

# アミロイドーシスにおける糸球体内アミロイド沈着様式, アミロイド蛋白および臨床症状の関係

奈良県立医科大学第1内科学教室

椎 木 英 夫

## CORRELATIONS BETWEEN MORPHOLOGICAL TYPES OF INTRAGLOMERULAR AMYLOID DEPOSITION, AMYLOID PROTEINS AND CLINICAL FEATURES IN AMYLOIDOSIS

HIDEO SHIIKI

*The First Department of Internal Medicine, Nara Medical University*

Received September 27, 1990

*Summary:* In order to elucidate the relationship of renal pathology to chemical types of amyloid protein and clinical features, 63 autopsy cases of renal amyloidosis were studied. Using plastic embedded sections, glomerular amyloid deposition was divided on the basis of morphological characteristics, into the following 4 types: mesangial nodular type showing nodular amyloid deposition in the mesangium with sparse involvement of the capillary wall (25 cases); mesangio-capillary type revealing diffuse amyloid deposits in the mesangium as well as along both sides of the capillary wall (20 cases); perimembranous type principally involving the subepithelial aspect of the capillary wall in which exuberant spicular formation is invariably observed (7 cases); and hilar type showing amyloid deposits almost exclusively in hilar arterioles (11 cases). Twenty-four of 25 cases of the mesangial nodular type (96%) showed deposition of AA protein. However, mesangio-capillary and perimembranous types were associated with deposition of AL protein in 16 of 20 (80%) and all 7 cases, respectively. In the hilar type, AA protein was observed in 8 of 11 cases (73%). Nephrotic syndrome was more frequent in patients with AL amyloidosis in which amyloid commonly involved the capillary wall; notably, all patients with the perimembranous type developed nephrotic syndrome irrespective of the extent of glomerular amyloid deposits. Chronic renal failure and renal death appeared more commonly in the mesangial nodular type in which the extent of glomerular amyloid deposits correlated not only with serum creatinine levels but also with that of vascular amyloid deposits. The results obtained suggest that the chemical type of amyloid protein (AA vs AL) is associated with significant differences in the morphological, clinical and prognostic features of renal involvement in amyloidosis.

### Index Terms

amyloidosis, AA and AL protein, chronic renal failure and renal death, morphology, nephrotic syndrome

---

## 緒 言

全身性アミロイドーシスは、身体各臓器にアミロイド線維が沈着することによって生ずる予後不良の疾患である。症状は、心、腎、肝、脾、消化器、副腎などの多臓器が冒されるので、多彩である。そのうちでも心不全と腎不全は死因の主体をなすものであり<sup>1,2)</sup>、心あるいは腎の病変の進展予防が臨床的に重要といえる。

アミロイドーシスは、古くは原疾患の有無あるいはアミロイドの沈着部位によって分類されてきたが、アミロイド線維蛋白の構造が分子レベルで解析されるようになってからは、アミロイド蛋白の種類を加味した分類が行われるようになってきた。厚生省特定疾患アミロイドーシス調査研究班<sup>3)</sup>では1)原発性、2)多発性骨髄腫合併例、3)続発性、4)分類困難例、5)遺伝性、6)限局性アミロイドーシスの6型に分類されている。一方、アミロイド蛋白は、少なくとも5種類以上が同定あるいは想定されている<sup>4)</sup>。腎に沈着するアミロイドに関しては、現在までにAA、ALおよびAF蛋白の3種類が証明されている<sup>5,6)</sup>。AA蛋白は、続発性アミロイドーシスや家族性地中海熱、AL蛋白は原発性および骨髄腫合併例、AF蛋白は遺伝性家族性アミロイドーシスに沈着するアミロイド蛋白といわれている<sup>5)</sup>。

アミロイドーシスの腎病変については、腎生検および剖検の材料を用いた多数の臨床病理学的検討が行われてきた<sup>7-11)</sup>。しかしながら、アミロイドーシスあるいはアミロイド蛋白の種類と腎病変、特に腎糸球体内アミロイド沈着様式との関係については一定した見解が得られていない。その原因には、大半の報告が観察可能な糸球体数に制限のある腎生検標本を主として検討していること、沈着したアミロイド蛋白を同定した報告が少ないことが挙げられる。さらに、アミロイド沈着部位についての検討では、その詳細が明瞭になる鍍銀標本を用いての報告が少ないことが一因と思われる。今回、63例の全身性アミロイドーシス剖検例を用いて、アミロイド沈着態度および免疫組織学的に決定したアミロイド蛋白の種類と臨床症状との関係についての詳細を検討した。

## 対象と方法

### 1. 対象

1974年から1987年の間に九州地区各病院および奈良県立医科大学附属病院で病理解剖を施行し、検索を許された77例の全身性アミロイドーシスのうち、糸球体内にアミロイド沈着を認めた63例を本研究の対象とした。その性別は男性26例と女性37例で、その年齢は21~85歳

(平均59歳)であった。57例が臨床的に全身性アミロイドーシスと診断されており、うち26例は腎、甲状腺、直腸、または胃の生検によって確診されていた。残る6例は剖検時にアミロイドーシスと診断された。

まず、対象を臨床診断から、原発性12例、骨髄腫合併例14例と続発性37例に分類した。続発性アミロイドーシスの基礎疾患をTable 1に示す。続発性アミロイドーシスのうち25例(68%)の原因疾患は慢性関節リウマチであった。

### 2. 臨床所見

臨床記録から蛋白尿、ネフローゼ症候群および高血圧の出現頻度について検討した。ネフローゼ症候群の診断基準は1日3.5g以上の尿蛋白と3g/dl以下の血清アルブミン値を満たすこと、高血圧の診断基準は血圧160/95mmHg以上を満足することとした。さらに腎機能障害の程度を調べるために慢性腎不全例(2.0mg/dl以上の血清クレアチニン値を示す症例)と腎死例(腎機能絶例)の出現頻度についても検討した。

### 3. 光顕的観察

ホルマリン固定された剖検腎組織をパラフィン包埋後に3~5 $\mu$ mに薄切し、hematoxylin-eosin (HE), periodic acid-Schiff (PAS), periodic acid-silver methenamine (PAM) およびCongo redの各染色を実施した。アミロイドは、Congo red染色標本を偏光顕微鏡下で観察して、重屈折性緑色偏光の検出によって証明した。

アミロイドの糸球体内沈着態度を詳細に観察するために、水溶液メタクリレート系樹脂包埋切片によるPAM染色を施行した。ホルマリン固定腎組織を脱水後、テクノビット (Technovit 7100, Kulzer & Co GmbH, Wehrheim, FRG) に包埋し、LKB2218 Histrange

Table 1. Basic disease in 37 patients with secondary amyloidosis

Basic disease	No. of cases
Chronic inflammatory disease	
Rheumatoid arthritis	25
Pulmonary tuberculosis	4
Bronchiectasis	2
Behçet's disease	1
Chronic bile duct infection	1
Chronic middle otitis	1
subtotal	34
Malignant tumor	
Lung cancer	1
Cervical cancer	1
Malignant lymphoma	1
subtotal	3

microtome を用いてガラスナイフで0.5~1.0 $\mu$ m に薄切した. ついで薄切切片に塩化金処理削除 PAM 染色を行った<sup>12,13)</sup>. この樹脂包埋切片には15~135(平均54)個の糸球体が含まれており, 今回の検討はこれら全糸球体を詳細に観察した.

#### 4. アミロイドーシスによる腎病変の評価

標本の観察は, 症例の病歴やアミロイド蛋白の種類などの情報を伏せて検鏡した. 糸球体内のアミロイド沈着の程度はアミロイド沈着の範囲から grade 1 (糸球体の25%未満にアミロイド沈着を認めるもの), grade 2 (25~50%), grade 3 (50~75%), grade 4 (75%以上) の4段階に分類した. 血管壁のアミロイド沈着は grade 0 (沈着のみられないもの), grade 1 (軽度の沈着のあるもの), grade 2 (中等度), grade 3 (高度) の4段階に分類した. さらに間質の線維化も同時に観察し, grade 0 (線維化のみられないもの), grade 1 (軽度の線維化のあるもの), grade 2 (中等度), grade 3 (高度) の4段階に分類した.

#### 5. アミロイド蛋白の同定

##### (1) 酵素抗体法

九州大学医学部神経病理北本哲之博士から供与されたウサギ抗 AA 血清と抗プレアルブミン血清を用いた. AF 蛋白の同定には免疫生化学的に関係が深く抗原性を同じくするプレアルブミンに対する抗血清を使用した. なお, この抗血清の特異性は Western blotting 法によって確認されている<sup>14,15)</sup>.

パラフィン包埋標本を3~5 $\mu$ m に薄切し, キシレンで脱パラフィンした. 0.01 M リン酸緩衝液 (PBS) (pH7.2) で洗浄後に, 室温で抗血清と1時間反応させた. 抗 AA 血清は4,000倍, 抗プレアルブミン血清は2,000倍に希釈して使用した. 陰性対照としての血清には非感作ウサギ血清を用いた. PBS で洗浄後 peroxidase-antiperoxidase (PAP) 法 (Dakopatts, Santa Barbara, CA, USA) を施行した. すなわちヤギ抗ウサギ IgG 抗体を30分反応させた後, PBS で洗浄し, PAP 複合体を30分反応させた. ペルオキシターゼを0.03% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-3,3'-diaminobenzidine (DAB) 基質溶液で2~3分間発色させた. 後染色として hematoxylin 染色を加えた.

##### (2) 組織化学反応

アミロイド蛋白に過マンガン酸カリウム (KMnO<sub>4</sub>) 反応を実施した<sup>16)</sup>. パラフィン包埋標本から5 $\mu$ m の切片を作製し, 脱パラフィン後に KMnO<sub>4</sub> 溶液 (0.3% 硫酸と5% KMnO<sub>4</sub> 等量溶液) と2~3分間反応させた. 5% 硫酸で洗浄後に Congo red 染色を施した.

アミロイド蛋白の同定には酵素抗体法の成績を重視し,

KMnO<sub>4</sub> 反応性を参考とした<sup>12)</sup>. AA 蛋白は, 抗 AA 血清に陽性反応を示すが, 抗プレアルブミン血清には陰性である (Fig. 1). また同蛋白は, KMnO<sub>4</sub> 処理に対しては感受性を示し, Congo red で染色されなくなる. 一方, AL 蛋白は, 両抗血清に対して陰性であり KMnO<sub>4</sub> 処理後でも Congo red に染色される.

#### 6. 推計学的処理

推計学的処理は  $\chi^2$  検定, Fisher の直接確率計算法および Spearman 相関係数によって, 危険率5%以下を有意性ありとした.

## 成 績

### 1. アミロイド蛋白と臨床診断との関係

酵素抗体法と KMnO<sub>4</sub> 反応によるアミロイド蛋白同定の成績を Table 2 に示す. 酵素抗体法による検索から, 対象の63例は AA アミロイドーシスが36例, AL アミロイドーシスが27例であり, AF 蛋白沈着例は1例も存在しなかった. 免疫組織学的に決定したアミロイド蛋白

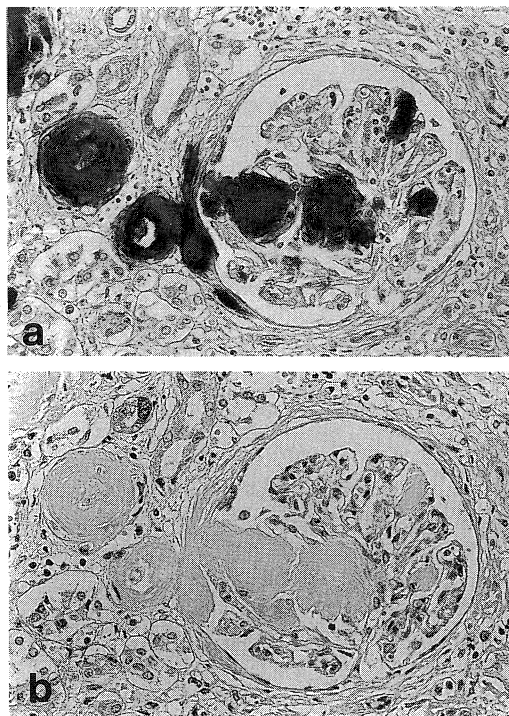


Fig. 1. A glomerulus with AA deposits.

a: Using the PAP method, nodular deposits of amyloid in the mesangium and arterioles positively stained with anti-AA serum.

b: Staining of a consecutive section with anti-prealbumin serum is negative. (PAP staining, a, b,  $\times 170$ )

Table 2. Correlation of clinical, immunohistochemical and histochemical classification of 63 cases of amyloidosis

Staining method	Clinical classification			Total
	Primary	Myeloma-associated	Secondary	
No. of cases	12	14	37	63
Anti-AA :				
positive	0	0	36	36
negative	12	14	1*	27
Anti-prealbumin :				
positive	0	0	0	0
KMnO <sub>4</sub> reaction :				
sensitive	1	1	36	38
resistant	11	13	1*	25

\*same case

の種類と臨床診断から予想されるアミロイド蛋白とはきわめてよく一致したが、1例のみが不一致の結果を示した。この症例は約7年間の病歴をもつ慢性関節リウマチの女性であり、続発性アミロイドーシスと診断された。しかし、沈着したアミロイドは抗AA血清と反応せず、KMnO<sub>4</sub>反応に抵抗性を示した。

アミロイド蛋白同定の検討では、酵素抗体法とKMnO<sub>4</sub>反応による結果は、2例を除いて一致していた。この2例は、アミロイドーシスの原因疾患が原発性と骨髄腫合併例であった。両例のアミロイド蛋白はKMnO<sub>4</sub>反応に感受性であったが、抗AA血清に反応しなかった。

## 2. 糸球体病変

### (1)アミロイドの糸球体内沈着様式

樹脂包埋切片を観察すると、アミロイドは褐色から茶褐色に染色され、黒色に染色される基底膜、メサンギウム基質との関係が通常のPAM染色に比して明瞭となった。この方法で糸球体内アミロイド沈着態度を詳細に検討したところ、対象の63例は以下の4型に分類された。

I型(メサンギウム結節型)：アミロイドがメサンギウム領域に結節状に沈着するが、毛細血管自由縁にはほとんど沈着を示さないもので、糖尿病性腎症の結節性病変に類似していた (Fig. 2)。

II型(メサンギウム毛細血管型)：アミロイド沈着がメサンギウム領域のみならず、それと連続してあるいは単独に毛細血管壁の内外側に認められるもの (Fig. 3)。

III型(膜周囲型)：アミロイドが基底膜に沿って上皮下に沈着し、基底膜内皮側やメサンギウムの沈着は軽微にとどまるもの (Fig. 4,5)。この型の特徴として、アミロイドーシスに特異的とされる基底膜から外側へ垂直に、

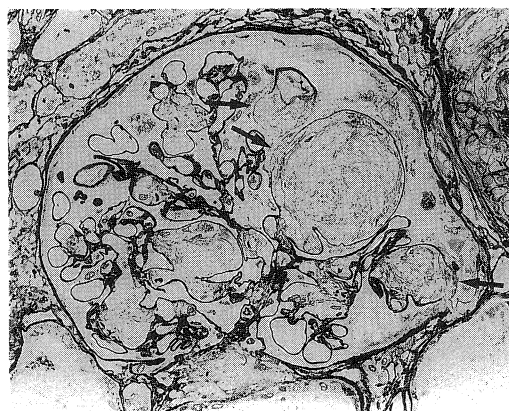


Fig. 2. Type I of glomerular amyloidosis (mesangial nodular type) : amyloid deposits forming variably sized nodules in the mesangium. Decrease in argyrophilia of the glomerular basement membrane is occasionally observed in relation to amyloid deposits (arrows). (Silver staining,  $\times 165$ )

放射状に配列する好銀性突起物のスピクル形成が著明であった。また、この型の初期病変では、しばしばアミロイドは毛細血管自由縁に単独に沈着し、スピクルは膜性腎症にみられるスパイクに酷似していた (Fig. 4)。

IV型(門部型)：アミロイドが糸球体門部細動脈に結節状に限局して沈着し、メサンギウムと毛細血管にはほとんど沈着がみられないもの (Fig. 6)。

以上に示した糸球体沈着様式は個々の症例において画一であり、例えばI型とIII型が混在することはなかった。各組織型の症例数はI型25例、II型20例、III型7例、

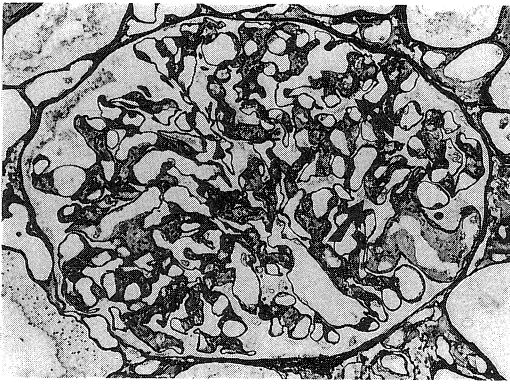


Fig. 3. Type II of glomerular amyloidosis (mesangio-capillary type) : amyloid deposits spreading out diffusely from the mesangium to inner as well as outer aspects of the capillary wall. Arrows indicate spicules. (Silver staining,  $\times 170$ )

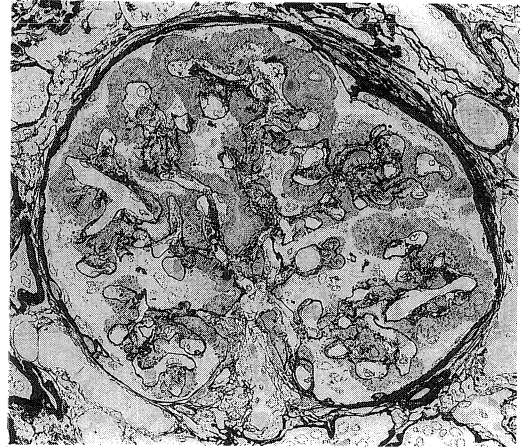


Fig. 5. Advanced stage of perimembranous type : even in a severely affected glomerulus, amyloid deposits characteristically involving the epithelial side of the capillary wall. (Silver staining,  $\times 170$ )

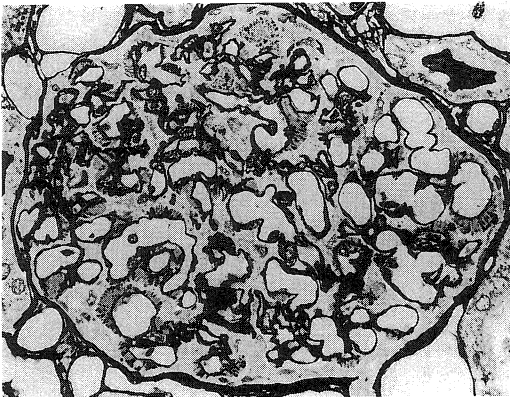


Fig. 4. Type III of glomerular amyloidosis (perimembranous type) : amyloid deposits principally affecting the epithelial side of the capillary wall. Spicular formation is conspicuous. (Silver staining,  $\times 170$ )

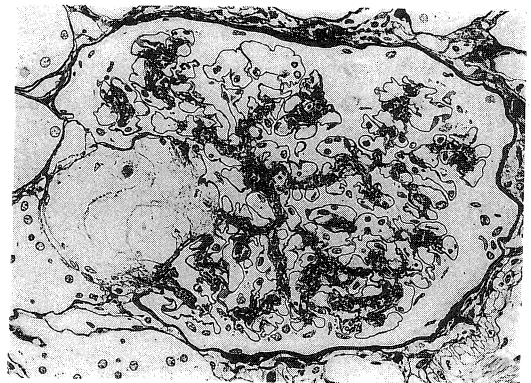


Fig. 6. Type IV of glomerular amyloidosis (hilar type) : hilar arteriole showing nodular expansion by amyloid deposition. (Silver staining,  $\times 150$ )

IV型 11例であった。なお、きわめて少量の糸球体内アミロイドは Congo red, HE, PAS 染色標本ではしばしば見逃されることがあったが、樹脂包埋切片では比較的容易にアミロイドを発見することができた<sup>17)</sup>。

(2) 糸球体内沈着様式とアミロイド蛋白との関係

各組織型とアミロイド蛋白の種類との関係を Table 3 に示す。I型では 25 例中 24 例 (96%) が AA 蛋白の沈着を示し、AA アミロイドーシスが優位であった。残る 1 例の AL アミロイドーシスは、前述した慢性関節リウマチと AL アミロイドーシスを合併した例であった。一方、II型では 20 例中 16 例 (80%) が、III型では 7 例全例が

Table 3. Morphological types of glomerular amyloidosis related to chemical types of amyloid protein

Morphological type	Amyloid protein	
	AA	AL
I. Mesangial nodular	24	1
II. Mesangio-capillary	4	16
III. Perimembranous	0	7
IV. Hilar	8	3
Total	36	27

AL 蛋白の沈着を示し、AL アミロイドーシスの優位性が明らかとなった。IV型では11例中8例がAA 蛋白沈着例であり、AA アミロイドーシスが多かった。

(3)スピクルおよび基底膜変化について

基底膜上皮側に沈着したアミロイドは、しばしば“hair-like”や“comb-shaped”と表現されるスピクルを形成した<sup>7,8,18,19</sup> (Fig. 7)。スピクル形成と各組織型との関係については、全体では36例(57%)にスピクルの出現が認められるが、I型12例(48%)、II型17例(85%)、III型7例全例に観察された(Table 4)。III型では常にスピクル形成が認められることは特筆に値する。スピクル形成とAA およびAL アミロイドーシスとの関係については、AA およびAL アミロイドーシスの両者に観察された。しかし、AL アミロイドーシスのスピクル出現頻度は、27例中20例(74%)であり、36例中16例(44%)のAA アミロイドーシスに比して有意に高かった( $p < 0.05$ )。

アミロイドの毛細血管壁沈着例では、スピクル形成以外にも種々の興味ある形態学的変化が観察された。基底膜のアミロイド沈着部位における好銀性の低下あるいは消失が最も頻繁に認められ (Fig. 2)、少量のアミロイド沈着部位も容易に検出できた。またアミロイドの沈着に伴い、上皮下および内皮下に基底膜様物質の新生<sup>7,8</sup>がしばしば認められた (Fig. 8)。この膜新生像は、全体では20例(32%)に認められ、組織型別ではI型10例(40

%)、II型8例(40%)、III型2例(29%)に出現していた (Table 4)。つまり、膜新生像の出現頻度は各組織型間に差がなかったが、I、II型には膜新生像を呈する症例が多かったといえる。

3. 血管、間質病変

(1)血管病変

今回の対象とした症例は全例が血管壁にアミロイド沈



Fig. 8. New formation of argyrophilic membrane is observed on the epithelial aspect of the amyloid (arrows). The glomerular basement membrane embedded in the amyloid shows loss of argyrophilia. (Silver staining,  $\times 350$ )

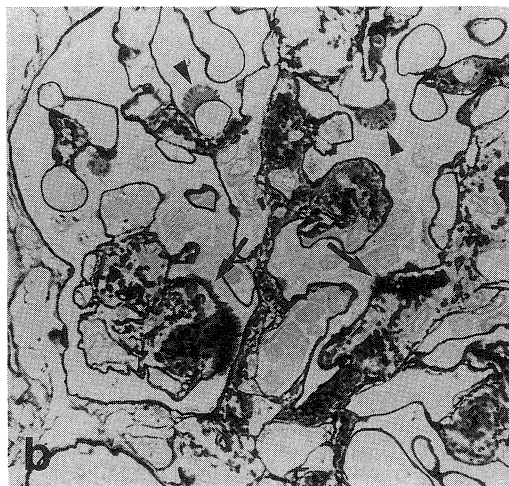
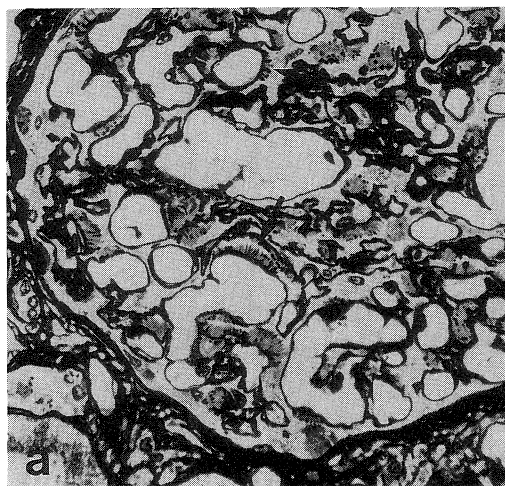


Fig. 7. Amyloid spicules.

a : comb-shaped spicules are conspicuous along the outer aspect of the capillary wall (arrows). Spicules occasionally resemble the spikes in membranous glomerulonephritis.  
 b : Fine argyrophilic spicules projecting to the outer aspect of the capillary wall (arrows). Amyloid deposits are occasionally located in glomerular loops distant from the mesangium (arrowheads). (Silver staining, a, b  $\times 400$ )

着を示した。アミロイドは, 毛細血管, 細動脈から葉間動静脈に至るまで種々の程度で沈着していたが, 小血管をより強く障害し, 特に直血管に沿っての沈着が著明であった。血管は, しばしば全層性に侵されたが, 時に中膜に限局して障害された。アミロイド沈着以外には, 内膜の線維性肥厚がよく観察された。

(2)血管壁アミロイド沈着の程度と糸球体病変の関係

血管壁のアミロイド沈着は, I型の症例に高度であり, 糸球体内沈着の程度と相関した (Table 5)。II型もI型と同様の傾向を示したが, 推計学的には有意ではなかった。III, IV型では, 血管壁沈着は概ね軽度から中等度に留まった。高度の沈着を示す29例ではAAアミロイドーシス例が19例(66%)を占めたが推計学的には有意ではなかった。

(3)尿細管間質病変

尿細管および間質のアミロイド沈着は, 主として散在性, また時に集合性にみられ, 糸球体および血管壁のアミロイド沈着の程度に概ね平行した。尿細管に沈着したアミロイドはしばしばスピクル構造を示した。アミロイド沈着以外には, 種々の程度の間質の線維化, 単核球の浸潤と尿細管の萎縮が観察された。間質の線維化は血管壁のアミロイド沈着の高度な例に著明であった。

4. 糸球体内沈着態度と臨床所見との関係

臨床症状の出現頻度を組織型別に Table 6 に示す。蛋白尿は, 62例中51例(82%) (1例は蛋白尿の記載なし) に認められ, 腎症状のうちでは最も高頻度に出現していた。I, II, III型では大部分の症例が蛋白尿を呈しており, これら組織型の蛋白尿の出現頻度は糸球体壁に沈着のみられないIV型に比して有意に高かった (I型とIII型に対して  $p < 0.05$ , II型に対して  $p < 0.01$ )。さらに62例中20例(32%)の症例が臨床経過中にネフローゼ症候群を呈した。ネフローゼ症候群は, II型においてはアミロイド沈着の進展とともに出現頻度も増加したが, I, III型

では沈着したアミロイドの程度とは相関しない症例が存在した。特にIII型を示す症例は全例がネフローゼ症候群を呈し, その出現頻度は他の組織型に比して有意に高かった (I型とIV型に対して  $p < 0.01$ , II型に対して  $p < 0.05$ )。

高血圧は52例中16例(31%)にみられ, その出現頻度は各組織型間に差がなかった。

腎不全と腎死は, それぞれ62例中36例(58%)と19例(31%)に出現しており, 概ね糸球体内アミロイド沈着の程度に平行した。組織型との関係については, 両症状の出現頻度はともにI型の症例に最も高頻度にみられ, 糸球体内アミロイド沈着を欠くIV型に比して有意に高かった ( $p < 0.01$ ,  $p < 0.05$ )。組織型別に糸球体内アミロイド沈着の程度と血清クレアチニン値との関係を検討すると, I型のみが有意の相関を示したにすぎない ( $r_s = 0.755$ ,  $p < 0.001$ ) (Table 7)。血管壁アミロイド沈着, 間質の線維化の程度と血清クレアチニン値との関係を Table 8 に示す。血管壁アミロイド沈着, 間質の線維化の程度と血清クレアチニン値は有意の相関を示した ( $r_s = 0.600$ ,  $p < 0.001$ ,  $r_s = 0.653$ ,  $p < 0.001$ )。

考 察

アミロイドの腎内沈着態度については, 今までに多数の研究や報告がなされており, 種々の分類が試みられて

Table 4. Relationship between prevalence of spicules and new basement membrane formation and morphological types of glomerular amyloidosis

Morphological type	Spicules	New basement membrane formation
I	12 (48)	10 (40)
II	17 (85)	8 (40)
III	7(100)	2 (29)
IV	0	0
Total	36 (57)	20 (32)

( ) percentage in parenthesis.

Table 5. Correlation between the extent of glomerular and vascular amyloid deposition

Morphological type	Grade of glomerular amyloid	Grade of vascular deposition		
		1	2	3
I*	1	2	3	3
	2	0	1	3
	3	0	1	8
	4	0	0	4
II	1	1	3	2
	2	3	1	4
	3	0	2	2
	4	0	0	2
III	1	2	0	0
	2	1	1	0
	3	1	0	0
	4	0	2	0
IV		6	4	1
Total		16	18	29

\*correlation coefficient,  $r_s = 0.542$  ( $p < 0.01$ ).

Table 6. Morphological types of renal amyloidosis and clinical features

Morphological type	Proteinuria	Nephrotic syndrome	Hypertension	Chronic renal failure	Renal death
<b>Type I</b>					
grade : 1	5/ 8 (63)	2/ 8 (25)	1/ 7 (14)	4/ 8 (50)	1/ 8 (13)
2	2/ 3 (67)	0/ 3 (0)	0/ 1 (0)	3/ 3 (100)	0/ 3 (0)
3	9/ 9 (100)	3/ 9 (33)	4/ 9 (44)	9/ 9 (100)	7/ 9 (78)
4	4/ 4 (100)	0/ 4 (0)	2/ 3 (67)	4/ 4 (100)	4/ 4 (100)
subtotal	20/24 (83)	5/24 (21)	7/20 (35)	20/24 (83)	12/24 (50)
<b>Type II</b>					
grade : 1	5/ 6 (83)	0/ 6 (0)	3/ 3 (100)	2/ 6 (33)	0/ 6 (0)
2	8/ 8 (100)	3/ 8 (28)	0/ 7 (0)	5/ 8 (63)	2/ 8 (25)
3	4/ 4 (100)	3/ 4 (75)	0/ 4 (0)	2/ 4 (50)	2/ 4 (50)
4	2/ 2 (100)	2/ 2 (100)	1/ 2 (50)	2/ 2 (100)	2/ 2 (100)
subtotal	19/20 (95)	8/20 (40)	4/16 (25)	11/20 (55)	6/20 (30)
<b>Type III</b>					
grade : 1	2/ 2 (100)	2/ 2 (100)	0/ 2 (0)	0/ 2 (0)	0/ 0 (0)
2	2/ 2 (100)	2/ 2 (100)	1/ 2 (50)	0/ 2 (0)	0/ 2 (0)
3	1/ 1 (100)	1/ 1 (100)	1/ 1 (100)	1/ 1 (100)	1/ 1 (100)
4	2/ 2 (100)	2/ 2 (100)	0/ 2 (0)	2/ 2 (100)	0/ 2 (0)
subtotal	7/ 7 (100)	7/ 7 (100)	2/ 7 (29)	3/ 7 (43)	1/ 7 (14)
<b>Type IV</b>					
grade : 1	5/11 (45)	0/11 (0)	3/ 9 (33)	2/11 (18)	0/11 (0)
<b>Total</b>					
Total	51/62 (82)	20/62 (32)	16/52 (31)	36/62 (58)	19/62 (31)

No. of positive case/ cases in which data were obtained shows in Table.

( ) percentage in parenthesis, \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$  (Fisher's test).

Table 7. Correlation between the grade of glomerular amyloid deposition and serum creatinine

Morphological type	Grade of glomerular amyloid	Serum creatinine (mg/dl)		
		Less than 2.0	2.0—5.0	More than 5.0
I *	1	4	3	1
	2	0	3	0
	3	0	2	7
	4	0	0	4
II	1	4	2	0
	2	3	3	2
	3	2	0	2
	4	0	0	2
III	1	2	0	0
	2	2	0	0
	3	0	0	1
	4	0	1	1
IV		9	2	0

\*correlation coefficient,  $r_s = 0.755$  ( $p < 0.001$ ).



Table 8. Correlation between the extent of vascular amyloid deposition, interstitial fibrosis and serum creatinine levels

Serum creatinine (mg/dl)	Vascular deposition*			Interstitial fibrosis**			
	1	2	3	0	1	2	3
Less than 2.0	12	10	4	8	14	3	1
2.0-5.0	3	6	6	3	7	4	2
more than 5.0	1	2	18	0	1	9	10

\*correlation coefficient,  $r_s=0.600$  ( $p<0.001$ )

\*\*correlation coefficient,  $r_s=0.653$  ( $p<0.001$ ).

きた。Watanabe & Saniter<sup>7)</sup>はメタクリレート系樹脂包埋切片を使用して122例の腎生検標本を検討し, nodular および diffuse の両沈着様式がみられたことを報告した。彼らの検討では, 原発性と続発性アミロイドーシスの間には形態学的差がみられなかったという。後に Dikman, et al.<sup>9)</sup>は45例の腎生検例と33例の剖検例の両者について検討し, アミロイド沈着様式を segmental, diffuse, nodular, mixed nodular-diffuse の4組織型に分類した。Dikman, et al.<sup>9)</sup>は続発性アミロイドーシスには nodular 型の出現頻度が高かったと述べている。しかしながら, 両研究共にアミロイド蛋白の同定は行っていない。一方, 系統的分類の報告の他に, Ansell & Joeke<sup>18)</sup>, Moorthy & Burkholder<sup>19)</sup>は, 本研究のIII型に相当するものと思われる糸球体壁優位のアミロイド沈着と著明なスピクル出現を示す症例を報告している。さらには腎内血管壁沈着が優位な組織像である続発性アミロイドーシス例も報告された<sup>20)</sup>。しかしながら今日までに糸球体内沈着様式と化学的に証明されたアミロイド蛋白の種類および臨床所見との関係について系統的に検討した研究は, わずかに2報告<sup>10,11)</sup>をみるにすぎない。Kemény, et al.<sup>10)</sup>と Nakamoto, et al.<sup>11)</sup>は  $KMnO_4$  反応を用いてアミロイド蛋白を同定しているが, AL アミロイドーシスには diffuse 型の出現頻度が高いと報告している。なお, Kemény, et al.<sup>10)</sup>の検討は3例の腎生検例と10例の necropsy 例, Nakamoto, et al.<sup>11)</sup>の検討は11例の腎生検例と15例の剖検例を観察したものであり, 今回の検討に比して少数例の検討であった。

一般に, 糸球体へのアミロイド沈着はアミロイドーシスの初期では少量でかつ巣状分節状である場合が多く, 沈着の進展とともに沈着部位とその範囲が均一あるいはびまん性になることが知られている<sup>9)</sup>。つまり, 含まれる糸球体数に制限のある腎生検標本では初期のアミロイドーシス(本研究の grade 1)の把握がしばしば困難と予想される。さらにメタクリレート系樹脂包埋切片は準超微

形態像を容易に得ることができるので, アミロイド局在の観察に適することも判明している<sup>19)</sup>。そこで, 今回の検討では多数の糸球体が観察可能な剖検標本をメタクリレート系樹脂包埋切片で検討した。さらにアミロイド蛋白の同定には従来通りの  $KMnO_4$  法による組織化学的手法に加えて, 免疫組織学的手法を併用した。

#### 1. アミロイドーシスの形態分類

剖検標本を用いた本研究では, 糸球体内アミロイド沈着様式はメサンギウム結節型(I型), メサマギウム毛細血管型(II型), 膜周囲型(III型), 門部型(IV型)の4組織型に分類し得た。また今回の検討から, 糸球体沈着様式とアミロイド蛋白の種類間に密な関係の存在することが明らかになった。結節状のメサンギウム沈着を呈するI型は1例を除いて全例がAA蛋白の沈着を示した。さらに同型では血管侵襲が著明であり, その程度はアミロイドの糸球体障害度と相関した。膜周囲沈着のIII型は, I型とは対照的にAL蛋白沈着を示しており, スピクル形成が著明であった。I型とIII型の混合型あるいは移行型を示すII型ではAA蛋白例とAL蛋白例が混在したが, AL蛋白例が優位であった。血管障害のみを示すIV型はAA蛋白例が優位であった。上述した今回の成績は, Dikman, et al.<sup>9)</sup>, Kemény, et al.<sup>10)</sup>, Nakamoto, et al.<sup>11)</sup>によるものと矛盾せず, アミロイド蛋白の種類による形態学的変化をより一層明らかにしたといえる。またスピクル形成についても, 今回の成績はDikman, et al.<sup>9)</sup>の原発性アミロイドーシスに多いという記載に一致している。

#### 2. 糸球体アミロイドーシスの発生病理

アミロイドーシスの発生機序としては, 網内系細胞に貪食された前駆物質がライソゾーム酵素によってアミロイド線維に減成(degradation)されるためと一般的に考えられている<sup>4,21)</sup>。さらに血清や組織液中に含まれるライソゾーム酵素によっても前駆物質が減成されるのではないかと推察されている<sup>22)</sup>。しかしながら, これらの諸説もすべての研究者を満足させるには至らない。今回の検

討はアミロイドーシスの発生機序の解明を目的としたものではないが、得られた成績からアミロイド蛋白には糸球体内組織親和性を有することが推測された。つまり、AA と AL 蛋白の両者はともにメサンギウム域、上皮下および内皮下に沈着するものであるが、それぞれの糸球体内沈着の優位部位の相違が形態学的差異として反映されたことを示唆しているものと思われる。従来から実験的 AA アミロイドーシスにおいてはアミロイド線維はまずメサンギウム域に沈着するといわれてきた<sup>23,24)</sup>。今回の検討では AA 蛋白がメサンギウム域優位の結節状沈着を示しており、この沈着様式は AA 蛋白のメサンギウム親和性と AA 蛋白沈着時におけるメサンギウム細胞の関与を推察させる。一方、AL 蛋白は、AA 蛋白とは対照的に、びまん性沈着を示す傾向にあった。さらに同蛋白はメサンギウム域とは隔たった係蹄壁に単独に沈着することがあり、その典型が III 型であるといえよう。特に III 型においては上皮下への親和性が著明であり、本型は従来からの説<sup>9,12,25,26)</sup>のように上皮細胞のライソゾーム酵素の関与を強く示唆するものである。さらに糸球体基底膜には陰性電荷が存在しているために、陽性電荷の免疫複合体が基底膜上皮下に沈着するのを容易にしていることもよく知られている<sup>27)</sup>。したがって、III 型を示す症例ではその前駆物質 (L 鎖) の電荷も親和性に関与している可能性がある。

### 3. 臨床症状と組織型との関係

臨床症状中ではネフローゼ症候群および腎不全の出現頻度と糸球体内沈着様式との関係が興味深い。

#### (1) ネフローゼ症候群

ネフローゼ症候群の出現頻度は係蹄壁沈着が優位である AL アミロイドーシス例に高かった。さらに III 型のようにスピクル形成の著明な症例は、従来の報告<sup>8,25,28)</sup>と同様に軽度のアミロイド沈着の場合でもネフローゼ症候群の出現をみており、アミロイド沈着の程度とは無関係にネフローゼ症候群を呈した。糸球体基底膜は陰性電荷と緻密層の立体構造によって物質の透過を調節していることは周知のことである<sup>29-32)</sup>。今回の検討では従来の報告<sup>7,12,17)</sup>と同様にアミロイド沈着部位における基底膜の好銀性の低下や菲薄化が光顕的に認められた。電顕的観察においてもアミロイド沈着部位の緻密斑は不明瞭化、菲薄化、好銀性の低下を示し、さらにはスピクル部位では上皮細胞の剝離や足突起の消失が常時観察されている<sup>17,25,28)</sup>。つまり、アミロイド沈着部位の基底膜および上皮細胞における高度の障害がアミロイドーシスにおける高度蛋白尿の原因として推察される。

#### (2) 腎機能障害

腎機能障害の出現頻度は糸球体アミロイド沈着程度と概ね平行して増加し、血管壁沈着と間質の線維化の程度は血清クレアチニン値と良好な相関を示した。特に I 型の AA アミロイドーシスでは、腎不全と腎死の両者の出現頻度が最も高く、糸球体アミロイド沈着の程度は血管沈着程度および血清クレアチニン値と相関した。つまり、糸球体アミロイド沈着の程度、血管壁沈着の程度、および間質の線維化の程度の 3 者と腎機能の間には密な関係の存在することが明らかになった。Mackensen, et al.<sup>33)</sup> は腎生検標本の形態計測を行い、アミロイドーシスにおける腎機能障害は糸球体アミロイド沈着のみならず間質の線維化に起因することを報告した。引き続いて Törnroth, et al.<sup>34)</sup> は、続発性アミロイドーシス例を検討して血管壁アミロイドの程度と間質の線維化が腎機能悪化に関与していると述べており、その原因としてアミロイド沈着が血管の狭小化や閉塞による虚血状態を惹起して間質の線維化とネフロンを消失を招来させるためと考えた。今回の成績も上記の成績<sup>33,34)</sup>と同様であった。また今回の研究では、高度の血管病変を示す症例の出現頻度は AA アミロイドーシスが AL アミロイドーシスに比して高かった。以前には原発性や骨髄腫に合併するアミロイドーシス (AL アミロイドーシス) に高度の血管病変が多いと考えられていたが<sup>5,35)</sup>、最近の報告では逆に AA アミロイドーシスに高頻度であると言われている<sup>20,36)</sup>。さらに Falck, et al.<sup>20)</sup> は、続発性アミロイドーシス例の中には血管を主に障害される症例がみられ、そのような症例においても腎不全に陥ることがあると述べている。個々の症例においては腎機能に影響を与える因子はそれぞれ異なるものと思われるが、これらの最近の報告と今回の成績を考え合わせると、AA アミロイドーシス例においては血管病変が腎機能障害に重要な役割を果たしているものと推測される。

## 結 語

アミロイドーシスにおける糸球体内アミロイド沈着様式、アミロイド蛋白および臨床症状の関係を明かにする目的で、63 例の全身性アミロイドーシス剖検例を用いて臨床病理学的検討を行い、以下の成績を得た。

1. 樹脂包埋切片の観察により、腎アミロイドーシスは I 型 (メサンギウム結節型)、II 型 (メサンギウム毛細血管型)、III 型 (膜周囲型) および IV 型 (門部型) の 4 型に分類された。

2. I 型は 1 例を除き AA 蛋白の沈着を示した (AA アミロイドーシス)。II 型では AA、AL アミロイドーシスが混在したが、AL アミロイドーシスの頻度が高く、III

型では全例がALアミロイドーシスであった。IV型では両者の存在が認められたが, AAアミロイドーシスの頻度が高かった。

3. ネフローゼ症候群の出現頻度は係蹄壁沈着を示すALアミロイドーシス症例に高かった。特にIII型は, 著明なスピクル形成を示しており, アミロイド沈着の程度と無関係に全例がネフローゼ症候群を呈した。

4. 腎機能障害の程度は, 糸球体のアミロイド沈着の程度, 血管壁沈着の程度, 間質の線維化の程度と相関した。特にAAアミロイドーシスは高度の血管壁沈着を呈する症例の頻度が高く, 腎機能障害に重要な役割を果たすものと思われた。

以上の成績から, 沈着するアミロイド蛋白の種類によって, 形態学および臨床的相違が存在することが明らかになった。

本論文の要旨は第29回日本腎臓学会総会(1986年11月, 東京)において発表した。

稿を終えるにあたり, 御指導, 御校閲を賜りました内科学第1講座石川兵衛教授に深甚なる謝意を捧げるとともに, 御校閲, 御助言を賜りました病理学第1講座青笹克之教授ならびに病理学第2講座日浅義雄教授に深謝いたします。さらに直接, 御指導, 御教示いただきました佐賀医科大学病理学教室渡邊照男教授ならびに土肥和紘講師に感謝します。また終始, 御協力いただきました佐賀医科大学病理学教室ならびに第1内科学教室腎研究班の諸兄に感謝の意を表します。

## 文 献

- Brandt, K., Cathcart, E. S. and Cohen, A. S. : A clinical analysis of the course and prognosis of forty-two patients with amyloidosis. *Am. J. Med.* **44** : 955, 1968.
- Kyle, R. A. and Bayrd, E. D. : Amyloidosis : review of 236 cases. *Medicine* **54** : 271, 1975.
- 厚生省特定疾患アミロイドーシス調査研究班(班長山村雄一), 昭和50年度報告書, p5, 1976.
- Glenner, G. G. : Amyloid deposits and amyloidosis. The  $\beta$ -fibrillose. First of two parts. *N. Engl. J. Med.* **302** : 1283, 1980.
- Glenner, G. G. : Amyloid deposits and amyloidosis. The  $\beta$ -fibrillose. Second of two parts. *N. Engl. J. Med.* **302** : 1333, 1980.
- Hill, G. S. : Multiple myeloma, amyloidosis, Waldenström's macroglobulinemia, cryoglobulinemias, and benign monoclonal gammopathies. *in Pathology of the kidney* (Heptinstall, R. H., ed.). 3rd ed., Little, Brown and Co., Boston, p993, 1983.
- Watanabe, T. and Saniter, T. : Morphological and clinical features of renal amyloidosis. *Virchows Arch. A (Pathol. Anat.)* **366** : 125, 1975.
- Dikman, S. H., Churg, J. and Kahn, T. : Morphologic and clinical correlates in renal amyloidosis. *Hum. Pathol.* **12** : 160, 1981.
- Nolting, S. F. and Campbell, W. G. Jr. : Subepithelial argyrophilic spicular structures in renal amyloidosis. An aid in diagnosis. *Hum. Pathol.* **12** : 724, 1981.
- Kemény, É., Mohácsi, G., Sonkodi, S. and Ormos, J. : Renal amyloidosis. Histological differentiation based on chemical types compared to Reimann's classification. *Zentralbl. Allg. Pathol.* **128** : 379, 1983.
- Nakamoto, Y., Hamanaka, S., Akihama, T., Miura, A. B. and Uesaka, Y. : Renal involvement patterns of amyloid nephropathy : a comparison with diabetic nephropathy. *Clin. Nephrol.* **22** : 188, 1984.
- Shiiki, H., Shimokama, T., Yoshikawa, Y., Toyoshima, H., Kitamoto, T. and Watanabe, T. : Renal amyloidosis. Correlations between morphology, chemical types of amyloid protein and clinical features. *Virchows Arch. A (Pathol. Anat.)* **412** : 197, 1988.
- 武藤文博, 下釜達朗, 椎木英夫, 渡邊照男 : 水溶性メタクリレート系樹脂包埋切片による腎組織の過沃素酸メセナミン銀(PAM)染色. *病理と臨床* **6** : 595, 1988.
- Kitamoto, T., Tashima, T. and Tateishi, J. : Novel histochemical approaches to the prealbumin-related senile and familial forms of systemic amyloidosis. *Am. J. Pathol.* **123** : 407, 1986.
- Kitamoto, T., Ogomori, K., Tateishi, J. and Prusiner, S. B. : Formic acid pretreatment enhances immunostaining of cerebral and systemic amyloids. *Lab. Invest.* **57** : 230, 1987.
- Wright, J. R., Calkins, E. and Humphrey, R. L. : Potassium permanganate reaction in amyloidosis. A histologic method to assist in

- differentiating forms of this disease. *Lab. Invest.* **36**: 274, 1977.
- 17) **Shiiki, H., Shimokama, T., Yoshikawa, Y., Onoyama, O., Morimatsu, M. and Watanabe, T.**: Perimembranous-type renal amyloidosis: A peculiar form of AL amyloidosis. *Nephron* **53**: 27, 1989.
- 18) **Ansell, I. D. and Joekes, A. M.**: Spicular arrangement of amyloid in renal biopsy. *J. Clin. Pathol.* **25**: 1056, 1972.
- 19) **Moorthy, A. V. and Burkholder, P. M.**: Unusual appearance of amyloid in renal biopsy specimen. *Arch. Pathol. Lab. Med.* **101**: 664, 1977.
- 20) **Falck, H. M., Törnroth, T. and Wegelius, O.**: Predominantly vascular amyloid deposition in the kidney in patients with minimal or no proteinuria. *Clin. Nephrol.* **19**: 137, 1983.
- 21) **Glener, G. G., Harbaugh, J., Ohmr, J. I., Harada, M. and Cuatrecasas, P.**: An amyloid protein: The amino-terminal variable fragment of an immunoglobulin light chain. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **41**: 1287, 1970.
- 22) 内野文彌, 横田忠明, 高橋睦夫, 藤原茂芳, 石原得博: アミロイドおよびアミロイド症研究の最近の進歩. *山口医学* **31**: 517, 1983.
- 23) **Caesar, R.**: Elektronenmikroskopische Beobachtungen bei der Nierenamyloidose des Goldhamsters. *Frankf. Zentralbl. Pathol.* **72**: 506, 1963.
- 24) **Shirahama, T. and Cohen, A. S.**: Fine structure of the glomerulus in human and experimental renal amyloidosis. *Am. J. Pathol.* **51**: 869, 1967.
- 25) **Gise, H. v., Christ, H. and Bohle, A.**: Early glomerular lesions in amyloidosis. Electronmicroscopic findings. *Virchows Arch. A (Pathol. Anat.)* **390**: 259, 1981.
- 26) **Thoenes, W. and Schneider, H-M.**: Human glomerular amyloidosis—with special regard to proteinuria and amyloidogenesis. *Klin. Wochenschr.* **58**: 667, 1980.
- 27) **Vogt, A.**: New aspects of the pathogenesis of immune complex glomerulonephritis: formation of subepithelial deposits. *Clin. Nephrol.* **21**: 15, 1984.
- 28) **Katafuchi, R., Taguchi, T., Takebayashi, S. and Harada, T.**: Proteinuria in amyloidosis correlates with epithelial detachment and distortion of amyloid fibrils. *Clin. Nephrol.* **22**: 1, 1984.
- 29) **Caulfield, J. P. and Farquhar, M. G.**: The permeability of glomerular capillaries to graded dextrans. *J. Cell Biol.* **63**: 883, 1974.
- 30) **Chang, R. L. S., Deen, W. M., Robertson, C. R. and Brenner, B. M.**: Permeability of the glomerular capillary wall. III. Restricted transport of polyanions. *Kidney Int.* **8**: 212, 1975.
- 31) **Rennke, H. G., Cotran, R. S. and Venkatachalam, M. A.**: Role of molecular charge in glomerular permeability: Tracer studies with cationized ferritins. *J. Cell Biol.* **67**: 638, 1975.
- 32) **Batsford, S. R., Rohrbach, R. and Vogt, A.**: Size restriction in the glomerular capillary wall: Importance of lamina densa. *Kidney Int.* **31**: 710, 1987.
- 33) **Mackensen, S., Grund, K-E., Bader, R. and Bohle, A.**: The influence of glomerular and interstitial factors on the serum creatinine concentration in renal amyloidosis. *Virchows Arch. A (Pathol. Anat.)* **375**: 159, 1977.
- 34) **Törnroth, T., Falck, H. M., Wafin, F. and Wegelius, O.**: Renal amyloidosis in rheumatic disease: A clinicopathological correlative study. *in* *Amyloid and amyloidosis* (Glener, G. G., Costa, P. P. and de Freitas A. F., eds.). *Excerpta Medica, Amsterdam*, p191, 1980.
- 35) **Pirani, C. L.**: Tissue distribution of amyloid. *in* *Amyloidosis* (Wegelius, O. and Pasternack, A., eds.). *Academic Press, London*, p33, 1976.
- 36) 岩田隆子, 石原得博: AA および AL アミロイドーシスの病理. *病理と臨床* **3**: 141, 1985.