



Altered intraglomerular localization of immune complex induced by daunomycin administration in murine serum sickness

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-23 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 榊原, 健二 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/898

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博第 45号	学位授与年月日	昭和62年 3月26日
氏 名	柚 原 健 二		
論文題目	Altered intraglomerular localization of immune complex induced by daunomycin administration in murine serum sickness (マウス血清病におけるダウノマイシン投与による糸球体内免疫複合体局在の変化)		

論文題目

Altered intrglomerular localization of immune complex induced by
daunomycin administration in murine serum sickness

(マウス血清病におけるダウノマイシン投与による糸球体内免疫複合体局在の変化)

論文の内容の要旨

〔はじめに〕 腎炎に於ける糸球体内免疫複合体(IC)沈着の局在に影響する要因として、抗体の親和性をはじめ幾つか因子が知られている。一方、近年、糸球体基底膜(GBM)は、“size barrier”として高分子蛋白の透過性を制御すると共に、分布するanionic siteが“charge barrier”として働き蛋白の荷電状態によりその透過性を制御していることが注目され、それがICの糸球体内局在に関与するとされている。この為、陽荷電抗原を用いると抗原或いはICはGBM内に容易に入るようになる。しかしながら抗原の陽荷電化は抗体の親和性を低下させ、これがGBMでのICの解離、再形成を容易にすることがGBM自体の透過性亢進因子よりIC沈着促進因子となる可能性が高いと指摘されている。本研究では、抗体の親和性を変えずGBM自体の透過性のみを変化させることがICの糸球体内局在にいかなる影響を及ぼすかを検討した。

〔方法〕 1) ICRマウス雌に予めdaunomycin(DM)20 mg/kgを静注しGBM透過性を亢進させ、次いで抗原としてhorse spleen apoferritin(HAF)1mgを隔日反復腹腔内投与した群(A群)、DM前処理をしないHAF単独投与群(B群)、又それぞれの対照群としてDM単独投与群(C群)、生理食塩水投与群(D群)をおきHAF免疫開始後2、4週で屠殺し、腎組織を比較した。

2) GBM透過性の変化を検討する為、各群で週1回24時間採尿を行い尿中アルブミンを一次元免疫拡散法により、尿中IgGをenzyme immunoassay(EIA)で測定した。又、DM処理、非処理群でhexadimethrine bromideにてanionic siteを染色し“charge barrier”の変化を調べた。

3) DM処理が抗体の親和性に及ぼす影響を検討する為、A及びB群の屠殺時点で採血し、血中抗HAF抗体価を逆一次元免疫拡散法にて、抗体の親和性をABC-33法の抗原希釈効果及び液相radioimmunoassayにて測定した。

4) DM処理が抗原の血中消失に及ぼす影響を検討する為、DM処理及び非処理群でHAF 3mgを静脈内、腹腔内投与した各々の場合について後眼窩静脈叢より経時的に採血し、EIAにてHAF濃度を測定した。

〔結果〕 1) A、B群では糸球体に増殖性変化を認めたがこの変化はA群ではB群に比し増強されていた。対照のC、D群ではともに変化に乏しかった。又、A群はB群に比し糸球体係蹄壁にIgG、HAF、C3の著明な沈着を認めた。電顕ではA群で上皮下、内皮下、メサンギウムに電子密度の高い沈着がみられ、B群ではこの沈着はメサンギウムに局限した。

2) DM処理後2週目よりアルブミン、3週目よりIgGの尿中排泄増加がみられGBM透過性の亢進が示唆された。一方、HAF腎炎が惹起されたB群では軽微なアルブミン尿がみられたにすぎなかった。A群ではC群より更に高度のアルブミン、IgG尿がみられた。又、DM処理群はGBMの内、外透明層のanionic siteの減少がみられ“charge barrier”の減弱が示唆された。

3) 抗HAF抗体価、抗体の親和性は、A、B群間で差がなかった。

4) HAFを静脈内、腹腔内に投与したいずれにおいても抗原の血中消失は、A、B群間で差がなかった。

〔結論〕 GBM透過性を亢進させるDM前処理によりHAF腎炎の糸球体、特に上皮下に著明なIC沈着を認めた。一方、DM処理により抗HAF抗体価、抗体の親和性は変わらず、更に抗原血中消失も影響されなかった。

以上よりHAF腎炎ではGBM透過性の変化によりICの糸球体内、特に係蹄壁上皮下の沈着が変化しうる可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

抗原抗体複合物 (immune complex: IC) は、腎炎の際に糸球体係蹄壁、メサンギウム領域に沈着することが知られている。ICの糸球体内局在を支配する因子としては腎外性の因子——抗体の性質、抗原の性質、水力学的要因等——と腎内性の因子——腎糸球体基底膜 (GBM) の透過性を規定する size barrier, charge barrier (anionic sites による) 等——があると考えられている。GBMには anionic sites が存在するため、陽荷電抗原を用いると GBM 内に IC の沈着の亢進が認められるようになる。しかしながら抗原の陽荷電化は抗体の avidity (親和性) を低下させるので、IC の分子サイズを低下させ、また GBM での IC の解離、再形成を容易にする。このような抗原の陽荷電化に伴う抗体の性質の変化が、むしろ IC 沈着に関与している可能性が考えられている。申請者は抗体の性質 (親和性) 及び抗原の性質 (電荷) を変化させずに GBM の透過性のみを変化させた際に IC の糸球体内局在がどのように変化するのかを調べようとした。このため抗原として horse spleen apoferritin (HAF) をマウスに注射して血清病を惹起し、この際 daunomycin (DM) を注射することにより GBM の透過性を変化させ、IC の糸球体内局在を光顕、電顕、蛍光抗体法等を用いて検討した。一方 DM が、産生される抗体の性質に変化を与えている可能性を調べるため、抗体の親和性も調べた。更に IC 局在の変化が血中の抗原量の増減による可能性もあるので、DM 投与の際の血中 HAF の消失速度も検討した。

結果としては、DM 前処理しないで HAF を投与した群に比べ DM 前処理した場合は次のような変化がみられた。(1) 組織学的に、メサンギウム領域の増殖性変化は DM+HAF の方が HAF 単独より早期から増強して出現した。(2) 蛍光抗体法でみると HAF 単独では IgG、C3、HAF の沈着がメサンギウム領域のみに見られたが、DM+HAF ではメサンギウム領域に認められただけでなく糸球体係蹄壁に著明に認められた。(3) 電顕所見では、HAF 単独ではメサンギウム領域のみに電子密度の高い沈着が見られたが、DM+HAF ではメサンギウム領域、基底膜上皮下及び内皮下と広範に電子密度の高い沈着が見られた。(4) DM 投与により尿蛋白 (albumin, IgG) の増加はみられたが、更に DM+HAF の方が DM 単独及び HAF 単独より著明で、HAF 単独では軽微であった。また、GBM の charge barrier の指標となる hexadimethrine 陽性顆粒は DM 処理により減少した。(5) 抗 HAF 抗体価、抗体親和性は、DM+HAF と HAF 単独で差がなかった。また、血中よりの HAF の消失は DM 投与により影響を受けなかった。以上の所見より、HAF 腎炎の際に DM 処理により GBM 自体の透過性を亢進させるとメサンギウム領域よりも糸球体係蹄壁に著明に IC が沈着する傾向があることが示唆された。

これに続きこの論文の内容について次のような質疑が行われた。

1. GBM の size barrier の変化を調べる間接的方法。
2. この仕事の臨床的意義。
3. 電顕的に DM 処理群で内皮の剝離が見られるが、この影響は。
4. Charge barrier の減少による透過性の亢進が本結果をもたらしたと考えているか。
5. DM 投与により GBM の構成成分自体が変化しないか。
6. Anionic sites の変化を切片上で調べられないか。
7. HAF の等電点と透過性。
8. HAF の代わりに bovine serum albumin を用いたらどのようなになると思うか。
9. HAF を先に投与して DM を投与するとどうなるか。
10. 血清病の際の全身性変化の影響はないか。

以上の質疑に対する申請者の解答はおおむね適切であり、この本論文は学位授与に値すると全員一致で判断した。

論文審査担当者	主査	教授 高田 明 和		
	副査	教授 阿 曾 佳 郎	副査	教授 白 澤 春 之
	副査	教授 櫻 井 信 夫	副査	副学長 本 田 西 男