

図1 サイトスポットの作成と染色

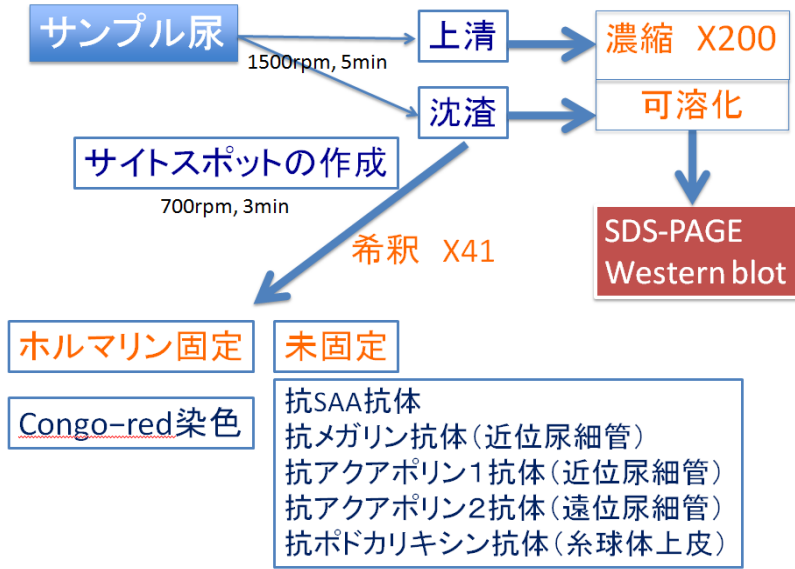


図3 Congo-red染色

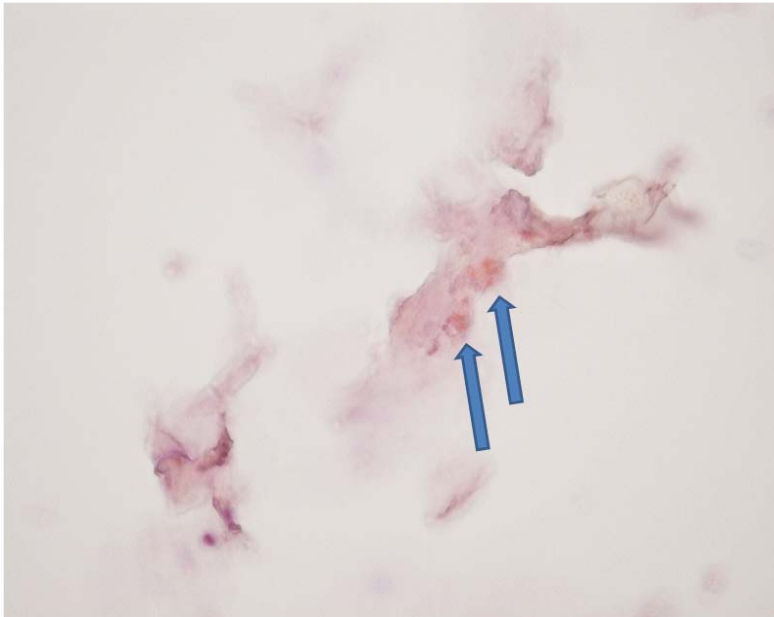


図2 Western blotの結果

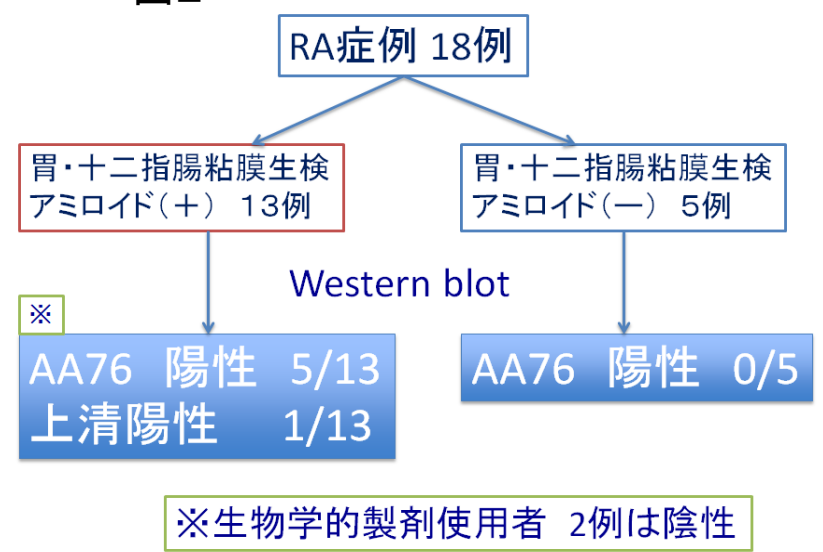
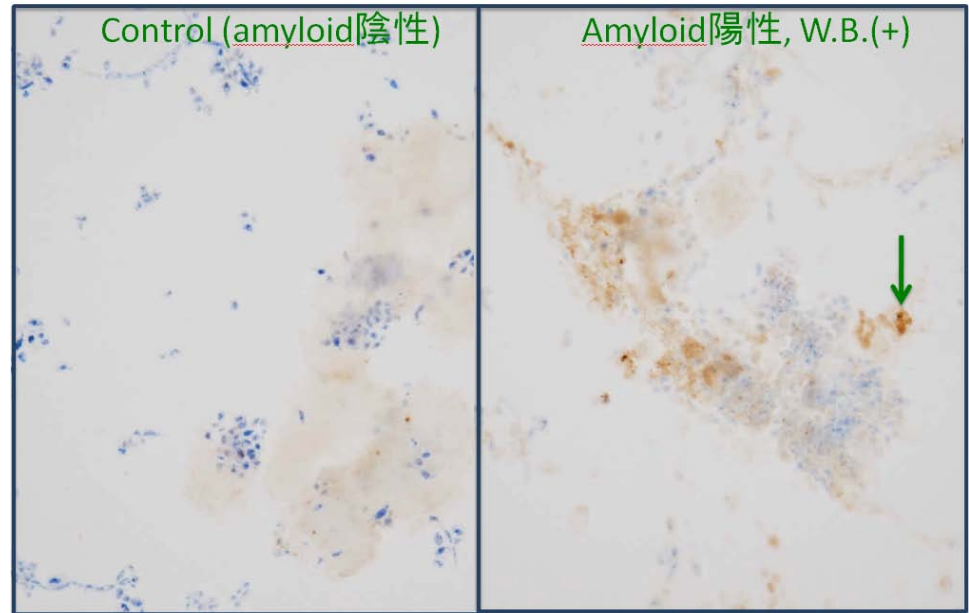


図4 抗SAA抗体+抗メガリン抗体



解 説

反応性AAアミロイドーシス症例の尿を検討することにより腎臓内に沈着したアミロイドタンパクの動態を明らかにすることを目的とした。

反応性アミロイドーシスを合併した関節リウマチ(RA)13例と胃・十二指腸粘膜生検でアミロイドが検出されなかったRA5例の尿を遠心し沈渣と上清に分離した。可溶化した沈渣と濃縮した上清に対して抗SAAモノクロナル抗体(N末端側に反応しCommon AA (AA76)サイズのSAAが検出可能)によるイムノブロットを行い、SAA分解産物の有無と分子サイズを検討した。さらに分離した尿沈渣のサイトスポットを作成しCongo-red染色、抗SAA抗体等で免疫染色し尿中のアミロイド蛋白の動態を検討した(図1)。

Western blotの結果、アミロイドが生検で認められた13例中5例の沈渣にAA76のバンドを検出した。このうち1例では上清でも認められた。生検でアミロイドが認められなかった症例ではAA76のバンドは認められなかった。生物学的製剤は生検でアミロイドが検出された2例に使用されていたがバンドは検出されなかった(図2)。

可溶化した沈渣のBlotでバンドが検出された症例の尿沈渣をホルマリン固定後Congo-red染色を行った。その結果、沈渣中にCongo-red陽性物質を認め(図3)偏光でアップル・グリーンの複屈折を確認した。抗SAA抗体と近位尿細管のマーカであるメガリンの抗体である抗メガリン抗体で二重染色を行った結果、アミロイド陽性者は矢印の様にフリーのSAA陽性物質も検出され、さらにメガリンとSAAが二重染色されていた。コントロール群においてはメガリンのみが検出され、SAAは検出されなかった(図4)。その他のマーカであるポドカリキシン、アクアポリン1、アクアポリン2においても同様な所見が認められた。

以上より反応性アミロイドーシスを合併したRA症例の尿中にCommon AA (AA76)サイズのSAAが検出可能であった。尿沈渣のサイトスポットによる解析では、沈渣中にコンゴレッド染色陽性、偏光顕微鏡で緑色偏光を呈する沈渣が認められた。抗SAA抗体と糸球体、尿細管のマーカによる二重染色により腎のアミロイドの局在診断が可能であった。