

サイクロスポリンAによるラット血清病腎炎の変貌

重松 秀一 小山 哲夫

信州大医学部病理, 筑波大臨床医学系

序言 液性抗体産生を基盤に発症する多くの糸球体腎炎は免疫抑制剤の使用によりその発症の軽減化あるいは発症の抑制が期待できる。我々は前年度にラット血清病腎炎をモデルにステロイド剤の効果を検討した。メチルプレドニソロン $30\text{mg}/\text{kg}$ の連日腹腔投与で腎炎の発症は阻止できなかったが、糸球体組織障害上、免疫結合物の沈着の係蹄壁への移行傾向と障害の軽減化がみられることを報告した。一方副腎皮質ステロイド剤とは全く構造を異にした、真菌より抽出した物質サイクロスポリン(CyA)は臓器移植の際発動する細胞性免疫を抑制することが知られているが、液性免疫の抑制力のあることも知られている¹⁾。そこでこのCyAの効果をラット血清病腎炎のモデルを用いてステロイド剤のそれと比較検討した。

対象・方法 血清病腎炎の惹起は山本らの方法を一部改変して行った²⁾。即ち図1の如くF 344/Jcl ラット♂10週令を用いてまず $500\mu\text{g}$ の卵白アルブミン(EA)をフロイント完全アジュバントと共に足蹠に注射した。この前感作後4週放置後EAを15日にわたって連日腹腔内投与を行った。初日 1mg , 2日 2mg , 3, 4日には 5mg , 5日以降は 10mg の投与を行った (E 5群—コントロール)。

一方PE-1群には上記の前感作開始2日前よりメチルプレドニソロン(ソルメドロール, アプジョン社ST) $30\text{mg}/\text{kg}$ を1日おきに11回腹腔内投与したあとE 5と同様15日間連続してEA及びST $30\text{mg}/\text{kg}$ の腹腔内投与を行った。

PE-2群には前感作をコントロールと同様

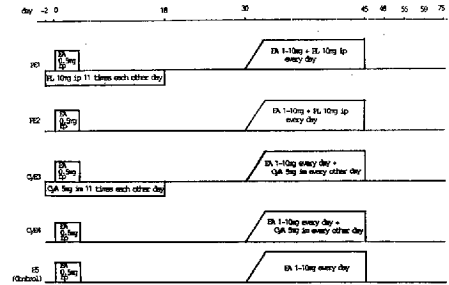


図 1.

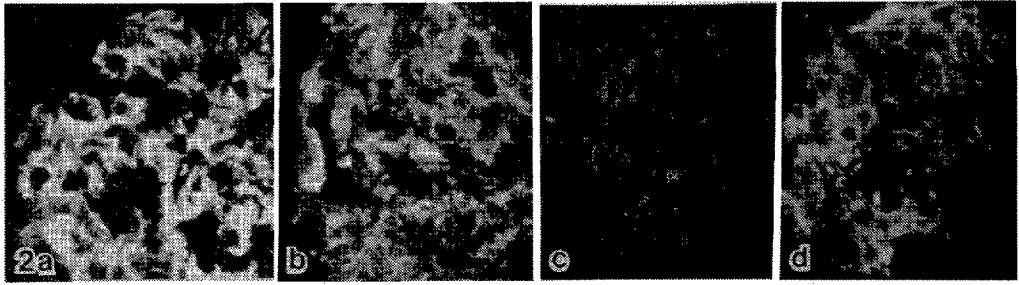
に行い4週後よりEA及びSTの腹腔内投与をPE-1群と同様15日間行った。

CyE-3群には前感作開始2日前よりオリーブ油に溶解したCyA(サンディミュン内用液, サンド薬品) 5mg ($20\text{mg}/\text{kg}$) を一日おきに11回背筋内に注射後E 5と同様15日間連日にわたってEAを腹腔内とCyA 5mg を一日おきに背筋内注射を行った。

CyE-4群には前感作をE 5と同様に行った後, CyE 3と同様にEAの腹腔内注射及びCyAの背筋注射を行った。

各群は15日間のEA腹腔内感作の後各群2匹ずつ3日, 10日, 14日, 3ヶ月後にエーテル麻酔下に屠殺し, 光顕, 免疫組織化学, 電顕的検索を行った。一部の動物についてはMindenとFarrの方法によりEAに対する血中抗体のavidityを測定した³⁾。

成績 E 5群は前感作開始より43日(腹腔内感作より12日目)より有意の蛋白尿の出現がみられ $50\sim 280\text{mg}/\text{日}$ に達し感作中止後も $100\text{mg}/\text{日}$ 程度を持続したが3ヶ月の時点では $10\text{mg}/\text{日}$ 程度に減少した。免疫組織化学的には感作終了3



日の時点で抗原，ラット IgG，補体 C₃ のびまん性の沈着が糸球体にみられ特に軸部に強く係蹄壁には粗大な沈着がみられた（図 2 - a）。光顕的には 3 日の時点で係蹄，軸部への著明な沈着物の存在に加え，単核細胞増生がめだち，尿腔内滲出や小半月体などの局所性管外病変や局所性のメサンギウム融解などがみられた（図 3 - a）。電顕的にも豊富なメサンギウム，内皮下，上皮下沈着物を認め（図 4 - a），単球系細胞の著明な集積と食反反応を認めた。3 ヶ月の時点では沈着，富核性変化は軽減し係蹄壁には washed out lesion や局所性の基底膜の不整化が認められた。

PE-1，PE-2 群は経過，発症の仕方に有意の差がみられなかった。即ちともに前感作開始より 42 日（腹腔内感作より 11 日目）より有意の蛋白尿の出現がみられ 50-100mg/日の蛋白尿が持続し，感作中止後も 30-40mg/日 程度を持続したが 3 ヶ月の時点では 10mg/日 程度に減少した。免疫組織学的には感作終了後 3 日の時点で抗原，ラット IgG，補体 C₃ のびまん性の沈着が糸球体にみられたが E 5 に比較すると軸部と末梢にはほぼ均等に顆粒状沈着がみられた（図 2 - b）。光顕的には 3 日の時点で E 5 に比して明らかに細胞増生が弱く，又管外性，軸性の破壊性病変の頻度が少なかった（図 3 - b）。電顕的にもメサンギウム沈着物は E 5 に比してやや少なく上皮下沈着物も小型であるのが目立った（図 4 - b）。単球系細胞浸潤も E 5 に比して出現頻度は明らかに低かった。

一方 CyE-3 群は全経過を通じ有意の蛋白尿の出現をみず，免疫組織学的，光顕，電顕的に

明らかな腎炎所見を見出しえなかった（図 2 - c，図 3 - c，図 4 - c）。しかしながら CyE-4 群は腹腔感作中には有意の蛋白尿の発現をみなかったが，感作終了 3 日目より 20-40mg/日 程度の軽度の蛋白尿をみとめた。免疫組織学的には 3 日時点で量的に不均一な分布だがほぼびまん性に抗原，ラット IgG，補体 C₃ の沈着が顆粒状に認められた（図 2 - d）。組織学的にはしかし細胞増生，沈着病変はいずれも軽度であった（図 3 - d）。

抗体産生については表 1 の如き結果がえられた。CyE-3 群は完全な抗体産生抑制がみとめられたが，CyE-4 群では抗体産生の抑制はみられていない。又 PE1，2 群と E 5 群ではいずれも腹腔感作中止 10 日時点でもとも高い Avidity 値を示しており両群の間に明らかな抗体産生，avidity 値における差は見出しえなかった。

考察 サイクロスポリン A は現在腎移植，骨髄移植等細胞免疫を抑制するきわめて有望な薬剤として期待がもたれているが，液性免疫に対しても抑制効果のあることが知られている。

液性免疫発動の結果惹起される糸球体腎炎についてこの薬剤の効果を検討した結果，明らかな腎炎発症抑制効果が，もし CyA が予備免疫の段階で使用された場合にみられることが判明した。使用した腎炎モデルではこの予備免疫の時期に有効な抗原提示及び T_H 細胞の活性化がおきていることが観察されており⁴⁾，CyA は細胞性免疫の T_H 細胞の活性化を阻止するのと同様に一次免疫段階で T_H 活性化の抑制を行っていることが推定される。

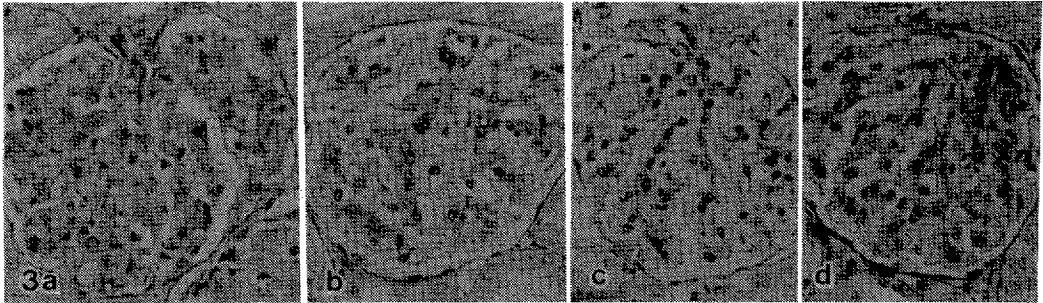


Fig.2 Rat IgG deposition at 3 days after the cessation of antigen administration.

液性抗体に関与した腎炎モデルでは他にも山羊抗糸球体基底膜抗体による加速型馬杉腎炎でのCyAの効果を見ているが、予備免疫時点でCyAを投与しておくと同様に腎炎発症が抑制されるが、ラットによる山羊グロブリンに対する抗体産生のはじまった時点でCyAを投与しても効果はみられていない⁵⁾。また家兎のone-shotの血清病腎炎においても抗原静注前2日前より、あるいは静注当日から毎日3~5日CyAの投与を行うと腎炎の発症が抑制されるという⁶⁾。以上の如くCyAは感作成立の初期にきわめてはっきりした免疫抑制効果があることが判明した。

一方感作が成立した時点以後では腎炎自体の組織障害は軽減化するものの抗体産生抑制効果に見るべきものはないといえる。この点は腎炎の治療という面からみると抗体産生の成立した時点から薬剤が投与されることを考えるとその効果にはあまり大きな期待はもてないといえる。

一方ステロイドホルモンの効果はその抗体産生の面からみると著明な抑制効果はみられなかった。当始抗体産生の変貌即ちavidityの低い抗体産生がおこるのではないかとこの予想があったが、事実は明らかな特異抗体のavidityの差は見出しえなかった。しかし腎組織障害の軽減化はステロイドホルモンが糸球体局所で抗炎症的に働いていることを示唆するといえよう。単球集積の抑制や、係蹄側への免疫沈着物の移行はステロイドホルモンの未知の細胞膜や基底膜への薬理効果を有している可能性も否定できない。

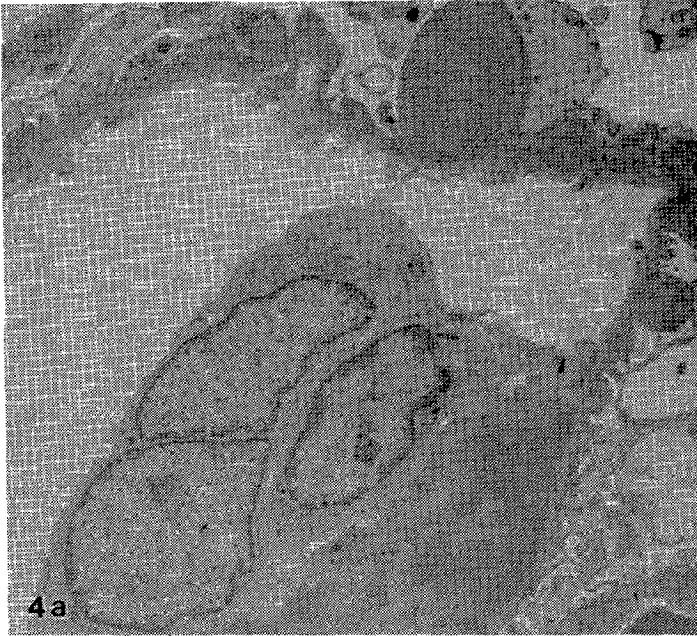
- a. Group E5 Prominent deposition of IgG observed in the mesangium as well as along the capillary wall.
- b. Group PE2 Diffuse but fine granular deposition is marked along the capillary wall.
- c. Group CyE3 Negative glomerular deposition.
- d. Group CyE4 Weak granular deposition in the glomerulus.

Fig.3 Glomerular histology at 3 days after the cessation of antigen administration.

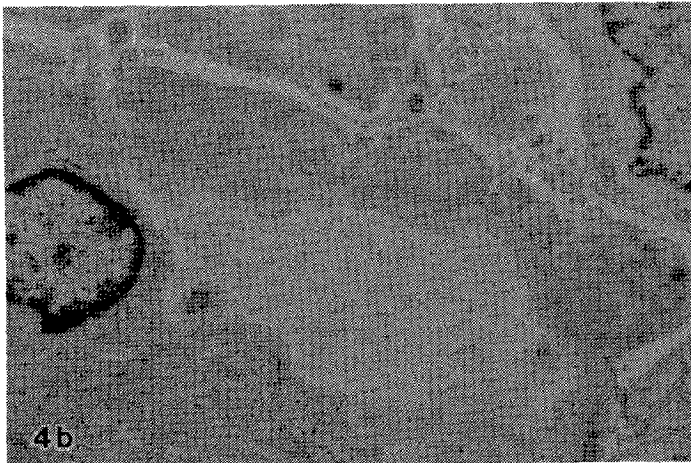
- a. Group E5 Diffuse edematous mesangial swelling and moderate hypercellularity with adhesion to the Bowman's capsule.
- b. Group PE1 Capillary wall thickening with patent capillary lumen and mild proliferation.
- c. Group CyE3 Minor change
- d. Group CyE4 Mild hypercellularity

表 1.

Group	days after cessation of immunization	MO-39 at 10 ¹⁰ DM ² (cp DM ²)	avidity	Ig production at 1:2 dilution
PE1	3	356.3 ± 88.7	0.405 ± 0.139	19.2 ± 0.76
	10	1980 ± 466.6	0.602 ± 0.026	34.4 ± 4.67
	14	601 ± 140	1.0	29.5 ± 0.66
PE2	3	594 ± 140	0.63 ± 0.24	18.5 ± 5.0
	10	1105.5 ± 306.7	0.93 ± 0.09	42.3 ± 17.9
	14	1284.5 ± 863.2	0.605 ± 0.106	36.5 ± 4.3
OE3	3	--	--	--
	10	--	--	--
	14	--	--	--
OE4	3	1503.9 ± 1946.1	0.88 ± 0.46	22.4 ± 3.7
	10	1486.5 ± 1020	0.605 ± 0.036	26.4 ± 9.2
E5	3	593 ± 466.7	0.58 ± 0.38	21.9 ± 1.48
	10	2673 ± 2286.8	1.0	37.5 ± 26.9
	14	2178 ± 2003	0.61 ± 0.27	63.8 ± 48.6



4a



4b



4c

- ⊗ 4. a. Group E5
b. Group PE 2
c. Group CyE 3

文献 1) Borel, J.F., Feurer, C.: Effects of the new anti-lymphocytic peptide cyclosporin A in animals. *Immunol.* 32:1017-1025, 1977 2) Yamamoto, T., Kihara, I.: Bovine serum albumin (BSA) nephritis in rats. I. Experimental model. *Acta path Jpn* 28:859-866, 1978 3) Minden, P., Farr, R.: The ammonium sulphate method to measure antigen-binding capacity. In *Handbook of experimental immunology*. Blackwell, Oxford, pp463-489, 1967 4) Shigematsu, H., Yano, A.: Participation of antigen presenting cells in glomerulonephritis. *Acta path Jpn* 36:489-497, 1986 5) Tipping, P.G., Holdsworth, S.R.: Effect of cyclosporin A on antibody-induced experimental glomerulonephritis. *Nephron* 40:201-205, 1985 6) Neild, G.H., Ivory, M., Hiramatsu, M.: Cyclosporin A inhibits acute serum sickness nephritis in rabbits. *Clin. exp. Immunol.* 52:586-594, 1983



検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



序言 液性抗体産生を基盤に発症する多くの糸球体腎炎は免疫抑制剤の使用によりその発症の軽減化あるいは発症の抑制が期待できる。我々は前年度にラット血清病腎炎をモデルにステロイド剤の効果を検討した。メチルプレドニソロン 30mg/kg の連日腹腔投与で腎炎の発症は阻止できなかったが,糸球体組織障害上,免疫結合物の沈着の係蹄壁への移行傾向と障害の軽微化がみられることを報告した。一方副腎皮質ステロイド剤とは全く構造を異にした,真菌より抽出した物質サイクロスポリン(CyA)は臓器移植の際発動する細胞性免疫を抑制することが知られているが,液性免疫の抑制力のあることも知られている。そこでこのCyAの効果をラット血清病腎炎のモデルを用いてステロイド剤のそれと比較検討した。