



Cell-to-cell adhesion is prerequisite for the induction of in situ immune complex glomerulonephritis

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-30 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 織田, 貴子 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1031

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 178号	学位授与年月日	平成 7年 3月27日
氏 名	織 田 貴 子		
論文題目	Cell-to-cell adhesion is prerequisite for the induction of in situ immune complex glomerulonephritis (免疫複合体腎炎の発症における細胞間接着の必要性)		

博士(医学) 織田 貴子

論文題目

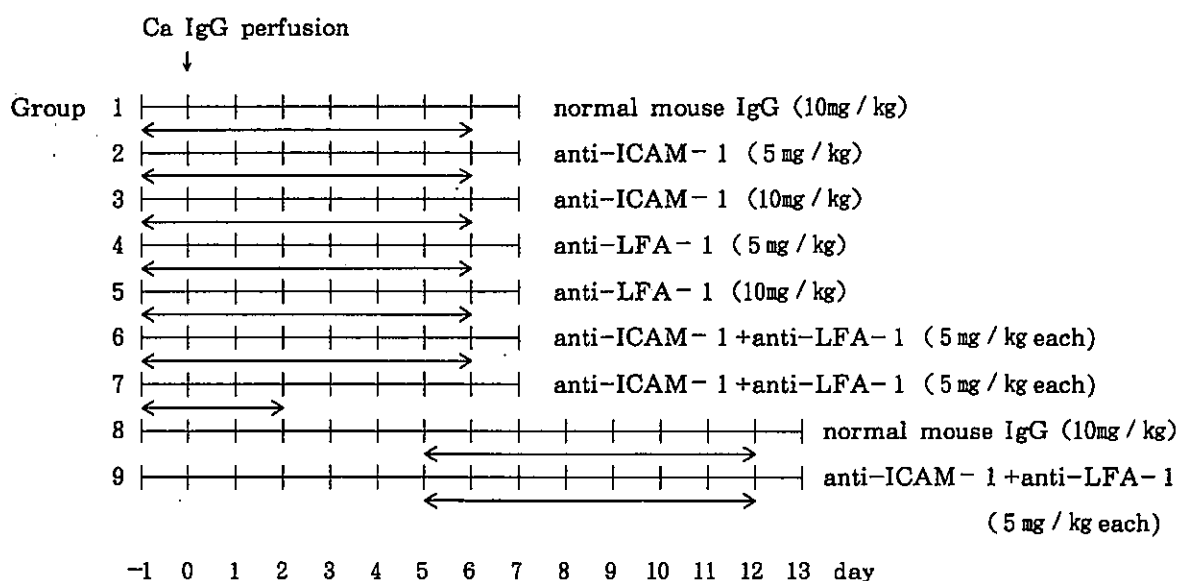
Cell-to-cell adhesion is prerequisite for the induction of in situ immune complex glomerulonephritis

(免疫複合体腎炎の発症における細胞間接着の必要性)

論文の内容の要旨

人の膜性腎症のモデルといわれるラットの陽性荷電惹起性免疫複合体腎炎ではあらかじめヒト IgG で免疫したラットの腎動脈に陽性荷電化したヒト IgG を注入すると、in situ で糸球体基底膜に免疫複合体が形成され、尿蛋白が発現する。このモデルにおける腎炎の発症と進展における細胞接着因子の関与について検討した。

〈方法〉雄の SD ラットをヒト IgG と Freund's Complete Adjuvant で、2 週間おきに 3 回免疫し、最終免疫の 2 週間後に左腎動脈から陽性荷電ヒト IgG100 μ g を灌流して腎炎を作成した。ラットを下記の 9 群に分け、各々のプロトコールに従って抗 ICAM-1 抗体、抗 LFA-1 抗体を連日静注した。コントロールとしてマウス IgG を用いた。



尿蛋白は連日蓄尿して測定した。屠殺時に腎組織を採取し、PAS 染色で形態学的な変化を観察するとともに、蛍光抗体法、酵素抗体法を用いて糸球体糸球壁のヒト IgG、ラット IgG、ラット C3 の沈着、糸球体内への好中球、T 細胞、マクロファージの浸潤、糸球体内の ICAM-1 の発現を検討した。

〈結果〉腎炎のコントロールである①、⑧群では、尿蛋白は陽性荷電ヒト IgG 灌流後 2 日目より徐々に増加し、7 日目にピークを迎え (83.5 $\pm$ 17.5)、その後減少した。灌流 1 時間後より 24 時間後にかけて好中球を中心とする糸球体内への著明な細胞浸潤を認め、その後徐々に減少した。T 細胞やマクロファージは好中球より少し遅れて 24 時間後より少数の浸潤を認めた。灌流直後より糸球体糸球壁に沿ってヒト IgG、ラット IgG、ラット C3 の線状の沈着を認め、7 日目には顆粒状に変化した。コントロールの①群に対し②～⑥群では有意に尿蛋白が抑制された。(②: 17.5 $\pm$ 7.4mg/day、③: 12.6 $\pm$ 0.2mg/day、④: 28.9 $\pm$ 24.7mg/day、⑤: 12.4 $\pm$ 1.3mg/day、⑥: 5.8 $\pm$ 2.6mg/day)。抗 ICAM-1

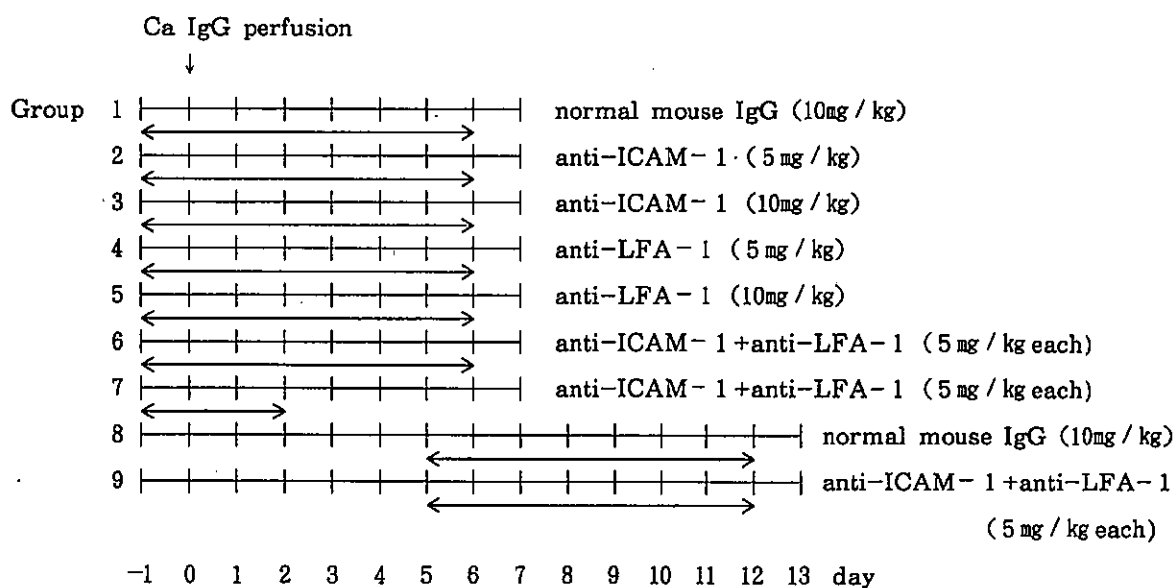
抗体、又は抗 LFA-1 抗体どちらかの単独投与よりも両抗体同時投与の方がより有意な尿蛋白の抑制効果が認められた。糸球体係蹄壁へのヒト IgG、ラット IgG、ラット C3 の沈着については各群間に差を認めなかった。又、糸球体内への好中球、T 細胞、マクロファージの浸潤にも各群間に有意差を認めなかった。糸球体内への細胞浸潤の多い 2 日目までで抗体投与を中止した⑦群でも尿蛋白は著明に抑制された ($4.1 \pm 1.4 \text{ mg/day}$)。尿蛋白が増加し浸潤細胞の減少した 5 日目より抗体を投与した⑨群ではコントロールの⑧群に比し、尿蛋白の抑制はみられなかった。

〈結論〉陽性荷電惹起性免疫複合体腎炎の尿蛋白の発現には、細胞接着分子を介する浸潤細胞と内皮細胞との相互作用が重要であることが、示唆された。

論文審査の結果の要旨

人の膜性腎症のモデルといわれるラットの陽性荷電惹起性免疫複合体腎炎では、あらかじめヒト IgG で免疫したラットの腎動脈に陽性荷電化したヒト IgG を注入すると in situ で糸球体基底膜に免疫複合体が形成され尿蛋白が発現する。このモデルにおける腎炎の発症と進展における細胞接着分子の関与について検討した。

〈対象及び方法〉雄の SD ラットをヒト IgG と Freund's Complete Adjuvant で 2 週間おきに 3 回免疫し、最終免疫の 2 週間後に左腎動脈から陽性荷電ヒト IgG $100 \mu\text{g}$ を灌流して腎炎を作成した。ラットを下記の 9 群に分け、各々のプロトコルに従って抗 ICAM-1 抗体、抗 LFA-1 抗体およびコントロールとしてマウス IgG を連日静注した。



尿蛋白は連日蓄尿して測定した。屠殺時に腎組織を採取し、PAS 染色で形態学的な変化を観察すると共に、蛍光抗体法、酵素抗体法を用いて糸球体係蹄壁のヒト IgG、ラット IgG 及びラット C3 の沈着、糸球体内への好中球、T 細胞、マクロファージの浸潤、糸球体内の ICAM-1 の発現を検討した。

〈結果〉無処置の腎炎群である①、⑧群では、尿蛋白は陽性荷電ヒト IgG 灌流後 2 日目より徐々に増加し、7 日目にピークを迎え ($83.5 \pm 17.5 \text{ mg/day}$)、その後減少した。灌流後 1 時間より 24 時間にかけて好中球を中心とする糸球体内への著明な細胞浸潤を認めその後徐々に減少した。T 細胞やマクロファージは好中球より少し遅れて 24 時間後より少数の浸潤を認めた。灌流直後より糸球体係蹄壁に沿っ

て、ヒト IgG、ラット IgG、ラット C3 の線状の沈着を認め、7 日目には顆粒状に変化した。無処置の腎炎群である①群に対し②～⑥群では有意に尿蛋白が抑制された (②: $17.5 \pm 7.4 \text{ mg/day}$ 、③: $12.6 \pm 10.2 \text{ mg/day}$ 、④: $28.9 \pm 24.7 \text{ mg/day}$ 、⑤: $12.4 \pm 1.3 \text{ mg/day}$ 、⑥: $5.8 \pm 2.6 \text{ mg/day}$)。抗 ICAM-1 抗体または抗 LFA-1 抗体の単独投与により有意な尿蛋白の抑制効果が認められ、その効果は両抗体同時投与の方が単独投与よりさらに顕著であった。しかしながら糸球体係蹄壁へのヒト IgG、ラット IgG、ラット C3 の沈着については各群間に差を認めなかった。また糸球体内への好中球、T 細胞、マクロファージの浸潤の程度も無処置の腎炎群と比較して有意差を認めなかった。糸球体内への細胞浸潤の多い 2 日目までで抗体投与を中止した⑦群でも尿蛋白は著明に抑制された ($4.1 \pm 1.4 \text{ mg/day}$)。尿蛋白が増加し浸潤細胞の減少した 5 日目より抗体を投与した⑧群では無処置の腎炎群である⑨群に比し、尿蛋白の抑制はみられなかった。

〈結論〉本実験の腎炎モデルでは抗体、補体の沈着や細胞浸潤の程度が無処置の腎炎群と差がないにもかかわらず、抗 ICAM-1 抗体、抗 LFA-1 抗体群で蛋白尿発現が抑制された。細胞の浸潤は rolling、活性化、接着といった多くの細胞間相互作用が関与している。本実験結果より以下の可能性が考えられた。これら抗接着分子抗体は炎症性細胞浸潤を阻止できないが、浸潤細胞の活性化を抑制し活性化した細胞由来の細胞障害物質の放出を阻止する。その結果として腎障害発現が阻止されたと考えられる。したがって、陽性荷電惹起性免疫複合体腎炎の尿蛋白の発現には、細胞接着分子を介する浸潤細胞の活性化と、これら細胞から遊離された細胞障害性物質による内皮細胞の障害が重要であることが示唆された。

上記実験に対して以下の質問がなされた。

- 1) 陽性荷電化 IgG の作成法
- 2) 使用する抗体の量を減少させると蛋白尿の程度は強くなるか
- 3) 蛋白尿が 7 日目以降軽減する理由
- 4) 細胞浸潤は 24 時間目以降 7 日目までのいくつかの時点で観察したか、とくに好中球浸潤の kinetics について
- 5) 免疫複合体沈着パターンが変化する理由

これらの質問に対し申請者の解答は適切であり、問題点も充分理解しており、博士 (医学) の学位論文にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者 主査 教授 瀧 川 雅 浩

副査 教授 藤 田 公 生 副査 教授 吉 田 孝 人

副査 助教授 宮 本 愛 副査 講師 山 本 龍 夫