

ウイルス性実験腎炎の研究

—IgA腎症のモデルとして—

小児腎臓疾患の進行阻止に関する研究

進行阻止に関する免疫・遺伝・病態生化学的研究

鈴木 仁、加藤 一夫、弓削田英知、鈴木 順造、神山 諭、樋口 悦美

マウスにCox. B4ウイルスを1カ月に1度、断続的に腹腔内接種し、メサンギウムに球状から半球状のPAS陽性沈着物を伴う巣状分節性増殖性腎炎を作成した。半月体形成は認められなかったが、IgAがメサンギウム領域に優位に染色され、ヒトIgA腎症に類似した腎病変であると考えられた。

IgA腎症、実験的腎炎、Coxsackie B4 Virus

〈研究方法〉

I 材料

- 1) 実験動物：ICR系マウス、4週齢、雌、90匹
- 2) ウイルス液：完全無血清培地(Cosmedium-001、コスモバイオ製)で増殖させたVero細胞にCoxsackie B4(Cox. B4)ウイルスを接種し、50~70% cytopathic effect がえられた時点で採取し、-80℃で急速凍結した。これを室温で融解し、以後の操作はすべて0~4℃で行なった。融解したウイルス液を3,000 rpmで20分間遠心後、上清をとりFluorocarbonと混和し、3,000 rpmで15分間遠心した。その上清をとり、さらにFluorocarbonと混和し、同様操作を3~5回繰り返した。その後、-80℃に凍結保存し、使用時に 10^7 TCD₅₀/0.1 mlに調製した。
- 3) コントロール液：完全無血清培地で増殖させたVero細胞を、培養液ごと凍結・融解し、ウイルス液精製と同様の操作を行ない、上清を得た。これを使用時まで凍結保存し、コントロール液とした。
- 4) FITC標識血清：FITC標識抗マウスIgG、IgA、IgM、C3ヤギ血清(Cappel社製)を使用した。ウイルス抗原の検索は、蔗糖濃度勾配法にて精製したウイルス液で免疫して得た家兎

血清を一次抗体とし、FITC標識抗ウサギIgGヤギ血清(Cappel社製)を二次抗体とした。

II 方法

マウス腹腔内に1カ月に1回ウイルス液(45匹)およびコントロール液(45匹)を0.3 mlずつ接種した。4回から12回接種し、それぞれ接種後1カ月目に5匹ずつ腎組織の採取と採血を行なった。腎組織は、光顕(HE、PAS染色)、蛍光抗体法(IgG、IgA、IgM、C3、ウイルス抗原)および電顕(酢酸ウラニルとクエン酸鉛の二重染色)にて検討した。ウイルス抗体価は、血清分離後非働化し、マイクロタイター法で中和抗体価(NT価)を測定した。尿潜血反応はマルティスティックス(マイルス・三共)によって測定した。

〈結果〉

I 組織学的所見

a) 光顕：ウイルス接種群では、4回接種で巣状分節性にメサンギウムの軽度増殖がみられ、メサンギウム領域にPAS陽性沈着物を認めた(図1)。接種回数が増加するに従い、メサンギウム増殖はその程度を強め、メサンギウム領域のPAS陽性沈着物も量を増し球状から半球状となった。そして、糸球体係蹄壁は不規則に肥厚し、一部でボウマン嚢との癒着がみられ、

福島県立医科大学小児科学講座

Hitoshi Suzuki, Kazuo Kato, Eichi Yugeta, Junzo Suzuki,
Satoru Kamiyama, Etumi Higuchi

Fukushima Medical College, Department of Pediatrics

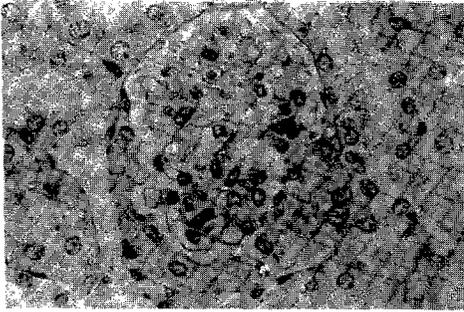


図1 4回接種、PAS

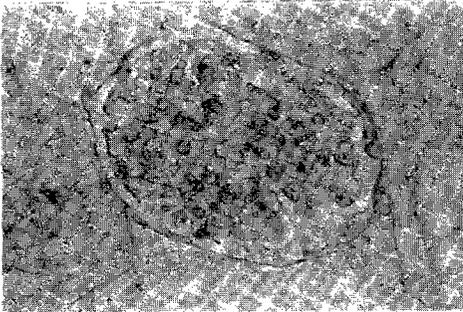


図2 6回接種、PAS

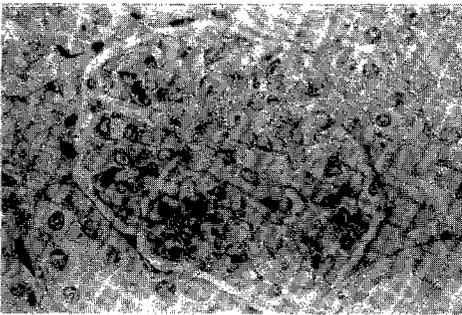


図3 10回接種、PAS

半月体の形成はないもののボウマン嚢上皮の立方化を認めた(図2)。しかし、接種回数が9回を越えるとメサンギウム増殖が強くなると同時に、メサンギウム領域のPAS染色性が低下し、糸球体係蹄壁はさらに不規則肥厚し、上皮側に spicula 様の突起を認めるようになった(図3)。

コントロール群では、明らかな変化を認めなかった。

b) 蛍光抗体法：ウイルス接種群では、4~8

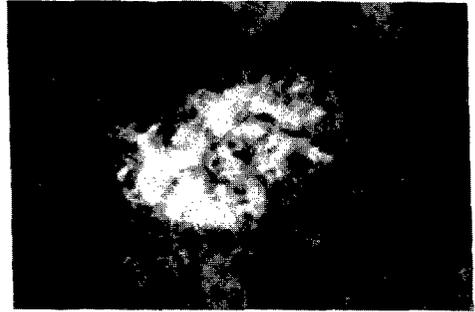


図4 6回接種、IgA

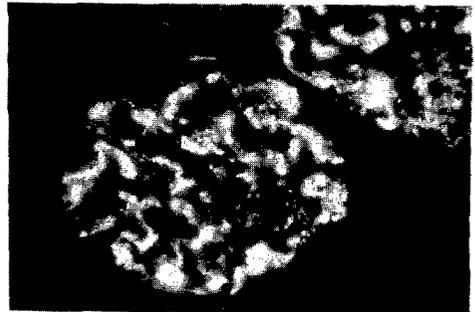


図5 10回接種、C3

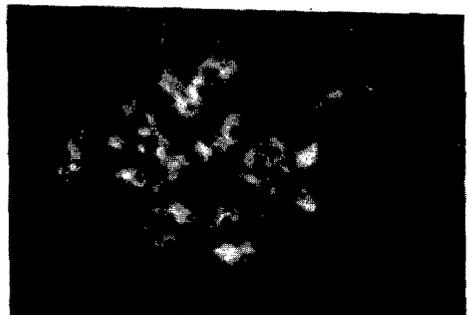


図6 7回接種、virus-Ag

回接種で IgG, IgA, IgM, C3 が mesangial pattern で染色され、接種回数が増すに従って IgG が強く染まるようになったが、常に IgA が優位であった(図4)。9回以上接種では、IgG, IgA, IgM, C3 が mesangial pattern で染色され、IgG が優位であるものと、IgG, IgM, C3 が連珠状に染色され、C3 が強く染まるものとが認められた(図5)。ウイルス抗原は、免疫グロブリンと同様の態度で染色され、その強さは接種回数に比例した(図6)。



図7 5回接種、電顕

コントロール群では、ウイルス接種群に比較すると弱いがIgMがmesangial patternで、C3は Bowman 嚢に染色された。ウイルス抗原は、常に陰性であった。

c) 電顕：ウイルス接種群では、光顕所見に応じて、初期にはmesangial proliferationとmesangial electron dense deposits (EDD)を認めた。接種回数が増すに従い、EDD量も多くなり、基底膜の部分的な肥厚もみられた(図7)。しかし、9回以上接種では、メサンギウム領域にアミロイドの沈着がみられるようになり、上皮下にもEDDが出現し、膜性腎炎様の像を呈するものも認められた(図8)。

コントロール群では、明らかな変化を認めなかった。

II ウイルス抗体価および尿潜血反応：血清NT値は、4回接種で128倍であったが、以後は64倍で経過した。尿潜血反応は、6回接種以降で明らかに陽性となり、同時に尿蛋白も増加傾向を示した。

〈考察〉

IgA腎症は、気道あるいは消化管感染症にひき続いて急性発症をみると、メサンギウムにIgAが優位に染色されることなどより、ウイルスが発症に関与している可能性が高い。私達は、自然界に常在し、腎に親和性の高いウイルスであるCox. B4を用いて、これまで実験腎炎を作成してきた^{1~5)}。その結果、本ウイルスはマウスに対し腎炎惹起性を有し、断続的に投与

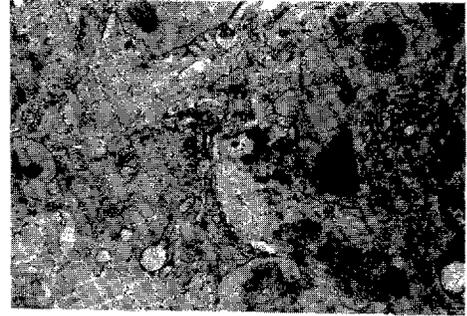


図8 10回接種、電顕

することによって、PAS陽性沈着物を伴うメサンギウム増殖性の進行性腎炎を発症させることが明らかとなった。こうして得られた腎組織像は、光顕および電顕ではヒトIgA腎症類似であったが、蛍光抗体法でIgA優位の所見は得られなかった。そこで、今回の実験ではウイルスの投与経路を腹腔内として検討した。

Cox. B4ウイルスを1カ月に1回腹腔内に接種すると、4~8回接種後1カ月では、IgAが常にIgGやIgMよりも強くメサンギウムに染色された。光顕および電顕的には、静脈内接種したもの⁵⁾に比し、メサンギウム増殖の程度は軽く、半月体の形成もみられなかったが、メサンギウム領域に半球状から球状のPAS陽性沈着物あるいはEDDが存在し、基底膜の不規則肥厚も認められた。さらに、尿潜血が陽性となり、尿蛋白の増加傾向がみられたことは、ヒトのIgA腎症にかなり近似した腎炎が作成できたと考えられる。

一方、接種回数が9回以上となると、メサンギウム増殖は強くなるが、アミロイドーシスの像が加味されるようになった。これは、ウイルスの投与経路が腹腔内であったため、ウイルス刺激により腹腔内マクロファージが繰り返し活性化されたことによるものと推測される。なお、IgGがメサンギウムに強く染色されるものと、上皮下にEDDが認められ、C3が連珠状に染色されるもののがみられたが、メサンギウムにアミロイドの沈着が強いもので後者が多か

ったことより、上皮下のEDD沈着にはメサンギウム機能低下が関与したものと考えられた。

以上より、マウス腹腔内にCox. B4ウイルスを1カ月に1回ずつ、4～8回接種することによって、ヒトIgA腎症に極めて類似した腎病変が得られることが明らかとなり、IgA腎症の実験モデルになり得るものと考えられた。

〈文献〉

- 1) 加藤一夫：Coxsackie B4 virusによる実験的腎炎、日腎誌、22(3)：233-247、1980.
- 2) 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.
- 3) 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.
- 4) 鈴木仁、加藤一夫、弓削田英知、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62年度研究業績報告書、p146-149、1988.
- 5) 鈴木仁、加藤一夫、弓削田英知、鈴木順造、神山諭、樋口悦美、久米一成、野沢ルリ子、川崎幸彦：ウイルス性実験腎炎の研究-IgA腎症のモデルとして-、昭和63年度厚生省心身障害研究、小児腎疾患の進行阻止と長期管理のシステム化に関する研究、p25-28、1989.



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



マウスに Cox.B4 ウイルスを 1 ヶ月に 1 度、断続的に腹腔内接種し、メサンギウムに球状から半球状の PAS 陽性沈着物を伴う巣状分節性増殖性腎炎を作成した。半月体形成は認められなかったが、IgA がメサンギウム領域に優位に染色され、ヒト IgA 腎症に類似した腎病変であると考えられた。