前後で検体を採取し尿中 MCAF/MCP-1 値を測定しえた。この RPGN 群 13 例において尿中 MCAF/MCP-1 値は, 治療前  $15.9 \pm 2.3$  pg/mg $\cdot$ creatinine, 治療後  $8.3 \pm 2.2$  pg/mg $\cdot$ creatinine と疾患活動性の低下に一致して有意に低下した ( $p < 0.01$ , Fig. 4 a)。

さらに病型別では, 急性型ならびに潜行型のいずれにおいても, 治療前  $14.2 \pm 1.3$  pg/mg $\cdot$ creatinine,  $17.4 \pm 4.2$  pg/mg $\cdot$ creatinine からそれぞれ治療後  $7.8 \pm 2.1$  pg/mg $\cdot$ creatinine,  $8.7 \pm 3.7$  pg/mg $\cdot$ creatinine へと有意に低下した (各 Fig. 4 b,  $p < 0.05$ ; Fig. 4 c,  $p < 0.01$ )。

## 考 察

今回の検討より, M $\Phi$  の遊走・活性化因子である MCAF/MCP-1 は, 治療前 RPGN 群において, その病型・病因を問わず non-RPGN 群および健常者に比し有意に高値であることが判明した。加えて, MCAF/MCP-1 が RPGN の両病型および両病因に差が認められなかったことより, RPGN の発症・進展における共通因子として, MCAF/MCP-1 の重要性が推測された。

これまで MCAF/MCP-1 は、ループス腎炎における糸球体内細胞浸潤および急性間質性腎炎における間質内細胞浸潤に深く関与する可能性が示されてきた<sup>12,14)</sup>。さらに細胞浸潤のみならず線維化をはじめ、慢性期の間質病変の進展に重要な役割を果たすことも IgA 腎症をはじめとする種々の腎疾患<sup>7,13)</sup>および動物実験モデル<sup>5)</sup>において指摘されてきた。すなわち、炎症性腎疾患において MCAF/MCP-1 は間質病変を中心として、急性期の細胞浸潤から硬化・線維化に至る一連の過程における重要性が考えられている。今回の結果により、MCAF/MCP-1 が発症様式を問わず急性型、潜行型いずれにも深く関与することが示され、共通の進展因子としての MCAF/MCP-1 の重要性を再認識させるものと考えられる。

また、尿中 MCAF/MCP-1 は、RPGN の ANCA 関連型ないし IC 型といった病因にもかかわらず上昇していた。ANCA 関連腎炎においては、その病態に ANCA-cytokine sequence theory が提唱されており、TNF- $\alpha$  をはじめとした炎症性サイトカインの病態への関与が指摘されている<sup>17)</sup>。かかる炎症性サイトカインは、腎固有細胞であるメサンギウム細胞および尿細管上皮細胞において MCAF/MCP-1 産生の重要な刺激因子である<sup>19,20)</sup>。一方、IC 型においても、臨床的に RPGN を呈した症例も含めて、ループス腎炎、IgA 腎症など各種ヒト腎疾患において糸球体および間質病変の形成に TNF- $\alpha$  の関与が示されている<sup>18)</sup>。このことから、RPGN においては ANCA 型、IC 型といった病因にかかわらず、炎症性サイトカイン発現を介した MCAF/MCP-1 の発現が共通病態として推測された。

さらに、尿中 MCAF/MCP-1 値と組織所見を検討したところ、MCAF/MCP-1 は線維細胞性・線維性半月体形成率、間質 CD 68 陽性細胞数と有意な正相関を認めた。また、免疫組織染色法にて、MCAF/MCP-1 は尿細管上皮細胞、尿細管周囲毛細血管内皮細胞および間質内浸潤単核細胞に陽性であった。これらより RPGN の発症・進展において、腎局所で産生された MCAF/MCP-1 は、線維細胞性・線維性半月体のみられる病期を中心に、主として間質病変に深く関与していることが示唆される。近年、腎機能低下には、糸球体病変に比し間質病変がより密接な関係があることが報告されている<sup>21)</sup>。この点に関してこれまでわれわれは、ループス腎炎<sup>12)</sup>、IgA 腎症<sup>13)</sup>ならびに動物実験腎炎モデル<sup>5)</sup>において、MCAF/MCP-1 の間質病変における重要性を指摘してきた。MCAF/MCP-1 を介した間質病変への関与の機序として、M $\Phi$  の局所への遊走ならびに

活性化が重要と考えられる。すなわち、活性化 M $\Phi$  は、腎組織障害をもたらすライソゾーム酵素の分泌やスーパーオキシドの産生に加えて<sup>22,23)</sup>、間質線維化との関連が指摘されている TGF- $\beta$  も産生する<sup>24)</sup>。このことから、IL-1, TNF- $\alpha$  などの炎症性刺激により活性化された腎固有細胞あるいは浸潤細胞から産生された MCAF/MCP-1 が、病因・病型を問わず共通因子として、更なる M $\Phi$  の遊走・活性化を介して、ことに間質病変に対して重要な役割を果たしている可能性が考えられる。

ところで、今回の検討では、尿中 MCAF/MCP-1 値と間質の CD 68 陽性細胞数とは相関したものの、間質細胞浸潤、線維化、尿細管萎縮とは相関関係は認めなかった。RPGN の動物モデルである Wistar-Kyoto ラットを用いた抗糸球体基底膜抗体腎炎において尿中 MCAF/MCP-1 は、半月体形成期と間質病変進行期の二相性に高値を示すことを確認している(未発表データ)。ラットとヒトで種差はあるものの、今回の成績はこの両者を反映するために間質病変単独では相関を認めなかった可能性が考えられた。しかし、これまでループス腎炎<sup>12)</sup>、IgA 腎症<sup>13)</sup>において間質細胞浸潤、線維化および尿細管萎縮の進展とともに尿中 MCAF/MCP-1 は高値をとることが報告されており、間質病変の進展と MCAF/MCP-1 の関与が示唆される。よって、今後 RPGN においても症例の蓄積を重ね、尿中 MCAF/MCP-1 の経時的推移を検討し、間質病変の進展に果たす MCAF/MCP-1 の意義をより明確にする必要がある。

RPGN 群において、m-PSL パルス療法による疾患活動性の低下とともに、病型に関係なく尿中 MCAF/MCP-1 値は有意に低下した。このことから、尿中 MCAF/MCP-1 値は RPGN の疾患活動性を反映する臨床的マーカーとなりうることが推測された。これまでわれわれは、潜行型においては急性型に比し、糸球体病変に加え間質病変の存在が特徴的であり、経過は遷延するものの、急性型のみならず潜行型においても m-PSL パルス療法により予後の改善が得られることを報告してきた<sup>23)</sup>。これまで、この治療効果発現機序の分子生物学的背景については明らかとなっていない。近年、副腎皮質ステロイドの作用機序として、NF- $\kappa$ B 活性を阻害することにより、interferon (IFN)- $\gamma$  ならびに TNF- $\alpha$  の産生を抑制することが判明している<sup>25)</sup>。これまで MCAF/MCP-1 の発現調節機序に NF- $\kappa$ B 活性亢進の直接の関与を示す報告はみられない。しかしながら、IFN- $\gamma$  ならびに TNF- $\alpha$  は、MCAF/MCP-1 発現を亢進させることより<sup>9)</sup>、副腎皮質ステロイ

ドは直接的, もしくは IFN- $\gamma$  および TNF- $\alpha$  の抑制を介して MCAF/MCP-1 抑制に間接的に作用し, 腎疾患治療に有効である可能性も考えられる。したがって, MCAF/MCP-1 の発現調節機序の解明は, 疾患の発症・進展のみならず治療を考えるうえで重要であり, 今後も更なる検討が必要である。

## 結 論

RPGN の発症・進展における MCAF/MCP-1 の意義を病因・病型別に検討するとともに, ステロイド治療に伴う MCAF/MCP-1 の動態についても検討し, 以下の結論を得た。

1) RPGN 群において, 治療前尿中 MCAF/MCP-1 値は, non-RPGN 群および健常者群に比し有意に高値であった。

2) 病型別の評価では, 急性型, 潜行型で治療前尿中 MCAF/MCP-1 値に差はなく, いずれも non-RPGN 群および健常者群に比し有意に高値であった。

3) 病因別の検討では, ANCA 関連型, IC 型で治療前尿中 MCAF/MCP-1 値に差はなく, いずれも non-RPGN 群および健常者群に比し有意に高値であった。

4) 尿中 MCAF/MCP-1 値は, 線維細胞性・線維性半月体形成率および間質 CD 68 陽性細胞数と正相関を認めた。

5) MCAF/MCP-1 発現が, 尿細管上皮細胞, 尿細管周囲毛細血管内皮細胞および間質内浸潤単核細胞において確認された。

6) ステロイド治療にて, RPGN 群の尿中 MCAF/MCP-1 値は有意に低下した。

以上より, MCAF/MCP-1 は病因, 病型にかかわらず間質病変を中心に, RPGN の発症・進展の共通因子として重要な役割を果たしていることが示された。

## 謝 辞

本研究の一部は, 臨床薬理財団, 上原記念生命科学財団および文部省科学研究費(基盤研究(C)(2)09671157)によることを付記し深謝します。

## 文 献

1. Glassock RJ, Cohen AH, Adler SG. Primary glomerular diseases. In: Brenner BM(ed) The Kidney 5th ed. Philadelphia: WB Saunders, 1996: 1402-10.
2. Takeda S, Kida H, Yokoyama H, Tomosugi N, Kobayashi K. Two distinct types of crescentic glomerulonephritis. Clin

Nephrol 1992; 37: 285-93.

3. Takeda S, Kida H, Yokoyama H, Takazakura E, Kobayashi K. Methylprednisolone pulse therapy in two clinical types of crescentic glomerulonephritis. Intern Med 1998; 37: 585-91.
4. Atkins RC, Paterson DJN, Song Q, Lan HY. Modulators of crescentic glomerulonephritis. J Am Soc Nephrol 1996; 7: 2271-8.
5. Wada T, Yokoyama H, Furuichi K, Kobayashi K, Harada K, Naruto M, Su SB, Akiyama M, Mukaida N, Matsushima K. Intervention of crescentic glomerulonephritis by antibodies to monocyte chemotactic and activating factor (MCAF/MCP-1). FASEB J 1996; 10: 1418-25.
6. Yang N, Isbel NM, Paterson DJN, Li Y, Ye R, Atkins RC, Lan HY. Local macrophage proliferation in human glomerulonephritis. Kidney Int 1998; 54: 143-51.
7. Wada T, Furuichi K, Segawa C, Shimizu M, Sakai N, Takeda S, Takasawa K, Kida H, Kobayashi K, Mukaida N, Ohmoto Y, Matsushima K, Yokoyama H. MIP-1  $\alpha$  and MCP-1 contribute to crescents and interstitial lesions via the cognate chemokine receptor in human crescentic glomerulonephritis. Kidney Int 1999; 56: 995-1003.
8. Luster AD. Chemokines-chemotactic cytokines that mediate inflammation. N Engl J Med 1998; 338: 436-45.
9. Matsushima K, Larsen CG, DuBois GC, Oppenheim JJ. Purification and characterization of a novel monocyte chemotactic and activating factor produced by a human myelomonocytic cell line. J Exp Med 1989; 169: 1485-90.
10. Rovin BH, Phan LT. Chemotactic factors and renal inflammation. Am J Kidney Dis 1998; 31: 1065-84.
11. Schlöndorff D, Nelson PJ, Luckow B, Banas B. Chemokines and renal disease. Kidney Int 1997; 51: 610-21.
12. Wada T, Yokoyama H, Su SB, Mukaida N, Iwano M, Dohi K, Takahashi Y, Sasaki T, Furuichi K, Segawa C, Hisada Y, Ohta S, Takasawa K, Kobayashi K, Matsushima K. Monitoring urinary levels of monocyte chemotactic and activating factor reflects disease activity of lupus nephritis. Kidney Int 1996; 49: 761-7.
13. Yokoyama H, Wada T, Furuichi K, Segawa C, Shimizu M, Kobayashi K, Su SB, Mukaida N, Matsushima K. Urinary levels of chemokines(MCAF/MCP-1, IL-8)reflect distinct disease activities and phases of human IgA nephropathy. J Leukoc Biol 1998; 63: 493-9.
14. Wada T, Yokoyama H, Sakai N, Izumiya A, Shimizu M, Misaki T, Furuichi K, Segawa C, Kobayashi K. Cytokine up-regulation in tubulointerstitial nephritis associated with membranous nephropathy. Clin Exp Nephrol 1999; 3: 130-2.
15. World Health Organization(WHO) Monograph. Classification of glomerular diseases. In: Chung J, Bernstein J, Glassock RJ(eds) Renal disease. Tokyo: Igaku-Shoin, 1995: 3.

16. Tervaert JWC, Limburg PC, Elema JD, Huitema MG, Horst G, The TH, Kallenberg CGM. Detection of autoantibodies against myeloid lysosomal enzymes : A useful adjunct to classification of patients with biopsy-proven necrotizing arteritis. *Am J Med* 1991 ; 91 : 59-66.
17. Gross WL, Schmitt WH, Csernok E. ANCA and associated diseases : immunodiagnostic and pathogenetic aspects. *Clin Exp Immunol* 1993 ; 91 : 1-12.
18. Yokoyama H, Takaeda M, Wada T, Ohta S, Hisada Y, Segawa C, Furuichi K, Kobayashi K. Glomerular ICAM-1 expression related to circulating TNF- $\alpha$  in human glomerulonephritis. *Nephron* 1997 ; 76 : 425-33.
19. Stahl RAK, Thaiss F, Disser M, Helmuchen U, Hora K, Schlöndorff D. Increased expression of monocyte chemoattractant protein-1 in anti-thymocyte antibody-induced glomerulonephritis. *Kidney Int* 1993 ; 44 : 1036-47.
20. Tang WW, Feng L, Mathison JC, Wilson CB. Cytokine expression, up-regulation of intercellular adhesion molecule-1, and leukocyte infiltration in experimental tubulointerstitial nephritis. *Lab Invest* 1994 ; 70 : 631-8.
21. Schena FP, Gesualdo L, Grrandaliano G, Montinaro V. Progression of renal damage in human glomerulonephritis : Is there sleight of hand in winning the game? *Kidney Int* 1997 ; 52 : 1439-57.
22. Baud L, Hagege J, Sraer L, Ronsdeau E, Perez J, Ardaillou R. Reactive oxygen production by cultured rat glomerular mesangial cells during phagocytosis is associated with stimulation of lipoyxygenase activity. *J Exp Med* 1983 ; 158 : 1836-42.
23. Rehan A, Johnson KJ, Wiggins RC, Kunkel RG, Ward PA. Evidence for the role of oxygen radicals in acute nephrotoxic nephritis. *Lab Invest* 1984 ; 51 : 396-402.
24. Diamond JR, Folts DK, Ding G, Frye JE, Restrepo NC. Macrophages, monocyte chemoattractant peptide-1, and TGF- $\beta_1$  in experimental hydronephrosis. *Am J Physiol* 1994 ; 266 : F926-33.
25. Schwarz M, Radeke H, Resch K, Uciechowski P. Lymphocyte-derived cytokines induce sequential expression of monocyte- and T cell-specific chemokines in human mesangial cells. *Kidney Int* 1997 ; 52 : 1521-31.