

小児腎疾患における尿中安定化

フィブリン分解産物(XLFbDP)の動態に関する研究

第2報 尿中FDP分画と糸球体内フィブリン/フィブリノーゲン関連抗原(FRA)について

奈良県立医科大学小児科学教室

松 永 健 司

STUDIES ON URINARY CROSSLINKED FIBRIN DEGRADATION PRODUCTS (XLFbDP) IN CHILDREN WITH RENAL DISEASES

2. FRAGMENTS OF URINARY FIBRIN/FIBRINOGEN DEGRADATION PRODUCTS (FDP) AND INTRAGLOMERULAR FIBRIN/FIBRINOGEN RELATED ANTIGEN (FRA)

TAKESHI MATSUNAGA

Department of Pediatrics, Nara Medical University

Received May 28, 1992

Summary : In children with several kinds of renal diseases, fragments of urinary fibrin/fibrinogen degradation products (FDP) and crosslinked fibrin degradation products (XLFbDP) were investigated by autoradiography using western blotting method. Results were compared with distribution and immunological features of intraglomerular fibrin/fibrinogen related antigen (FRA) based on immunohistopathologic method containing monochloroacetic acid (MCA) treatment. In patients with minimal change nephrotic syndrome or membranous nephropathy, crosslinked fibrin (XLFb) was not present in their glomeruli, and urinary FDP were composed of fibrinogen degradation products (FgDP) such as X, Y and D. On the other hand, in cases of proliferative glomerulonephritis such as Henoch-Schönlein purpura nephritis or IgA nephropathy, XLFb was frequently observed along glomerular capillary walls. In these cases, urinary FDP were composed of XLFbDP (D-dimer) together with FgDP. It was concluded that the presence of D-dimer in the urine suggested intraglomerular XLFb, but some part of urinary FDP, especially FgDP, were derived from plasma fibrinogen or FDP.

Index Terms

renal disease, fibrin/fibrinogen degradation products (FDP), crosslinked fibrin

緒 言

小児腎疾患において、尿中フィブリン/フィブリノーゲン分解産物 (fibrin/fibrinogen degradation products, FDP) や糸球体内フィブリン/フィブリノーゲン関連抗

原 (fibrin/fibrinogen related antigen, FRA) の性状の検討は腎局所での凝固線溶動態を把握する上で重要と考えられる。著者は第1報で小児腎疾患の尿中FDPのうち特に安定化フィブリン由来のもの、即ち尿中安定化フィブリン分解産物 (crosslinked fibrin degradation prod-

ucts, XLFbDP)量をヒト D-dimer に対するモノクローナル抗体(DD-3 B 6, DD-4 D 2, Mabco)を用いた ELISA(enzyme-linked immunosorbent assay)で測定し、微小変化型、巣状糸球体硬化症のネフローゼ症候群では、尿中フィブリノーゲン分解産物(FgDP)出現を認めるものの XLFbDP の出現は乏しく、一方、急性糸球体腎炎、膜性増殖性腎炎、急速進行性糸球体腎炎、ループス腎炎、紫斑病性腎炎及び IgA 腎症の腎炎群では、尿中 FgDP とともに XLFbDP の出現を認め、とりわけ細胞性半月体等 active lesion を有する例では高値をとるものが多いこと等を報告した¹⁾。このことは、増殖性変化の強い例における糸球体内凝固-フィブリン沈着の関与を示唆するものである。

今回、著者は尿中 FDP とりわけ XLFbDP が真に糸球体内凝固-フィブリン沈着を反映しうるかを確認する目的で、糸球体内 FRA の性状を抗ヒトフィブリノーゲン家兎血清を用いた蛍光抗体直接法、1% Monochloroacetic acid(MCA, Sigma 社)処理法²⁾及び DD-3 B 6 を用いた蛍光抗体間接法³⁾により検討し、尿中 FDP 分画と対比検討した。

検索対象及び方法

1. 対象：尿中 FDP が 0.1 $\mu\text{g/ml}$ 以上出現し、且つ、糸球体に FRA の沈着を認めた 3 歳から 15 歳までの微小変化型ネフローゼ症候群 1 例、膜性腎症 2 例、ループス腎炎 1 例、紫斑病性腎炎 3 例及び IgA 腎症 7 例の計 14 例の尿中 FDP 分画と糸球体内 FRA の性状を検討した。

2. 尿中 XLFbDP 量：24 時間蓄尿の一部を検体として、D-dimer に対するモノクローナル抗体(DD-3 B 6, DD-4 D 2)を用いた ELISA により測定した。その詳細は第 1 報で述べた¹⁾。

3. 安定化フィブリン分解産物(XLFbDP)およびフィブリノーゲン分解産物(FgDP)の作成：その詳細は第 1 報で述べた¹⁾。

4. 自家製 FgDP, XLFbDP 及び尿中 FDP の Western blot 像：自家製 FgDP(1000 ng/ml), XLFbDP(100 ng/ml)及び FDP 量が 1.0 $\mu\text{g/ml}$ 以上となるように濃縮した患児尿を各々 sample buffer(2% SDS, 10 mM Tris-HCl, 20% Glycerol)と等量混合し、90°C 5 分間加熱処理後、Weber ら⁴⁾の方法に従い SDS-5%ポリアクリルアミドゲル電気泳動(SDS-PAGE)を行った。泳動終了後ゲルスラブをニトロセルロース膜上に重層し、電極液(25 mM Tris, 192 mM Glycine, 20% Methanol)を用いて Towbin ら⁵⁾の方法に従い、ゲル上の蛋白をニト

ロセルロース膜へ blotting した。室温で 3 時間、ブロッキング液(5% Milk, 0.15 M NaCl, 10 mM Tris-HCl: pH 7.4)に浸しブロッキングの後、Tris buffer(0.15 M NaCl, 10 mM Tris-HCl: pH 7.4)にて洗浄、1000 倍に希釈した抗ヒトフィブリノーゲン家兎血清または抗ヒト D-dimer モノクローナル抗体(DD-3 B 6)と室温で 2 時間反応させた。反応終了後 Tris buffer にて数回洗浄し、¹²⁵I 標識ヤギ抗家兎 IgG または¹²⁵I 標識ヤギ抗マウス IgG を二次抗体として室温 2 時間反応させ、Tris buffer にて洗浄、-70°C で 24 時間 X 線フィルムに暴露した。

5. 糸球体内 FRA の観察：糸球体内 FRA 沈着は FITC 標識抗ヒトフィブリノーゲン家兎血清を用いた蛍光抗体直接法、DD-3 B 6 を用いた蛍光抗体間接法及び 1% MCA 添加後の FRA の沈着像より観察した。

成 績

1. 自家製 FgDP, XLFbDP の Western blot 像

自家製 FgDP は抗ヒトフィブリノーゲン家兎血清を用いた immunoblotting では 4 本のバンドが得られ、その分子量は 240 k, 150 k, 80 k, 40 k であった。抗ヒト D-dimer モノクローナル抗体(DD-3 B 6)を用いた immunoblotting ではバンドを認めなかったことより、4 本のバンドを上から X, Y, D, E と同定した。一方、自家製 XLFbDP のうち early XLFbDP は抗ヒトフィブリノーゲン家兎血清にて 240 k, 200 k, 160 k, 40 k と 4 本のバンドであったが、240 k, 200 k および 160 k のバンドは抗ヒト D-dimer モノクローナル抗体(DD-3 B 6)でも認められたことより、それぞれフィブリン分解産物の Y-D, D-dimer-E, D-dimer と同定した。40 k のバンドはフィブリン由来の E と同定した。late XLFbDP は抗ヒトフィブリノーゲン家兎血清にて D-dimer と E, DD-3 B 6 にて D-dimer を認めた。尚、本法における感度は、FDP 量が 1 $\mu\text{g/ml}$, XLFbDP 量が 100 ng/ml であった (Fig. 1)。

2. 各種腎疾患の糸球体内 FRA の性状

抗ヒトフィブリノーゲン家兎血清を用いた蛍光抗体直接法により観察された糸球体内 FRA を 1% MCA 処理法及び抗ヒト D-dimer モノクローナル抗体(DD-3 B 6)を用いた蛍光抗体間接法により観察した。

各種小児腎疾患 14 例の糸球体内 FRA は、以下の 4 つの type に分けられた。

Type I は、FRA が MCA-soluble FRA のみで、D-dimer の沈着も無く、FRA がフィブリノーゲンや FgDP から構成されていると考えられるものである。この群には、微小変化型ネフローゼ症候群、膜性腎症(stage I)、

巣状軽度のメサンギウム増殖のIgA腎症の計3例が認められた。

Type IIは、FRA、D-dimerが存在するもMCA処理にて消失し、FRAがフィブリノーゲン、FgDPとXLFbDPから構成されていると考えられるものである。この群には、膜性腎症(stage III)と軽度メサンギウム増殖を呈したIgA腎症の2例が認められた。

Type IIIは、FRAがMCA-insoluble FRA、MCA-soluble FRAより構成され、MCA-insoluble FRAに一致してD-dimerの沈着が認められ、FRAがフィブリノーゲンやFgDP等フィブリノーゲン関連抗原と安定化フィブリンの両者が混在して沈着していると考えられるものである。この群には、6%の線維性半月体と軽度のメサンギウム増殖を示した紫斑病性腎炎1例と7-33%の細胞性または線維性半月体と軽度-中等度のメサンギウム増殖のIgA腎症4例の計5例が認められた。

Type IVは、FRAがMCA処理にてもほとんど変化なく残存するMCA-insoluble FRAよりなりD-dimerの沈着を認め、FRAが安定化フィブリンと考えられるもの

である。この群には、中等度メサンギウム増殖と8%の細胞性半月体を認めたループス腎炎(class IV)1例と軽度-中等度メサンギウム増殖と4-50%の細胞性半月体

Table 1. Classification of fibrin/fibrinogen related antigen (FRA) deposits in glomeruli

	Immunofluorescent localization			Predictable components of FRA
	FRA		FRA reacting with anti-D-dimer antibody	
	Before MCA treatment	After MCA treatment		
Type I	+	-	-	Fg/FgDP
Type II	+	-	±-+	Type I and XLFbDP
Type III	++-++	±-+	±-+	Type I, Type II, and XLFb
Type IV	+	+	+	XLFb

Fg : Fibrinogen, FgDP : Fibrinogen degradation products, XLFbDP : Crosslinked fibrin degradation products, XLFb : Crosslinked fibrin, MCA : Monochloroacetic acid.

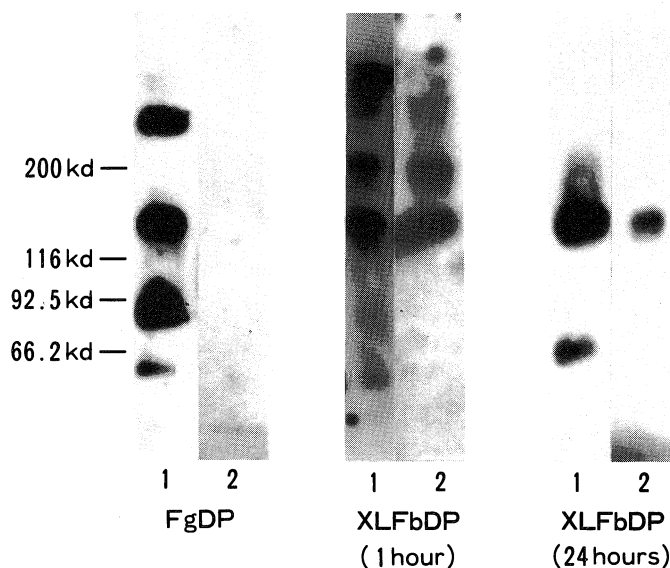


Fig. 1. Autoradiographic patterns of fibrinogen degradation products (FgDP) and crosslinked fibrin degradation products (XLFbDP).

FgDP : FgDP was produced by plasmin digestion of human fibrinogen.
 XLFbDP (1 hour) : XLFbDP (1 hour) was produced by plasmin digestion of crosslinked fibrin for 1 hour.
 XLFbDP (24 hours) : XLFbDP (24 hours) was produced by plasmin digestion of crosslinked fibrin for 24 hours.

- 1) Anti fibrinogen serum was used as first antibody.
- 2) Monoclonal antibody against human D-dimer (DD-3B6) was used as first antibody.

を有した紫斑病性腎炎2例, IgA腎症1例の計4例が認められた(Table 1, Fig. 2およびFig. 3).

3. 糸球体内のFRAの性状, 沈着部位と尿中FDP分画との関係

沈着するFRAがフィブリノーゲンやFgDP等フィブリノーゲン関連抗原のみであったType I, 3例のFRA

は, 巣状軽度メサンギウム増殖のIgA腎症ではメサンギウム領域に, 微小変換型ネフローゼ症候群及び膜性腎症(stage I)では係蹄壁にいずれも軽度の沈着であった. これら3例の尿中FDPは, 0.4-3.2μg/mlと出現し, X, Y, D等全てFgDPで構成されていた.

FRAがフィブリノーゲン関連抗原に加えXLFbDP

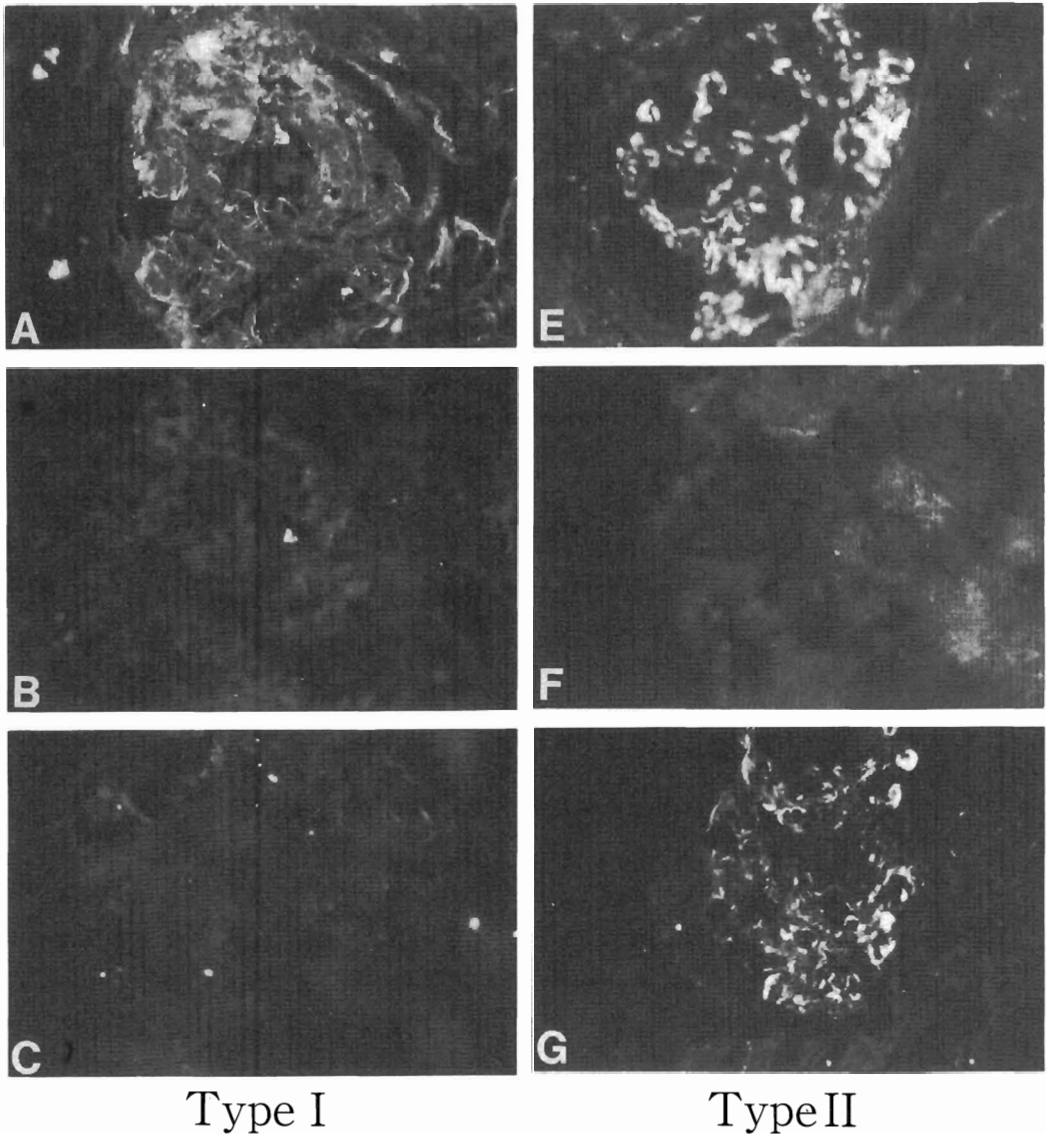


Fig. 2. Intraglomerular deposits of FRA before and after MCA treatment (A, B, E, F) and FRA deposits reacting with anti-D-dimer antibody (C, G).

MCA-soluble FRA that did not react with anti-D-dimer antibody are observed within capillaries (A, B, C, Type I, MCNS) and those that reacted with anti-D-dimer antibody are observed within mesangium and/or capillaries (E, F, G, TypeII, IgA-N). MCNS: Minimal change nephrotic syndrome, IgA-N: IgA nephropathy.

より構成されていた Type II, 2 例の FRA の沈着部位は, 膜性腎症(stage III)では係蹄壁, 軽度メサンギウム増殖の IgA 腎症ではメサンギウム領域から係蹄壁であった。これら 2 例の尿中 FDP 量は, 0.2-0.5 $\mu\text{g/ml}$ で, その分画は, X, Y, D 等の FgDP とともに 14-110 ng/ml の D-dimer が認められた。

FRA がフィブリンノーゲン関連抗原と安定化フィブリンより構成されていた Type III, 5 例の FRA の沈着部位は, いずれもメサンギウム領域から係蹄壁にかけてであり, うち中等度メサンギウム増殖と 33% の細胞性半月体を認め最も増殖性変化の強かった例では, 係蹄壁により強く観察された。安定化フィブリンの沈着もメサンギ

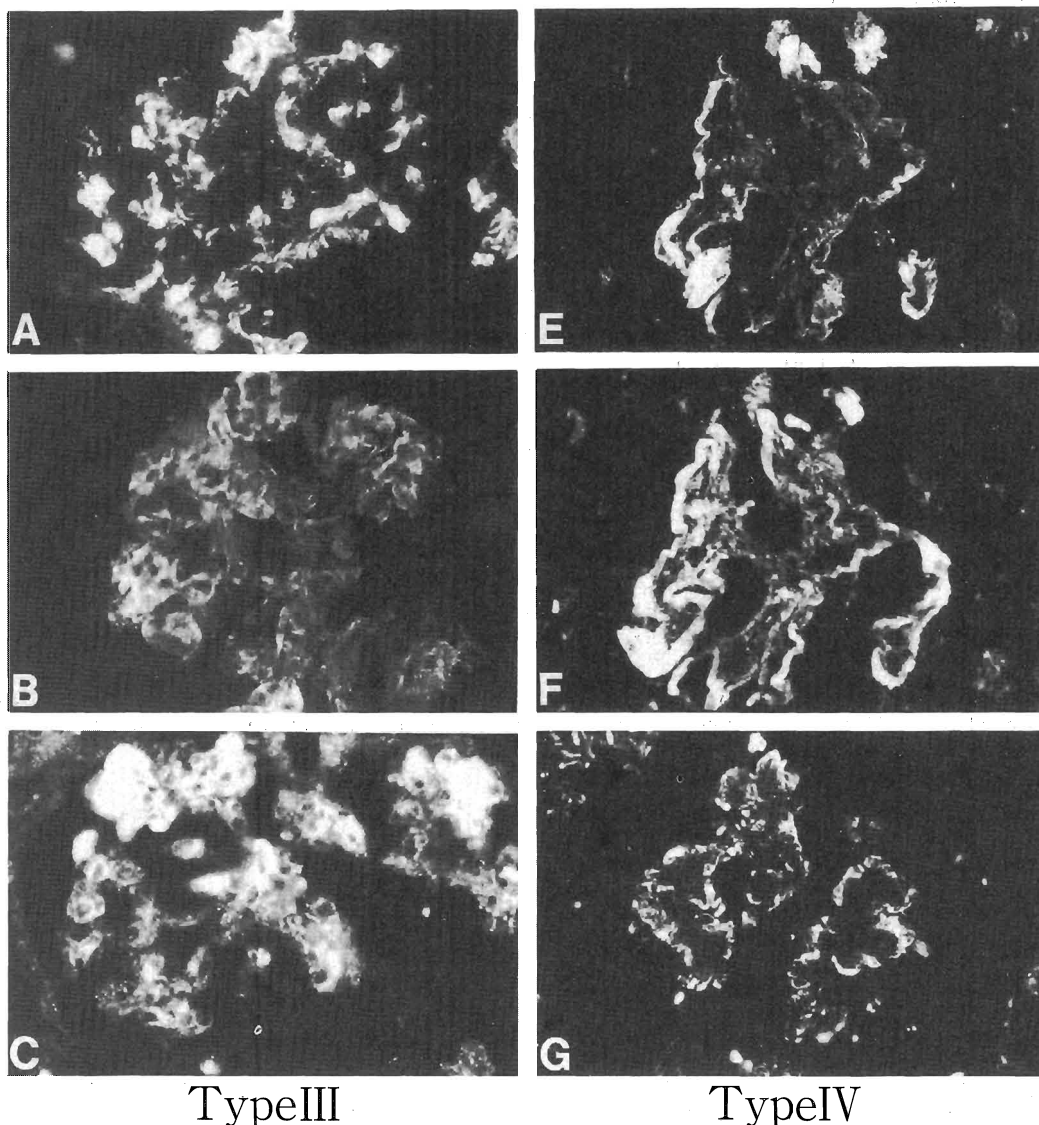


Fig. 3. Intraglomerular deposits of FRA before and after MCA treatment (A, B, E, F) and FRA deposits reacting with anti-D-dimer antibody (C, G).

MCA-insoluble FRA or FRA reacting with anti-D-dimer antibody are observed mainly within capillaries and MCA-soluble FRA within mesangium (A, B, C, Type III, IgA-N).

MCA-insoluble FRA or FRA reacting with anti-D-dimer antibody are observed within capillaries, mesangium, or both (E, F, G, Type IV, SLE). IgA-N : IgA nephropathy, SLE : Systemic lupus erythematosus.

Table 2. Histological findings and urinary FDP in children with various renal diseases

Diagnosis	Histological findings					Urinary findings			
	Light microscopic findings	Immunofluorescent findings			Typing of FDP	FDP ($\mu\text{g/ml}$)	XLFBP (ng/ml)	Protein (mg/dl)	
		FRA		FRA reacting with anti-D-dimer antibody					
		Before MCA treatment	After MCA treatment						
Type I MCNS	Minimal	-- \pm	-	-	X, Y	1.6	<10	800	
MN(stage I)	Membranous neph.	-- \pm	-	-	D	3.2	<10	500	
IgA-N	focal mes. prol.	+ mes.	-- \pm	-	D, E	0.4	<10	180	
Type II MN(stage III)	Membranous neph.	+ g. c. > mes.	-	\pm	Y, D-D, D	0.2	14	280	
IgA-N	mild mes. prol. \bar{c} cell. cres. (6%)	+ mes. \sim g.c.	-	+ \sim + mes. \sim g.c.	X, D-D	0.5	110	80	
Type III HSPN	mild mes. prol. \bar{c} fib. cres. (6%)	+ \sim + mes. \sim g.c.	+ mes. < g.c.	n.d.	D	0.5	<10	450	
IgA-N	mild mes. prol. \bar{c} fib. cres. (7%)	+ mes. \sim g.c.	+ mes. \sim g.c.	\pm mes. \sim g.c.	Y, D-D, D	0.1	16	290	
"	mild mes. prol. \bar{c} fib. cres. (10%)	+ mes. \sim g.c.	+ mes. \sim g.c.	+ mes. \sim g.c.	X, Y, D-D, D, E	1.0	10	100	
"	mild \sim mode. mes. prol. \bar{c} cell. cres. (33%)	+ mes. \sim g.c.	+ mes. < g.c.	n.d.	X, D-D, D	0.5	28	500	
"	mode. mes. prol.	+ mes. \sim g.c.	\pm mes. \sim g.c.	n.d.	X, Y, D-D	0.4	27	<100	
Type IV SLE	mode. mes. prol. \bar{c} cell. cres. (8%)	+ \sim + mes. < g.c.	+ mes. < g.c.	+ mes. < g.c.	Y, D-D	0.4	50	230	
HSPN	mild \sim mode. mes. prol. \bar{c} cell. cres. (4%)	+ mes. \sim g.c.	+ mes. \sim g.c.	\pm	X, Y, D-D	1.5	150	1020	
"	mode. mes. prol. \bar{c} cell. cres. (50%)	+ mes. \sim g.c.	+ mes. \sim g.c.	n.d.	X, Y, D-D, D	0.6	50	720	
IgA-N	mode. mes. prol. \bar{c} cell. cres. (5%)	+ \sim + mes. \sim g.c.	+ \sim + mes. \sim g.c.	+ mes. \sim g.c.	X, Y, D-D	0.1	40	60	

MCNS: Minimal change nephrotic syndrome, MN: Membranous nephropathy, IgA-N: IgA nephropathy, HSPN: Henoch-Schönlein purpura nephritis, SLE: Systemic lupus erythematosus, neph.: nephropathy, mes. prol.: mesangial proliferation, \bar{c} cell. cres.: with cellular crescents, \bar{c} fib. cres.: with fibrous crescents, mode.: moderate, mes.: mesangium, g. c.: glomerular capillary walls, n. d.: not done.

ウム領域から係蹄壁にかけて観察され、D-dimerも同様の分布を示した。これらの尿中FDPは、0.1-1.0 $\mu\text{g/ml}$ と出現し、その分画は、紫斑病性腎炎ではDのみであったが、IgA腎症の4例では、X, Y, D等のFgDPとともにD-dimerが10-28 ng/ml出現していた。

FRAが安定化フィブリンから構成されていると考えられたType IV, 4例のFRAは、いずれもメサンギウム領域より係蹄壁にかけて観察され、安定化フィブリンの沈着もほぼFRAと同様の分布を示し、とりわけ係蹄壁に強く認められた。これら4例の尿中FDP量は、0.1-1.5 $\mu\text{g/ml}$, XLFBP量は40-150 ng/mlとともに高値のものが多くみられた。尿中FDP分画は、X, Y, D等FgDPとともに全例にD-dimerが認められた(Table 2)。

考 察

現在、尿中FDPの出現機序については、(1)血中フィブリノーゲンやFDPの傷害を受けた糸球体基底膜よりの漏出、(2)透過性の亢進した糸球体基底膜を通過したフィブリノーゲンやFDPの腎髄質や下部尿路での分解、(3)糸球体に沈着したフィブリンの溶解が考えられており⁶⁾⁻¹⁴⁾、腎疾患の各病態により上記機序のいずれかあるいは複数が複雑に関わりあっていと推測される。

他方、種々の腎疾患において観察される糸球体内フィブリン/フィブリノーゲン関連抗原(fibrin/fibrinogen related antigen, FRA)は、通常、FITC標識抗ヒトフィブリノーゲン家兎血清を用いた蛍光抗体法により観察されるが、この抗体は安定化フィブリンのみでなく当然フ

ィブリノーゲンとも反応し、またそれらの分解産物である XLFbDP や FgDP とも反応する。従って、糸球体内に観察された FRA が安定化フィブリンであるか、フィブリノーゲン関連抗原であるかはこれのみでは判断し得ない。今回、教室の Kamitsuji et al²⁾が考案した MCA 処理法と抗ヒト D-dimer モノクローナル抗体を用いた蛍光抗体間接法により糸球体内 FRA をその性状から 4 つの type に分類し、Western blot 法による尿中 FDP 分画と対比検討し、尿中 FDP と糸球体内 FRA との関係について検討した。

各種腎疾患患児のうち、微小変化型ネフローゼ症候群、膜性腎症及び増殖性変化が軽度な IgA 腎症の Type I, Type II では、フィブリンの沈着は無く、フィブリノーゲン関連抗原や XLFbDP のみ観察された。これらは、微小変化型ネフローゼ症候群、膜性腎症では係蹄壁に、IgA 腎症ではメサンギウム領域主体で一部係蹄壁に沈着していた。同様の成績は Takemura et al¹⁵⁾も報告しているが、その機序としては、フィブリノーゲンの等電点が 5.5 と低いことから基底膜のコラーゲンへの binding, 免疫複合体腎炎での免疫複合体への結合、取り込み等が想定された。事実、中島¹⁶⁾¹⁷⁾は、膜性腎症、IgA 腎症での免疫電顕における詳細な検討より IgG や IgA を含む electron dense deposits(EDD)内への FRA 沈着を観察している。

これら患児の尿中 FDP 分画は、沈着 FRA がフィブリノーゲン(Fg), FgDP で構成される Type I では、X, Y, D 等の FgDP で占められ、他方、沈着する FRA が Fg/FgDP, XLFbDP の Type II では、FgDP と XLFbDP (D-dimer)より構成されていた。これら尿中 FgDP, XLFbDP が糸球体内の Fg/FgDP や XLFbDP に由来するものか、あるいは透過性の亢進した基底膜より血中のフィブリノーゲン、FDP が漏出して出現したものであるかは今後の検討に待ちたい。

紫斑病性腎炎や IgA 腎症のうち、中等度の増殖性変化を呈した症例(Type III)では、FRA はメサンギウム領域のみならず、係蹄壁にかけて観察され、うち安定化フィブリンは係蹄壁を中心に、Fg/FgDP はメサンギウム領域中心に認められた。さらに増殖性変化に比例して(Type IV), 安定化フィブリンはメサンギウム領域へ拡大していた。

紫斑症性腎炎や IgA 腎症のメサンギウム増殖には IgA を抗体成分とする免疫複合体が関与する¹⁸⁾¹⁹⁾とされるも、増殖性変化の程度に応じて安定化フィブリンが係蹄壁からメサンギウム領域に伸展することは、メサンギウム増殖に免疫学的機序に引続き糸球体内凝固線溶が関

わることを示唆するものと考えられた。

Type III, IVにみられた係蹄壁への安定化フィブリンの沈着について、係蹄壁は内皮細胞を有することより損傷の結果としてコラーゲンの露出、von Willebrand 因子(vWF)の放出による血小板凝集、続発する凝固反応の関与が考えられる。

今回、係蹄壁からメサンギウム領域にかけて安定化フィブリンの沈着の強い例に細胞性半月体を高頻度に認めたことは、半月体が強い管壁損傷に由来すること²⁰⁾²¹⁾より血管内皮傷害を介するフィブリン形成の可能性が予測された。

これら患児(Type III, IV)の尿中 FDP 分画は、いずれも XLFbDP の D-dimer の出現と X, Y, D 等の FgDP が観察され、両者間に差を認めなかった。

以上の成績より、糸球体内にフィブリンやフィブリン分解産物(XLFbDP)を有する患児の尿中 FDP には、FgDP とともに XLFbDP, D-dimer の出現が認められ、尿中 FDP とりわけ D-dimer の存在は糸球体のフィブリン、XLFbDP をよく反映すると考えられた。しかし、糸球体内 FRA が安定化フィブリンであったにもかかわらず尿中 FDP に FgDP も存在したことは、尿中 FDP の由来に先に述べた糸球体内フィブリンの線溶分解のみならず損傷基底膜からの血中フィブリノーゲン、FDP の漏出等が関わることを示唆された。

結 語

小児腎疾患患児の尿中 FDP 分画を D-dimer に対するモノクローナル抗体及び抗フィブリノーゲン家兎血清を用いた Western blot 法により観察し、同様の抗体を用いた蛍光抗体法、MCA 処理法による糸球体内 FRA の性状と対比検討した。

1. 微小変化型ネフローゼ症候群、膜性腎症(stage I)及び巣状軽度メサンギウム増殖の IgA 腎症では、糸球体内 FRA は、Fg/FgDP よりなり、尿中 FDP は、X, Y, D 等 FgDP より構成されていた。
2. 膜性腎症(stage III)や軽度メサンギウム増殖と 6%の糸球体に細胞性半月体を認めた IgA 腎症の糸球体内 FRA は、Fg/FgDP, XLFbDP よりなり、尿中 FDP は、FgDP と D-dimer より構成されていた。
3. 中等度メサンギウム増殖を呈した紫斑病性腎炎や IgA 腎症では、安定化フィブリンは係蹄壁中心に、フィブリン以外の FRA はメサンギウム領域に認められ、増殖性変化に比例して安定化フィブリンはメサンギウム領域へ伸展していた。これらの尿中 FDP は、いずれも D-dimer と FgDP より構成されていた。

4. これらの結果より尿中 FDP とりわけ D-dimer の出現は、糸球体の安定化フィブリンの存在をよく反映すると考えられるも、尿中 FDP 出現には糸球体内フィブリンの線溶分解のみならず、血中フィブリノーゲン、FDP の漏出が関わる事が強く示唆された。

本論文要旨は第 91 回日本小児科学会総会(昭和 63 年 5 月, 神戸), 第 31 回日本腎臓学会総会(昭和 63 年 10 月, 奈良)において発表した。

文 献

- 1) 松永健司: 小児腎疾患における尿中安定化フィブリン分解産物(XLFbDP)の動態に関する研究: 第 1 報 尿中 XLFbDP 量と腎糸球体像について. 奈医誌. 42: 535-544, 1991.
- 2) Kamitsuji, H., Kusumoto, K., Taira, K., Iida, Y., Nakajima, M. and Fukui, H.: Localization of intrarenal crosslinked fibrin in children with various renal diseases. *Nephron* 35: 94-99, 1983.
- 3) Kamitsuji, H., Sakamoto, S., Matsunaga, T., Taira, K., Kawahara, S. and Nakajima, M.: Intraglomerular deposition of fibrin/fibrinogen-related antigen in children with various renal diseases. *Am. J. Pathol.* 133: 61-72, 1988.
- 4) Weber, K. and Osborn, M.: The reliability of molecular weight determinations by dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. *J. Biol. Chem.* 244: 4406-4412, 1969.
- 5) Towbin, H., Staehelin, T. and Gordon, J.: Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: Procedure and some applications. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 76: 4350-4354, 1979.
- 6) Clarkson, A. R., Macdonald, M.K., Petrie, J. J. B., Cash, J.D. and Robson, J. S.: Serum and urinary fibrin/fibrinogen degradation products in glomerulonephritis. *Br. Med. J.* 3: 447-451, 1971.
- 7) Briggs, J. D., Prentice, C. R. M., Hutton, M. M., Kennedy, A. C. and McNicol, G. P.: Serum and urine fibrinogen-fibrin-related antigen(F. R.-antigen)levels in renal disease. *Br. Med. J.* 4: 82-85, 1972.
- 8) Naish, P., Evans, D.J. and Peters, D. K.: Urinary fibrinogen derivative excretion and intraglomerular fibrin deposition in glomerulonephritis. *Br. Med. J.* 1: 544-546, 1974.
- 9) Ekberg, M. and Pandolfi, M.: Origin of urinary fibrin/fibrinogen degradation products in glomerulo-nephritis. *Br. Med. J.* 2: 17-19, 1975.
- 10) Hall, C. L., Pejhan, N., Terry, J.M. and Blainey, J.D.: Urinary fibrin-fibrinogen degradation products in nephrotic syndrome. *Br. Med. J.* 1: 419-422, 1975.
- 11) Hedner, U.: Urinary fibrin-fibrinogen derivatives. *Thromb. Diath. Haemorrh.* 34: 693-708, 1975.
- 12) Hall, C. L., Blainey, J. D. and Gaffney, P. J.: Origin of fibrin-fibrinogen degradation products in renal glomerular disease. *Nephron* 23: 6-9, 1979.
- 13) Kamitsuji, H., Tani, K., Taniguchi, A., Masuyama, H., Iida, Y. and Fukui, H.: Urinary fibrin-fibrinogen degradation products and intraglomerular fibrin-fibrinogen deposition in various renal disease. *Thromb. Res.* 21: 285-294, 1981.
- 14) Yoshioka, K., Iseki, T., Akano, N., Uraoka, Y., Miyata, H. and Maki, S.: Urinary fibrinogen and fibrin fragments in children with renal disease. *Nephron* 32: 135-139, 1982.
- 15) Takemura, T., Yoshioka, K., Akano, N., Miyamoto, H., Matsumoto, K. and Maki, S.: Glomerular deposition of crosslinked fibrin in human kidney diseases. *Kidney Int.* 32: 102-111, 1987.
- 16) 中島 充: プロテイン A-金コロイド法による各種腎疾患の免疫電顕的観察 I. 免疫グロブリン(IgG, IgA, IgM)および補体成分(C 3 c)の糸球体内局在性について. 奈医誌. 37: 67-92, 1986.
- 17) 中島 充: プロテイン A-金コロイド法による各種腎疾患の免疫電顕的観察 II. フィブリノーゲン関連抗原(FRA)および第 XIII 因子 subunitA 抗原(F. XIII-A 抗原)の糸球体内局在性について. 奈医誌. 37: 93-109, 1986.
- 18) Woodroffe, A. J., Gormly, A. A. and McKenzie, P. E.: Immunologic studies in IgA nephropathy. *Kidney Int.* 18: 366-374, 1980.
- 19) Germuth, F.G. and Rodriguez, E.: Focal mesangio-pathic glomerulonephritis: prevalence and pathogenesis. *Kidney Int.* 7: 216-223, 1975.

- 20) **Morita, T., Suzuki, Y. and Churg, J.** : Structure and development of the glomerular crescent. *Am. J. Pathol.* **72** : 349-359, 1973.
- 21) **Kamitsuji, H., Matsunaga, T., Taira, K., Nakajima, M., Whitworth, J. A. and Kincaid-Smith, P.** : Urinary crosslinked fibrin degradation products in glomerular disease with crescents. *Clin. Nephrol.* **29** : 124-128, 1988.