



Immunohistochemical study of $\alpha 1-5-$ chains of type IV collagen in hereditary nephritis

中西, 浩一

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

1995-10-11

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

乙1966

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D2001966>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



氏名・(本籍)	なかにしこういち 中 西 浩 一	(大阪府)
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)	
学位記番号	博ろ第1473号	
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当	
学位授与の日付	平成7年10月11日	
学位論文題目	Immunohistochemical study of $\alpha 1-5$ chains of typeIV collagen in hereditary nephritis (進行性遺伝性腎炎の糸球体基底膜・皮膚基底膜におけるIV型コラーゲン $\alpha 1-5$ 鎖蛋白の発現と臨床病理所見)	
審 査 委 員	主査 教授 中 村 肇 教授 伊 東 宏 教授 松 尾 雅 文	

論 文 内 容 の 要 旨

I 序言

進行性遺伝性腎炎は病初期には血尿が唯一の所見であるが、やがて蛋白尿が出現増加し徐々に腎機能が低下していく疾患である。難聴を伴うものはアルポート症候群としてよく知られているが、難聴を伴わない進行性遺伝性腎炎もよくみられる。難聴を伴わない進行性遺伝性腎炎とアルポート症候群の臨床病理所見は全く同じで、本質的にも同一の疾患と考えられ難聴の無い場合でも広義のアルポート症候群と考えてよい。また、腎炎の家族歴の無い血尿症例のうち感音性難聴を伴い、腎生検でアルポート症候群と同一の病理所見を呈することがあり、アルポート症候群のnew mutationと考えられる。

進行性遺伝性腎炎の特徴的な病理所見は糸球体基底膜 (GBM) の広範な網目状変化で、大部分の症例で認められる。もうひとつの特徴的な変化はGBMの菲薄化である。網目状変化のみられない進行性遺伝性腎炎の多くはGBMの広範な菲薄化を示す。

アルポート症候群の遺伝形式は多くはX連鎖型であるが、常染色体性優性、常染色体性劣性のものもある。アルポート症候群の一時的病因はGBMの異常で、その主要構成成分であるIV型コラーゲンの分子異常が原因である。IV型コラーゲン分子は3本の α 鎖よりなる三重らせん構造をとり、さらにそのC末端のNCドメイン、N末端の7Sドメインが異なる分子間で結合して高次の網目状構造を形成している。

α 鎖は現在 $\alpha 1$ から $\alpha 6$ までの6種類が同定されている。 $\alpha 1$ と $\alpha 2$ 、 $\alpha 3$ と $\alpha 4$ 、 $\alpha 5$ と $\alpha 6$ の遺伝子はhead to headの位置関係で、それぞれ第13番染色体、第2番染色体、X染色体上に存在する。 $\alpha 5$ 鎖の遺伝子はXq22に存在し、 $\alpha 5$ 鎖遺伝子の異常がアルポート症候群の一部に発見されていることより、X連鎖型アルポート症候群の病因は $\alpha 5$ 鎖の異常と考えられている。 $\alpha 6$ 鎖遺伝子もX染色体に存在することからX連鎖型アルポート症候群の病因である可能性が示唆されたが、免疫組織化学的検索からGBMには $\alpha 6$ 鎖は存在しないことより否定的である。最近、常染色体劣性型アルポート症候群の家系において $\alpha 3$ 鎖、 $\alpha 4$ 鎖の遺伝子異常が報告され、それらがアルポート症候群

の原因と考えられる。5本の α 鎖のうちどの3本が三重らせん構造を形成するかについては現在のところ未定である。

また、免疫組織化学的検索からアルポート症候群のGBMにはGoodpasture症候群の標的抗原が欠損していることが示され、その後Goodpasture抗原の $\alpha 3$ 鎖のNCドメインに存在することが明らかになった。一方、腎移植後のアルポート症候群患者に抗GBM抗体による腎炎が発症することがあり、その抗体はX連鎖型アルポート症候群の男性患者のGBM、皮膚基底膜(EBM)に反応せず、女性患者ではモザイク状に反応する。この抗体の抗原が $\alpha 5$ 鎖であることが示唆されている。

II 方法

遺伝性腎炎のGBMとEBMにおけるIV型コラーゲン $\alpha 1-5$ 鎖の発現をそれぞれに対する抗体を使用し検討した。神戸大学小児科でフォローしている遺伝性腎炎23家系の44人を、臨床所見とGBMの電子顕微鏡所見から3群に分類して検討した。I群はGBMに広範な網目状変化を認め腎炎の家族歴を有する10家系、II群はGBMに広範な網目状変化を認めるが腎炎の家族歴のない6家系、III群はGBMに広範な非薄化を認めるが網目状変化はなく腎不全の家族歴を有する7家系とした。なお、正常コントロールには5例の移植腎と健康ボランティア1例及び他の腎疾患患者7例の皮膚を使用した。

III 結果

$\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ 鎖は正常コントロールおよび検索した全症例においてGBM・EBMにびまん性に存在した。 $\alpha 3$ 、 $\alpha 4$ 、 $\alpha 5$ 鎖は正常コントロールの糸球体ではGBMにそってびまん性に分布していた。I群の全10家系とII群の3家系において、 $\alpha 5$ 鎖抗原は男性患者では完全に欠損、女性患者では部分的に欠損していた。II群で $\alpha 5$ 鎖抗原の異常を認めた患者の母親の $\alpha 5$ 鎖抗原は異常を認めた患者の母親の $\alpha 5$ 鎖抗原は正常であった。 $\alpha 5$ 鎖異常を認めた家系の男性患者の $\alpha 3$ 、 $\alpha 4$ 鎖抗原は、20歳までに腎不全に進行する重症型家系では完全に欠損していたが、軽症型家系では減弱しているが発現していた。 $\alpha 5$ 鎖異常を認めた家系の女性患者の $\alpha 3$ 、 $\alpha 4$ 鎖抗原は、 $\alpha 5$ 鎖抗原と同様にGBMの一部に発現がみられた。I群の女性患者の糸球体で、 $\alpha 3$ 鎖と $\alpha 5$ 鎖および $\alpha 4$ 鎖と $\alpha 5$ 鎖をそれぞれ同一切片上で二重染色したところ、 $\alpha 3$ 鎖と $\alpha 5$ 鎖および $\alpha 4$ 鎖と $\alpha 5$ 鎖の存在部位は完全に一致していた。II群の残り3家系とIII群の全7家系の $\alpha 3$ 、 $\alpha 4$ 、 $\alpha 5$ 鎖抗原は正常であった。

I群の男性患者の皮膚を電顕観察したところ、正常コントロールと同様にEBMの網目状変化は認めなかった。

IV 考察

I群の全10家系とII群の3家系において、 $\alpha 5$ 鎖抗原は男性患者では完全に欠損、女性患者では部分的に欠損しており、 $\alpha 5$ 鎖遺伝子はX染色体に存在するので、これらの家系はX連鎖型アルポート症候群の家系と考えられる。女性患者における $\alpha 5$ 鎖蛋白の部分的発現は、一对のX染色体のそれぞれに存在する正常な $\alpha 5$ 鎖遺伝子と異常な $\alpha 5$ 鎖遺伝子のランダムな発現によると推測される。II群で $\alpha 5$ 鎖抗原の異常を認めた3家系の患者の母親の $\alpha 5$ 鎖抗原は正常であり、この3症例はX連鎖型アルポート症候群の突然変異例と思われる。 $\alpha 5$ 鎖抗原に異常のみられた家系の男性患者での $\alpha 3$ 鎖と $\alpha 4$ 鎖の抗原は、重症型家系では完全に欠損し軽症型家系では弱い発現がみられ、プライマリな異常は $\alpha 5$ 鎖にあると考えられるが、腎炎の進行は $\alpha 3$ 鎖と $\alpha 4$ 鎖が決定するものと推測される。 $\alpha 3$ 、 $\alpha 4$ 、 $\alpha 5$ 鎖の二重染色の結果から、 $\alpha 3$ 、 $\alpha 4$ 、 $\alpha 5$ 鎖の存在部位は完全に一致することが判明し

た。 $\alpha 5$ 鎖に異常が存在する場合どのようにして $\alpha 3$ 鎖と $\alpha 4$ 鎖の変化が生じるかは現在不明である。Reeders は少なくとも三つの仮説をたてている。即ち、 $\alpha 3$ 鎖と $\alpha 4$ 鎖は正常に形成されるけれどGBM への組み込みが障害されている場合、 $\alpha 3$ 鎖と $\alpha 4$ 鎖は正常に形成されGBM への組み込みも正常だが、異常な $\alpha 5$ 鎖が $\alpha 3$ 鎖と $\alpha 4$ 鎖の免疫反応性に影響している場合、 $\alpha 3$ 鎖と $\alpha 4$ 鎖の遺伝子の転写あるいは翻訳がうまく行なわれず、 $\alpha 3$ 鎖と $\alpha 4$ 鎖が形成されない場合である。

GBM とEBM における $\alpha 5$ 鎖蛋白の発現は完全に一致しており、皮膚生検はX連鎖型アルポート症候群の診断に有用であると考えられる。ただし、EBM には $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ 、 $\alpha 5$ 鎖は存在するが $\alpha 3$ 、 $\alpha 4$ 、 $\alpha 5$ 鎖は存在しないので、 $\alpha 3$ 、 $\alpha 4$ 鎖の検索は皮膚では不可能である。また、女性患者におけるEBM 検索ではモザイクの状態は様々であり、正常の結果であっても完全にモザイクを否定できない可能性があり注意を要する。EBM の電顕観察にてI群の男性患者において異常は認めなかったが、Kashtan 等も同様に報告している。アルポート症候群において腎炎の発症進行には、 $\alpha 5$ 鎖よりもむしろ $\alpha 3$ 、 $\alpha 4$ 鎖のほうが重要な役割をしていることは示唆される。

V 結論

1. IV型コラーゲンの α 鎖蛋白の発現の異常は、進行性遺伝性腎炎の多様性を反映している。
2. GBM とEBM における $\alpha 5$ 鎖の発現は完全に一致しており、皮膚生検はX連鎖型アルポート症候群の診断に有用である。

論文審査の結果の要旨

進行性遺伝性腎炎は病初期には血尿が唯一の所見であるが、やがて蛋白尿が出現増加し徐々に腎機能が低下していく疾患であり、難聴を伴うものはアルポート症候群としてよく知られている。難聴を伴わない進行性遺伝性腎炎とアルポート症候群の腎臨床病理所見は全く同じであることから本質的には同一の疾患と考えられる。

アルポート症候群の遺伝形式は多くはX連鎖型であるが、常染色体性優性、常染色体性劣性のものもある。その病因は糸球体基底膜 (GBM) の異常で、その主要構成成分であるIV型コラーゲンの分子異常が原因と考えられている。IV型コラーゲン分子は3本の α 鎖よりなる三重らせん構造をとり、さらにそのC末端のNCドメイン、N末端の7Sドメインが異なる分子間で結合して高次の網目状を形成している。

α 鎖は現在 $\alpha 1$ から $\alpha 6$ までの6種類が同定されており、 $\alpha 1$ と $\alpha 2$ 、 $\alpha 3$ と $\alpha 4$ 、 $\alpha 5$ と $\alpha 6$ の遺伝子はhead to head の位置関係で、それぞれ第13番染色体、第2番染色体、X染色体上に存在している。 $\alpha 5$ 鎖の遺伝子はXq22に存在し、X連鎖型アルポート症候群の病因は $\alpha 5$ 鎖の異常と考えられている。

神戸大学小児科でフォローしている遺伝性腎炎23家系の44人について、遺伝性腎炎のGBM と皮膚基底膜 (EBM) におけるIV型コラーゲン $\alpha-5$ 鎖の存在をそれぞれに対する抗体を使用し、臨床所見とGBM の電子顕微鏡所見から3群に分類して検討した。I群はGBM に広範な網目状変化を認め腎炎の家族歴を有する10家系、II群はGBM に広範な網目状変化を認めるが腎炎の家族歴のない6家系、III群はGBM に広範な菲薄化を認めるが網目状変化はなく腎不全の家族歴を有する7家系とした。

I群の全10家系とII群の3家系において、 $\alpha 5$ 鎖抗原は男性患者では完全に欠損、女性患者では部分的に欠損していることを明らかにし、 $\alpha 5$ 鎖遺伝子はX染色体に存在するので、これらの家系はX

連鎖型アルポート症候群の家系と考えられた。また、 $\alpha 5$ 鎖抗原に異常のみられた家系の男性患者での $\alpha 3$ 鎖と $\alpha 4$ 鎖の抗原は、重症型家系では完全に欠損しているが軽症型家系では弱い発現が認められた。以上より、遺伝性腎炎のプライマリな異常は $\alpha 5$ 鎖にあると考えられるが、腎炎の進行には $\alpha 3$ 鎖と $\alpha 4$ 鎖が関与しているものと推測される。なお、申請者は、 $\alpha 3$ 、 $\alpha 4$ 、 $\alpha 5$ 鎖の二重染色の結果から $\alpha 3$ 、 $\alpha 4$ 、 $\alpha 5$ 鎖の存在部位は完全に一致することを予め証明している。

以上より、アルポート症候群における腎炎の発症進行には、 $\alpha 5$ 鎖よりもむしろ $\alpha 3$ 、 $\alpha 4$ 鎖のほうが重要な役割をしていることは示唆する成績と言える。

また、糸球体基底膜（GBM）と皮膚基底膜（EBM）における $\alpha 5$ 鎖の発現は完全に一致していたことから、皮膚生検がX連鎖型アルポート症候群の診断に有用であることを明らかにしている。

本研究は、進行性遺伝性腎炎の病因を分子遺伝学的手法を用いてその分子異常を明らかにしたものであり、従来ほとんど行われなかったIV型コラーゲン $\alpha 3$ および $\alpha 4$ 鎖の異常が腎炎進行に関与しているという重要な知見を得たものとして価値ある集積であると認める。よって、本研究者は、博士（医学）の学位を得る資格はあると認める。