

腎症発病と進行の細胞免疫学的機序

小児腎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

奥村康¹⁾、河村修¹⁾、八木田秀雄¹⁾、宮坂昌之²⁾

細胞接着分子であるICAM-1が、馬杉腎炎発症時の糸球体への白血球浸潤に関与している可能性を検討した。正常腎組織と馬杉腎炎を作製した腎組織でICAM-1の発現を酵素抗体法で調べた。後者では、ポーマン囊壁と間質の一部、メサンジウム領域に発現が認められ正常腎に比較し極めて増強していた。

ICAM-1, 馬杉腎炎, メサンジウム

【研究方法】糸球体腎炎の細胞増殖には、血行由来の炎症性細胞と糸球体固有の細胞増殖の2つが考えられる。馬杉腎炎発症時においては、血行由来の白血球の浸潤が多くみられ、糸球体障害や蛋白尿を引き起こすことに関与していると考えられている⁵⁾。どのような機序で白血球の糸球体への浸潤が起こるかは、腎炎発症機序の解明に大変重要であると考えられる。

そこで、炎症時に血管内皮でその発現が増強することが知られていて、しかも炎症時に起こる白血球の浸潤と定着の1つの重要な機序であるIntercellular adhesion molecule (ICAM-1)の役割⁶⁾を腎組織で調べるために、正常腎組織と馬杉腎炎腎組織で、ICAM-1の発現が、どこにどの程度出現しているかを検索した。

1. 抗ラット ICAM-1 monoclonal抗体の作製

カラーゲナーゼ処理によりリンパ節結合組織を得、12~24h 培養後 non-adherent cellを取り除き ad-

herent cellを得た。その後、内皮細胞のみ生育できる培地にて培養し、ラット血管内皮細胞株Axを樹立した。これをBAL B/C mouse に免疫し、得られた免疫脾細胞と mouse myeloma cellをポリエチレングリコール4000を使ってfusionを行った。ハイブリドーマcellをHA T mediumにて選択し、培養上清のAxに対する反応性をELISAにて検索した後、PMAにより誘導されるP HA-blastの凝集を強く抑制するハイブリドーマを選択した。その後この抗体により認識される抗原の生化学的性状、組織分布、炎症性サイトカインによる誘導の有無等から、この抗体がラットICAM-1に対するmonoclonal抗体であることが確認された。

2. ラット馬杉腎炎の作製

馬杉腎炎の作製は、正常wistarラットよりSpiro等の方法に準じ、GBMを採取し、等量のFreund's complete adjuvantを混和し、体重約2.5kgの日本白色家兎の皮下に免

1) 順天堂大学免疫学

2) 都立臨床医学総合研究所免疫部

Ko Okumura¹⁾, Osamu Kawamura¹⁾, Hideo Yagita¹⁾, Masayuki Miyasaka²⁾

1) Department of Immunology, Juntendo University School of Medicine

2) Department of Immunology, Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science

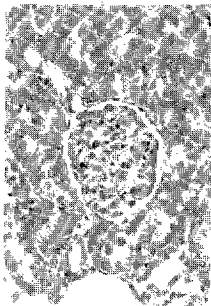
疫した。以後、二週間間隔で三回 im complete adjuvant を用いて皮下注射により booster を行った後脱血し、nephrotoxic serum (NTS) を得た。これを57°Cで30分間非動化した後、ラット赤血球にて吸収した。そして NTS をラットの尾静脈から静注して馬杉腎炎を発症させる NTS 投与量 (1ml) を決定した。NTS を静注する4日前に家兎 globulin (4mg in 0.75ml FCA) を投与し、Active 馬杉腎炎を作製した。

3. 腎の組織学的検討

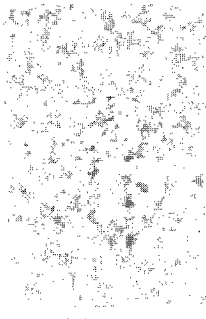
馬杉腎炎を作製した腎は、NTS 投与後7日目に採取した。光学顕微鏡的観察は、検体を10% 緩衝ホルマリン溶液にて固定後パラフィン包埋し、ミクロトームにて薄切 HE, PAS 染色を行い、検鏡に供した。酵素抗体法は組織片を採取後速やかに O.C.T. compound (Miles 社) に凍結包埋し、クリオスタットにて厚さ4 μ m の切片を作製、抗ラット ICAM-1 (20g/ml)、ベクタスチン Elite ABC キットにて染色し観察した。

【結果】図1に正常腎における HE 染色及び ICAM-1 の分布を示した。ボーマン嚢壁の一部及びメサンジウム領域に弱い ICAM-1 の発現が認められた。

図1.



ラット正常糸球体組織像 (HE染色) $\times 400$



糸球体内の ICAM-1 の軽度の出現 (酵素抗体法) $\times 400$

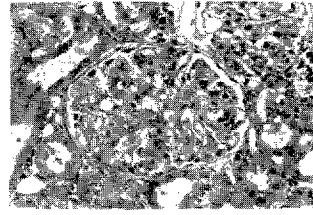


図2. NTS 1W後1W (HE染色) $\times 400$

図2に、NTS を静注後1W後の HE 染色を示した。糸球体の腫大及びボーマン嚢壁への癒着が認められ、細胞増殖も観察された。

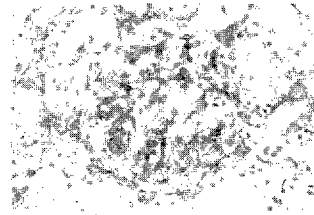


図3. NTS 1W後1W 糸球体内の ICAM-1 の著明な出現 (酵素抗体法) $\times 400$

図3に、光顕と同一の馬杉腎炎組織における ICAM-1 の分布を示した。正常腎組織と同様に全く同じ条件下で、染色した。ICAM-1 の分布は、ボーマン嚢壁、間質の一部、メサンジウム領域、血管係蹄に染まった。その染色強度は正常腎に比較し極めて増強していた。この腎組織を、抗 Rabbit IgG で蛍光染色すると図4のように糸球体基底膜が確かに linear に沈着したが、ICAM-1 は主にメサンジウム領域に発現が増加しており、細胞浸潤の場での ICAM-1 の出現の重要性が示唆された。

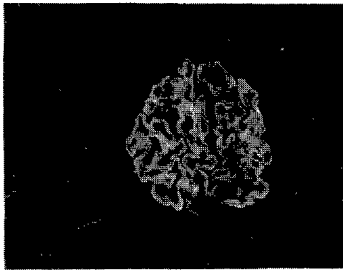


図4. NTS IV後1W
Rabbit-IgGが糸球体基底膜に
沿って線状に認められる
(蛍光抗体法) ×400

【考察】

循環血中を流れている白血球がどのような機序で炎症局所に集まり、どのような働きをするかは、炎症の治癒、または炎症の増悪を考える上で大変重要であると思われる。

馬杉腎炎では、抗糸球体基底膜抗体と糸球体基底膜との間で反応が起こると補体活性が誘発され、白血球遊走因子を有する C5a等が多核白血球をこの反応局所に誘引すると考えられている。このように補体系が白血球遊走にかなり関係しているのは、凝集ヒトIgGをあらかじめ注射して、これに補体を吸着させたり、C3を分解するザイモザンを投与すると¹⁾、抗原抗体結合は起きるが、白血球浸潤は停止することなどからも示唆される。しかし、Active馬杉腎炎では、糸球体に増加する細胞は血中由来の単核球であり、その機序は、糸球体基底膜上のIgG分子のFc部分で誘導される説²⁾や感作Tリンパ球やそのリンフォカインなどの液性因子が関与する報告^{3) 4) 5)}などがあるが、全てを説明するには至っていない。

今回、馬杉腎炎糸球体で、白血球の浸潤と定着の調節において重要な

役割を果たすと考えられる細胞間接着分子、ICAM-1分子の増強を観察できた。細胞間接着分子の中でも、特に炎症の場で発現が高まる⁶⁾ ICAM-1分子、IL-1, TNF, IFN- γ 等の炎症性サイトカインによりその発現が調節されており、そのリガンドであるLFA-1を発現しているT細胞、B細胞、単球、顆粒球との結合に關与するため、多くの免疫反応、特に炎症における血管内皮細胞を介した白血球浸潤と定着の調節において、中心的な役割を果たしている⁸⁾。馬杉腎炎糸球体特にその中でもメサンジウム領域に強いICAM-1の増強が認められたことは、白血球の浸潤に大変關与していることと共に、メサンジウム細胞が炎症及び免疫反応に密接に關与していることを示唆するものとも考えられる。

今後、抗Rat-ICAM-1をRat馬杉腎炎に投与し、糸球体に増加しているICAM-1をblockすることにより白血球浸潤及び腎炎増悪を治癒させることができるかどうか検討していく予定である。

【文献】

1. Ward, P.A. and Cochrane, C.G.: Bound complement and immunologic injury of blood vessels. *J. Exp. Med.* 121:215-234, 1965.
2. Holdsworth, S.R.: Fc dependence of macrophage induced experimental anti-glomerular basement membrane antibody nephritis. *J. Immunol.* 130:35-39, 1983.
3. Bhan, A.K., Collins, A.B., Schneberger, E.E. and McClusky, R.T.: A cell mediated reaction against glomerular bound immu

- ne complexes. J.Exp.Med. 150:
1410-1420,1979.
4. Bhan,A.K., Schneeberger,E.E.,
Collins,A.B. and McClusky,R.I
. : Evidence for a pathogenic
role of a cell mediated immun
e mechanism in experimental g
lomenulonephritis. J.Exp.Med.
148:246-260,1978.
 5. Tipping,P.T., Neals,T.J. and
Holdsworth,S.R. :T lymphocyte
participation in antibody-ind
uced experimental glomerulohe
phritis. Kidney Int. 27:530-
537,1985.
 6. Dustin,M.L., Rothlein,R., Bha
n,A.K., Dinarello,C.A. and Sp
ringer,T.A.: Induction by IL-
1 and interteron tissue distr
ibution, biochemistry and fun
ction of a natural adherence
molecule (ICAM-1). J.Immunol.
, 137:245,1986.
 7. Rothlein, R., Czahkowski,M.,
O'Neill, M. M., Marlin,S.D.,
Mainolti,E. and Merluzzi,V.J.
: Induction of intercellular
adhesion molecule 1 on primar
y and continuous cell lines b
y pro-intlammatory cytokines:
Regulation by pharmacologic a
gents and neutraliging antibo
dies. J.Immunol., 141:1665,
1988.
 8. 八木田秀雄：免疫細胞の接着分子
感染・炎症・免疫 19(2):129-
153,1989



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



細胞接着分子である ICAM-1 が、馬杉腎炎発症時の腎糸球体への白血球浸潤に関与している可能性を検討した。正常腎組織と馬杉腎炎を作製した腎組織で ICAM-1 の発現を酵素抗体法で調べた。後者では、ボーマン嚢壁と間質の一部、メサンジウム領域に発現が認められ正常腎に比較し極めて増強していた。