

論 文 内 容 要 旨

題目 A Novel Method of DAPI Staining for Differential Diagnosis of Renal Amyloidosis

(DAPI 染色による腎アミロイドーシスの新しい鑑別方法)

著者 Motokazu Matsuura, Hideharu Abe, Tatsuya Tominaga,
Akiko Sakurai, Taichi Murakami, Seiji Kishi,
Yoshimi Bando, Jun Minakuchi, Kojiro Nagai, and Toshio Doi
平成 29 年 8 月発行
雑誌 The Journal of Medical Investigation
第 64 巻第 3,4 号
217 ページ～221 ページに発表済

内容要旨

アミロイド腎症は、不溶性アミロイド線維が糸球体などの腎組織に沈着して発症する進行性難治性疾患である。早期発見早期治療介入が腎予後を大きく左右するが、症状が非特異的であるため、病初期は見逃されがちであり、進行してから診断に至ることが多い。診断は、組織学的に、Congo red 染色と、同染色陽性部位が、偏光顕微鏡下で特有の緑色偏光を呈することを確認することでされている。アミロイド腎症の 9 割以上が、AL アミロイドーシスと AA アミロイドーシスである。AL アミロイドーシスとは、多発性骨髄腫など種々の血液疾患により産生された異常な単クローン性グロブリンが、アミロイド変性し組織沈着したもので、AA アミロイドーシスとは、慢性関節リウマチなどの慢性炎症性疾患で産生された急性相反応物質アミロイド A が、アミロイド変性し組織沈着したものである。両者の鑑別は、Congo red 染色を過マンガン酸処理して、陽性部位が消失するか確認する方法が、古くから広く普及していた。この方法には、陽性消失不十分からくる偽陽性の問題がある。最近では、Congo red 陽性部位に、単クローン性グロブリン (Ig, λ , κ) や、アミロイド A を直接証明する免疫組織化学的方法が推奨されているが、再染色に時間を要し、施設によっては試薬を完備してないなどの問題がある。もし新規の簡便な鑑別法が発見できたなら、報告することは大変意義があると考えられる。

DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole) は、蛍光顕微鏡観察に広く用いられる核染色試薬である。我々は、一連の研究で腎生検症例約 130 例の凍結切片を

解析した。この集団の中には、IgA 腎症、膜性腎症、ループス腎炎や糖尿病性腎症など頻度の多い一般的腎疾患以外に、異常なグロブリン産生に関連した単クローン性免疫グロブリン沈着症やクリオグロブリン血症関連腎炎の症例も含まれている。一部のアミロイド腎症症例に限定して、DAPI が核以外の糸球体組織に染色されることを見出した。さらに、核以外の DAPI 陽性領域は、アミロイド沈着の型と同じ形態を呈している。この変化は、アミロイド腎症以外の異常なグロブリン産生に関連した腎疾患には認めない。そこで、この知見が、アミロイド腎症の臨床に活用できるものかどうかを検証することにした。

徳島大学病院および川島病院で、2002 年から 2015 年までに糸球体にアミロイド沈着を認めた 14 症例について、臨床情報と腎病理所見、さらに Congo red 染色とその過マンガン酸処理、 λ κ 及びアミロイド A と DAPI との二重染色、核染試薬 Propidium iodide と DAPI との二重染色を解析した。核以外の DAPI 陽性領域を認める 10 例は、全て AL アミロイドーシスなどの異常グロブリン沈着疾患であった。一方、核以外の DAPI 陽性領域を認めない 4 例は、全て AA アミロイドーシスであった。核以外の DAPI 陽性領域は、異常グロブリン沈着領域であり、アミロイド沈着部位に一致することを認めた。さらに、同領域が、Propidium iodide では染色されないことも確認した。

この研究は、DAPI 染色が迅速かつ簡便に AL と AA アミロイドーシスを鑑別する有用な方法であることを示した。

その分子結合機構の詳細を明らかにできなかったが、近年多数報告されるアミロイド線維分子プローブ候補の中に、2-フェニルインドール誘導体もあり、DAPI がアミロイド線維と結合しやすい可能性が示唆される。一方、AA アミロイドタンパク質は、AL アミロイドタンパク質よりアルギニンの割合が高く、このアルギニンが、DAPI と同じく正電荷を帯びているため、互いに反発し、DAPI と AA アミロイドタンパク質の結合を阻害している可能性が示唆される。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

報告番号	乙医第 1753 号	氏 名	松浦 元一
審査委員	主査 常山 幸一 副査 香美 祥二 副査 上原 久典		

題目 A Novel Method of DAPI Staining for Differential Diagnosis of Renal Amyloidosis
(DAPI 染色による腎アミロイドーシスの新しい鑑別方法)

著者 Motokazu Matsuura, Hideharu Abe, Tatsuya Tominaga, Akiko Sakurai, Taichi Murakami, Seiji Kishi, Yoshimi Bando, Jun Minakuchi, Kojiro Nagai, and Toshio Doi

平成 29 年 8 月発行

The Journal of Medical Investigation 第 64 巻第 3, 4 号
217 ページから 221 ページに発表済
(指導教授 土井俊夫)

要旨 アミロイド腎症は、不溶性アミロイド線維が糸球体などの腎組織に沈着して発症する進行性難治性疾患であり、そのほとんどが AL アミロイドーシスと AA アミロイドーシスである。その鑑別として、コンゴレッド染色を過マンガン酸処理して、陽性部位が消失する方法が、広く普及しているが、陽性消失不十分からくる偽陽性の問題がある。又最近、単クローン性グロブリン(重鎖, λ 鎖, κ 鎖)や、アミロイド A を直接証明する免疫組織化学的方法が推奨されているが、未だルーチン検査で確立していない。申請者は核染色である 4', 6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) を腎生検症例 130 例のパラフィン切片

で解析し、アミロイド腎症におけるその意義を解析した。

得られた結果は以下の通りである。

1. 各種腎疾患を解析し、アミロイド腎症症例においてのみ、DAPI が核以外の糸球体組織に染色された。
2. アミロイド腎症 14 症例の検討では 10 例で核以外の DAPI 陽性領域を認めた。
3. AL アミロイドーシスは、全例で DAPI 陽性であり、AA アミロイドーシスでは陰性であった。
4. DAPI 陽性領域は、異常グロブリン λ 鎖沈着領域であり、アミロイド沈着部位に一致することを認めた。同領域は Propidium Iodide では染色されないことも確認した。

この研究は、DAPI 染色が迅速かつ簡便に腎臓の AL と AA アミロイドーシスを鑑別する有用な方法であることを示しており、本研究成果は腎臓病における病理診断の向上に寄与するところ大であり、学位授与に値すると判定した。