

Coxsackie B4 virus による実験的腎炎

— IgA 腎症のモデルとして —

小児慢性腎炎の治療法の開発に関する研究

小児腎炎の病態病理に関する研究

鈴木 仁, 加藤一夫, 弓削田英和, 鈴木順造, 神山 諭, 久米一成

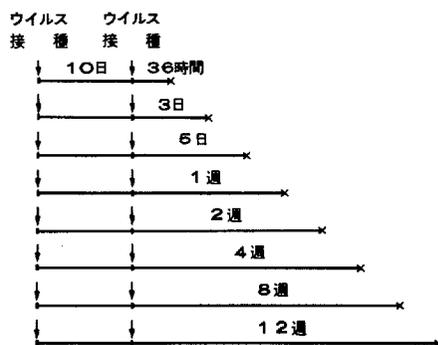
要約 IgA 腎症の実験モデルとしてはIgA dominant な螢光態度と進行性病変であることを要する。本研究で得られたCox.B4 virus による実験的腎炎はmesangium中心の腎障害であり, mesangium にはIgG,IgA, ウイルス抗原が長期にわたって局在していた。ゆえにIgAだけをdominant に産生させる何らかの操作をこれに加えれば, このモデルは将来的にIgA腎症にまで進展させ得る可能性を有する基礎的腎病変になり得ると考える。

見出し語: IgA 腎症, Coxsackie B4 virus, 実験的腎炎

研究方法 実験動物には, Swiss albino マウス, 4週齢, 雌を用いた。接種用ウイルス液と抗血清作成用ウイルス液は, 既報¹⁾の方法により精製したCox. B4 virus を使用時にそれぞれ 10^7 TCD₅₀ / 0.1 ml および 10^8 TCD₅₀ / 0.1 ml に調整して使用した。コントロール液としては, 血清無添加培養液を接種用ウイルス液作成時と同様の操作で処置し, その上清を用いた。今年度の実験方法の概要は図1に示したごとくである。

マウスを各5匹ずつウイルス接種群8群とコントロール群のあわせて9群にわけた。ウイルス接種群には, 接種液をそれぞれ0.3 ml ずつ尾静脈より静注し, 10日の間隔をおいて同様に2回目の接種をしたのち, 経時的にと殺して腎を採取し, 病理組織学的検討を行った。と殺間隔は2回目接種後36時間, 3日, 5日, 7日, 2週, 4週, 8週, 12週とした。採取した腎は, 顕微鏡用は10%ホルマリン固定, 螢光抗体法用は凍結切片したのちに冷アセトン固定, 電顕用はグルタール, 1%オスミウム酸固定にて処理した。顕微鏡的検討は, HE, PAS染色にて, 電顕的検討は, 酢酸ウラニルおよび硝酸鉛による二重染色により行った。螢光抗体法的検討は, Behring社製FITC標識抗マウスIgG,IgA,IgM,C₃ 血清を

図1.



使用した直接法によった。ウイルス抗原の検索は, 抗血清作成用ウイルス液を家兔の耳静脈に 10^9 TCD₅₀ ずつ週2回, 5週間にわたって接種することにより免疫して得られた中和抗体価10, 248倍の血清とCappel社製FITC標識抗ウサギ免疫グロブリンヤギIgGを用いた螢光抗体間接法によった。

結果 Cox. B4 virusをSwiss albino マウスに10日の間隔をおいて2回接種したのちの腎におけるウイルス抗原および免疫グロブリンの動向と病理組織学的所見の経時的推移をまとめ, 図2に示した。すなわち,

1. Mesangium の増殖性変化は一過性であり,

福島県立医科大学小児科学講座

H.Suzuki, K.Kato, E.Yugeta, J.Suzuki, S.Kamiyama, K.Kume

Fukushima Medical College, Department of Pediatrics

時間の経過とともに消退した。

2. PAS陽性沈着物は、血管極には全経過を通して同程度に認められた。mesangium 領域にも同様に初期から存在していたが、その程度は2週以後につよくなり、一部は半球状から球状を呈していた。

3. IgG, IgA および C_3 は初期にはほとんど染色されなかったが、 C_3 は2週目をピークとして、IgGとIgAは4週目以降につよくmesangium 領域と血管極に染色された。

4. IgMは、早期にはコントロールと比較してつよく染色されたが、後期には蛍光がやや減弱し、コントロールよりやや強いか同程度に染色された。

5. ウイルス抗原は、IgGとIgAが染色されたのとはほぼ同時期に同様の染色態度で認められた。

図3は2回目のウイルス液接種後、4週を経た時点での光顕所見である。これは軽度のfocal segmental mesangial proliferationの像であり、mesangiumにPAS陽性沈着物を認め、一部では半球状を呈していた。電顕では図4のごとくmesangial electron dense depositsを認め、一部では内皮下およびparamesangiumにも認められた。図5はウイルス抗原がfocal segmentalにmesangiumあるいは血管極付近に染色された所見である。IgGとIgAは図6のごとくともに同様の染色態度をとり、focal segmentalにmesangial patternで染まった。

考察 自然界には数多くのウイルスが存在し、ヒトは顕性あるいは不顕性感染という形でその侵襲を受ける。また腎はウイルス感染を受けやすい臓器であり、その際の腎障害としては幾多の報告がなされている。²⁾ なかでもIgA腎症では、所謂かぜに罹患したことを契機として、時には下痢症状にひき続いて肉眼的血尿が出現するし、腎組織でmesangiumにIgAがdominantに染色されることなどから、ウイルス、とくに気道あるいは腸管で増殖するウイルスが、その発症、さらには増悪や進展の一因として果して

いる役割の重要性が注目されている。

ウイルスの持続感染による免疫複合体型腎炎に関する研究は、LCMウイルスをはじめとして比較的古くからなされ、その病態はある程度まで解明されてきている。しかし、日常診療において経験することが多いウイルスの急性感染に基づいて生じる腎障害の発症機序に関しては報告が少なく、ましてやヒトの腎炎に匹敵した動物実験モデルは未だない。私達は、数ある所謂かぜウイルスのなかでも腸管系ウイルスに属し、主として腸管で増殖するCox. B4 virusをマウスの腹腔内に1回接種することにより、2回のウイルス血症を経て、mesangial depositsを伴った増殖性腎炎を作成した。³⁾ この腎炎は16週間にわたる経過観察の結果、そのほとんどが一過性の経過であったためヒト紫斑病性腎炎類似の腎病変を思わせたが、一部には進行性病変も認められたので、これはIgA腎症の病態を考える際のウイルスの関与を示唆する所見であろうかと考えた。そこでこれら腎病変の成り立ちをさらに検討することにより、IgA腎症の実験モデルができないかと考え、人為的に2回のウイルス血症をおこさせた場合の腎病変について検索し、その結果を昭和60年度本研究班業績報告書に報告した。¹⁾ すなわち、マウスに生きたウイルスを2週間の間隔をおいて2回静注したのちの腎変化を検討すると、mesangium細胞は、segmentalに軽度に増殖し、なかには半球状ないし球状のPAS陽性mesangial depositsを認め、電顕ではparamesangiumからmesangium領域にかけて大きなelectron dense depositsを認め、それは一部、内皮下にも存在した。この腎病変は光顕、電顕的にヒトIgA腎症類似の組織像であり、IgA腎症の病因としてウイルスが関与している可能性が大きいことを示唆していると考えたが、mesangial patternで染色された免疫グロブリンはIgA dominantではなかった。ゆえにこれをIgA腎症の実験モデルとして完成させるためには、これが進行性病変であることの証明とIgA dominantな蛍光

图 2.

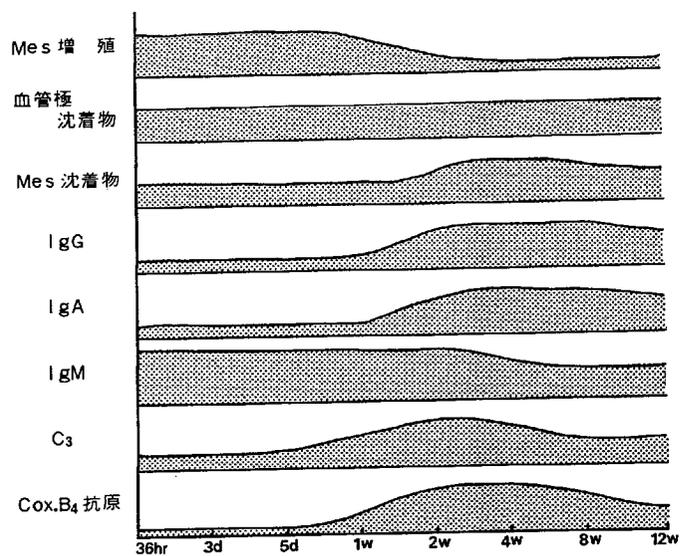


图 3.

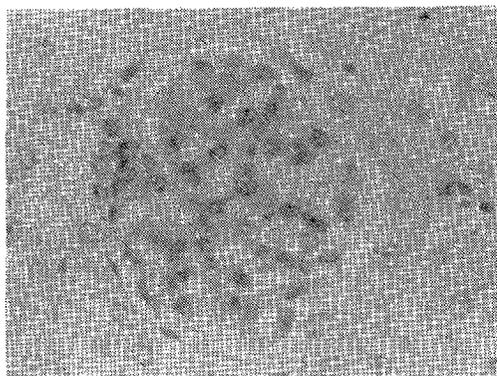


图 4.



图 5.

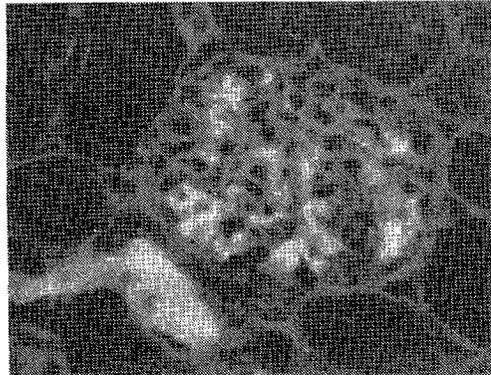
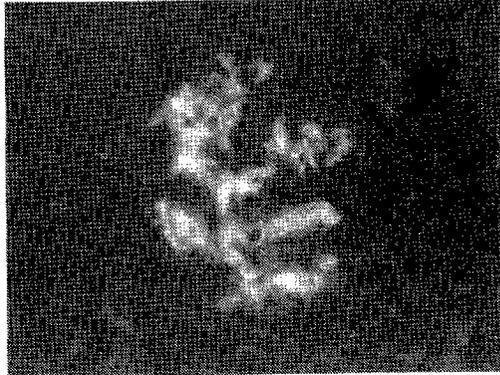


图 6.



態度であることを示す必要があった。私達はこれらを解決するために抗原投与方法、投与量、投与回数、投与間隔、投与後の時間的推移による腎病変などについて検討を加えてきた。その中で昭和61年度の本研究班での研究成果として前述したmesangial depositsが生ずるための最適な接種間隔は10日から3週間の間であることを報告した。⁴⁾ これをもとに今年度は、接種間隔を10日とし、2回目接種以降のウイルス抗原、免疫グロブリンの動向および腎組織変化の経時的推移について検索した。その結果、C₃ は2週目をピークとして、IgGとIgAは4週目以降につよくmesangium領域に染まるようになり、ウイルス抗原も同様の部位に染色されたが、その蛍光態度はIgA dominantではなく、腎病変についても進行性であるか否かの結論を出せるまでに至らなかった。しかし、ウイルス抗原がmesangium領域に長期にわたって局在していることは確かであるので、この状況下でIgAを産生させる何らかの方法を考え、これに何らかの手を加えれば、本研究で得られた成果は、将来的にIgA腎症の実験モデルにまで進展させ得る基礎的病変として価値あるものであろうと考える。

以上の結果をふまえて今後検討すべき課題として考えられることは、ヒトでは初感染、再感染という形で頻回にウイルス抗原による刺激を受けていることから、IgAがmesangiumに出現した時期に同じウイルスによる弱い抗原刺激を頻回に加えればヒトが自然界で受けると同じ状況が作られないか、抗原を自然の形で経口的に投与してみてもどうか、今回の実験系はあくまでマウスとCox. B4 virusとの関係であるので、宿主としてのマウスでは良い結果が得られなかったが、他の動物ではどうか、また抗原ウイルスの種類を変えてみるかどうかなどである。

いずれにせよ、私達の実験結果は、ウイルス感染により少なくともヒトではIgA腎症類似の病変が起り得ることを示しているものと考え

文献

- 1) 鈴木 仁, 加藤一夫, 大原信春, 鈴木順造, 神山 諭, 久米一成: Coxsackie B4 virusによる実験腎炎-IgA腎症のモデルとして-, 厚生省心身障害研究, 小児慢性腎疾患の予防・管理・治療に関する研究, 昭和60年度研究業績報告書, P141-144, 1986.
- 2) 鈴木 仁: ウイルスと腎臓, 小児科, 27(7): 883-889, 1986.
- 3) 加藤一夫: Coxsackie B4 virusによる実験的腎炎, 日腎会誌, 22(3): 233-247, 1980.
- 4) 鈴木 仁, 加藤一夫, 大原信春, 鈴木順造, 神山 諭, 久米一成: Coxsackie B4 virusによる実験腎炎-IgA腎症のモデルとして-, 厚生省心身障害研究, 小児慢性腎疾患の予防・管理・治療に関する研究, 昭和61年度研究業績報告書, P157-160, 1987.



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



要約 IgA 腎症の実験モデルとしては IgA dominant な蛍光態度と進行性病変であることを要する。本研究で得られた Cox.B4virus による実験的腎炎は mesangium 中心の腎障害であり, mesangium には IgG, IgA, ウイルス抗原が長期にわたって局在していた。ゆえに IgA だけを dominant に産生させる何らかの操作をこれに加えれば, このモデルは将来的に IgA 腎症にまで進展させ得る可能性を有する基礎的腎病変になり得ると考える。