

紫斑病性腎炎白血球浸潤過程における $\beta 2$ インテグリンの関与

—— 年齢をマッチした IgA 腎症との比較検討 ——

金 世蘭*, 大高 徹也, 相馬 淳*, 佐藤 寿伸*
佐藤 博*, 伊藤 貞嘉*, 斉藤 喬雄**

東北大学医療技術短期大学部 衛生技術学科

*東北大学医学部 第二内科

**福岡大学医学部 第四内科

The Involvement of $\beta 2$ Integrins in Glomerular Infiltration of Leukocytes in Henoch-Schoenlein Purpura Nephritis : An Age-Matched Comparative Study with IgA Nephropathy

Shi-Lan JIN*, Tetsuya OOTAKA, Jun SOMA*, Toshinobu SATO*,
Hiroshi SATO*, Sadayoshi ITO* and Takao SAITO**

Department of Medical Technology, College of Medical Sciences, Tohoku University

**The Second Department of Internal Medicine, Tohoku University School of Medicine*

***The Fourth Department of Internal Medicine, Fukuoka University School of Medicine*

Key words: Henoch-Schoenlein purpura nephritis, leukocyte infiltration, fibrin/fibrinogen, complements, ICAM-1, LFA-1, CR3

A comparative immunohistological study was performed for the glomerular deposition of complements (C1q and C3c), fibrin/fibrinogen-related antigen (FRA), the expression of ICAM-1 and the infiltration of leukocytes bearing $\beta 2$ integrins (LFA-1, CR3 and CR4) on renal biopsy specimens from 49 cases with Henoch-Schoenlein purpura nephritis (HSPN) and age-matched 49 cases with IgA nephropathy (IgAN).

The glomerular expression of ICAM-1 was significantly correlated with the glomerular infiltration of LFA-1⁺ leukocytes in both diseases and with that of CR3⁺ leukocytes in HSPN. The expression of ICAM-1 was closely localized with the infiltration of LFA-1⁺ leukocytes in the study with double immuno-staining. The incidence and intensity of glomerular deposition of FRA were significantly higher in HSPN than in IgAN ($P < 0.001$), and those of C3c were significantly lower in HSPN than in IgAN ($P < 0.001$). The glomerular deposition of FRA was significantly correlated with the glomerular infiltration of CR4⁺ leukocytes in HSPN ($P < 0.05$) but not in IgAN. In contrast, the glomerular deposition of C3c was significantly correlated with the glomerular infiltration of CR4⁺

leukocytes in IgAN ($P < 0.05$) but not in HSPN. Studies with double immuno-staining revealed close association of CR4⁺ leukocytes with FRA deposition in HSPN and with C3c deposition in IgAN respectively. The number of glomerular leukocytes bearing $\beta 2$ -integrins was significantly correlated with urinary protein at the time of renal biopsy in both diseases.

These results suggested the differential roles of $\beta 2$ integrins in the induction of glomerular injury in HSPN and IgAN. The ICAM-1/LFA-1 interaction may commonly be involved in the glomerular infiltration of leukocytes in both diseases. ICAM-1/CR3 interaction may be involved only in HSPN. CR4 may function as a fibrin/fibrinogen receptor in HSPN while CR4 may function as a complement receptor in IgAN.

はじめに

Henoch-Schoenlein Purpura は全身性疾患であり、皮膚紫斑、関節痛、腹痛などの症状を呈し¹⁾、さらに一部は糸球体腎炎（紫斑病性腎炎）を呈することが知られている^{2)~4)}。紫斑病性腎炎（HSPN）の組織像は微小変化型から瀰慢性増殖性変化まで多様である^{4)~6)}が、種々の点で IgA 腎症（IgAN）と共通する特徴を有する。免疫蛍光では IgAN と同様メサンギウム領域への IgA 沈着および軽度の IgG, IgM の沈着が認められ、その他に補体 C3c 及び fibrinogen のメサンギウム領域への沈着もしばしばみられる^{7)~9)}。今のところ HSPN の発症機序はまだ明らかにされていないが、メサンギウム領域への IgA 等の沈着などより、IgAN と同様 IgA 型免疫複合体による疾患であることが示唆される¹⁰⁾。また IgA 沈着と共に膜侵襲補体の沈着も認められ、HSPN の発症に際し、alternative 経路による補体の活性化が示唆されている¹¹⁾。これら免疫組織学的類似点に加え、IgAN, HSPN 両疾患の循環血液中に抗メサンギウム細胞 IgG 抗体及び IgA-fibrinogen 複合体の存在は知られており、これら両疾患の発症機序に類似点があることが示唆される¹²⁾¹³⁾。

これら両疾患に共通性が多く見られる反面、発症年齢、臨床経過など臨床的所見上の相違点も見られ、免疫組織学的にも糸球体内 fibrinogen の沈着は IgA 腎症に比べ HSPN でより高頻度との報告がされている⁸⁾⁹⁾。

これまでの多くの報告により IgAN, HSPN を含むさまざまな腎疾患の発症に各種免疫担当細胞

の糸球体浸潤が関与することが示されている。これら免疫担当細胞の糸球体内白血球浸潤に各種接着因子、特に ICAM-1 が重要な役割を果たしている可能性については多く報告がされている^{14)~17)}。また ICAM-1 のリガンドである LFA-1 を含む $\beta 2$ インテグリンの関与についても多くの検討がなされており、糸球体腎炎における細胞浸潤に最も重要な役割を果たしていると考えられる。 $\beta 2$ インテグリンは白血球表面に発現される leukocyte function associated antigen-1 (LFA-1, CD11a), 補体受容体である complement receptor 3 (CR3, CD11b), および complement receptor 4 (CR4, CD11c) の 3 種類が知られている。ICAM-1 は免疫グロブリンスーパーファミリーに属し、主に内皮細胞、上皮細胞および白血球表面に発現される。LFA-1 と CR3 は ICAM-1 をリガンドとし、ICAM-1 との相互作用による細胞接着、細胞浸潤に関与するが、CR3 は ICAM-1, C3bi 及び fibrinogen を、また CR4 は C3bi 及び fibrinogen をリガンドとして、これら補体分解産物や fibrinogen との相互作用による細胞の遊走、浸潤に関与しているとされる^{18)~21)}。

我々はこれまで、IgAN においては、白血球の糸球体浸潤に LFA-1/ICAM-1 相互作用が関与していること、また膜性増殖性糸球体腎炎(MPGN)においては、補体/CR3 相互作用が関与していることを報告してきた¹⁶⁾¹⁷⁾。

また IgA 腎症において C3 沈着は fibrinogen 沈着と有意の負の相関を示し、C3 沈着優位の IgAN においては CR4 は C3bi の受容体として機能する可能性を報告した²²⁾。しかしながら、病理組

組織像が類似している HSPN においては、IgAN に比べ糸球体内 M ϕ の浸潤と fibrinogen 沈着はより強い相関を示すとの報告があり、HSPN では糸球体細胞浸潤機序が IgAN のそれと異なる可能性が示唆されるものの、未だ不明な点が多い²³⁾。

今回我々は HSPN の発症に際し、糸球体内白血球浸潤機序を、ICAM-1 および各種 $\beta 2$ インテグリン発現に着目して、免疫組織学的に検討し、IgA 腎症と比較検討した。

対象ならびに方法

1. 対象：1991 年から 1997 年までの間に東北大学第二内科及びその関連病院で腎生検を受け、臨床所見、光学顕微鏡及び免疫染色にて紫斑病性腎炎と診断された 49 例と年齢をマッチさせた若年者 IgA 腎症 49 例を対照に、両疾患における光顕所見及び免疫沈着物 (IgG, IgA, IgM, C1q, C3) の相違について検討した。両群の臨床所見を表 1 に示す。また、正常対照として光顕、免疫組織像にて異常の見られない単独血尿例 7 例を用いた。

血尿の評価は以下に示す基準に従い、(－)から(＋＋＋)の三段階に半定量的に判定した。(－)；尿赤血球数<5 (＋)；尿赤血球数 5-9 (＋＋)；尿赤血球数 10-50 (＋＋＋)；尿赤血球数>50。両疾患で尿蛋白排泄量に有意差を認めたが、他は有意差を認めなかった。

Table 1. Clinical findings of the patients of Henoch-Schoenlein purpura nephritis (HSPN) and IgA nephropathy (IgAN)

	HSPN	IgAN	P values
Age	17.9 \pm 2.3*	17.8 \pm 4.4	NS
Sex (male : female)	31 : 18	28 : 21	NS
UP	1.9 \pm 0.3	0.9 \pm 0.1	$P < 0.01$
URBC	2.0 \pm 0.1	2.0 \pm 0.1	NS
BUN	14.1 \pm 0.7	13.7 \pm 0.4	NS
Cr	0.6 \pm 0.1	0.8 \pm 0.1	NS
IgA	274.4 \pm 18.0	286.6 \pm 11.8	NS

* : mean \pm SEM, NS : not significant

2. 方法：

1) 腎生検標本

腎生検標本は 95% エタノール (4°C, 24 時間) 固定後、パラフィン包埋 (56°C) した。パラフィン包埋標本は 2 μ m で薄切し、光学顕微鏡及び免疫組織学的検討に用いた。

2) 光学顕微鏡的検討

95% エタノール固定、パラフィン包埋切片を用いヘマトキシリン、エオジン (HE) 染色及 periodic acid Schiff (PAS) 染色を行った。各症例につき paramesangial hemispherical deposits (PHDs)、硝子化糸球体の占める割合及び半月体形成を伴う糸球体の占める割合を算定した。

3) 免疫組織学的検討

免疫沈着物については、95% エタノール固定、パラフィン包埋腎組織連続切片について、Ootaka らの方法に従い²⁴⁾、間接酵素抗体法により染色を行った。ラビット抗ヒト IgG, IgA, IgM, フィブリン関連抗原 (FRA) C1q, C3 抗体は Dakopatts より購入した。

各種浸潤細胞、各種インテグリン及び接着因子については、表 2 に示す各種モノクローナル抗体を用いて、Ootaka らの方法に従い²⁵⁾、間接酵素抗体法により染色を行った。

糸球体内浸潤細胞と接着分子及び沈着物の同定は免疫二重染色より検討した。ステップ 1 として、浸潤白血球の検出は免疫染色後 peroxidase の活性化を 0.02% 3,3'-diaminobenzidine (DAB) + 0.07% NiCl₂ (DAB+Ni) を用いて青色発色させ、検出した²⁷⁾。ステップ 2 として、接着分子及び沈着物の検出は免疫染色後 peroxidase の活性化を DAB を用いて褐色に発色させ、検出した。IgAN においては各切片あたり 4 個から 75 個 (平均 20.5 個) の糸球体を観察し、HSPN では 8 個から 80 個 (平均 25.3 個) の糸球体を観察した。

糸球体内各種白血球、各種インテグリン陽性細胞数は、症例毎に、糸球体断面当たりの平均浸潤細胞数を算出した。接着分子 ICAM-1 の染色性の評価は以下に示す基準に従い、(－)から(＋＋＋)の三段階に半定量的に判定し、その平均値を症例毎に算出した：

Table 2. Monoclonal antibodies used for immunocytochemical study

Antigen	CD number	Supplier	clone
T-cell	CD3	Dakopatts	T3-4B5
Granulocyte/monocyte	CD15	Beckton Dickinson	C3D-1
Macrophage	CD68	Dakopatts	EBM11
LFA-1	CD11a	Dakopatts	MHM24
CR3	CD11b	Dakopatts	2LPM19c
CR4	CD11c	Dakopatts	KB90
ICAM-1	CD54	Dakopatts	6.5B5

(-) ; 全く染色されない (+) ; 糸球体ポーマン囊の染色性と同程度である (++) ; ポーマン囊の染色性より軽度の増強 (+++) ; 囊ポーマン囊の染色性より高度の増強。

糸球体免疫沈着物の染色程度は (-) から (++) まで半定量的に判定した。

4) 統計処理

各算出値は平均値±標準誤差で表した。HSPN, IgAN 両疾患の臨床所見(年齢, 性別, 尿蛋白, 血尿, BUN, Cr, 血清 IgA) の比較については Welch's *t* 検定を行い, 糸球体内免疫沈着物の沈着程度の相違については Mann-Whitney's U 検定を行った。また, 糸球体内各種免疫浸潤細胞間の関連及び免疫浸潤細胞と臨床所見との関連については Spearman's 順位関係数検定を行った。

$P < 0.05$ をもって有意差ありとした。

結 果

IgA 腎症及び HSPN 組織像の比較(表 3, 表 4)

IgAN, HSPN の組織像のプロフィールを表 3 に示す。光顕所見では IgA 腎症で, 49 例中 16 例に (32.6%) PHDs が見られるのに対し, HSPN では 49 例中 4 例 (8.2%) で見られるのみで, 両疾患で有意差を認めた ($P < 0.01$)。硝子化糸球体は IgA 腎症で有意に多かった ($P < 0.001$)。糸球体内半月体形成率には両疾患で有意差を認めなかった。免疫組織所見では HSPN で, 糸球体 FRA 沈着を伴う例が有意に多く ($P < 0.001$)、逆に C3c 沈着を伴う例は有意に少なかった ($P < 0.001$)。IgM 沈着に関しては, IgAN において有意に多く認め

Table 3. Histological findings of patients with HSPN and IgAN

Histological findings	HSPN (<i>n</i> =49)	IgAN (<i>n</i> =49)	<i>P</i> values
Cases with PHDs	4 (8.2%)*	16 (32.6%)	$P < 0.01$
Glomeruli in global sclerosis (%)	1.6±0.6**	7.2±0.1	$P < 0.001$
Glomeruli with crescents (%)	6.7±1.6	6.2±0.8	NS
Immunoperoxidase staining			
IgG	17 (34.7%)	27 (55.1%)	NS
IgA	49 (100%)	49 (100%)	NS
IgM	35 (71.1%)	43 (87.7%)	$P < 0.001$
FRA	45 (91.1%)	33 (67.3%)	$P < 0.001$
C1q	13 (26.5%)	15 (30.6%)	NS
C3c	17 (34.6%)	47 (95.9%)	$P < 0.001$

*: a number (%) of patients.

** : mean±SEM.

PHDs: paramesangial hemispherical deposits, NS: not significant

Table 4. Intensities of the glomerular deposition of FRA/C3c in HSPN and IgAN

C3c deposition	—	+	⧻	⧼
HSPN*	32 (65.3%)	15 (30.6%)	1 (2.0%)	1 (2.0%)
IgAN	1 (2.0%)	23 (46.9%)	24 (48.9%)	1 (2.0%)
FRA deposition	—	+	⧻	⧼
HSPN*	4 (8.2%)	15 (30.6%)	24 (49.0%)	6 (12.2%)
IgA-N	18 (36.8%)	26 (53.1%)	5 (10.2%)	0 (0.0%)

Values are the number (%) of patients

*: $P < 0.001$; HSPN vs. IgAN

Table 5. Correlations of the glomerular expression of ICAM-1 with the glomerular leukocytes bearing $\beta 2$ integrins in HSPN and IgAN

		LFA-1	CR3	CR4
HSPN	ICAM-1	0.576**	0.518*	0.597**
IgAN	ICAM-1	0.519**	0.115	0.324

*: $P < 0.01$ and **: $P < 0.001$ after Bonferroni's correction

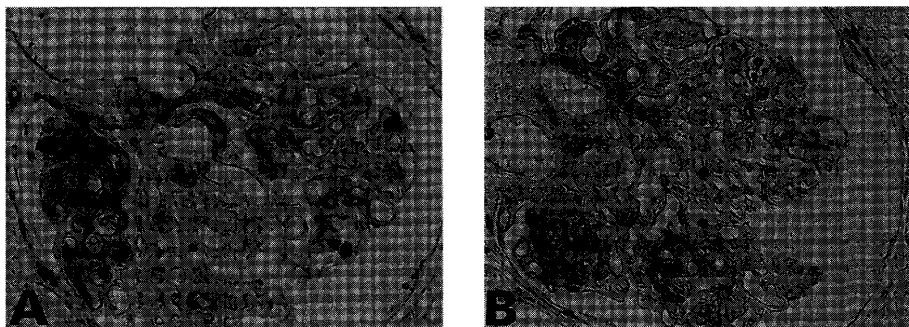


Figure 1. Micrograph of the double immuno-peroxidase staining for LFA-1 (black) and ICAM-1 (brown) in Henoch-Schoenlein purpura nephritis (HSPN; A) and IgA nephropathy (IgAN; B). Numerous LFA-1⁺ cells are observed in a glomerular segment with marked expression of ICAM-1 in both HSPN (A) and IgAN (B). ($\times 400$)

られた ($P < 0.001$) が, IgG, IgA, C1q 沈着については両疾患で有意差が認められなかった。表 4 に, 両疾患における糸球体 C3c 沈着および FRA 沈着の強度別頻度を示す。HSPN では IgAN に比較し, C3c 沈着が有意に軽度 ($P < 0.001$) であり, 逆に FRA 沈着は有意に高度 ($P < 0.001$) であった。

糸球体内 ICAM-1 の発現と細胞浸潤 (表 5, 図 1)

ICAM-1 は正常対照例の糸球体にも軽度ながら発現が見られ, 主に内皮細胞, 上皮細胞, 一部メサンギウム細胞に発現していたが, その強度は 0.89 ± 0.09 であった ($N = 5$)。HSPN においては糸球体内 ICAM-1 の強度は 1.24 ± 0.81 で, IgA 腎症では 1.28 ± 0.83 であり, 両者とも正常対照より有意に高度であった ($P < 0.01$)。図 1 に示すよう

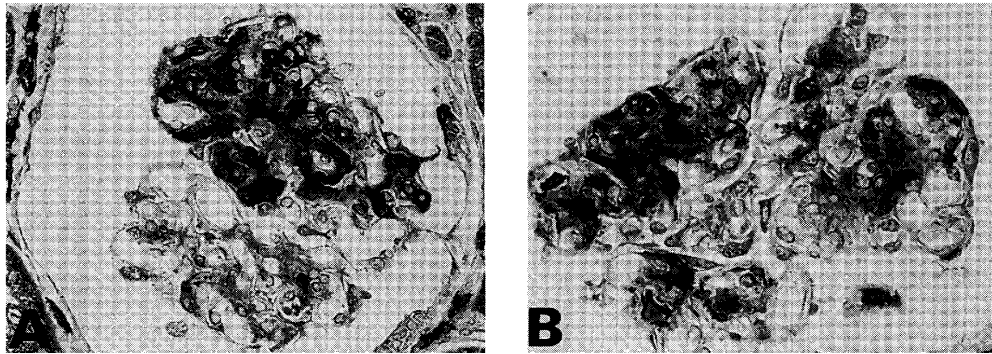


Figure 2. Micrograph of the double immuno-peroxidase staining for CR4 (black) and FRA (brown) in HSPN (A) and that for CR4 (black) and C3c (brown) IgAN (B). Many CR4⁺ cells are localized adjacent to FRA deposition in HSPN (A). On the other hand, many CR4⁺ cells are observed closely with C3c deposition IgAN (B). ($\times 400$)

Table 6. Correlations of the glomerular deposition of FRA/C3c with the glomerular leukocytes bearing b2 integrins in HSPN and IgAN

	Deposition	LFA-1	CR3	CR4
HSPN	C3c	0.181	0.165	0.223
	FRA	0.237	0.103	0.362*
IgAN	C3c	0.383*	0.234	0.375*
	FRA	0.169	-0.092	0.091

*: $P < 0.05$ after Bonferroni's correction

に HSPN, IgAN 共に白血球浸潤は主に ICAM-1 の発現の強い部分で認められた。表 5 に示す如く, IgAN においては糸球体 ICAM-1 発現と LFA-1 陽性細胞との間に有意の正相関が見られ, HSPN では糸球体 ICAM-1 発現と LFA-1, CR3, CR4 陽性細胞と有意の正相関が見られた。

糸球体内 FRA/C3 沈着と細胞浸潤(表 6, 図 2)

表 6 に, 糸球体における C3c, FRA 沈着と各種インテグリン陽性細胞浸潤との関連を示す。HSPN においては糸球体 FRA 沈着は CR4 陽性細胞と有意の正相関を示した ($P < 0.05$) が, 補体 C3c 沈着は LFA-1, CR3, CR4 陽性細胞のいずれとも相関を示さなかった。本症の 2 重染色の検討では CR4 陽性細胞は主に高度の fibrinogen 沈着部位で多く観察された(図 2A)。一方, IgAN では, FRA 沈着は CR3, CR4 陽性細胞のいずれとも相関を示さなかったが, C3c 沈着は, CR4 陽性細胞

Table 7. Correlations of the glomerular leukocytes bearing b2 integrins with leukocyte subsets in HSPN and IgAN

	Integrins	CD3	CD15	CD68
HSPN				
	LFA-1	0.574***	0.387*	0.749****
	CR3	0.482**	0.542***	0.753****
	CR4	0.588***	0.409*	0.865****
IgAN				
	LFA-1	0.487**	0.538***	0.555***
	CR3	0.136	0.594***	0.508**
	CR4	0.296	0.514**	0.716****

*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.001$ and ****: $P < 0.0001$ after Bonferroni's correction

と有意の相関を示した ($P < 0.05$)。本症の 2 重染色の検討では, CR4 陽性細胞は主に高度の C3c 沈着部位で多く観察された(図 2B)。

HSPN, IgA 腎症での各種インテグリン陽性細胞(表 7, 図 3)

いずれの疾患においても LFA-1, CR3, CR4 陽性細胞は CD3, CD15, CD68 陽性細胞の殆どと有意の正相関を示したが, CR4 陽性細胞数と CD68 陽性細胞との間に最も強い相関が見られた ($P < 0.001$)。HSPN では, LFA-1, CR3 と CD68 陽性細胞との間にも中等度の相関が見られた(表 7)。連続切片による染色で両者の分布を検討すると, HSPN, IgAN いずれの疾患においても, CR4 陽

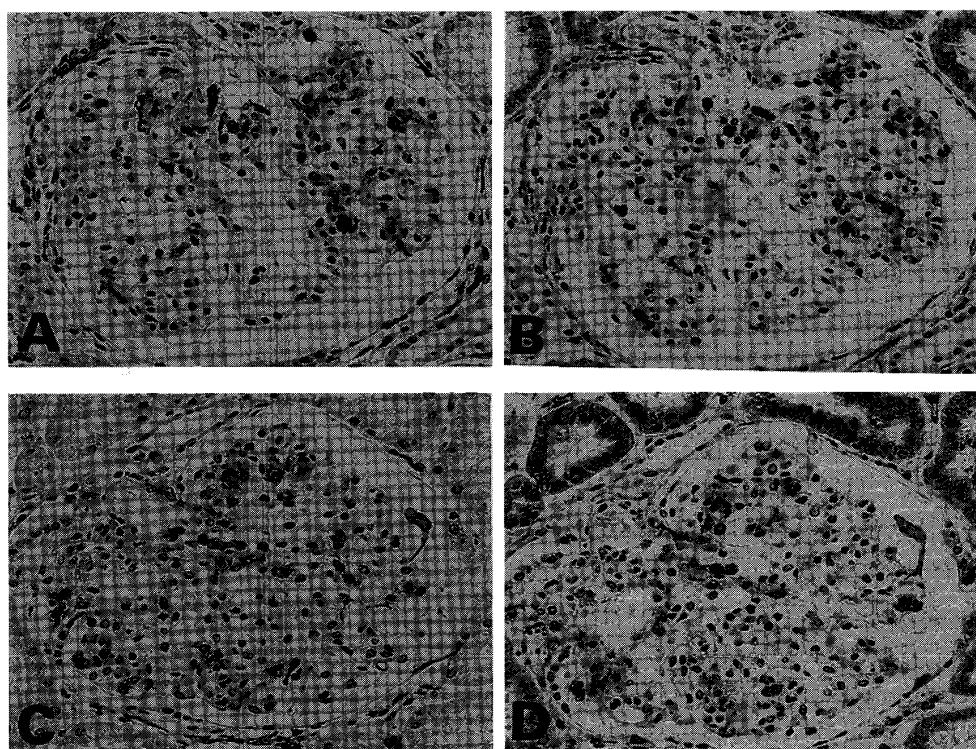


Figure 3. Micrograph of immunoperoxidase staining for CR4 and CD68 in serial sections in HSPN (A, B) and IgAN (C, D). The localization of CR4⁺ cells and CD68⁺ cells is almost identical in both diseases.

Table 8. Correlations of the glomerular leukocytes bearing $\beta 2$ integrins with clinical findings in HSPN and IgAN

	Clinical data	LFA-1	CR3	CR4
HSPN	UP	0.474**	0.365*	0.378*
	URBC	-0.017	-0.106	-0.007
	BUN	0.088	0.161	0.121
	Cr	-0.216	-0.038	-0.157
IgAN	UP	0.552**	0.360*	0.455**
	URBC	0.030	0.259	0.207
	BUN	0.005	0.064	0.043
	Cr	0.136	0.154	0.106

UP: 24 hour urinary protein, URBC: urine red blood cells, BUN: blood urea nitrogen, Cr: serum creatinine

*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$ after Bonferroni's correction

性細胞と CD68 陽性細胞の分布はほぼ同一であった (図 3)。

各種インテグリン陽性細胞と臨床所見との関連 (表 8)

表 8 に、両疾患における臨床所見と、糸球体内各種インテグリン陽性細胞との関連を示す。HSPN では尿蛋白量と LFA-1, CR3, CR4 陽性細胞との間に有意の正相関が、また IgAN では尿蛋白量と CR3, CR4 陽性細胞との間に有意の正相関が見られた。しかし、両疾患とも血尿, BUN, クリアチニンと各種インテグリン陽性細胞との間に関連は見られなかった。

考 察

これまで、免疫組織学を含む多くの臨床病理学的検討や、血中 IgA 型免疫複合体の検討などより、HSPN と IgAN の間に多くの類似点が指摘されている^{2)7)10)–13)}。一方、両疾患は発症年齢, 経過など臨床所見上相違点も多く見られ、HSPN,

IgAN 両疾患は同一疾患の異なる表現であるか否かについても論争されてきた²⁵⁾。また、臨床病理学的な検討でもいくつかの相違点も指摘されている⁸⁾⁹⁾。さらに HSPN では、糸球体 cross-linked fibrin 沈着やマクロファージ (Mφ) 浸潤が有意に高度であり、腎炎発症の糸球体内機序の相違点も推察されている²¹⁾。今回の年齢をマッチさせた両疾患の比較では、腎生検時の臨床像に有意の差は見られなかったが、組織学的にはいくつかの相違点が認められた。即ち、IgAN に特徴的とされる PHDs は IgAN で有意に高頻度に認められ、硬化糸球体の比率は同症で有意に高値であった。

これまで報告されているように、種々の実験腎炎、ヒト糸球体腎炎において、ICAM-1/LFA-1、 $\beta 2$ インテグリンの関与していることが示唆されている^{14)~17)}。これまで我々も、MPGN においては C3bi/CR3 相互作用が、また、IgAN においては、ICAM-1/LFA-1 相互作用の他、C3bi/CR4 相互作用が、それぞれ白血球の糸球体浸潤に関与していることを報告している¹⁶⁾¹⁷⁾。しかし、HSPN に関しては、同様の検討がなされておらず、本疾患における白血球の糸球体浸潤機序については不明な点が多い。

今回の検討では HSPN では糸球体内 ICAM-1 の発現は LFA-1 陽性細胞、CR3 陽性細胞を含む殆どの糸球体浸潤細胞と有意の正相関を示した。 $\beta 2$ インテグリンのうち、LFA-1、CR3 は ICAM-1 をリガンドとすることが知られている^{18)~20)}。以前の我々の検討では IgAN においては、ICAM-1/LFA-1 相互作用が白血球の糸球体浸潤に関与していることを報告しているが、ICAM-1 発現と CR3 陽性細胞の間に有意の相関は見られず、ICAM-1/CR3 相互作用の関与は否定的であった¹⁶⁾。対象を若年者に限定した今回の検討でも、IgAN についてはこれと同様の結果が得られ、免疫二重染色の検討でも糸球体内白血球浸潤は主に ICAM-1 の発現の強い部分で認められた。しかし、我々の今回の検討では、HSPN の糸球体内白血球浸潤過程においては、ICAM-1/LFA-1 相互作用、ICAM-1/CR3 相互作用のいずれもが関与している可能性が示唆された。HSPN では、

LFA-1、CR3 とともに CD68 陽性マクロファージ (Mφ) と有意の相関が見られることより、HSPN では ICAM-1/LFA-1、ICAM-1/CR3 の相互作用が、LFA-1、CR3 陽性 Mφ の浸潤に関与している可能性が考えられた。

一方、 $\beta 2$ インテグリンのうち、CR3、CR4 は C3bi、fibrinogen の受容体としても機能することが知られている^{18)~21)}。IgAN、HSPN のいずれにおいても糸球体に補体、fibrin/fibrinogen の沈着することはよく知られているが^{7)~9)} 今回の検討では、両疾患の間に明かな相違点が認められた。即ち、IgAN では C3c 沈着が優位であり、C3c の沈着頻度、強度とも HSPN より優位に高かった。さらに本症では、糸球体 CR4 陽性細胞と C3c 沈着との間に有意の正相関が見られ、免疫二重染色の検討では CR4 陽性細胞は主に高度の fibrinogen 沈着部位で多く観察された。この結果より C3bi/CR4 相互作用が、本症における CR4 陽性細胞浸潤に関与していることが示唆された。一方、糸球体 FRA 沈着と糸球体 CR4 陽性細胞との間に有意の関連は見られず、fibrinogen/CR4 相互作用の関与は否定的であった。これとは全く対照的に、HSPN においては、FRA 沈着が優位であり、FRA の沈着頻度、強度とも IgAN より有意に高かった。更に本症では糸球体 CR4 陽性細胞と FRA 沈着との間に有意の正相関が見られ、免疫二重染色の検討では CR4 陽性細胞は主に高度の C3c 沈着部位で多く観察された。この結果より fibrinogen/CR4 相互作用が、本症における CR4 陽性細胞浸潤に関与していることが示唆された。一方、糸球体 C3c 沈着と糸球体 CR4 陽性細胞との間に有意の関連は見られず、C3bi/CR4 相互作用の関与は否定的であった。

また、いずれの疾患においても CR4 陽性細胞と CD68 陽性 Mφ との間には高度の相関が見られ、連続切片での両細胞染色結果から、糸球体浸潤 Mφ の殆どが CR4 を発現していることが確認された。

以上の結果より、IgAN においては、ICAM-1/LFA-1 相互作用の他、糸球体における補体活性化に関連した C3bi/CR4 相互作用が Mφ 糸球体浸

Possible mechanisms of glomerular leukocyte infiltration in HSPN and IgAN

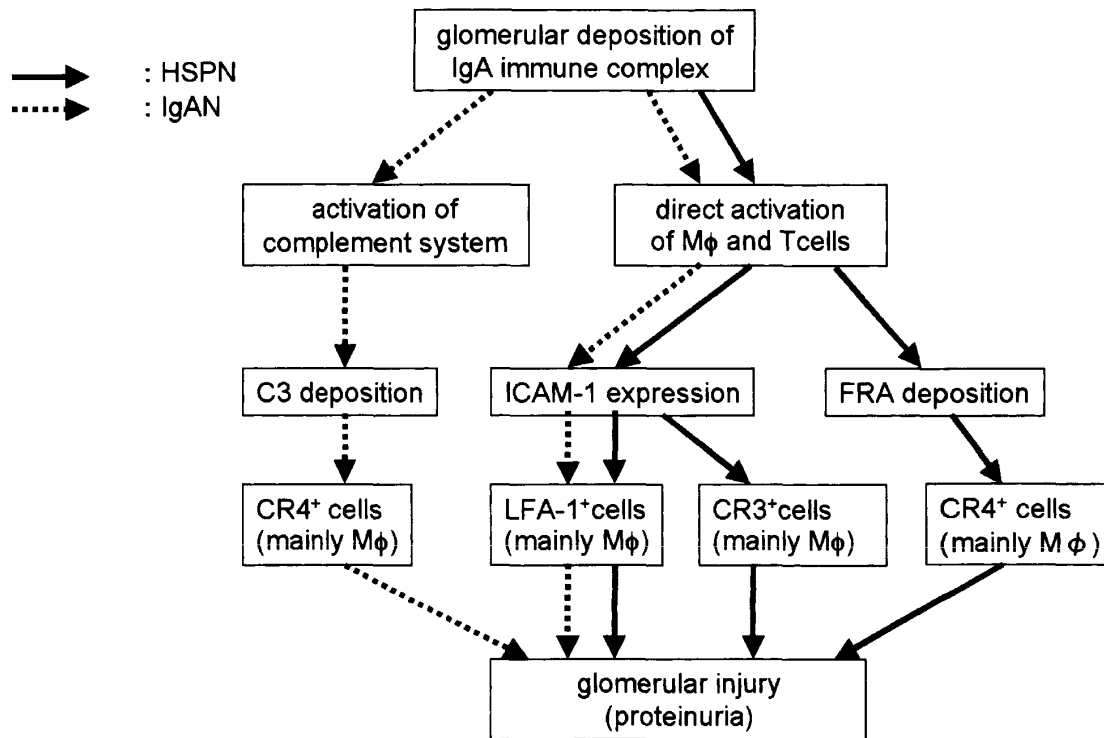


Figure 4. A diagram of the postulated mechanism of $\beta 2$ integrin-mediated leukocyte infiltration in HSPN and IgA nephropathy (modified from reference 27).

潤に関与している可能性が強く示唆された。一方、HSPN においては、ICAM-1/LFA-1 相互作用と ICAM-1/CR3 相互作用の他、fibrinogen/CR4 相互作用が $M\phi$ の糸球体浸潤に関与している可能性が示唆された。本疾患における FRA 沈着と CR4 陽性 $M\phi$ 浸潤の因果関係は明らかでないが、Holdworth らは実験腎炎を用いた検討により、 $M\phi$ の浸潤の結果、凝固因子の活性化により fibrin の糸球体沈着が惹起されると報告している²⁸⁾。糸球体 FRA 沈着は糸球体浸潤 $M\phi$ による糸球体内凝固系活性化を反映している可能性も否定できないが、糸球体内凝固系活性化が fibrin/CR4 相互作用により、 $M\phi$ の持続的浸潤や新たな $M\phi$ 浸潤を惹起する可能性を示唆するものとして興味深い知見と考えられる。

これまで、IgAN における臨床病理的検討から、糸球体浸潤 $M\phi$ が、IgAN におけるメサンギウム

増殖や蛋白尿発現に、強く関与していることが示唆されている^{30)~32)}。今回の検討でも、両疾患で各種 $\beta 2$ インテグリン陽性細胞と尿蛋白との間に有意の正相関が得られ、いずれの疾患においても腎症の発現にこれら糸球体浸潤細胞が関与していることが示唆された。図 4 は、以上の結果より HSPN と IgAN の細胞浸潤機序を図式化したものである。HSPN, IgAN のいずれにおいても糸球体白血球浸潤には ICAM-1/LFA-1 相互作用が関与していることが示唆された。IgAN では、さらに C3bi/CR4 相互作用も $M\phi$ の糸球体浸潤に関与していることが推察されたが、HSPN においては ICAM-1/CR3 相互作用と fibrinogen/CR4 相互作用も $M\phi$ の糸球体浸潤に関与している可能性が示唆された。種々の実験腎炎及び HSPN を含むヒト糸球体腎炎において、線溶療法が有効である事は既に報告されている³⁴⁾³⁵⁾。今回の我々の

結果より線溶療法は fibrinogen/CR4 相互作用に関与することにより, CR4 陽性細胞の糸球体内浸潤に影響するものと考えられた。これらの知見は, IgAN, HSPN という病理組織学的に類似した2疾患に対する治療法を考える上で示唆に富むものと思われる。

ま と め

HSPN における糸球体白血球浸潤機序を糸球体内各種接着因子発現と各種インテグリン陽性細胞浸潤との関連, 及び各種白血球細胞浸潤と各種免疫沈着物との関連という観点からを検討し, 年齢をマッチさせた IgA 腎症と比較検討した。

HSPN においても糸球体 ICAM-1 発現は LFA-1 陽性細胞と有意の正相関を示したことより, HSPN における糸球体白血球浸潤には IgAN と共通して LFA-1/ICAM-1 の相互作用が関与しているものと考えられた。

各種沈着物と各種インテグリン陽性細胞浸潤との関連では, HSPN では糸球体 FRA 沈着と CR4 陽性細胞の間に有意の正相関が見られるのに対し, IgAN では C3 沈着と CR4 陽性細胞の間に有意の正相関が見られ, また, CR4 陽性細胞は, CD68 陽性 Mφ と高度の相関を示したことより, HSPN では fibrinogen/CR4 相互作用が, IgAN では C3bi/CR4 相互作用が CR4 陽性 Mφ の糸球体内浸潤に関与するものと考えられた。

HSPN において各種インテグリン陽性細胞と尿蛋白との間に有意の正相関を示したことより, HSPN でも各種インテグリンを発現した Mφ は尿蛋白の発現に関与することが示唆された。

文 献

- 1) Henoch EH. Über eine eigentümliche Form von Purpura. Berliner Klin. Wochenschr., **11**, 641, 1874.
- 2) Haar J, Thomsen K, Sparrevohn S. Renal involvement in Henoch-Schönlein purpura. Br. Med. J., **4**, 405-406, 1974.
- 3) Cream JJ, Gumpel JM, Reachey RDG. Schönlein-Henoch purpura in the adult. A study of

- 77 adults with anaphylactoid or Schönlein-Henoch purpura. Q. J. Med., **39**, 461-484, 1970.
- 4) Vernier RL, Worthen HG, Peterson RD, Colle RD, Good RA. Anaphylactoid purpura. I. Pathology of the skin and kidney and frequency of streptococcal infection. Pediatr., **27**, 181-193, 1961.
- 5) Counahan R, Winterborn MH, White RHR et al. Prognosis of Henoch-Schönlein nephritis in children. Br. Med. J., **2**, 11-14, 1977.
- 6) Levy M, Broyer M, Arsan A, Levy-Bentolia D, Habib R. Anaphylactoid purpura nephritis in childhood. Natural history and immunopathology, in Hamberger J, Cronier J, Maxell MH (eds): Advances in Nephrology, Chicago, Year Book Medical, 1976, vol 6, pp 183-228.
- 7) Habib R, Levy M. Anaphylactoid purpura nephritis: Observations with sixty childhood cases. Clin. Pediatr., **12**, 445-445, 1973.
- 8) Urizar RE, Michael A, Sisson S, Vernier RL. Anaphylactoid purpura: II. Immunofluorescent and electron microscopic study of the glomerular lesions. Lab. Invest., **19**, 437-450, 1968.
- 9) Sinniah R, Feng PH, Chen BJM. Henoch-Schönlein syndrome: A clinical and morphological study of renal biopsies. Clin. Nephrol., **9**, 219-228, 1978.
- 10) Levinsky RJ, Barratt TM. IgA immune complexes in Henoch-Schönlein purpura. Lancet **2**, 1100-1103, 1979.
- 11) Spitzer RE, Urmson JR, Farnett ML, Stitzel AE, Post EM. Alteration of the complement system in children with Henoch-Schönlein purpura. Clin. Immunol. Immunopathol., **11**, 52-59, 1978.
- 12) O'Donoghue DJ, Dravill A, Ballardie FW. Mesangial cell autoantigens in immunoglobulin A nephropathy and Henoch-Schönlein purpura. J. Clin. Invest., **88**, 1522-1530, 1991.
- 13) Jennette JC, Wieslander J, Tuttle R, Falk RJ. Serum IgA-fibronectin aggregates in patients with IgA nephropathy and Henoch-Schönlein purpura: Diagnostic value and pathogenic implications. Am. J. Kidney Dis., **18**, 466-471,

- 1991.
- 14) Mulligan MS, Johnson KJ, Todo RF, III et al. Requirements for leukocyte adhesion molecules in nephrotoxic nephritis. *J. Clin. Invest.*, **91**, 577-587, 1993.
- 15) Nishikawa K, Guo YJ, Miyasaka M et al. Antibodies to intercellular adhesion molecule-1/lymphocyte function-associated antigen-1 prevent crescentic formation in rat autoimmune glomerulonephritis. *J. Exp. Med.*, **177**, 667-677, 1993.
- 16) Ootaka T, Saito T, Soma J, Yusa A, Abe K. Intercellular adhesion molecule-1/leukocyte function associated antigen-1-mediated and complement receptor type 4-mediated infiltration and activation of glomerular immune cells in immunoglobulin A nephropathy. *Am. J. Kidney Dis.*, **28**, 40-46, 1996.
- 17) Soma J, Saito T, Seino J, Ootaka T, Yusa A, Abe K. Participation of CR1(CD35), CR3 (CD11b/CD18) and CR4(CD11c/CD18) in membranoproliferative glomerulonephritis type. *Clin Exp Immunol* **100**, 269-276, 1995.
- 18) Kishimoto TK, Larson RS, Corbi AL, Dustin ML, Staunton DE, Springer TA. The leukocyte integrins. *Adv. Immunol.*, **46**, 149-182, 1990.
- 19) Arnaout MA. Structure and function of the leukocyte adhesion molecules CD11/CD18. *Blood* **75**, 1037-1050, 1990.
- 20) Wright SD, Weitz JI, Huang AJ, Levin SM, Silverstein SC, Loike JD. Complement receptor type three (CD11b/CD18) of human polymorphonuclear leukocytes recognizes fibrinogen. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **85**, 7734-7738, 1988.
- 21) Loike JD, Sodeik B, Cao L, Leucona S, Weitz JI, Detmers PA, Wright SD, Silverstein SC. CDc/CD18 on neutrophils is a receptor for fibrinogen. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **88**, 1044-1048, 1991.
- 22) Ootaka T, Saito T, Soma J, Yusa A, Abe K. Mechanism of infiltration and activation of glomerular monocytes/macrophages in IgA nephropathy. *Am. J. Nephrol.*, **17**, 137-145, 1997.
- 23) Ono T, Muso E, Suyama K et al. Intraglomerular deposition of intact cross-linked fibrin in IgA nephropathy and Henoch-Schönlein purpura nephritis. *Nephron* **74**, 522-528, 1996.
- 24) Ootaka T, Suzuki M, Sudo K et al. Histologic localization of terminal complement complexes in renal diseases. *Am. J. Clin. Pathol.*, **91**, 144-151, 1989.
- 25) Ootaka T, Saito T, Soma J, Yoshinaga K. Analysis of leukocyte surface antigen on ethanol-fixed paraffin-embedded tissue material. *J. Immunol. Methods* **131**, 183-193, 1990.
- 26) Tomino Y, Sakai H, Basolo B, Aarons I, Clarkson AR. Correlation of paramesangial deposits and glomerular sclerosis and/or hyalinosis in patients with IgA nephropathy. *Tokai J. Exp. Clin. Med.*, **11** : 235-239, 1986.
- 27) Haycock GB. The nephritis of Henoch-Schonlein purpura, in Davison AM, Cameron JS, Grünfeld JP, Kerr DNS, Ritz E, Winearls CG (eds): Oxford text book of clinical nephrology, 2nd ed. Oxford University Press, New York, 1998, pp 858-872.
- 28) Holdsworth SR, Tipping PG. Macrophage induced glomerular fibrin deposition in experimental glomerulonephritis in the rabbit. *J. Clin. Invest.*, **7**, 1367-1374, 1985.
- 29) Hsu SM, Jaffe ES. Leu M1 and peanut agglutinin stain the neoplastic cells of Hodgkin's disease. *Am. J. Clin. Pathol.*, **82**, 29-32, 1984.
- 30) Patey N, Lesavre P, Halbwachs-Mecarelli L, Noel LH. Adhesion molecules in human crescentic glomerulonephritis. *J. Pathol.*, **179**, 414-420, 1996.
- 31) Wagrowska-Danilewicz M, Danilewicz M. Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), leukocyte function-associated antigen-1 and leukocyte infiltration in proliferative human glomerulonephritis. *Acta Histochem.*, **100**, 201-215, 1998.
- 32) Arima S, Nakayama M, Naito M, Sato T, Takahashi K. Significance of mononuclear phagocytes in IgA nephropathy. *Kidney Int* **39**, 648-692, 1991.

- 33) Nagata M, Akioka Y, Tsunoda Y et al. Macrophages in childhood IgA nephropathy. *Kidney Int.*, **48**, 527-535, 1995.
- 34) Tipping PG, Holdsworth SR: Fibrinolytic therapy with streptokinase for established experimental glomerulonephritis. *Nephron* **43**, 258-64, 1986.
- 35) 上辻秀和, 飯田泰子, 大村令子, 平 康二, 塚田周平, 楠本清明, 岡本裕宏: 尿中 FDP・D-dimer 分画から見た小児腎疾患の線溶療法。日腎誌 **24**, 1251-1259, 1982.