

尿解析が示す腎病態

坂 爪 実
新潟大学腎膠原病内科

The Types of Renal Diseases Shown by the Advanced Urine Analyses

Minoru SAKATSUME

Division of Clinical Nephrology and Rheumatology

Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences, Niigata, Japan

はじめに

腎疾患の確定診断には、腎生検を行う必要があるが、基礎疾患や合併する病態によっては実施が困難なことがある。また治療経過中の疾患活動性変化は、再生検を行わなければ評価ができない場合がある。私たちは、1) 尿赤血球数と形態、2) 尿活性化型免疫細胞の検出、3) 簡易尿蛋白電気泳動を組み合わせ腎疾患の病態診断が可能かを検討している。その目的は、非侵襲的に得られる尿検体から、できるだけ多くの情報を収集し、腎疾患病態診断を行い、慢性腎臓病の診療に対応することにある。

1. 尿赤血球

血尿は、出血の部位によって糸球体性、非糸球体性に分けられる。糸球体性血尿は、70%以上の大小不同の変形赤血球を認める。一方、非糸球体性の血尿は、血液中と同様の均一な赤血球を認める。最近、フローサイトメトリーによる尿有形成分分析装置が開発され普及しているが、私たちはSysmex UF-50を用い尿赤血球の形態判定(dysmorphic, isomorphic, mixed)を行っている(図1A)。尿赤血球のレーザーの前方散乱光の強度(尿赤血球の大きさ)から糸球体性と非糸球体性を鑑別するもので、組織学的腎疾患診断を含めた臨床診断との一致性が示されている。糸球体性血尿、非糸球体性血尿のスクリーニングに有用である。

Reprint requests to: Minoru SAKATSUME
Division of Clinical Nephrology and Rheumatology
Niigata University Graduate School of Medical
and Dental Sciences
1-757 Asahimachi - dori Chuo - ku,
Niigata 951-8510 Japan

別刷請求先: 〒951-8510 新潟市中央区旭町通1-757
新潟大学医学部第二内科 坂爪 実

腎疾患の病態診断

- A: 有意数の尿変形赤血球
 B: 有意数の尿エフェクター型免疫細胞
 C: 糸球体・尿管性Mixed type尿蛋白

(尿解析から予測される病態)

糸球体基底膜の破綻と
 細胞性半月体/炎症細胞の
 浸潤を伴う糸球体尿管障害

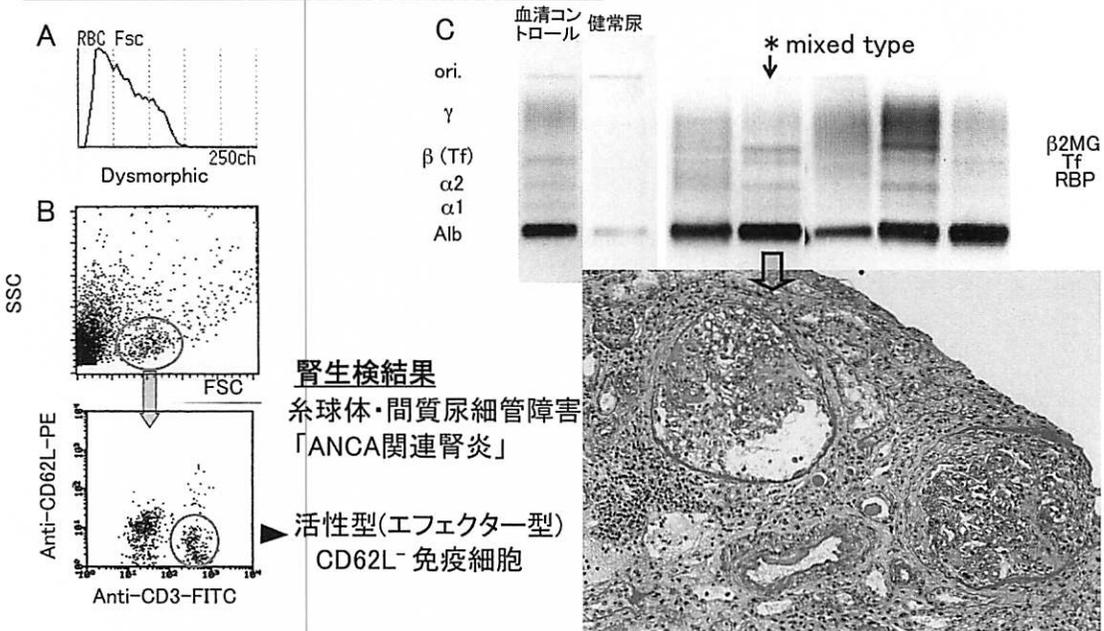


図1

2. 尿免疫細胞

尿に出現する免疫細胞の中で最も出現頻度が高いものは、尿路感染症の際の細菌尿に伴うおびただしい数の好中球である。アレルギー性間質性腎炎、急速進行性糸球体腎炎などでは好酸球を検出できることがある。また腎移植後に拒絶反応に伴ってリンパ球、特にTリンパ球が尿中に出現することが報告されている¹⁾。これらのことから、糸球体や尿管間質に浸潤し糸球体腎炎・尿管間質性腎炎を引き起こしている免疫細胞の一部が、尿に出現してくることは知られていた。

活動性の高いIgA腎症や急速進行性糸球体腎炎(半月体形成性糸球体腎炎)、紫斑病性腎炎(HSPN)など腎組織に細胞性半月体、炎症性細胞

浸潤を伴う腎炎では、尿中にT細胞とマクロファージなどの免疫細胞が出現する²⁾(図1B)。各種腎炎症例の新鮮尿から尿沈渣を遠心分離し、Flow Cytometer (FACS; Fluorescence activated cell sorter)を用いて解析すると、リンパ球と単球領域に細胞集団が認められる。尿では雑多な沈渣成分の混入のためFlow Cytometerによる解析が困難なことがある。特に濃縮尿では解析が困難なことが多いので、解析には早朝尿ではなく2番目の尿を用いることにしている。尿沈渣を抗T細胞抗体(CD3)-FITCと抗単球抗体(CD14)-PEで染色しFACS解析を行うと、ほとんどの細胞がCD3あるいはCD14陽性であり、また活性型T細胞マーカーのL-selectin(CD62L-PE)、あるいはメ

モリー T 細胞マーカーの CD45RO⁻ PE と CD3-FITC と二重染色すると、尿 T 細胞は CD3⁺ CD62L⁻ CD45RO⁺ RA⁻ であり、末梢血 T 細胞の CD3⁺ CD62L⁺ CD45RO⁻ RA⁺ とは全く異なることが分かった。細胞性半月体や炎症性細胞浸潤を伴わない膜性腎症や微小変化型ネフローゼ症候群、あるいは健康者ではこれらの免疫細胞は検出されない。このような尿 T 細胞と同時に認められる尿の単球/マクロファージは、CD16 (Fc gamma RIII) が陽性の活性化マクロファージであると報告されている³⁾。この T 細胞と単球/マクロファージの尿 1 ml 当たりの細胞数を FACS によりカウント (尿浸透圧 280mOsm/kg を 1 として尿の濃縮/希釈度を補正) し、腎生検での細胞性半月体と尿細管間質の炎症細胞浸潤の程度と比較すると強い相関がある。また、治療を行って腎炎の活動性が抑制された場合は、尿中免疫細胞数は減少する。尿に出現するこのようなフェノタイプをもつ免疫細胞 (T 細胞, 単球/マクロファージ) は半月体形成性腎炎の腎組織の糸球体内や間質に認められる²⁾⁴⁾。これらの免疫細胞は、糸球体腎炎、尿細管間質性腎炎を引き起こしているエフェクターであると考えられる。

3. 簡易尿蛋白泳動

蛋白尿には、血中の Bence-Jones 蛋白 (免疫グロブリン軽鎖) などの増加による腎前性、糸球体障害や尿細管障害による腎性、尿路感染症による腎後性がある。腎性尿蛋白のうち、糸球体障害に起因して尿中に出現する血漿蛋白 (主にアルブミン) を糸球体性蛋白尿、尿細管障害のために再吸収されない小分子量蛋白 (主に $\beta 2$ -ミクログロブリン) を尿細管性蛋白尿という。一般に、糸球体基底膜障害の初期あるいは charge barrier のみの障害 (微小変化型ネフローゼ症候群など) では、アルブミン尿が主体の蛋白尿をみる。基底膜の size barrier が障害されると、高分子量蛋白 (IgG などの γ -グロブリン) が尿に増加し、さらに基底膜が断裂するような障害では赤血球が出現する。尿細管障害が加わった場合は、尿細管性蛋白も尿中に増加する (混合型蛋白尿)。薬物、高カ

ルシウム血症、間質性腎炎などで尿管が選択的に障害された場合には、尿細管性蛋白が優位に尿中に出現する。このような尿蛋白成分の全体像は、セルロースアセテート膜尿蛋白電気泳動で得ることができる。私たちは銀染色法を応用した高感度の蛋白検出系⁵⁾⁶⁾ (常光) を用いて、バックグラウンドの低い鮮明な泳動像を得ている。個別に尿蛋白マーカーを測定するのに比べ、尿蛋白の由来、相対的な障害部位を一目のうちに把握することが可能である (図 1C)。糸球体性蛋白尿ではアルブミン、トランスフェリンが、尿細管性蛋白尿では $\beta 2$ -ミクログロブリンやレチノール結合蛋白などの β 分画蛋白が優位に検出される。また糸球体障害と尿細管障害の両方が存在すると、種々の程度にこれらの尿蛋白が混合する (混合型蛋白尿)。

以上紹介した 3 つの尿検査法を総合して腎疾患の病態診断を行うと、図 1 のように腎生検所見をある程度まで予測できる。この尿解析は腎生検を行う前の、あるいは腎生検が行えない腎炎症例の病態理解のために極めて有用である。私たちは、全身性血管炎のための多臓器障害があり血尿・蛋白尿を呈していたが腎生検が行えず、尿解析を行って半月体形成を伴う腎炎と判断した症例を報告している⁷⁾。これらの症例は、後に剖検により半月体形成が確認され、尿解析の病態診断的価値を認めている。

参考文献

- 1) Toma H, Ishida Y, Takahashi K, Ota K: The clinical value of active T-rossette-forming cells in urine after renal transplantation. *J Urology* 133: 575-578, 1985.
- 2) Sakatsume M, Xie Y, Ueno M, Obayashi H, Goto S, Narita I, Homma N, Tasaki K, Suzuki Y and Gejyo F: Human glomerulonephritis accompanied by active cellular infiltrates shows effector T cells in urine. *J Am Soc Nephrol* 12: 2636-2644, 2001.
- 3) Hotta O, Yusa N, Ooyama M, Unno K, Furuta T and Taguma Y: Detection of urinary macrophages

- expressing the CD16 (Fc gamma RIII) molecule: a novel marker of acute inflammatory glomerular injury. *Kidney Int* 55: 1927 - 1934, 1999.
- 4) Cunningham MA: Prominence of cell-mediated immunity effectors in 'pauci-immune' glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol* 10: 499 - 506, 1999.
- 5) Matsuda K, Hiratsuka N, Koyama T, Kurihara Y, Hotta O, Itoh Y and Shiba K: Sensitive method for detection and semiquantification of Bence Jones protein by cellulose acetate membrane electrophoresis using colloidal silver staining. *Clin Chem* 47: 763 - 766, 2001.
- 6) Sakatsume M, Kubota R, Ogawa A, Narita I, Matsuda T, Shiba K and Gejyo F: The rapid and sensitive electrophoresis of urinary protein clearly reveals the pathophysiological feature of renal diseases. *Nephrology* 12: 191 - 196, 2007.
- 7) Sakatsume M and Gejyo F: Effector T cells and macrophages in urine as a hallmark of systemic vasculitis accompanied by crescentic glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant* 18: 607 - 609, 2003.
-