

抗好中球モノクローナル抗体を用いた腎炎発生機序の解析

奥村 康, 尾崎照代*, 中村 司*, 小出 輝*

*in vivo*で好中球を特異的に除去出来るモノクローナル抗体を用い、馬杉腎炎における好中球の関与を調べた。少なくとも蛋白尿出現に、好中球の関与ほとんど関与しない新知見が得られた。

抗好中球モノクローナル抗体、馬杉腎炎、蛋白尿、補体

序　　言

糸球体腎炎における組織障害および蛋白尿出現の機序について、好中球の関与が以前から指摘されている。これまでの実験では、Nitrogen Mastardを用いて血中の好中球を減少させた後に発症させたnephrotoxic nephritisで、組織障害の軽減および蛋白尿の減少がみられたことから、好中球が腎炎発症の主体を成しているという事が報告されている。しかし用いられているNitrogen Mastardは、細胞障害が広汎であり、好中球のみを特異的に減少させているとは言い難い。

今回我々は、*in vivo*で好中球のみを特異的に除去する抗好中球モノクローナル抗体(RP-3)を用い、馬杉腎炎ラットに前投与した後、そのheterologous phaseにおける尿蛋白排泄量、組織所見、末梢血所見について検索し、腎炎発症における好中球の関与について検討した。

対象と方法

〔実験動物〕WKA/Hラット、雄、6週齢

〔抗中球モノクローナル抗体(RP-3)〕

山形大学 仙道教授より供与されたIgMクラスのモノクローナル抗体で*in vivo*で投与することによりラット末梢血中好中球のみを特異的

に除去する(Fig. 1)。単球、リンパ球には影響を与える、またリンパ節、肺、腎、肝などの組織とも反応しない。

ラットを3群に分け、1群にこの抗好中球モノクローナル抗体(RP-3)2.0mlを腹腔内に前投与した。2群には、抗好中球モノクローナル抗体に対するコントロールとして、IgM classモノクローナル抗体(S. japonicum egg antigenに対するモノクローナル抗体)を2.0ml腹腔内に前投与した。

〔馬杉腎炎の作製〕ラット糸球体基底膜をウサギに免疫して得られたネフロトキシン(以下NTX)を用い、1群では抗好中球モノクローナル抗体投与6時間後、2群も同様にモノクローナル抗体投与6時間後に、NTX1.0mlを尾静注し馬杉腎炎を発症させた。3群はNTX1.0mlのみを投与した対照群とした。各ラットは尿採取のため、metabolic cageで飼育した。

〔尿蛋白排泄量の測定〕注射前およびNTX投与後3時間、6時間、12時間、18時間後に採尿し、スルホサリチル酸法で定量した。

〔末梢血白血球数と好中球数〕注射前およびNTX投与後、3時間、6時間後に尾静脈より採血し、Turk染色後に白血球数を算定した。一部はスライドグラスに塗布後、Wright-

順天堂大学医学部免疫、同内科*

Giems染色後、好中球数を算定した。

[組織学的検討] NTX 静注後、3時間、6時間後に摘出した腎組織は、光顕用に10%ホルマリンで固定し、HE, PAS, PAM染色を施した。蛍光抗体法には腎組織を凍結切片にした後、抗ラット IgG, 抗ラット C₃, 抗ウサギ IgG 染色を直接法で行い、Zeiss 落射型顕微鏡で観察した。電顕は、摘出腎を 2% osmium tetroxide で2時間固定した。ethanol で脱水後 epon に包埋し超薄切片作製後、uranyl acetate と lead citrate で二重染色し、電子顕微鏡下(日立H-500)で観察した。

成 績

1. 末梢静脈血中好中球数については、Fig. 2 に示すように抗好中球モノクローナル抗体前投与群では、投与後より徐々に好中球数の減少がみられ、NTX投与後も更に減少を続け、6時間後では著しい低値を示した。一方、他の2群では、好中球数、白血球数とも大きな変動がみられなかった。
2. 尿蛋白排泄量の経時的变化は、Fig. 3 に示したように、抗好中球モノクローナル抗体前投与群と他の2群との間で、有意な差が認められなかった。
3. 組織学的所見は、蛍光抗体法では、Fig. 4 に示す如く、抗好中球モノクローナル抗体投与群で、抗ラット IgG, 抗ラット C₃, 抗ウサギ IgG とも線壁に沿って線状沈着が認められた。又他の2群も同様の所見がみられた (Fig. 4 参照)。

光顕および電顕所見は、今回用いたNTX の効果が適切でなく、好中球の組織での定量性が乏しく明瞭な結果が得られなかつたため現在再実験に確認中である。

考案と結論

末梢血好中球のみを特異的に除去する抗好中球モノクローナル抗体を用いた。末梢血好中球を除去した後に発症させた馬杉腎炎の際にみら

れた尿蛋白排泄量と、対照群の馬杉腎炎での尿蛋白排泄量との間に差が認められなかつたことから、腎炎の heterologous phase における組織障害、蛋白尿の機序には好中球の関与は少ないことが明らかとなつた。このことからむしろ好中球と共に出現する monocyte が主体となり、放出されるサイトカインなどの炎症性 mediator によって基底膜が障害されるというような mechanism がはたらいている可能性が強く示唆された。残念ながら monocyte のみを特異的に除去出来る実験子は、いまだ確立されていないのが、今後この腎炎における monocyte と、好中球関与の相関を調べる必要性が示唆された。

参考文献

1. Frederick, G. Germuth, Jr., Eugene Rodriguez, Sc. D., Hansa J. Shah., Karen Lorette, B.S., Sue McGee, R.N., Linda Milano., and O'lester Wise.: Antibasement membrane disease. II. Mechanism of glomerular injury in an accelerated model of Masugi nephritis. Laboratory Investigation. 39: 421-429, 1978
2. Charles, G. Chochrane., Emil, R. Unanue., Frank, J. Dixon.: J. Exp. Med. 122: 99-122, 1965
3. 長沢俊彦:腎炎の疾患モデル. 総合臨床, 31 : 1962-1967, 1982

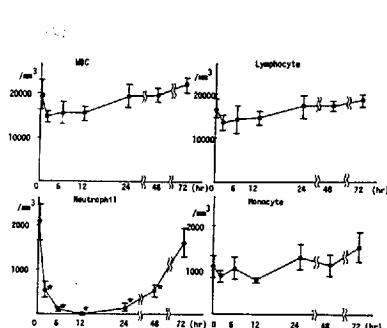


Fig. 1 抗好中球モノクローナル抗体による末梢血の変化

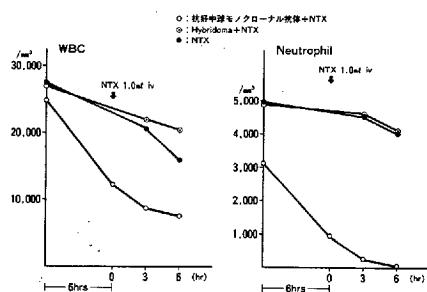


Fig. 2 末梢血白血球数と好中球数の変化

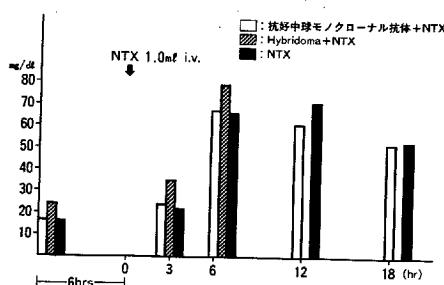


Fig. 3 尿蛋白排泄量の変化

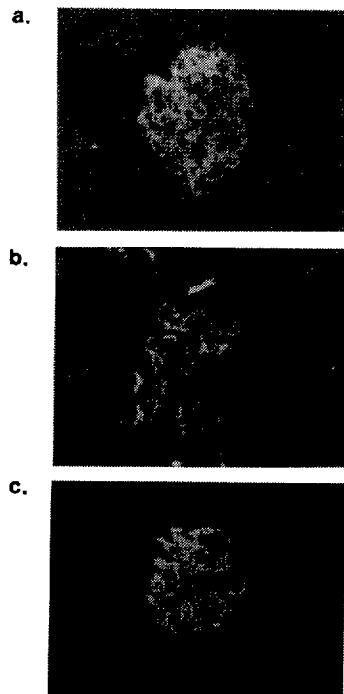


Fig. 4 Immunofluorescence
a. anti-rat IgG (3 hrs)
b. anti-rat C₃ (3 hrs)
c. anti-rabbit IgG (3 hrs)

↓ 検索用テキスト OCR(光学的文書認識)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

in vivo で好中球を特異的に除去出来るモノクローナル抗体を用い、馬糞腎炎における好中球の関与を調べた。少なくとも蛋白尿出現に、好中球の関与ほとんど関与しない新知見が得られた。