

小児腎疾患における尿中および腎組織浸潤 CD68 陽性細胞の検討

齋藤 陽 生駒雅昭 神山智恵子 土井啓司
小坂橋 靖

Investigation of CD68 positive monocytes/macrophage (CD68⁺ Mo/MΦ) in
urine and infiltrated tissue of various kidney diseases in children

Akira SAITOH, Masaaki IKOMA, Chieko KAMIYAMA, Keiji DOI, and Yasushi KOITABASHI

Department of Pediatrics, St. Marianna University School of Medicine, Kanagawa, Japan

In order to investigate the participation of monocytes/macrophages (Mo/MΦ) in the progression of various kidney diseases of children, Mo/MΦ in urine and that infiltrating renal tissue were both measured as the number of CD68 positive Mo/MΦ (CD68⁺ Mo/MΦ), using anti-CD68 antibody. The number of CD68⁺ Mo/MΦ infiltrating in one glomerulus was significantly higher in Henoch-Schönlein purpura nephritis (HSPN) ($p < 0.01$) in comparison with that in minimal change nephrotic syndrome (MCNS) ($p < 0.01$), and a high tendency was found in IgA nephropathy (IgAN), proliferative glomerulonephritis (non-IgAN), focal segmental glomerulosclerosis (FSGS) and membranoproliferative glomerulonephritis (MPGN), respectively. The number of CD68⁺ Mo/MΦ infiltrating one mm² of tubulo-interstitium area was significantly higher in HSPN ($p < 0.05$), FSGS ($p < 0.01$), Alport's syndrome ($p < 0.01$), respectively, than that in MCNS.

The number of CD68⁺ Mo/MΦ in one milliliter of urine correlated significantly with both that infiltrating the glomerulus and the tubulo-interstitium (both $p < 0.01$). Moreover the number of urine CD68⁺ Mo/MΦ in a clinically active stage was significantly higher than that in an inactive stage in the AGN ($p < 0.05$), IgAN ($p < 0.05$), HSPN ($p < 0.05$), non-IgAN ($p < 0.01$) and MPGN groups ($p < 0.05$), respectively.

From these results, 1) It was suggested that the Mo/MΦ infiltrating renal tissue participated in the development of various kidney diseases. 2) It was predicted that CD68⁺ Mo/MΦ in urine reflected both the number of Mo/MΦ infiltrating the glomerulus and that in the tubulo-interstitium. 3) It was suggested that the number of CD68⁺ Mo/MΦ in urine indicated clinical activity in proliferative glomerulonephritis groups of children.

Jpn J Nephrol 2002 ; 44 : 798-805.

Key words : urinary macrophage, infiltrating macrophage, podocyte, kidney diseases, children

はじめに

単球/マクロファージ (Mo/MΦ) は各種炎症に関与し、炎症部位において抗原提示や様々なサイトカインを放出し、組織傷害性に働くことが知られている。腎疾患においては糸球体や尿細管、間質の炎症により同部位に Mo/MΦ

の浸潤が認められ、その発症や進展に関与しているとされている¹⁻⁶⁾。Mo/MΦ は、糸球体においてメサンギウム細胞の増殖やメサンギウム基質の増加とそれに続いて糸球体硬化を引き起こし⁷⁾、尿細管、間質において Mo/MΦ から interleukin-1 (IL-1), interleukin-6 (IL-6), transforming growth factor- β (TGF- β), tumor necrosis factor- α (TNF-

α)などのサイトカインが放出され、線維芽細胞の増殖を促進し線維化の誘因となっている^{8,9)}。また、Mo/M Φ は尿中にも出現していることが知られている。腎組織に浸潤したMo/M Φ と尿中に出現するMo/M Φ は文献的には別々の検討が多く、同一症例での相互の関連性の検討は成人例においても少ない¹⁰⁾。

小児科領域において頻回に腎生検を行うことは比較的困難な症例もあり、侵襲も大きく容易ではない。また、経皮的腎生検では糸球体200万個中の10~20個の糸球体しか得られず、腎全体の情報が得られない場合もしばしば経験する¹¹⁾。近年、各種腎疾患において、尿中落下細胞の検討が行われている。その意義は、腎生検を頻回に施行せずに腎炎の活動性が経時的に評価できるのではないかと期待されている点にある。

本研究では、小児腎疾患症例を対象として腎疾患の進展に果たすCD68陽性単球マクロファージ(CD68⁺ Mo/M Φ)の役割について、腎組織浸潤CD68⁺ Mo/M Φ と尿中CD68⁺ Mo/M Φ の2つの方向性からの検討に加え、尿中CD68⁺ Mo/M Φ 測定の臨床的意義についても検討した。

対 象

1. 腎生検組織におけるCD68⁺ Mo/M Φ の検討

過去25年にわたって、当院において腎生検を施行し経過を追えた96症例(男児53例, 女児43例), 107腎組織標本について検討した。腎生検時の年齢は 8.7 ± 3.9 歳(1~17歳)であった。疾患の内訳は微小変化型ネフローゼ症候群(MCNS)14例, 19腎組織標本, 急性糸球体腎炎(AGN)2例, 2腎組織標本, IgA腎症(IgAN)14例, 14腎組織標本, 紫斑病性腎炎(HSPN)30例, 31腎組織標本, 増殖性腎炎(non-IgAN)10例, 11腎組織標本, 巣状糸球体硬化症(FSGS)8例, 11腎組織標本, アルポート症候群(Alport)6例, 6腎組織標本, 膜性増殖性糸球体腎炎(MPGN)8例, 9腎組織標本, 膜性腎症(MN)4例, 4腎組織標本であった。このうち経過中に末期腎不全へ至った症例は, IgAN 14例中1例, HSPN 30例中2例, FSGS 8例中7例, Alport 6例中5例であった。

2. 尿沈渣におけるCD68⁺ Mo/M Φ およびポドサイトの検討

現在、当院において経過観察している66症例(男児32例, 女児34例)について検討した。尿採取時の年齢は 11.1 ± 4.1 歳(2~19歳)であった。疾患の内訳は, MCNS 14例, AGN 2例, IgAN 16例, HSPN 7例, non-IgAN 14

例, FSGS 3例, MPGN 3例, MN 2例, 無症候性血尿(AH)5例であった。このうち, 12例においては同時(腎生検と採尿との期間が6カ月以内で, 臨床的に腎炎の活動性に变化がなく, 腎炎に対して治療を行っていない症例)に腎生検による組織の検討も行っており, 内訳はMCNS 2例, non-IgAN 3例, IgAN 6例, MPGN 1例であった。また, 腎機能はAGN, MPGNの各1例で急性期に一時的に血清クレアチニンの上昇を認めたのみで, 他の症例は年齢相当の腎機能であった。同時に採取された尿で尿中ポドサイトの測定も行った。

3. 活動期, 非活動期の分類

各種腎疾患においては活動期と非活動期に分類した。ステロイド薬や免疫抑制薬などの投与を必要としないAGN, HSPNでは, 肉眼的血尿や浮腫, 乏尿の臨床症状を有する発症早期を活動期とし, それらの臨床症状が消失した時点より非活動期と定義した。またMCNS, IgAN, non-IgAN, FSGS, MPGN, MNでは, ステロイド薬や免疫抑制薬などの投与開始前を活動期とし, 治療前にはいずれも20 mg/kg/日以上(1)の蛋白尿か肉眼的血尿を有し, 治療後にはそれらはいずれも軽快し, 治療後を非活動期と定義した。なお, AHはいずれも非活動期に分類した。

本研究を施行するにあたり, 全例でインフォームド・コンセントにて同意を得ており, 本実験は聖マリアンナ医科大学病院生命倫理委員会にて承認されている。

方 法

1. 腎組織標本の免疫染色

腎生検で得られたパラフィン切片を脱パラフィン後, 0.1%トリプシン(DIFCO, USA)で37°C, 1時間の処理を施し, 3% H₂O₂で10分間内因性ペルオキシダーゼ活性を阻害した。その後1%ウシ血清アルブミン(BSA) (SIGMA, USA)加リン酸緩衝生理食塩水(PBS)で30分間インキュベーションした。抗体は0.1% BSAとPBSで100倍に希釈した抗ヒトCD68マウスモノクローナル抗体(KP-1) (DAKO Japan, 京都)を使用し, 湿潤箱内にて室温で1時間反応させた。次にペルオキシダーゼ標識抗マウス免疫グロブリン(エンビジョンポリマー[®]) (DAKO Japan, 京都)を用いて湿潤箱内にて室温でさらに1時間反応させた。その後, 3,3'-ジアミノベンチジン・4HCl(DAB)により発色させ, ヘマトキシリンを用いて核染色を施した(Fig. 1)。

2. 尿沈渣スミアの作成

患児の早朝新鮮尿10 mlを尿細胞保存液ウリキープ5D

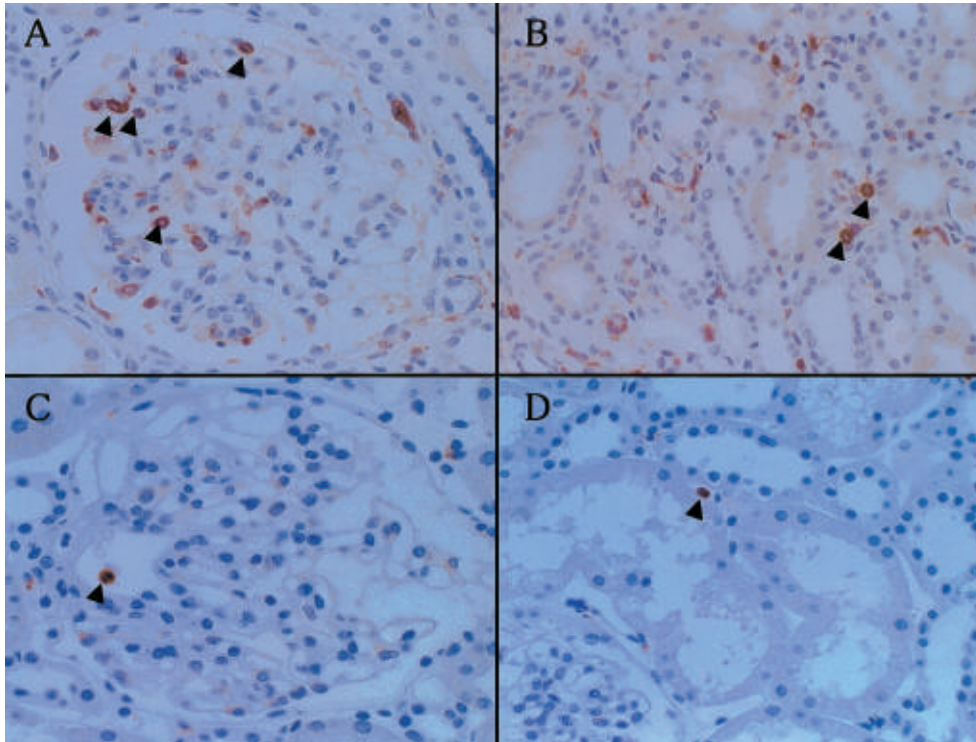


Fig. 1. Light microscopic findings of CD68 positive cells in IgA nephropathy and MCNS cases

A : Many cells were positive for CD68 in a glomerulus of a patient with IgA nephropathy. ($\times 120$)

B : Many cells were positive for CD68 in the tubulo-interstitium of a patient with IgA nephropathy. ($\times 120$)

C : A cells was positive for CD68 in glomerulus of a patient with MCNS. ($\times 140$)

D : A cell was positive for CD68 in the tubulo-interstitium of a patient with MCNS. ($\times 140$)

Arrow heads show CD68⁺ Mo/M Φ .

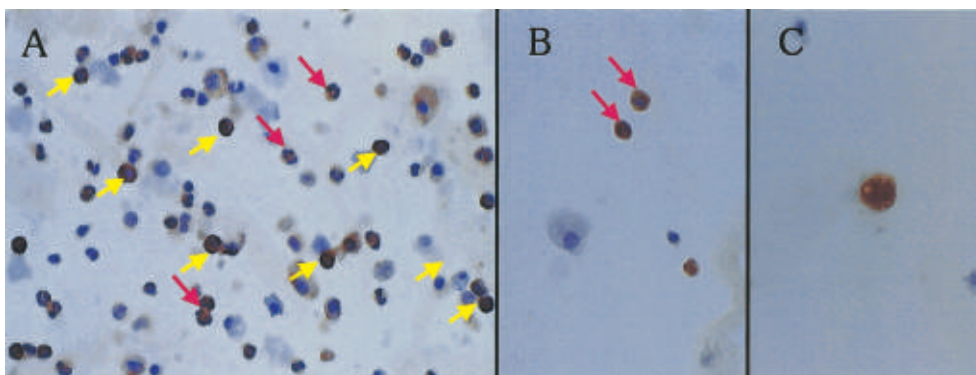


Fig. 2. Immunohistochemistry for CD68 in urinary sediments from an IgA nephropathy patient

A : Many cells were positive for CD68 in urinary sediments in the active phase. Yellow arrow heads show CD68⁺ Mo/M Φ . Red arrow heads show neutrophils. ($\times 120$)

B : Two cells were positive for CD68 in urinary sediments in

the inactive phase in the same case as A. Red arrow heads show neutrophils. ($\times 120$)

C : An oval fat body in urinary sediments in the inactive phase in the same case as A. ($\times 120$)

(武藤化学, 東京)に採取し, 混和後 1,500 rpm で 5 分間遠心した。上清を捨て, 10 倍希釈 Lysing Solution (Becton Dickinson, 東京) で 10 分間溶血操作をした後, 1,500 rpm で 3 回遠心洗浄し, 沈渣 300 μ l をサイトスピン 3 (SHANDON, USA) で 500 rpm, 5 分間遠心し, シランコートされたプレパラートにスミアを作成した。

3. 尿沈渣スミアの免疫染色

尿沈渣スミアを乾燥後, 4%パラホルムアルデヒドで 10 分間冷蔵固定後, 3%過酸化水素水(H₂O₂)で 10 分間内因性ペルオキシダーゼ活性を阻害した。その後は「1. 腎組

織標本の免疫染色」と同様の過程で行った (Fig. 2)。

4. 光学顕微鏡的検査

腎組織および尿沈渣スミアにおける CD68 陽性細胞のうち好中球および卵円形脂肪体や大型の脂肪球はその形態上から除外し (Fig. 2), 単核球のみ CD68⁺ Mo/M Φ として測定した。結果は, 腎組織標本では Mac G3 computer (Apple Computer, USA) を用い, Mac SCOPE (三谷商事, 福井) により腎組織切片の全視野の平均単位面積 1 m² 当たりおよび全糸球体 (10~103 個) の平均糸球体 1 個当たりの浸潤 CD68⁺ Mo/M Φ 数で, 尿沈渣スミアでは尿 1 ml 当た

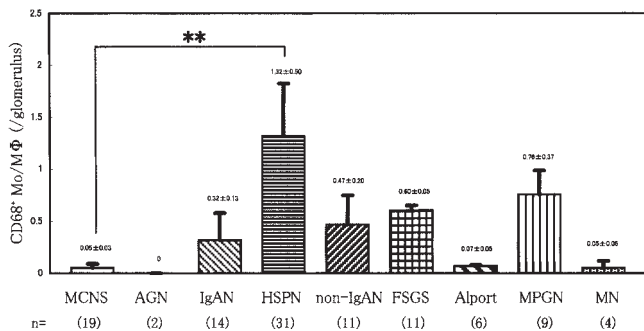


Fig. 3. The number of CD68⁺ Mo/MΦ infiltrating per glomerulus in various renal diseases

The number of CD68⁺ Mo/MΦ in the HSPN group was significantly higher than that in the MCNS group (**p < 0.01). Data represent the mean ± standard error of the mean (SEM).

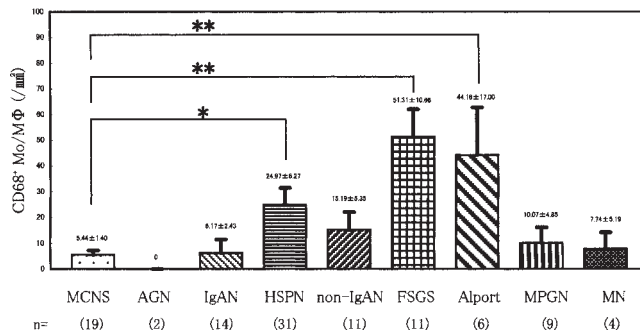


Fig. 4. The number of CD68⁺ Mo/MΦ infiltrating per mm² of the tubulo-interstitium areas in various renal diseases

The number of CD68⁺ Mo/MΦ (/mm²) in each of the HSPN, FSGS and Alport's syndrome group was significantly larger, respectively, than that in the MCNS group (*p < 0.05, **p < 0.01). Data represent the mean ± SEM.

りの CD68⁺Mo/MΦ 数(全視野の合計)で算出された。

5. 尿中ポドサイトの測定

早朝新鮮尿 10~30 ml を尿細胞保存液ウリキープ 5D に採取し、よく混和後三菱化学ビーシーエル(東京)に測定を依頼した。ポドサイトの検出には、ポドサイト表面の糖衣を形成するシアル蛋白であるポドカリキシンに対するモノクローナル抗体(PCX 抗体 22A4) (三菱化学ビーシーエル, 東京)を用い、蛍光抗体法にて検出した¹²⁾。結果は尿 1 ml 当たりの陽性細胞数で示した。

6. 統計学的処理

結果は、平均±標準誤差(mean±SEM)で示した。各疾患における活動期と非活動期の比較には Mann-Whitney の U-検定を用いた。疾患別の測定値の比較については、Kruskal-Wallis の方法により多群間の有意差の有無を確認し、有意差が認められた場合には Fisher の方法によって多重比較を行った。相関係数は Pearson の方法で行った。以上の各検定において、有意差の有無は p < 0.05 をもって判定した。

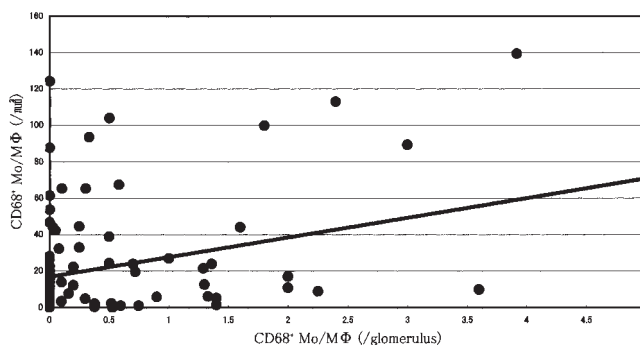


Fig. 5. Correlation between the number of CD68⁺ Mo/MΦ infiltrating per glomerulus and that per mm² of the tubulo-interstitium areas

The number of CD68⁺ Mo/MΦ showed a significant relationship between the glomerulus and interstitium (r = 0.40, n = 107, p < 0.001).

結 果

1. 各種腎組織における浸潤 CD68⁺ Mo/MΦ の検討

腎生検組織像において疾患別に検討したところ、糸球体浸潤 CD68⁺ Mo/MΦ 数は MCNS に比べて HSPN が有意に高値を示し、IgAN, non-IgAN, FSGS, MPGN においてはいずれも高い傾向を示した(Fig. 3)。同様に、単位面積当たりの間質浸潤 CD68⁺ Mo/MΦ 数は MCNS に比べて HSPN, FSGS, Alport が有意に高値を示し、non-IgA, MPGN においては高い傾向を示した(Fig. 4)。

2. 各種腎組織における糸球体と間質浸潤 CD68⁺ Mo/MΦ の検討

糸球体浸潤 CD68⁺Mo/MΦ 数および間質浸潤 CD68⁺ Mo/MΦ 数との関係は多少のばらつきを認めるものの有意な正の相関を示した(r = 0.33, p < 0.01) (Fig. 5)。

3. 各種腎疾患の活動期および非活動期における尿中 CD68⁺ Mo/MΦ の検討

活動期および非活動期における尿中 CD68⁺ Mo/MΦ 数を比較すると AGN, IgAN, HSPN, non-IgAN, MPGN のそれぞれにおいて有意に活動期で高値を示した。一方、MCNS や FSGS の一部の症例は高度蛋白尿を伴う活動期であるにもかかわらず尿中 CD68⁺ Mo/MΦ 数は増加していなかった(Fig. 6)。

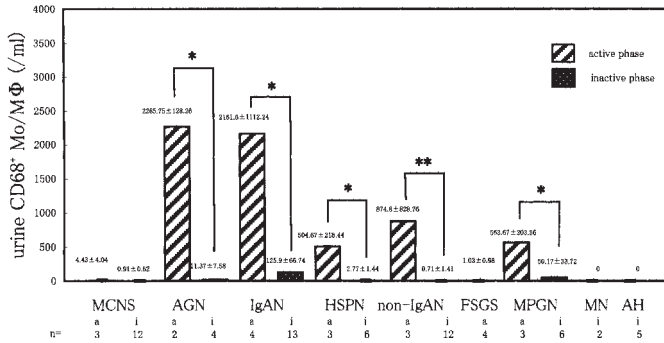


Fig. 6. Comparison of the number of urine CD68⁺ Mo/MΦ between the active and the inactive stage in various renal diseases

The number of urine CD68⁺ Mo/MΦ in the active stage were significantly higher than that in the inactive stage in the AGN, IgAN, HSPN, non-IgAN and MPGN groups, respectively, (*p < 0.05, **p < 0.01). Data represent the mean ± SEM. (a : active stage, i : inactive stage)

4. 各種腎疾患における腎組織と尿中 CD68⁺ Mo/MΦ の検討

腎生検と採尿との期間が6カ月以内で、臨床的に腎炎の活動性に変化がなく、腎炎に対して治療を行っていない症例を対象とした。糸球体浸潤 CD68⁺ Mo/MΦ 数が多く認められる症例ほど尿中 CD68⁺ Mo/MΦ 数も多く (r=0.79, p<0.01), 同様に間質浸潤 CD68⁺ Mo/MΦ 数も多く認められる症例でも尿中 CD68⁺ Mo/MΦ 数も多く (r=0.80, p<0.01), それぞれ有意な相関を認めた (Fig. 7, 8)。

5. 各種腎疾患における尿中 CD68⁺ Mo/MΦ と尿中ポドサイトの検討

尿中 CD68⁺ Mo/MΦ 数の多い症例ほど尿中ポドサイト数も高値を示し、有意な相関を示した (r=0.76, p<0.001) (Fig. 9)。

6. 臨床経過

Fig. 10, 11 に実際に経過の追えた症例を呈示した。Fig. 10 は 15 歳男児の IgAN 症例を示す。初診時蛋白尿と肉眼的血尿を伴い、尿中 CD68⁺ Mo/MΦ 数は尿 1 ml 当たり 3530.5 個と非常に高値であり、糸球体および間質浸潤 CD68⁺ Mo/MΦ 数も高値を示した。その後安静とステロイド薬 (PSL) の投与により血尿・蛋白尿は改善し、尿中 CD68⁺ Mo/MΦ 数も減少した。Fig. 11 は 11 歳女児の MPGN 症例を示す。初診時ネフローゼ症候群と肉眼的血尿を呈し、尿中 CD68⁺ Mo/MΦ 数は尿 1 ml 当たり 931 個と高値を示し、同時に糸球体および間質浸潤 CD68⁺ Mo/MΦ 数も高値を示した。治療開始後尿中 CD68⁺ Mo/MΦ 数は血尿・蛋白尿の改善に伴って減少したが、追跡腎

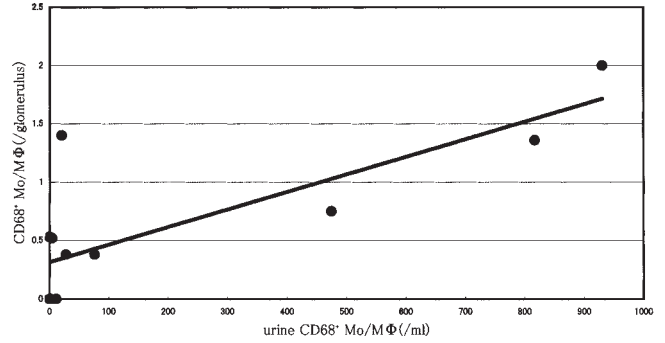


Fig. 7. Correlation between the number of CD68⁺ Mo/MΦ infiltrating per glomerulus and that contained per milliliter of urine

The number of CD68⁺ Mo/MΦ showed a significant relationship between the glomerulus and urine (r=0.79, n=12, p<0.05).

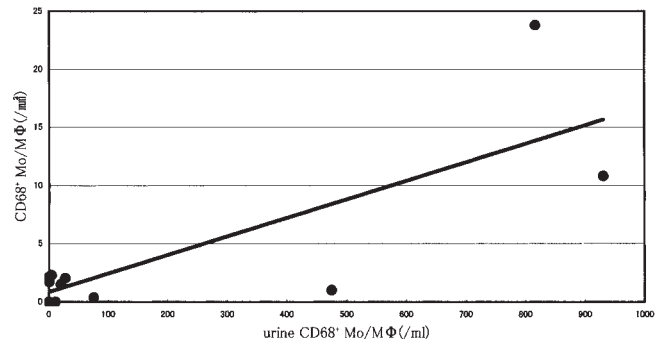


Fig. 8. Correlation between the number of CD68⁺ Mo/MΦ infiltrating per mm² of the tubulo-interstitium areas per milliliter of urine

The number of CD68⁺ Mo/MΦ showed a significant relationship between the interstitium and urine (r=0.80, n=12, p<0.01).

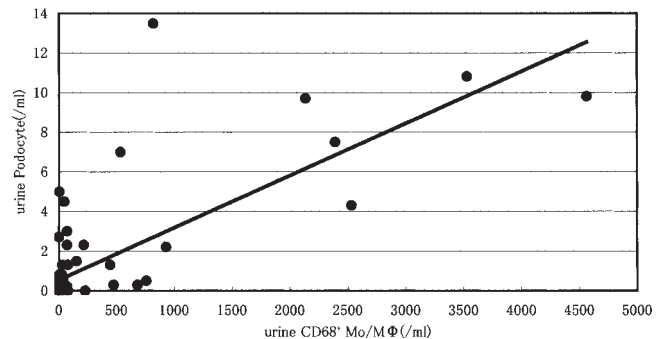


Fig. 9. Correlation between the number of urine podocytes and that of urine CD68⁺ Mo/MΦ

The number of urine podocytes correlated significantly with that of urine CD68⁺ Mo/MΦ (r=0.76, n=81, p<0.001).

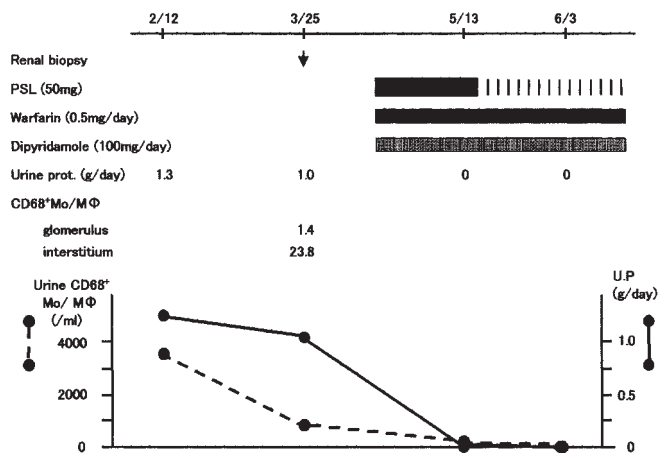


Fig. 10. Clinical course of an IgAN case

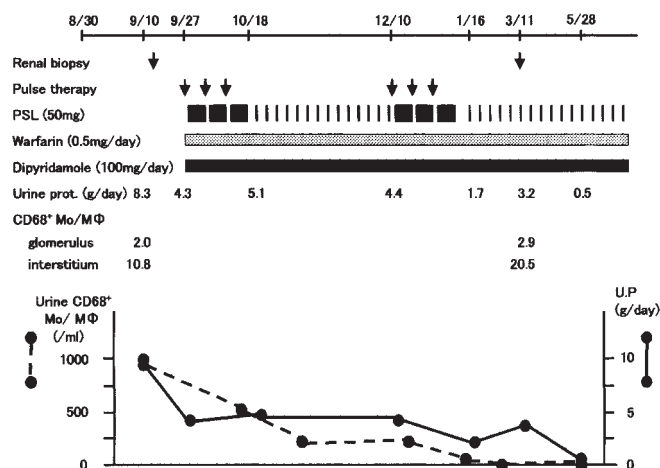


Fig. 11. Clinical course of a MPGN case

生検において糸球体および間質浸潤 CD68⁺ Mo/MΦ 数は初回に比べてやや増加していた。

考 察

1. CD68 の抗原性

一般的に単球およびマクロファージ以外に、好中球および卵円形脂肪体や大型の脂肪球においても CD68 抗原は認められ、それらの鑑別が非常に難しいことがある。そのため、尿中 Mo/MΦ の検出には CD14 や CD16 の抗血清を用いることがある^{10,13,14}。CD14 抗原は単球、マクロファージ、好中球の骨髄系細胞に存在し、腎炎による細胞性半月体に CD14 陽性 Mo/MΦ が多数認められる。また、CD16 抗原は単球、マクロファージ、NK 細胞、好中球に存在し、主に活性化したマクロファージを検出し、両者とも腎炎の活動性の指標となるとされている。また、CD14 や CD16 抗原も CD68 抗原と同様にマクロファージの前駆細胞である単球にも存在し、それぞれの抗血清で染色するとマクロファージとともに単球も染色される。しかし、CD14 や CD16 の抗原性はパラフィン切片においては失われてしまい、本研究では腎組織および尿中の Mo/MΦ を検討し、その関係を明らかにすることを目的としたため、パラフィン切片においても抗原性を示す CD68 抗血清をあえて使用した。そのため、腎組織および尿中において同時に染色される好中球および卵円形脂肪体や大型の脂肪球は形態学的に除外された。しかし、同時に染色される単球とマクロファージの形態学的鑑別は困難であり、それらを 1 つ (Mo/MΦ) として計測した。

2. 腎組織における浸潤 Mo/MΦ の検討

各種腎疾患において腎組織浸潤 Mo/MΦ 数は MCNS をコントロールとして検討した。これは、非活動期に腎生検を施行する症例が少なく大部分が活動期に当たるため、腎組織における検討ではほぼ正常な組織形態である MCNS をコントロールとした。

糸球体浸潤 CD68⁺ Mo/MΦ 数の検討では、MCNS に比較して HSPN が有意に高値を示したが、IgAN, non-IgAN, FSGS, MPGN も高い傾向を示した。これらの症例は FSGS を除いていわゆる増殖性腎炎群であり、これまでの成人例の報告と一致する¹⁻³。AGN の 2 例に関しては発症して 2~3 カ月経過しており、メサンギウム基質の増加は認めるものの、メサンギウム細胞の増殖は伴っていない。また、成人例では糸球体浸潤 Mo/MΦ 数は半月体形成の程度やメサンギウム細胞の増殖の程度との相関が報告されているが¹⁻³、本研究では検討されていない。間質浸潤 CD68⁺ Mo/MΦ 数の検討では、MCNS に比較して HSPN, FSGS, Alport の各群が有意に高く、non-IgAN と MPGN が高い傾向を示した。また、糸球体浸潤 CD68⁺ Mo/MΦ 数と間質浸潤のそれとの相関を求めると、多少のばらつきを認めるものの有意な正の相関を示した。しかし、FSGS と Alport に関しては、糸球体浸潤 CD68⁺ Mo/MΦ 数に比して間質浸潤のほうが比較的高値を示し、特に Alport に関しては著明であった。

糸球体腎炎において Mo/MΦ が糸球体、間質に浸潤してくることは以前より知られており、その機序については、近年、白血球接着分子やケモカインなどが重要な役割を果たしていることが明らかになってきている¹⁵。実験腎炎モデルにおいて、Mo/MΦ のケモカインである macro-

phage chemoattractant protein-1 (MCP-1) を抑制することで Mo/MΦ の糸球体集積と尿蛋白が抑制されることが示されている¹⁶⁾。糸球体硬化の機序として、糸球体へ持続的に Mo/MΦ が集積することで、IL-1, TGF-β などのサイトカインによりメサンギウム細胞の増殖や基質の増加を促し、糸球体硬化へと進展させることが知られている¹⁷⁾。また、種々の糸球体疾患で尿細管上皮細胞においても MCP-1 の発現が増強していることが報告されており¹⁸⁾、これらのケモカインにより Mo/MΦ が間質に浸潤し、IL-1, IL-6, TGF-β, TNF-α などのサイトカインを放出して線維芽細胞の増殖を促進し線維化の誘因となっている^{8,9)}。しかし、糸球体病変と間質病変との関係については、先発の糸球体病変により二次的に障害された尿細管上皮細胞がケモカインを産生し、間質へのマクロファージ浸潤が惹起される可能性¹⁹⁾ や、糸球体や尿細管上皮細胞に MCP-1 の発現が同時に増強されること¹⁸⁾ から、同時進行的にマクロファージが浸潤する可能性も考えられた。われわれの経験した症例 (Fig. 11) において、臨床症状の改善と尿中 CD68⁺Mo/MΦ 数の減少後に間質浸潤 CD68⁺Mo/MΦ 数が増加していたが、これは腎全体の所見ではなく、偶然腎生検をされた局所的な影響、または今後腎炎が進展していく可能性も考えられた。

3. 腎組織と尿中 CD68⁺ Mo/MΦ との関係

本研究では、尿中 CD68⁺ Mo/MΦ の測定とほぼ同時に腎生検を施行した 12 例 (活動期 6 例, 非活動期 6 例) において、尿中 CD68⁺Mo/MΦ 数が糸球体浸潤と間質浸潤 CD68⁺Mo/MΦ 数との間にいずれも有意な相関が得られたことから、尿中 CD68⁺Mo/MΦ は腎組織における糸球体および間質浸潤 CD68⁺Mo/MΦ の両方を反映している可能性も示唆された。これまでの報告では、糸球体由来の尿中 CD68⁺ Mo/MΦ 出現の機序として、壊死性病変により、あるいは補体系活性化に伴う membrane attack complex (MAC) により糸球体基底膜が破壊され、半月体形成に伴い浸潤した Mo/MΦ がボーマン嚢腔を経て尿中に出現すると説明されている^{20,21)}。尿細管、間質浸潤 CD68⁺Mo/MΦ の尿中への出現機序については文献的にも不明であり、本研究においては 12 症例と検討症例数が少なく、Fig. 11 のように尿中 CD68⁺Mo/MΦ 数と間質浸潤 CD68⁺Mo/MΦ 数が一致しない例もあることから、今後、症例を増やし再検討していく必要があると思われた。

また、本研究の対象において、末期腎不全へ進展した症例は前述したように 15 例であったが、これらの症例と尿中および腎組織浸潤 CD68⁺Mo/MΦ 数との関連性につい

ては、間質浸潤 CD68⁺Mo/MΦ 数の多い症例ほど末期腎不全へ進展する傾向にあるものの、尿中 CD68⁺Mo/MΦ 数との関連についてはまだ明らかではなく、今後、臨床的予後推測因子としても検討すべき課題であると考えている。

4. 尿中 CD68⁺ Mo/MΦ と腎炎活動性との関係

各種腎疾患において、AGN, IgAN, HSPN, non-IgAN, MPGN の各臨床的活動期にはそれぞれの非活動期に比べて有意に尿中 CD68⁺ Mo/MΦ 数が増加していた。しかし、MCNS や FSGS においては蛋白尿の強い臨床的活動期であっても尿中 CD68⁺ Mo/MΦ は増加していなかった。このことから、いわゆる増殖性糸球体腎炎においてのみ、尿中 CD68⁺ Mo/MΦ 数は腎炎の活動性を反映していることが示唆された。また、FSGS では間質浸潤 CD68⁺ Mo/MΦ 数は増殖性糸球体腎炎と比べても高値を示し、糸球体においても比較的高値であるにもかかわらず、尿中 CD68⁺ Mo/MΦ 数は非常に低値であった。これは単に採尿の時期によるものとは思えず、その理由は不明であるが、成人例の報告でも同様の結果が見られた^{4,5,13,22)}。Hotta らは、糸球体腎炎のなかでも特に急速進行性糸球体腎炎 (RPGN)、活動期 IgAN (cellular crescents を有する)、MPGN、感染後腎炎で有意に多数の尿中 Mo/MΦ を検出し、増殖性糸球体腎炎における活動性の指標として有用であると成人例で報告している^{13,14,21,23,24)}。本研究においても、一部経過を追えた症例では、臨床的に活動性が低下していくにつれて尿中 CD68⁺ Mo/MΦ 数も減少しており、活動性の指標となりうると思われた。また、尿中 CD68⁺ Mo/MΦ 数は、すでに腎炎の活動性の指標としての評価が固まりつつある尿中ポドサイト数と極めて良好な正の相関関係を示した。しかし、今回のわれわれの検討結果では FSGS は正常範囲内であり、FSGS で尿中ポドサイト数は高値を示すという文献²⁵⁾ と異なる点については更なる検討が必要と思われた。

以上、本研究は小児腎疾患の進展に果たす Mo/MΦ の役割について、腎組織浸潤 CD68⁺Mo/MΦ と尿中 CD68⁺Mo/MΦ の 2 つの方向性から検討し、Mo/MΦ が腎炎の進展に何らかの関与をしていることが窺えた。しかも、AGN のように急性期では尿中 CD68⁺ Mo/MΦ は著明に増加していたにもかかわらず自然経過で完治したことから、一過性の腎臓への浸潤ではなく、持続的な浸潤が腎炎の進展に関与するのではないかと推測された。最後に、過去の内外の報告では、小児に関する同様の研究は見当たらなかった。

結 語

小児腎疾患における腎組織中および尿中に出現するMo/MΦについて検討し、以下の結果を得た。

- 1) 腎組織浸潤CD68⁺ Mo/MΦが腎炎の進展に何らかの関与をしていることが窺えた。
- 2) 尿中CD68⁺Mo/MΦは糸球体のみならず間質浸潤CD68⁺ Mo/MΦを反映していることが推測された。
- 3) 尿中CD68⁺Mo/MΦはAGN, IgAN, HSPN, non-IgAN, MPGNの増殖性糸球体腎炎において臨床的活動性の指標となることが示唆された。

謝 辞

稿を終えるにあたり、ご協力、ご指導いただきました聖マリアンナ医科大学解剖学教室助教授 金子律子先生、共通放射能基礎医学研究施設講師 立浪忍先生、小児科学教室 浅原美恵子研究補助員に深謝いたします。

文 献

1. Atkins RC, Glasgow EF, Holdsworth SR, Matthews FE. The macrophage in human rapidly progressive glomerulonephritis. *Lancet* 1976 ; 1 : 830-2.
2. Monga G, Mazzucco G, Barbino di Belgiojoso G, Busnach G. The presence and possible role of monocyte infiltration in human chronic proliferative glomerulonephritis. *Am J Pathol* 1979 ; 94 : 271-84.
3. Shigematsu H, Shishido H, Kumara K, Tsuchida H, Suzuki H, Hirose K, Tojo S. Participation of monocytes in transient glomerular hypercellularity in poststreptococcal glomerulonephritis. *Virchow Arch* 1973 ; 12 : 367-70.
4. Kobayashi M, Koyama A, Narita M, Shigematsu H. Intraglomerular monocytes in human glomerulonephritis. *Nephron* 1993 ; 59 : 580-5.
5. Ferrario F, Castiglione A, Colasanti G, Belgiojoso GR, Bertoli S, D'Amigo G. The detection of monocytes in human glomerulonephritis. *Kidney Int* 1985 ; 28 : 513-9.
6. Van Goor H, Ding G, Kees-Folts D, Grond J, Schreiner GF, Diamond JR. Biology of disease, macrophages and renal disease. *Lab Invest* 1994 ; 71 : 456-62.
7. 山本正敏. 糸球体硬化とマクロファージラット実験腎炎での検討一. *信州医誌* 1997 ; 45(3) : 177-91.
8. Muller GA, Rodemann HP. Characterization of human renal fibroblasts in health and disease : I. Immunophenotyping of cultured tubular epithelial cells and fibroblasts derived from kidneys with histologically proven interstitial fibrosis. *Am J Kidney Dis* 1991 ; 17 : 680-3.
9. Nathan CF. Secretory products of macrophages. *J Clin Invest* 1987 ; 79 : 319-26.
10. Hotta O, Yusa N, Ooyama M, Unno K, Furuta T, Taguma Y. Detection of urinary macrophages expressing the CD16 (FCγRIII) molecule : a novel marker of acute inflammatory glomerular injury. *Kidney Int* 1999 ; 55 : 1927-34.
11. Hotta O, Taguma Y, Sudo K, Kurosawa K. Limitation of kidney biopsy in detecting crescentic lesions in IgA nephropathy. *Nephron* 1993 ; 65 : 472-3.
12. 原 正則, 柳原俊雄, 内山 聖. 尿中Podocyte ; 糸球体上皮細胞障害のマーカーとしての有用性. *小児科臨床* 1997 ; 50 : 821-7.
13. Hotta O, Taguma Y, Yusa N, Ooyama M. Analysis of mononuclear cells in urine using flow cytometry in glomerular disease. *Kidney Int (Suppl)* 1994 ; 47 : s117-21.
14. 堀田 修, 田熊淑男, 遊佐なを子, 須藤克彦, 黒沢孝成, 鈴木一之, 高橋 寿. 糸球体腎炎におけるflow cytometryを用いた尿中単核球の解析. *日腎会誌* 1992 ; 34 : 753-9.
15. Lefkowitz JB. Leukocyte migration in immune complex glomerulonephritis ; role of adhesion receptors. *Kidney Int* 1997 ; 51 : 1469-75.
16. Fujinaka H, Yamamoto T, Takeya M, Feng M, Kawasaki K, Yaoita E, Kondo D, Wilson CB, Uchiyama M, Kihara I. Suppression of anti-GBM nephritis by administration of anti-MCP-1 antibody in WKY rats. *J Am Soc Nephrol* 1997 ; 8 : 1174-8.
17. Shibata N, Ito N, Shigematsu H. Macrophages in accelerated Masugi nephritis in the rat. *Acta Pathol Jpn* 1985 ; 35 : 9-22.
18. Prodjosudjadi W, Gerritsma JS, Klar-Mohamad N, Gerritsen AF, Bruijn JA, Daha MR, van Es LA. Production and cytokine-mediated regulation of monocyte chemoattractant protein-1 by human proximal tubular epithelial cells. *Kidney Int* 1995 ; 48 : 1477-86.
19. 酒井 毅, 宇都宮保典. Chemokineの役割. *腎と透析* 1998 ; 45 : 61-5.
20. 長田道夫, 伊藤克己. 小児IgA腎症の病態と治療. *小児科臨床* 1995 ; 48 : 1714-22.
21. 堀田 修. 尿中単核球解析による内科的腎疾患の病態評価. *臨床病理* 2000 ; 48 : 498-504.
22. 尾田高志, 吉沢信行, 大嶋 智, 竹内昭彦, 久保田孝雄, 近藤修市, 押川泰浩, 明石好弘, 鈴木康史, 丹羽寛文. 糸球体腎炎における糸球体, 尿管・間質浸潤細胞のモノクローナル抗体による検討. *日腎会誌* 1990 ; 32 : 631-41.
23. Hotta O, Yusa N, Kitamura H, Taguma Y. Urinary macrophages as activity markers of renal injury. *Clin Chim Acta* 2000 ; 297 : 123-33.
24. Hotta O, Kitamura H, Taguma Y. Detection of mature macrophages in urinary sediments : clinical significance in predicting progressive renal disease. *Ren Fail* 1998 ; 20 : 413-8.
25. 原 正則, 柳原俊雄, 木原 達. 尿中PodocyteのIgA腎症, 紫斑病性腎炎, ネフローゼ症候群における臨床的有用性. *腎と透析* 1997 ; 43 : 869-75.