

小児 IgA 腎症ならびに紫斑病性腎炎における 糸球体内細胞外基質成分の免疫電顕的研究

奈良県立医科大学法医学教室

河原 信吾

IMMUNOELECTRON MICROSCOPIC INVESTIGATION OF INTRAGLOMERULAR EXTRACELLULAR MATRIX COMPONENTS IN CHILDREN WITH IgA NEPHROPATHY AND PURPURA NEPHRITIS

SHINGO KAWAHARA

Department of Legal Medicine, Nara Medical University

Received March 29, 1993

Summary : Immunoelectron microscopic investigation for extracellular matrix (ECM) components was carried out in renal biopsy tissues from 31 children with IgA nephropathy and 22 children with Henoch-Schönlein purpura nephritis (HSPN), as well as 5 normal adults.

Immunogold labeling, using antisera against Type I, III, IV, V, VI collagens, laminin (Lam), fibronectin (FN), and vitronectin (VN), in normal glomeruli revealed that FN was found restrictively in mesangial matrix (MM), Lam throughout glomerular basement membrane (GBM), Type IV collagen both in MM and lamina rara interna of GBM, and Type V collagen in podocytes in minor amounts. The immunoreactivity of Type I, III, VI collagens and VN was not seen in normal glomeruli.

In children with mild mesangial proliferation of IgA nephropathy and HSPN, extension of FN labeling over GBM and VN distribution within mesangial electron-dense deposit (EDD)s were observed. During the progression of mesangial proliferation, the antigenic sites of Type I, III, V, VI collagens and FN appeared in MM or EDDs, and the labeling intensity of Type IV collagen and FN was gradually increased in MM or GBM. In the advanced stage of sclerotic glomeruli, the distribution of Type IV collagen and Lam remained, though that of Type I, III, V, VI collagens, FN, and VN was reduced.

These findings suggest that ECM components such as Type I, III, IV collagens, FN, and VN could play an important role in MM expansion, and that the deposition of these components is closely related to the progress of glomerulosclerosis.

Index Terms

immunoelectron microscopy, immunogold, extracellular matrix, collagen, glomerular disease, sclerosis

はじめに

腎糸球体はメサンギウム細胞, 上皮細胞, 内皮細胞,

ならびにそれらの支持組織としてのメサンギウム基質と基底膜から構成され, メサンギウム基質と基底膜はコラーゲン, ラミニン, フィブロネクチン, プロテオグリカ

ン等の細胞外基質成分より成ることが知られている¹⁾。各種腎疾患の糸球体病変では各細胞の増殖や変性に加えてメサンギウム基質や基底膜の変化が観察されるところから、細胞外基質が糸球体病変、なかでも糸球体硬化に大きく関与していると考えられてきた²⁾。従って細胞外基質各成分の糸球体における詳細な分布形式を知ることは糸球体病変の形成や進展の機序を探る上で不可欠と思われる。従来より正常腎と疾患腎、さらに疾患群間にみられる細胞外基質成分の分布形式の違いについて蛍光抗体法や酵素抗体法を用いた光顕レベルでの観察¹¹⁾¹²⁾¹⁶⁾²⁴⁾はなされているものの、電顕を用いて詳細な局在を検討した報告は極めて少ない。

金コロイド免疫電顕法は電顕酵素抗体法に比較して、抗体の組織浸透性に問題がないこと、高電子密度沈着物を含む微細構造が明瞭に観察できることにおいて優れている。著者はプロテインA-金コロイド法を用いた免疫電顕により、細胞外基質成分のうちType I, III, IV, V, VIコラーゲン, ラミニン, フィブロネクチン, およびビトロネクチンの糸球体における詳細な局在を正常腎ならびにIgA腎症と紫斑病性腎炎を対象として検討した。

対 象

昭和60年1月から平成4年12月までに奈良県立医科大学小児科ならびにその関連病院で腎生検を施行したIgA腎症31症例(年齢5~15才, 男児18例, 女児13例), および紫斑病性腎炎(以下HSPN)22症例(年齢5~18才, 男児12例, 女児10例)を対象とした。尚, 対照として成人5例(年齢45~58才, 男4例, 女1例)から腫瘍治療のために摘出された腎臓の健常部分(以下正常腎)についても同様に検討した。

方 法

1. 光学顕微鏡による観察: 腎生検は経皮的にTrucut針を用いて施行し, 得られた腎組織片をFormal-MercuryおよびDuboscque-Brazil solutionで固定し, HE, PAS, Masson-Trichrome, silver-methenamine-Masson-Trichromeにより染色後, 光学顕微鏡で観察した。

2. 免疫電顕による観察: 下記の方法を順次行った。

1) 腎生検組織の超薄切片の作製: 採取した腎組織片を直ちにPeriodate-Lysine-Paraformaldehyde (PLP) 固定液³⁾で4℃, 2時間固定した。固定後, 7%蔗糖加0.01 M 燐酸緩衝液(PBS)pH 7.4で洗浄, 50%, 70%, 95%, 100%各エタノールで脱水した後, 00型ゼラチン・

カプセルを用い, LR White(London Resin社製)に60℃, 12時間, またはLR Gold(London Resin社製)に4℃, 12時間で包埋した。次いで, ダイヤモンド・ナイフで約600~800Åの超薄切片を作製し, ニッケル・グリッド(300メッシュ)に拾い, プロテインA-金コロイド染色に供した。

2) プロテインA-金コロイド複合体(PAG)の作製: Slot & Genzeの方法⁴⁾により, 2%塩化金溶液1mlと2回蒸留した蒸留水159mlを混合し, 1%クエン酸ナトリウム溶液8mlと2回蒸留した蒸留水32mlの混合液を加えて2時間, 60℃の恒温槽内で攪拌し, 次いで2~3分間の煮沸を加え, 直径15nmの金コロイドを得た。次に, Tanaka et al.の方法⁵⁾に従ってPAG溶液を作製した。即ち, 0.5mgのプロテインA(Pharmacia Fine Chemicals社製)を溶解した0.005M塩化ナトリウム溶液0.1mlに作製した金コロイド溶液5mlを混合し, さらに5%ポリエチレングリコール(M. W. 20,000)溶液0.15mlを加えた。プラスチック製遠沈管に0.45μmのミリポアフィルターを通した0.05%ポリエチレングリコール及び0.02%窒化ソーダ含有5%グリセリン溶液2.5mlを入れ, その上に上記のPAG混合液5mlを重ねた。次いで, 25,500 r. p. m., 4℃, 40分間の遠沈後, 上清6.5mlを除去し残り1mlをPAG溶液として使用した。

3) PAGを用いた免疫電顕: Tanaka et al.の方法⁵⁾を一部改変したNakajima et al.の方法⁶⁾に従った。即ち, 腎生検組織超薄切片の載ったニッケルグリッドを, パラフィルム上に滴下した抗ヒト標本家兔血清に浮遊させ, 室温で反応させた。各抗血清は1%牛血清アルブミン(BSA)加-PBSにて, 抗Type Iコラーゲン血清(Chemicon International社製)は200倍希釈, 抗Type IIIコラーゲン血清(Chemicon International社製)は200倍希釈, 抗Type IVコラーゲン血清(Chemicon International社製)は400倍希釈, 抗Type Vコラーゲン血清(エル・エス・エル社製)は100倍希釈, 抗Type VIコラーゲン血清(Chemicon International社製)は200倍希釈, 抗ラミニン血清(Chemicon International社製)は400倍希釈, 抗フィブロネクチン血清(和光純薬社製)は80倍希釈, 抗ビトロネクチン血清(Chemicon International社製)は200倍希釈して用いた。尚, 抗Type Iならびに抗Type IIIコラーゲン血清はヒトType IVコラーゲン(Sigma社製)で吸収した後で使用した。次いで1%BSA-PBSで50倍希釈したPAG溶液を室温で反応させ, 最後に酢酸ウラニールによる電子染色を施し, 日本電子1200EX透過型電子顕微鏡で観察した。

尚, 対照として, 抗血清のかわりに正常家兔血清を1% BSA-PBSで希釈したものをを用いて同時に染色を行った。沈着度は金粒子の沈着がないものを(-), 有意な金粒子の沈着がみられたものをその金粒子の数により(+): 100個以下/ μm^2 , (H): 101~200個/ μm^2 , (H): 201個以上/ μm^2 , として計4段階に分け, 観察した部位の約80%以上を占める沈着度で示した。

成 績

1. 正常腎糸球体における検討

1) 光顕所見: 5例(N1~N5)ともにメサンギウム増殖は観察されず, 硬化性変化や半月体の形成もみられなかった。

2) 電顕による微細構造: 2例(N1, 及びN3)で部分的な糸球体基底膜(以下GBM)の肥厚を認めた以外, メサンギウム基質の増加や細胞の増殖, 変性を含めた変化はなかった(Table 1)。

3) 免疫電顕による細胞外基質成分の局在: 5例に共通して以下の所見を認めた。Type I, IIIコラーゲンは糸球体内には検出されず, ボウマン囊のすぐ外側に存在する繊維状構造物に一致して認めた。Type IVコラーゲンはメサンギウム基質にH, およびGBM内皮側に+程度に存在した(Plate 1a)。Type VコラーゲンはGBM上皮細胞足突起に+程度存在していた。ラミニンはメサンギウム領域から末梢にかけてのGBMに, 内皮側から上皮側にかけてほぼ均等に+程度分布していたが, メサンギウム基質にはほとんど検出されなかった(Plate 1b)。フィブロネクチンはメサンギウム基質に+程度に存在し, GBMには検出されなかった。特にメサンギウム基質のうちで血管腔に面したやや電子密度の高い部位(メサンギウム傍毛細血管部)に金粒子の強い沈着を認めた(Plate 1c)。Type VIコラーゲン, ならびにビトロネクチンは検出されなかった(Table 2)。

2. IgA腎症ならびにHSPNにおける検討

1) 光顕所見: IgA腎症では31例中6例(Cases 1, 2, 7, 8, 9, 及び27)でmesangial proliferationを認めず, 19例(Cases 3~6, 10~18, 21~23, 28, 29, 及び30)はmild mesangial proliferation像, 6例(Cases 19, 20, 24~26, 及び31)がmoderate mesangial proliferation像を呈していた。

HSPNはISKDCの組織分類⁷⁾に従うと22例中2例(Cases 32, 及び47)がminimal alterationsを呈してGrade Iに属し, 9例がGrade IIで, うち4例(Cases 34~37)はmild mesangial proliferation像, 5例(Cases 38~40, 48, 及び49)はmoderate mesangial prolifera-

tion像であった。また9例がGrade IIIで, うち5例(Cases 33, 41, 42, 50, 及び53)がmild mesangial proliferation像で, 4例(Cases 43~45, 及び51)がmoderate mesangial proliferation像を呈していた。Grade IVは2例で, Case 46はmoderate mesangial proliferation像, Case 52はsevere mesangial proliferation像を呈していた。

2) 電顕による微細構造: IgA腎症では31例のうち3例(Cases 17, 23, 及び25)の糸球体にsegmental sclerosisが観察され, 5例(Cases 27~31)はglobal sclerosisを呈し, 細胞成分の変性や脱落を認めた。Global sclerosisを呈した5例を除いた26例(Cases 1~26)の糸球体をメサンギウム基質の増殖程度により, 増殖がみられないもの, 軽度に認めるもの, 中等度以上に認めるものとして3群にわけると, それぞれ6例(Cases 1~6), 14例(Cases 7~20), 6例(Cases 21~26)であった。高電子密度沈着物(以下EDD)については全例にメサンギウム領域のEDDが観察され, 加えてGBM内皮下のEDDが8例(Cases 1, 2, 9, 15, 24~26, 及び30)に, GBM内のEDDが2例(Cases 25, 及び26)に, GBM上皮下のEDDが3例(Cases 15, 25, 及び30)に認められた。メサンギウム増殖の強かった3例(Cases 24~26)ではmesangial interpositionが観察された。また, 2例(Cases 2, 及び12)ではボウマン囊周辺に増殖した細胞と基底膜様物質が層状構造をなし, その中に繊維状構造物が存在する繊維細胞性半月体が観察された。13例(Cases 2, 4~8, 12, 15, 18, 20, 28, 30, 及び31)ではGBMの一部とボウマン囊の癒着を認め, 5例(Cases 8, 12, 16, 18, 及び20)ではボウマン囊の断裂が観察された。

HSPNでは22例のうち3例(Cases 38, 41, 及び52)にsegmental sclerosisが観察された。Case 53はglobal sclerosisを呈しており, メサンギウム基質と細胞成分はほとんど消失し蛇行したGBMを残していた。Case 53を除く21例(Cases 32~52)をIgA腎症と同様にメサンギウム基質増殖程度で3群にわけると, 増殖がみられないもの2例(Cases 32, 及び33), 軽度に認めるもの13例(Cases 34~46), 中等度以上に認めるもの6例(Cases 47~52)であった。EDDについては全例にメサンギウム領域のEDDを認め, さらにGBM内皮下のEDDが5例(Cases 33, 38, 50, 52, 及び53)に, GBM内のEDDが2例(Cases 50, 及び52)に, GBM上皮下のEDDが6例(Cases 40, 42, 43, 45, 52, 及び53)に観察された。強いメサンギウム増殖のみられた2例(Cases 50, 及び52)でmesangial interpositionを認めた。Case 34では繊維細胞性半月体を認めた。GBMとボウマン囊の癒着は7

Table 1. Light and electron microscopic findings in 5 normal adults and 53 patients with IgA nephropathy and purpura nephritis

Case No.	Sex /age	Diag.	L. M. findings			Electron microscopic findings									
			Mes Pro	Cres (%)	Scle (%)	Mes Pro	Scle	Mes Inter	Cres	Adhe	Break of Bowman's cap (mes)	EDD (sub-end)(intramem)	(sub-epi)		
N1	45/M	normal	none	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
N2	48/F	normal	none	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
N3	55/F	normal	none	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
N4	58/F	normal	none	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
N5	54/F	normal	none	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1	12/M	IgA N	none	0	0	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
2	10/M	IgA N	none	0	0	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-
3	12/M	IgA N	mild	0	0	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
4	10/M	IgA N	mild	0	0	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
5	11/F	IgA N	mild	16	16	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-
6	13/M	IgA N	mild	0	46	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-
7	8/F	IgA N	none	0	0	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-
8	8/M	IgA N	none	0	0	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-
9	14/M	IgA N	none	0	0	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-
10	5/F	IgA N	mild	0	0	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
11	12/M	IgA N	mild	0	0	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
12	12/M	IgA N	mild	0	0	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-
13	13/F	IgA N	mild	0	0	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
14	11/F	IgA N	mild	0	2.5	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
15	12/F	IgA N	mild	0	14	+	-	-	-	+	-	+	+	-	+
16	15/M	IgA N	mild	0	26	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-
17	11/M	IgA N	mild	7	0	+	seg	-	-	-	-	+	-	-	-
18	13/F	IgA N	mild	25	0	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-
19	12/M	IgA N	mod	7	3.5	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
20	15/F	IgA N	mod	20	0	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-
21	10/M	IgA N	mild	0	0	++	-	-	-	-	-	+	-	-	-
22	14/F	IgA N	mild	6	0	++	-	-	-	-	-	+	-	-	-
23	14/M	IgA N	mild	20	0	++	seg	-	-	-	-	+	-	-	-
24	10/F	IgA N	mod	0	0	++	-	+	-	-	-	+	+	-	-
25	6/F	IgA N	mod	15	2	++	seg	+	-	-	-	+	+	+	+
26	8/F	IgA N	mod	20	9	++	-	+	-	-	-	+	+	+	-
27	10/M	IgA N	none	0	0	glo	scle	-	-	-	-	+	-	-	-
28	10/M	IgA N	mild	0	0	glo	scle	-	-	+	-	+	-	-	-
29	13/F	IgA N	mild	0	8	glo	scle	-	-	-	-	+	-	-	-
30	7/M	IgA N	mild	10	18	glo	scle	-	-	+	-	+	+	-	+
31	11/M	IgA N	mild	10	18	glo	scle	-	-	+	-	+	-	-	-
32	12/M	HSPN	none	0	0	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
33	7/M	HSPN	mild	18	0	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
34	13/M	HSPN	mild	0	0	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-
35	6/M	HSPN	mild	0	0	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
36	8/F	HSPN	mild	0	0	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-
37	11/M	HSPN	mild	0	10	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-
38	13/F	HSPN	mod	0	4	+	seg	-	-	+	+	+	+	-	-
39	18/F	HSPN	mod	0	15	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-
40	8/M	HSPN	mod	0	38	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+
41	10/M	HSPN	mild	11	0	+	seg	-	-	-	-	+	-	-	-
42	7/F	HSPN	mild	3	3	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+
43	5/F	HSPN	mod	4.6	0	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+
44	5/M	HSPN	mod	10	0	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
45	12/M	HSPN	mod	12	0	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+
46	11/M	HSPN	mod	50	0	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-
47	10/F	HSPN	none	0	0	++	-	-	-	-	+	+	-	-	-
48	14/F	HSPN	mod	0	0	++	-	-	-	-	-	+	-	-	-

49	10/F	HSPN	mod	0	0	++	-	-	-	-	-	+	-	-	-
50	8/F	HSPN	mild	10	1	++	-	+	-	-	-	+	+	+	-
51	12/M	HSPN	mod	4	38	++	-	-	-	-	-	+	-	-	-
52	6/M	HSPN	severe	55	59	++	seg	+	-	-	-	+	+	+	+
53	8/F	HSPN	mild	3.7	0	glo	scl	-	-	-	-	+	+	-	+

Diag. : Diagnosis, L. M. findings : Light microscopic findings, Mes Pro : Mesangial proliferation, Cres : Crescent, Scler : Sclerosis, Mes Inter : Mesangial interposition, Adhe : Adhesion, Bowman's cap : Bowman's capsule, EDD : electron-dense deposit, mes : mesangial, sub-end : sub-endothelial, intramem : intramembranous, sub-epi : sub-epithelial, IgA N : IgA nephropathy, mod : moderate, glo scler : global sclerosis, seg : segmental sclerosis.

例(Cases 34, 36~39, 42, 及び46)で認められ, ボウマン囊の断裂は6例(Cases 34, 36, 38, 42, 46, 及び47)で観察された(Table 1).

3) 免疫電顕による細胞外基質成分の局在 : IgA 腎症では, Type I コラーゲンは31例中27例に糸球体内沈着を認め, このうち21例(Cases 1, 3, 9, 10~19, 21~23, 25~28, 及び31)ではメサンギウム基質に+~++, 21例(Cases 7~9, 11, 12, 14~26, 28, 29, 及び31)ではメサンギウム領域のEDD内に+~++の沈着が観察された(Plate 2). Type III コラーゲンの沈着は15例(Cases 3, 10~17, 21~25, 及び31)に認められた. このうち11例(Cases 10~12, 14, 15, 17, 21, 23~25, 及び31)でメサンギウム基質に+, 6例(Cases 11, 13, 15, 16, 22, 及び23)でメサンギウム領域のEDD内に+の沈着を認めたほか, Case 20ではGBMが癒着したボウマン囊上に観察された繊維状構造物に存在した. Type IV コラーゲンは全例で正常腎同様メサンギウム基質およびGBMの内皮側中心に存在していたが, 23例(Cases 3, 4, 8, 9, 11~19, 21, 及び23~31)で正常腎に比べて沈着度が増強していた(Plate 3). Type V コラーゲンは正常腎同様にGBM上皮細胞に+程度認めたほか, 11例(Cases 9, 12~16, 18, 19, 24, 29, 及び31)でメサンギウム領域のEDDに一致して+~++の沈着を認めた. Type VI コラーゲンは6例(Cases 7, 13, 15, 21, 30, 及び31)でやはりメサンギウム領域のEDD内に+の沈着を認めた. ラミニンは正常腎に比べCase 14で沈着度の増強を, 2例(Cases 23, 及び28)で減弱を認めた以外は正常腎類似の沈着態度を示していた. フィブロネクチンは全例に検出され, 7例(Cases 1, 4~6, 9, 20, 及び28)では正常腎類似のメサンギウム基質に局限した沈着を示したが, 他の24例中15例(Cases 8, 11~13, 15, 16, 18, 19, 21, 22, 24~26, 30, 及び31)ではメサンギウム基質上の沈着度が++と増強し, 23例(Cases 2, 3, 7, 8, 10~16, 18, 19, 21~27, 及び29~31)ではGBM内皮側への出現が+~++に観察された(Plate 4 a). うちCases 24~26ではmesangial interpositionにより二重化した

GBMの内皮側に優位な沈着が観察された(Plate 4 b). また5例(Cases 5, 16, 17, 23, 及び26)ではEDD内に+~++の沈着を認めた(Plate 4 c). ビトロネクチンは全例でEDDに一致して+~++に沈着しており(Plate 5), 9例(Cases 3, 10, 12, 14, 15, 18, 21, 23, 及び25)でメサンギウム基質に+, 14例(Cases 1, 3, 12, 14~16, 18, 19, 21~25, 及び31)では内皮側に優位なGBMへの沈着を+に認めた.

HSPNではType I コラーゲンは22例中19例に糸球体内沈着を認め, うち16例(Cases 32, 34~36, 38~41, 43~49, 及び52)でメサンギウム基質に+~++, 11例(Cases 36~39, 45, 及び47~52)でメサンギウム領域のEDD内に+の沈着が観察された. Type III コラーゲンの沈着は11例に認め, このうち4例(Cases 34, 46, 47, 及び49)でメサンギウム基質に+, 9例(Cases 37, 41, 45, 46, 及び48~52)でメサンギウム領域のEDD内に+程度の沈着を認めた(Plate 6)ほか, Case 39の癒着部における繊維状構造物に一致して存在した. Type IV コラーゲンは全例で正常腎同様にメサンギウム基質とGBMの内皮側優位に存在したが, その沈着度が正常腎に比べ増強していたものが18例(Cases 33~36, 38~40, 42~44, 及び46~53)あった. Type V コラーゲンはGBM上皮細胞足突起に正常腎同様に存在したほか, 7例(Cases 39, 及び45~50)でメサンギウム領域のEDD内に+の沈着を認めた. Type VI コラーゲンは8例(Cases 39, 45, 46, 及び48~52)でメサンギウム領域のEDDに+程度沈着していた(Plate 7). ラミニンはCase 53で正常腎に比べて沈着度の減弱を認めた以外は正常腎類似の沈着態度であった. フィブロネクチンは全例正常腎とは異なる沈着態度を呈した. 即ち, 22例中メサンギウム基質における沈着度が++~+++に増強したものが19例(Cases 32, 及び35~52)あり, Case 39を除く21例でGBM内皮側の沈着を+~++に認めた. IgA腎症と異なりEDD内に沈着を認めた症例はなかった. ビトロネクチンはIgA腎症同様全例のEDDに+~++の沈着を認め, 加えて9例(Cases 39, 40, 43~46, 49, 50, 及び52)でメサンギ

Table 2. Immunoelectron microscopic findings in 5 normal adults and 53 patients with IgA nephropathy and purpura nephritis

Case No.	Diag.	Mes Pro	I		III		IV		V		VI		Lam		FN		VN	
			MM	EDD	MM	EDD	MM	GBM	EDD	EDD	GBM	MM	GBM	EDD	MM	GBM	EDD	
N1	normal	-	-	n	-	n	++	+	n	n	+	+	-	n	-	-	n	
N2	normal	-	-	n	-	n	++	+	n	n	+	+	-	n	-	-	n	
N3	normal	-	-	n	-	n	++	+	n	n	+	+	-	n	-	-	n	
N4	normal	-	-	n	-	n	++	+	n	n	+	+	-	n	-	-	n	
N5	normal	-	-	n	-	n	++	+	n	n	+	+	-	n	-	-	n	
1	IbA N	-	+	-	-	-	++	+	-	-	+	+	-	-	-	+	+	
2	IgA N	-	-	-	-	-	++	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+	
3	IgA N	-	+	-	-	-	++	++	-	-	+	+	-/+	-	+	-/+	++	
4	IgA N	-	-	-	-	-	++	++	-	-	+	+	-	-	-	-	++	
5	IgA N	-	-	-	-	-	++	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+	
6	IgA N	-	-	-	-	-	++	+	-	-	+	+	-	-	-	-	++	
7	IgA N	+	-	+	-	-	++	+	-	+/-	+	+	+	-	-	-	+	
8	IgA N	+	-	++	-	-	+++	++	-	-	+	++	+	-	-	-	++	
9	IgA N	+	+	+	-	-	+++	++	+	-	+	+	-	-	-	-	++	
10	IgA N	+	+	-	+	-	++	+	-	-	+	+	+/-	-	+	-	+	
11	IgA N	+	+	+	+	+	+++	++	-	-	+	++	+	-	+	+	++	
12	IgA N	+	+	+	+	-	++	++	+/-	-	+	++	+	-	+	+	++	
13	IgA N	+	+	-	-	-/+	+++	++	+	-/+	+	++	+	-	-	-	++/-	
14	IgA N	+	+	+	+	-	+++	++	+	-	++	+	+	-	+	+	++	
15	IgA N	+	+	++	+	+	+++	++	+/-	+	+	++	+	-	+	+	++	
16	IgA N	+	+	+	-	+	+++	++	++	-	+	++	+	++	-	+	++/-	
17	IgA N	+	+	+	-	+	+++	++	++	-	+	+++	+	++	-	+	++/-	
18	IgA N	+	+	+	+	-	+++	++	-	-	+	+	-	+	-	-	++	
19	IgA N	+	+	+	-	-	+++	++	+	-	+	++	+	-	-	-/+	++	
20	IgA N	+	-	+	-	-	++	+	-	-	+	+	-	-	-	-	++	
21	IgA N	++	+	+	+	-	++	++	-	+	+	++	+	-	+	+	++	
22	IgA N	++	+	+	-	+	++	+	-	-	+	++	+	-	-	-/+	++	
23	IgA N	++	+	+	+	+	+++	++	-	-	+/-	+	+	+	+	+	++	
24	IgA N	++	-	+	+	-	+++	++	+	-	+	++	++	-	-	+	++	
25	IgA N	++	+	+	+	-	+++	++	-	-	+	++	+	-	+	+/-	++	
26	IgA N	++	+	+	-	-	+++	++	-	-	+	+++	++	+	-	-	+/-	
27	IgA N	glo scle	+	-	-	-	+++	++	-	-	+	+	+	-	-	-	+	
28	IgA N	glo scle	+	++	-	-	+++	++	-	-	-/+	+	-	-	-	-	+	
29	IgA N	glo scle	-	+	-	-	++	++	+	-	+	+	+/-	-	-	-	++	
30	IgA N	glo scle	-	-	-	-	+++	++	-	+	+	++	+	-	-	-	+	
31	IgA N	glo scle	++	+	+	-	+++	++	+	+	+	++	+	-	-	+	++	
32	HSPN	-	+	-	-	-	++	+	-	-	+	++	+	-	-	+	++	
33	HSPN	-	-	-	-	-	++	++	-	-	+	+	+	-	-	-	+	
35	HSPN	+	+	-	+	-	++	++	-	-	+	+	+	-	-	+	+	
36	HSPN	+	+	+	-	-	+++	++	-	-	++	-	+	-	-	-/+	++/-	
37	HSPN	+	-	+	-	+	++	+	-	-	+	++	+	-	-	-	+/-	
38	HSPN	+	+	+	-	-	++	++	-	-	+	++	+	-	-	+	+	
39	HSPN	+	+	+	-	-	+++	++	-/+	-/+	+	++	-	-	+	+	++	
40	HSPN	+	+	-	-	-	+++	++	-	-	+	++	+	-	-	+	+	
41	HSPN	+	+	-	-	+	++	+	-	-	+	++	+	-	-	-	+/-	
42	HSPN	+	-	-	-	-	+++	++	-	-	+	++	+	-	-	-	+/-	
43	HSPN	+	+	-	-	-	+++	++	-	-	+	+++	++	-	+	-/+	++	
44	HSPN	+	+	-	-	-	++	++	-	-	+	++	+	-	+	+/-	-/+	
45	HSPN	+	+	+	-	+	++	+	+	+	+	++	+	-	+	+	+	
46	HSPN	+	+	-	+	+	+++	++	+	+	+	++	+	-	+	-	++	
47	HSPN	++	++	+	+	-	+++	++	+	-	+	++	+	-	-	-	++	
48	HSPN	++	+	+	-	+/-	+++	++	+	+/-	+	++	+	-	-	-	+	
49	HSPN	++	+	+	+	+	+++	++	+	+	+	+	+	-	+/-	+/-	+	
50	HSPN	++	-	+	-	+	+++	++	+/-	+	+	++	+	-	+	+	++/-	

51	HSPN	++	-	+	-	+	+++	++	-	+/-	+	++	+	-	-	-	+
52	HSPN	++	+	+	-	+/-	+++	++	-	-/+	+	+++	++	-	+	+	+
53	HSPN	glo scler	n	-	n	-	n	+/+	-	-	+/-	n	++	-	n	-	+/-

Diag.: Diagnosis, Mes Pro: Mesangial proliferation, I: Type I collagen, III: Type III collagen, IV: Type IV collagen, V: Type V collagen, VI: Type VI collagen, Lam: Laminin, FN: Fibronectin, VN: Vitronectin, MM: Mesangial matrix, GBM: Glomerular basement membrane, EDD: electron-dense deposit, IgA N: IgA nephropathy, glo scler: global sclerosis,

n: The lesion was not observed. +/-, -/+ : Positive staining was found partially.

ウム基質に+, 11例(Cases 34, 36, 38~40, 43~45, 49, 50, 及び52)ではGBMの内皮側中心の沈着を+に認めた(Table 2).

3. IgA腎症ならびにHSPNにおける糸球体微細病変と免疫電顕所見との対比

1) メサンギウム増殖: 両疾患ともにメサンギウム増殖が強くなるに従い, メサンギウム基質にType I, IIIコラーゲン, ビトロネクチンが検出される症例が増え, Type IVコラーゲン, フィブロネクチンの沈着が強くなる傾向にあった。また, GBMではメサンギウム増殖が強くなるにつれフィブロネクチン, ビトロネクチンの陽性例が増え, Type IVコラーゲンの沈着も増強する傾向にあった。ラミニンの沈着態度はメサンギウム増殖とは関連せずほぼ正常腎レベルであった。EDDではメサンギウム増殖が強くなるに従いType I, III, V, VIコラーゲンの陽性例が増える傾向にあった。

2) 糸球体硬化: IgA腎症, HSPNともにglobal sclerosisを呈していた糸球体(Cases 27~31, 及び53)では残存するメサンギウム基質からGBMにかけてType IVコラーゲンの強い沈着(Plate 8 a)とGBMにラミニンの沈着(Plate 8 b), ならびにEDD内にビトロネクチンの沈着を認めた。他の成分ではメサンギウム基質にType Iコラーゲン, およびGBMにフィブロネクチンの沈着が比較的高頻度に認められた以外, 沈着強度や陽性率が硬化のみられない腎炎糸球体に比較して減弱する傾向にあった。この傾向はCases 17, 23, 25, 38, 41, 及び52のsegmental sclerosisの部位においても観察された。

3) 半月体: 基底膜様物質に一致してType IVコラーゲン, ラミニンの沈着が認められ, Type I, IIIコラーゲンも弱いながら認めた。また, 繊維状構造物は形態的にポウマン囊の外に位置するものと近似し, Type I, IIIコラーゲンが陽性であった。

細胞外基質各成分の免疫電顕による検出頻度はFig. 1に示す如くである。正常腎に認められるType IVコラーゲン, ラミニン, メサンギウム基質のフィブロネクチンについては, 正常レベルを越える沈着を認めた症例の

割合を算出して示した。

尚, 各因子に対する抗血清のかわりに正常家兎血清を用いたコントロール染色ではいずれの切片にも有意な金コロイド粒子の沈着をみなかった。

考 察

細胞外基質とはコラーゲン, 非コラーゲン性糖蛋白, ならびにプロテオグリカンより構成される複合体で, 細胞周囲にあって細胞の分化や増殖, 細胞相互の接着, 組織の構築などに関与するとされている¹⁾。コラーゲンは全身の結合組織の主要蛋白で3本のポリペプチド鎖からなるヘリックス部分を特徴とし, 各鎖の構造の違いによりType I~VIIに分類されている²⁾。そのうちType Iコラーゲンは皮膚, 骨や腱にコラーゲン中最も多量に存在し, Type IIIコラーゲンは血管や胎児皮膚, Type Vコラーゲンは胎盤, Type VIコラーゲンは胎盤や血管に多く, Type IVコラーゲンは全身の基底膜に分布することが知られている³⁾。非コラーゲン性糖蛋白として, フィブロネクチンは分子量約450 KDaで2本のサブユニットから成り, 血漿中および全身の間質組織に広く分布することから細胞外基質の主成分として重要視されている⁴⁾。ラミニンは分子量約850 KDaで3本のサブユニットから成る十字架構造を有し, Type IVコラーゲン同様基底膜の構成成分として知られる⁵⁾。ビトロネクチンは血漿中で発見された糖蛋白で, 肝脾等の結合組織に存在する⁶⁾。

著者の正常腎糸球体に対する検討ではType I, IIIコラーゲンは検出されず, ポウマン囊外側に両コラーゲンより成る繊維を認めた。Yoshioka et al.¹²⁾は蛍光抗体法を用いた検討で正常腎では両コラーゲンは間質に存在すると報告しており, 著者の結果に一致した。Type VコラーゲンはGBM上皮細胞足突起に弱いながら沈着を認めた。Creely et al.¹³⁾は腎上皮細胞を培養するとType Vコラーゲンを産出したと述べており, 著者の観察結果とあわせ, 正常腎上皮細胞によるType Vコラーゲン産生が示唆される。Type IVコラーゲンとラミニンは全例で存在を認めたが, その糸球体内分布様式は異なった。Type IVコラーゲンがメサンギウム基質に最も多く存在し

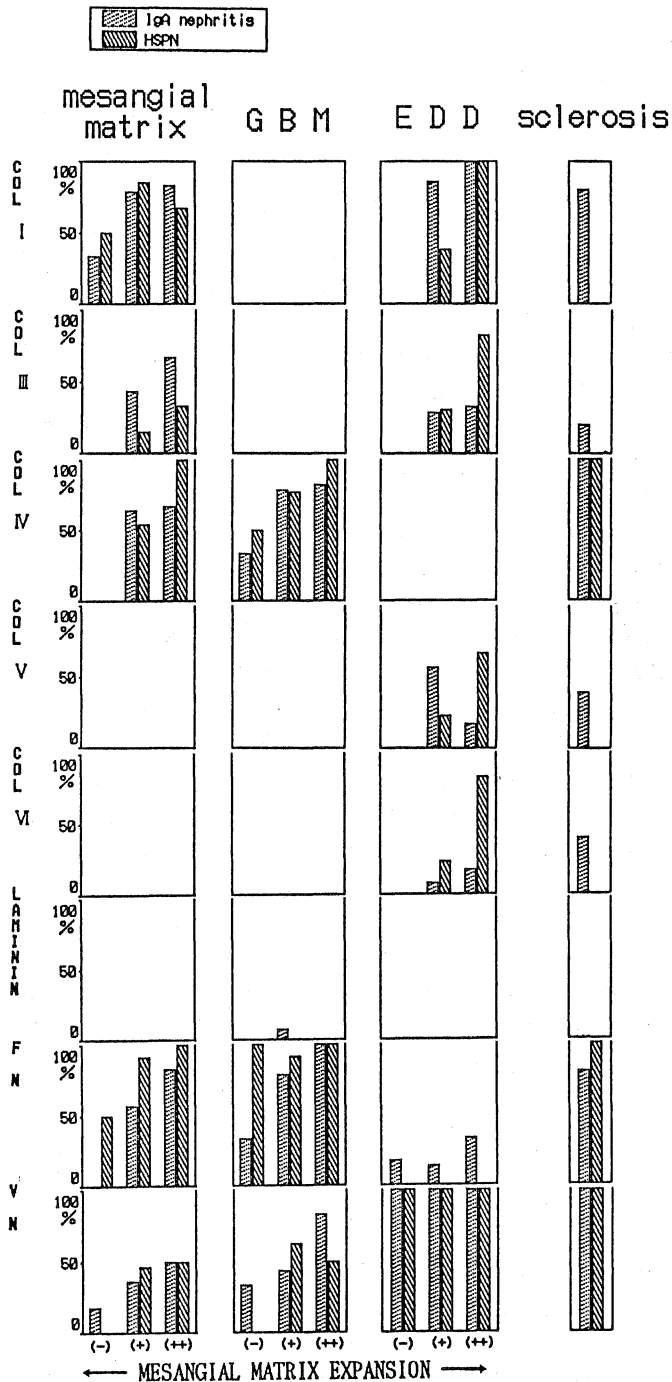


Fig. 1. Summary of the deposition patterns of extracellular matrix components in relation to the grade of mesangial expansion and sclerotic change. The positive cases for each component are expressed as percentages. Mesangial matrix expansion grade determined by electron microscopic observation is represented as (-), (+) and (++).

GBM: glomerular basement membrane, EDD: electron-dense deposit, col: collagen, FN: fibronectin, VN: vitronectin

GBM では内皮側中心に観察されたのに対し、ラミニンはメサンギウム基質にはほとんど検出されずGBMの全層にわたって存在した。従って、糸球体ではType IVコラーゲンは基底膜に加えメサンギウム基質を構成しているのに対し、ラミニンはGBMの構成成分であると解された。フィブロネクチンはメサンギウム基質に局限して存在し、なかでも傍毛細血管部に金粒子の強い集積を認めたのが特徴的であった。Foidart & Foidart¹⁴⁾とSterzel et al.¹⁵⁾はin vitroでメサンギウム細胞がType I, IIIコラーゲンやフィブロネクチンを産生したと報告していることから、正常糸球体に認められるフィブロネクチンはメサンギウム細胞由来と考えられる。Type VIコラーゲンとビトロネクチンは検出されなかったことより正常糸球体の構成成分ではないことが示唆された。

IgA腎症とHSPN症例に対する検討ではType I, IIIコラーゲンのメサンギウム基質への沈着を認め、加えてメサンギウム領域のEDDに一致した沈着を初めて確認し得た。間質型コラーゲンの糸球体内への出現に関してStriker et al.¹⁶⁾は蛍光抗体法を用いた検討からGBMのポウマン囊への癒着によりポウマン囊の断裂が生じると間質由来のコラーゲンが癒着部位に認められるようになると述べている。著者の観察ではType I, IIIコラーゲンの主たる沈着部位はメサンギウム基質とメサンギウム領域のEDDであり、ポウマン囊に全く癒着や断裂がみられない糸球体にも沈着が観察されたことから、メサンギウム領域に存在するType I, IIIコラーゲンは必ずしも間質に由来しないのではないかと思われた。培養メサンギウム細胞がType I, IIIコラーゲンを産生するという成績¹⁴⁾¹⁵⁾や、Floege et al.¹⁷⁾がラットに抗胸腺細胞抗体を投与して作製した腎炎でType Iコラーゲンのm-RNAが現われてくると報告していることから、腎炎病態下ではメサンギウム細胞の細胞外基質産生能に変化が起り、Type I, IIIコラーゲンを分泌している可能性も考えられる。Type IVコラーゲンはメサンギウム基質の増殖が比較的軽い症例では正常腎と変わらない沈着を示したが、多数の症例でメサンギウム基質とGBMにおいて沈着が増強していた。Woodrow et al.¹⁸⁾は免疫電顕を用いて正常腎とIgA腎症のType IVコラーゲンの糸球体内沈着を観察して変化を認めなかったと報告しているが、その沈着部位は著者の結果と類似しており、沈着強度に対する評価の相違は観察例数の差に起因するのではないかと思われる。Type V, VIコラーゲンはメサンギウム領域のEDD内に局限して沈着が観察された。これらのコラーゲンがEDDに沈着することを電顕的に証明した報告は現在までみられず本研究が初めてであり、その

機序についてはIgAを中心とする免疫複合体の沈着に伴って沈着した可能性があるが今後の検討を要する。ラミニンはその沈着強度が硬化部位で減弱していた以外は変化がみられず、両疾患の糸球体病変に関与している可能性は乏しいと考えられる。フィブロネクチンはメサンギウム基質における沈着度の増強、GBM内皮側への出現、ならびにIgA腎症の一部の症例でEDD内に沈着するという多彩な沈着態度を呈していた。メサンギウム基質に増加をみたフィブロネクチンについては正常腎同様メサンギウム細胞由来と考えられる。GBMに認められたフィブロネクチンは沈着が内皮側優位に観察されたことから、腎炎病態下における内皮細胞による産生や血漿フィブロネクチンの沈着がその由来と想定される。また、IgA腎症31例中5例のEDD内にフィブロネクチンの沈着を認めた。IgA腎症に対するWoodrow et al.¹⁸⁾や浦江¹⁹⁾による免疫電顕的検討では、EDDにはフィブロネクチンの存在を認めておらず、著者の観察例が最初である。このような沈着が生ずる機序は現在のところ不明であるが、Cederholm et al.²⁰⁾は小児のIgA腎症およびHSPN患者の血中にはフィブロネクチンとcomplexを形成しているIgA, IgG, ならびにIgMが存在すると述べており、このcomplexが糸球体に沈着している可能性もある。ビトロネクチンはフィブロネクチン同様、メサンギウム基質、GBM内皮側、ならびにEDDに一致した沈着を認めた。このうちメサンギウム基質とGBM内皮側への出現についてはフィブロネクチン類似の機序が想定されるが、EDDについては検討症例全例で沈着が観察され、フィブロネクチンを含めた他の成分とは大きく分布を異にしたところから、独自の沈着機序があるものと考えられる。IgA腎症やHSPNでは従来よりC3を中心とする補体成分の沈着が観察²¹⁾²²⁾され、これら疾患の発症や進展に補体系が関与することはよく知られている。Podak et al.²³⁾はビトロネクチンが補体C5b-7 complexに結合してその細胞障害作用を阻害することを見出し、またTomino et al.²⁴⁾はIgA腎症においてビトロネクチンとC9の沈着がよく一致すると報告していることから、ビトロネクチンのEDD内沈着は両疾患のEDD内における補体系、特にterminal componentsの活性化を示唆するものと思われる。

IgA腎症、HSPNを通じてメサンギウム基質の増殖が強い症例ほどメサンギウム基質上のType I, III, IVコラーゲン、フィブロネクチン、ビトロネクチンの沈着強度や陽性率が高くなる傾向があったことは、これらの成分がメサンギウム増殖に関与していることを強く示唆するとともに、糸球体細胞の産生能亢進を反映する所見とも

思われる。近年、TGF- β がメサンギウム細胞による細胞外基質の産生を促進するという報告²⁵⁾がなされ、腎疾患における細胞外基質の存在様式が各種サイトカインにより調節されている可能性が予想されており、更なる検討が待たれる。一方、ラミニンの沈着に変化がなかったことやType V, VIコラーゲンがEDD内に局限して存在したことから、これら成分の増殖性変化に対する寄与は少ないものと思われる。

硬化に陥った糸球体では糸球体本来の構成成分であるType IVコラーゲンの強い沈着と正常レベルかやや減弱するもののラミニンの存在、およびEDDにビトロネクチンの沈着が認められたが他の成分の沈着は硬化のない腎炎糸球体と比較して減弱する傾向を認めた。硬化糸球体ではメサンギウム基質がEDDを残して失われるためメサンギウム基質に沈着していた成分が検出されなくなると考えられ、また細胞成分も変性消失することから糸球体細胞からの細胞外基質供給が低下しその染色性が減衰していくものと推測された。

半月体では基底膜様物質に一致してType IVコラーゲンとラミニン、および沈着度をやや減じるもののType I, IIIコラーゲン、フィブロネクチンが存在し、その間隙にType I, IIIコラーゲンより成る繊維が認められた。症例が少ないこともあり、これらの成分の由来、意義については明かになし得ないが、半月体は糸球体上皮細胞、ポウマン囊上皮細胞、単核球等から構成されており²⁶⁾、半月体に認められる細胞外基質成分はそれら上皮細胞の産生によるものとも考えられる。

以上、免疫電顕を用いて正常腎と小児IgA腎症ならびにHSPN症例における細胞外基質の糸球体内局在を観察した結果、両疾患ではType IVコラーゲンとフィブロネクチンの増加を中心にType I, IIIコラーゲン、ビトロネクチンも加わってメサンギウム基質の増殖が進行し、一方、GBMではType IVコラーゲンの増加とフィブロネクチンおよびビトロネクチンの沈着が起り、総じて糸球体硬化に陥ったのちには各成分が消失していくがType IVコラーゲンとラミニン、およびEDD内成分は比較的遅くまで残存するという一連の過程が示唆された。

結 語

小児のIgA腎症31例と紫斑病性腎炎22例、および成人より得た正常腎組織5例について細胞外基質成分であるType I, III, IV, V, VIコラーゲン、ラミニン、フィブロネクチン、ビトロネクチンの糸球体内局在をプロテインA-金コロイド法を用いた免疫電顕にて観察した。

1. 正常腎糸球体では、メサンギウム基質に一致して

Type IVコラーゲン、フィブロネクチンの存在を認め、GBMでは全層に亘ってラミニン、内皮側にType IVコラーゲン、上皮細胞足突起にType Vコラーゲンが存在した。Type I, III, VIコラーゲン、およびビトロネクチンは正常腎糸球体には検出されなかった。

2. IgA腎症ならびにHSPN症例の糸球体ではメサンギウム基質、GBM、およびEDD内における細胞外基質成分の沈着強度の変化や新たな出現が観察された。

3. IgA腎症ならびにHSPNにおけるメサンギウム基質の増殖にType I, III, IVコラーゲン、フィブロネクチン、ビトロネクチンの関与が強く示唆された。

4. IgA腎症とHSPNにおけるEDDの形成にはType V, VIコラーゲン、ビトロネクチンの関与も示唆された。

5. IgA腎症とHSPNの硬化糸球体においては非硬化糸球体に比べて細胞外基質成分の沈着度が減少する傾向にあった。

6. IgA腎症とHSPNの比較では、フィブロネクチンのEDD内沈着をIgA腎症で認めたが、HSPNでは認めなかったことを除くと、細胞外基質各成分の沈着に著しい差異はなかった。

稿を終えるにあたり、本研究の機会と御指導、御校閲を賜った廣田忠臣教授、伊藤信彰助教授に感謝致します。

また、御指導、御校閲を賜った小児科学教室福井 弘教授に感謝致しますとともに、種々御指導、御助言を頂きました小児科学教室上辻秀和先生、中島 充先生に心より御礼申し上げます。また正常腎組織採取に御協力を頂いた奈良県立医科大学泌尿器科学教室の諸先生に深謝致します。尚、本論文の要旨は第35回日本腎臓学会総会(平成4年12月、横浜)において発表した。

文 献

- 1) Border, W. A., Okuda, S. and Nakamura, T. : Extracellular matrix and glomerular disease. *Semin. Nephrol.* 9 : 307-317, 1989.
- 2) Klahr, S., Schreiner, G. and Ichikawa, I. : The progression of renal disease. *New Engl. J. Med.* 318 : 1657-1666, 1988.
- 3) Mclean, I. and Nakane, P. K. : Periodate-lysine-paraformaldehyde fixative. *J. Histochem. Cytochem.* 22 : 1077-1083, 1974.
- 4) Slot, J. W. and Geuze, H. J. : A new method of preparing gold probes for multiple-labeling cytochemistry. *Eur. J. Cell Biol.* 38 : 87-93, 1985.

- 5) **Tanaka, H., Haga, S., Takatsuki, K. and Yamaguchi, K.** : Localization of adult T-cell leukemia-associated antigen by the immunocolloidal gold method. *Cancer Res.* **44** : 3493-3504, 1984.
- 6) **Nakajima, M., Hirota, T., Kusumoto, K., Taira, K. and Kamitsuji, H.** : Immunoelectron microscopic study of glomerular lesions using a post-embedding method with a protein A-gold complex. *Nephron* **46** : 182-187, 1987.
- 7) **Counahan, R., Winterborn, M. H., Heaton, J. M., Meadow, S. R., Bluett, N. H., Swetschin, H., Cameron, J. S. and Chantler, C.** : Prognosis of Henoch-Schönlein nephritis in children. *Br. Med. J.* **2** : 11-14, 1977.
- 8) **Burgeson, R. E.** : New collagens, new concepts. *Ann. Rev. Cell Biol.* **4** : 551-577, 1988.
- 9) 畑隆一郎 : コラーゲン—その代謝と機能. 蛋白質核酸 酵素 **31** : 29-52, 1986.
- 10) **Mosher, D. F.** : Physiology of fibronectin. *Ann. Rev. Med.* **35** : 561-575, 1984.
- 11) **Reilly, J. T. and Nash, J. R.** : Vitronectin (serum spreading factor) : its localization in normal and fibrotic tissue. *J. Clin. Pathol.* **41** : 1269-1272, 1988.
- 12) **Yoshioka, K., Tohda, M., Takemura, T., Akano, N., Matsubara, K., Ooshima, A. and Maki, S.** : Distribution of type I collagen in human kidney diseases in comparison with type III collagen. *J. Pathol.* **162** : 141-148, 1990.
- 13) **Creely, J. J., Commers, A. A. and Haralson, M. A.** : Synthesis of type III collagen by cultured kidney epithelial cells. *Connect. Tissue Res.* **18** : 107-122, 1988.
- 14) **Foidart, J. M. and Foidart, J. B. and Mahieu, P. R.** : Synthesis of collagen and fibronectin by glomerular cells in culture. *Renal. Physiol.* **3** : 183-192, 1980.
- 15) **Sterzel, R. B., Lovett, D. H., Foellmer, H. G., Perfett, M., Biemesderfer, D. and Kashgarian, M.** : Mesangial cell hillocks. Nodular foci exaggerated growth of cells and matrix in prolonged culture. *Am. J. Pathol.* **125** : 130-140, 1986.
- 16) **Striker, L. M-M., Killen, P. D., Chi, E. and Striker, G. E.** : The composition of glomerulosclerosis. I. Studies in focal sclerosis, crescentic glomerulonephritis, and membranoproliferative glomerulonephritis. *Lab. Invest.* **51** : 181-192, 1984.
- 17) **Floege, J., Johnson, R. J., Gordon, K., Iida, H., Pritzl, P., Yoshimura, A., Campbell, C., Alpers, C. E. and Couser, W. G.** : Increased synthesis of extracellular matrix in mesangial proliferative nephritis. *Kidney Int.* **40** : 477-488, 1991.
- 18) **Woodrow, D. F., Shore, I., Moss, J., Gower, P. and Phillips, M.** : Immunoelectron microscopic studies of immune complex deposits and basement membrane components in IgA nephropathy. *J. Pathol.* **157** : 47-57, 1989.
- 19) 浦江美由紀 : IgA 腎症の糸球体内 Fibronectin の分布様式—臨床像, 予後との関係について. 日腎誌. **27** : 389-399, 1990.
- 20) **Cederholm, B., Linne, T., Wieslander, J., Bygren, P. and Heinegard, D.** : Fibronectin-immunoglobulin complexes in the early course of IgA and Henoch-Schönlein nephritis. *Pediatr. Nephrol.* **5** : 200-204, 1991.
- 21) **McCoy, R. C., Abramowsky, C. R. and Tisher, C. C.** : IgA nephropathy. *Am. J. Pathol.* **76** : 123-144, 1974.
- 22) **Evans, D. J., Williams, D. G., Peters, D. K., Sissons, J. G. P., Boulton-Jones, J. M. Ogg, C. S., Cameron, J. S. and Hoffbrand, B. I.** : Glomerular deposition of properdin in Henoch-Schönlein syndrome and idiopathic focal nephritis. *Br. Med. J.* **3** : 326-328, 1973.
- 23) **Podak, E. R., Preissner, K. T. and Muller-Eberhard, H. J.** : Inhibition of C9 polymerization with the SC5b-9 complex of complement by S-protein. *Acta Path. Microbiol. Immunol. Scand. Sect. C. Suppl.* **284, 92** : 89-96, 1984.
- 24) **Tomino, Y., Yagame, M., Eguchi, K., Nomoto, Y. and Sakai, H.** : Immunofluorescent studies on S-protein in glomeruli from patients with IgA nephropathy. *Am. J. Pathol.* **129** : 402-406, 1987.
- 25) **Border, W. A., Okuda, S., Languino, L. R. and Ruoslahti, E.** : Transforming growth factor- β regulates production of proteoglycans by mesangial cells. *Kidney Int.* **37** : 689-695, 1990.
- 26) **Boucher, A., Drotz, D., Adaffer, E. and Noël,**

L-H.: Relationship between the integrity of crescents in human crescentic glomerulo-
Bowman's capsule and composition of cellular nephritis. Lab. Invest. 56 : 526-533, 1987.

Explanation for plates

- Plate 1. Electron micrographs of glomeruli from normal adults stained for extracellular matrix components. (a) The labeling by gold particles of type IV collagen is located both in mesangial matrix (MM) and the inner aspect of glomerular basement membrane (GBM)(arrows). (b) Laminin is located throughout GBM (arrows). (c) Fibronectin is restricted to MM (arrows). MM : mesangial matrix, CL : capillary lumen, US : urinary space, Bar= $1\mu\text{m}$
- Plate 2. Electron micrograph of mesangial area of a glomerulus from a child with IgA nephropathy (Case15) stained for type I collagen. Positive labeling by gold particles is observed both in MM and electron-dense deposit (EDD)s.
MM : mesangial matrix, US : urinary space, Bar= $1\mu\text{m}$
- Plate 3. Electron micrograph of a glomerulus from a child with IgA nephropathy (Case9) stained for type IV collagen. Intense labeling by gold particles is observed in enlarged MM, and several gold particles are seen along GBM.
MM : mesangial matrix, CL : capillary lumen, US : urinary space, Bar= $1\mu\text{m}$
- Plate 4. Electron micrographs of glomeruli from children with IgA nephropathy stained for fibronectin. (a) Increase in labeling intensity is observed in MM, and some gold particles are seen along GBM (arrows) (Case8). (b) The labeling by gold particles is located in mesangial interposition, predominantly on the subendothelial side of duplicated GBM (Case24). (c) Intense labeling is found in mesangial EDD (Case 16).
MM : mesangial matrix, CL : capillary lumen, US : urinary space, EDD : electron-dense deposit, Bar= $1\mu\text{m}$
- Plate 5. Electron micrograph of mesangial area of a glomerulus from a child with IgA nephropathy (Case8) stained for vitronectin. Intense labeling by gold particles is observed in mesangial EDDs (arrows).
CL : capillary lumen, Bar= $1\mu\text{m}$
- Plate 6. Electron micrograph of mesangial area of a glomerulus from a child with purpura nephritis (Case46) stained for type III collagen. Several gold particles are observed both in EDDs (arrows) and MM.
MM : mesangial matrix, CL : capillary lumen, US : urinary space, Bar= $1\mu\text{m}$
- Plate 7. Electron micrograph of mesangial area of a glomerulus from a child with purpura nephritis (Case45) stained for type VI collagen. Positive labeling is restricted to EDDs(arrows). CL : capillary lumen, US : urinary space, Bar= $1\mu\text{m}$
- Plate 8. Electron micrographs of a sclerotic glomerulus from a child with purpura nephritis (Case53). Along the glomerular basement membrane, (a)several gold particles stained for type IV collagen and (b) some gold particles for laminin are observed.
CL : capillary lumen, US : urinary space, Bar= $1\mu\text{m}$

