

腎糸球体基底膜における in situ immune complex (IC) 形成に関する研究 —active in situ IC 腎炎に関して—

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

本田西男、藤垣嘉秀、木村正人、菱田 明

塩基性フェリチンを抗原とする active in situ immune complex 腎炎における免疫複合体(IC)および補体C3の糸球体内動態と腎糸球体基底膜(GBM)透過性の変化を検討した。ICは内皮下で形成されICとしてGBM内を移動し上皮下ICを形成した。上皮下ICの一部は、浸潤細胞により貧食処理され、一部はメサンギウム領域へ移動した。上皮下および上皮下に集積したICは、それぞれの部位でC3を活性化した。本モデルでは上皮下IC形成以前よりGBM透過性亢進の存在が示唆された。

in situ immune complex, GBM, C3

【研究方法】動物は、雄ウイスター系ラット(100-120g)を使用した。Active in situ IC 腎炎は、ネイティブフェリチン500 μ gにて免疫後3週間目に塩基性フェリチン(pI>10)500 μ gを左腎動脈に灌流し、その後血流を再開することにより惹起した¹⁾。

(1)抗原、抗体、C3の糸球体内分布の経時的観察。塩基性フェリチン灌流後15分、2時間、1、2、7日後の左腎組織をPLP溶液で浸漬固定後、脱水しLowicryl K4Mに包埋した。超薄切片上で1次抗体として抗ラットIgG、抗ラットC3を反応させ2次抗体としてコロイド金(10nm)標識抗IgGを用い電顕にて観察した。

(2)GBM内の内因性アルブミン分布の検討。左腎表面皮膜を剥離し、in vivoにて腎表面を4%パラホルムアルデヒド溶液にて2時間固定し固定部位を細切後さらに同溶液にて浸漬固定した²⁾。準超薄切片上で表層糸球体を確認し、超薄切片上で抗ラットアルブミンを反応させた後コロイド金(10nm)標識抗IgGで標識し電顕にて観察した。正常ラット、腎炎ラットにおけるGBM内アルブミン分布の比較に加え塩基性フェリチン単独灌流ラット(15分後)も検討した。

【結果】15分後では大部分の抗原、抗体は内皮下に存在し、一部上皮下および緻密層内に観

察された(図1a)。C3は抗原と共に内皮下のみに認め、ICはまず内皮下で形成され、同部位で補体を活性化する可能性が示唆された(図2a)。その後、抗原と抗体は、ほぼ同じ分布で内皮側から上皮側へ移動し上皮下ICを形成した(図1)。但し、1日後の抗原、抗体の分布は内皮側優位の係蹄壁から上皮側優位の係蹄壁まで同一糸球体でも所見はさまざまであった。また2時間後と1日後の緻密層内では抗原、抗体の隣接所見をしばしば認めた(図1b, c)。C3は2時間目までは内皮下にのみとどまり、1日後より上皮下ICに一致し僅かに沈着を認め、2、7日と増加した(図2)。

15分後および2時間後では内皮下ICに接触するように血小板の係蹄腔内への集積を認めた。また2時間および1日後では、多核白血球、単球の係蹄腔内浸潤を認め、これら浸潤細胞が内皮下ICへ偽足を出しICを貧食処理している像が観察された(図3)。

メサンギウム領域には2時間後まではICの沈着を認めず、2日後からは明らかにGBMから連続的なパラメサンギウム領域へのICの沈着を認め(図4)、7日後にはさらに増加した。

GBM内の内因性アルブミン分布を指標としたGBM透過性変化の検討より、正常ラットで

浜松医科大学第一内科

Nishio Honda, Yoshihide Fujigaki, Masato Kimura, Akira Hishida

1st Department of Medicine, Hamamatsu University, School of Medicine

はアルブミンはGBM内側を中心に分布した(図5a)のに対し、腎炎群15分後では、しばしばGBM内側を越え外側にまで分布しており(図5b)正常に比し透過性が亢進している可能性が示唆された。2時間後(図5c)から7日後では、いずれもアルブミンは、ほぼGBM全層に分布し15分後に比しさらに透過性が亢進している可能性が示唆された。一方塩基性フェリチン単独灌流ラット(15分)では、アルブミンは正常に比しGBM内側を越える頻度が多く(図5d)、内皮下IC形成によらず塩基性フェリチン沈着のみでも透過性の変化がもたらされる可能性が示唆された。

【考察】Active in situ IC腎炎においてもpassive modelと同様³⁾、まずICは内皮下で形成され、その後GBM内をICの状態を保ったまま移動し上皮下に集積し上皮下ICを形成することが示唆された。さらに内皮下および上皮下に集積したICは、それぞれの部位でC3を活性化し、ICと補体とはGBM内行動を異にする可能性もpassive model同様⁴⁾に示唆された。

本モデルでは、内皮下IC形成により血小板集積に引き続き多核白血球、単球の係蹄腔内浸潤を認めた。これら細胞の浸潤は、ICによる補体の活性化に由来する遊走因子や、Fcまたは補体レセプターを介していると考えられ、GBM内ICの処理機構の一つとして、これらが内皮下ICの一部を貪食処理していることが明らかとなった。

また、メサンギウム領域では2日後になり明らかに係蹄壁GBMに隣接するパラメサンギウム領域へのICの沈着を認め、7日後にはさらに増加した。2日後から7日後の対側腎(右腎)では、ICの沈着を見ないことより、この間に抗原の流血中からのさらなる沈着はないと考えられ、GBMへ沈着したICの一部は、メサンギウム領域へも移動することが示唆され、IC処理機構の一つと考えられた。

従来固定方法、腎血行動態の変化により、

GBM内のアルブミン分布が変化する事が報告されている⁵⁾。今回用いた方法では係蹄腔内アルブミンは、ほぼ均一に存在したことより血流が保たれた状態で固定されたと判断されるため、GBM内アルブミン分布の変化をGBM透過性の指標とし、正常コントロールと比較評価することが可能と考えられた。腎炎惹起15分には既に、正常での内皮側優位のアルブミン分布が一部上皮側へと広がっていたことより本モデルでは、上皮下ICが形成され同部位でC3が活性化される1日目以前よりGBM透過性亢進の存在が考えられた。この時点での透過性亢進は、ICのGBM内移動にも関与している可能性がある。

一方塩基性フェリチン単独灌流(15分)のみでも透過性の亢進が示唆され、塩基性フェリチンそのものによるGBM陰性荷電の中和自体により本モデルにおける透過性変化が生じている可能性もある。しかし、塩基性フェリチン灌流のみでは、有意なアルブミン尿が出現しないのに対し、腎炎群では腎炎惹起後の24時間尿で既に有意なアルブミン尿を認めた。よって腎炎群での1日目以前の透過性亢進は、内皮下IC形成自体や、ICによる補体の活性化、これに伴う浸潤細胞からの透過性亢進因子の関与が示唆された。

【文献】

- 1) T. Oite et al. . Virchows Arch [Cell Pathol] 48 : 107-118, 1985.
- 2) P.N. Furness et al. . J Pathol 157 : 37-45, 1989.
- 3) Y. Fujigaki et al. . J Clin Electron Microscopy 21 : 936-937, 1988.
- 4) Y. Fujigaki et al. . J Clin Electron Microscopy 22 : 639-640, 1989.
- 5) G. B. Ryan et al. . Kidney Int 9 : 36-45, 1976.

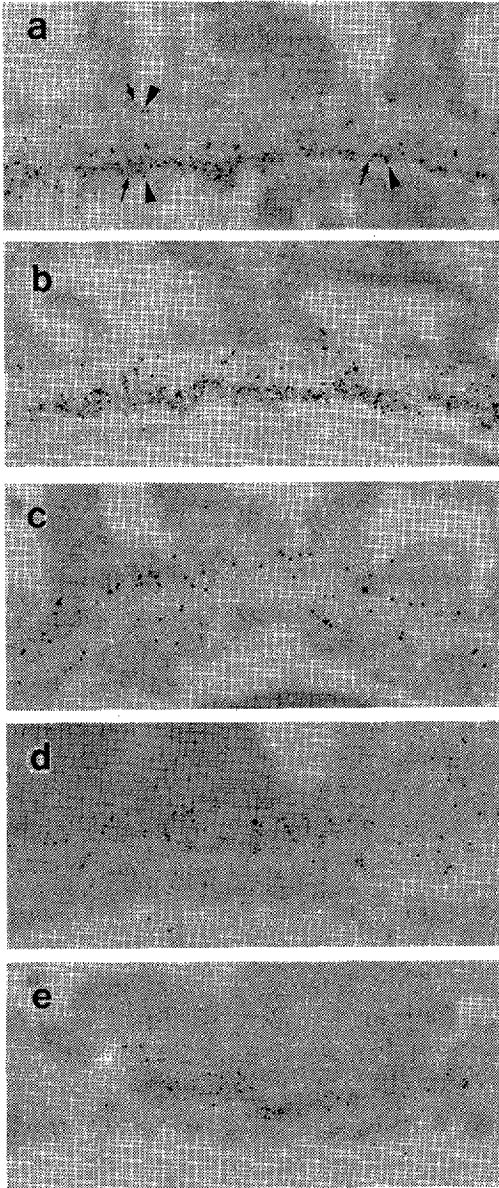


図1. 腎炎群におけるGBM上の抗原、抗体の経時的免疫電顕像。小粒子(矢印、5.5nm)はフェリチンを、大粒子(矢頭、10nm)はラットIgGを示す。a:15分、b:2時間、c:1日、d:2日、e:7日。

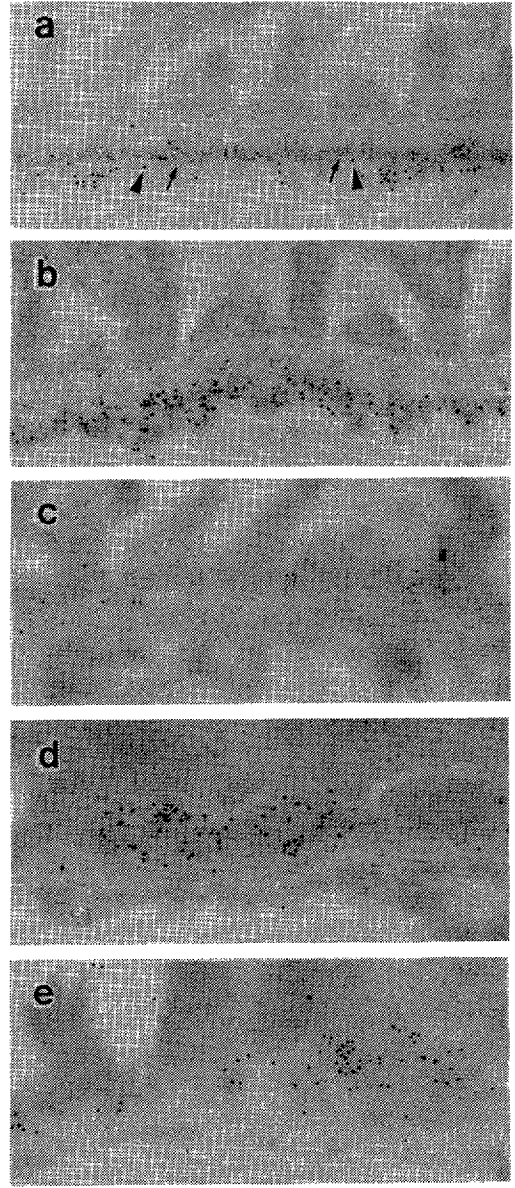


図2. 腎炎群におけるGBM上の抗原、C3の経時的免疫電顕像。小粒子(矢印、5.5nm)はフェリチンを、大粒子(矢頭、10nm)はラットC3を示す。a:15分、b:2時間、c:1日、d:2日、e:7日。

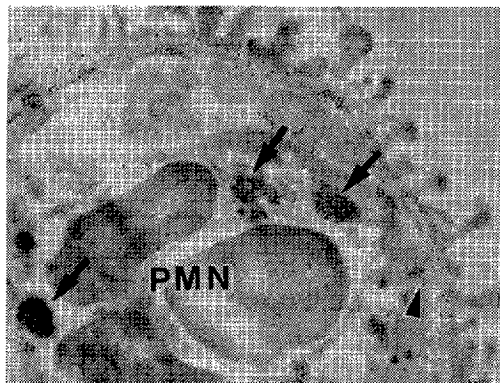


図3. 腎炎群(2時間)のラットIgG標識免疫電顕像。多核白血球(PMN)が内皮下ICへ偽足を出しICを取り込んでいる(矢頭)。ライソゾーム内には抗原、抗体の共存所見を認める(矢印)。

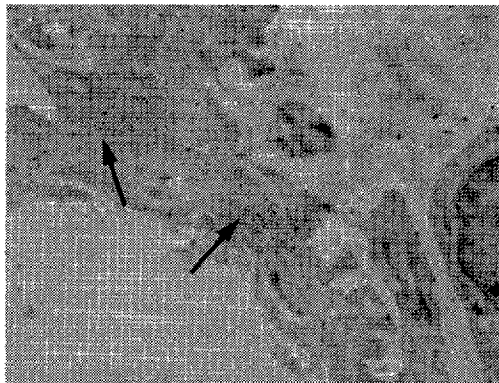


図4. 腎炎群(2日)のメサンギウム領域のラットIgG標識免疫電顕像。GBMから連続的なパラメサンギウム領域への抗原、抗体の沈着を認める(矢印)。

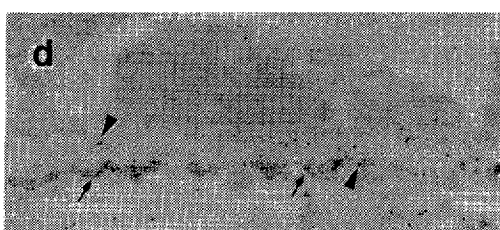
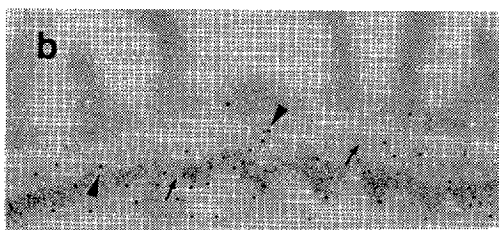
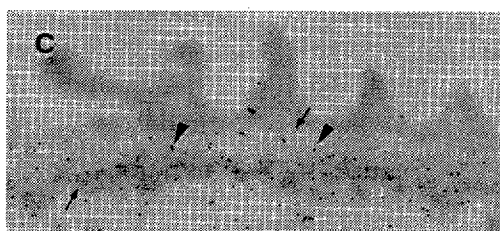
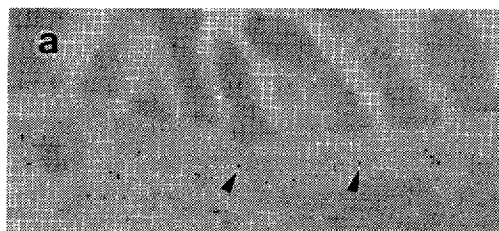


図5. GBM上のラットアルブミンの免疫電顕像。小粒子(矢印)はフェリチンを、大粒子(矢頭)はラットアルブミンを示す。a:正常群、b:腎炎群(15分)、c:腎炎群(2時間)、d:フェリチン単独灌流群(15分)。



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



塩基性フェリチンを抗原とする active in situ immune complex 腎炎における免疫複合体(IC)および補体 C3 の糸球体内動態と腎糸球体基底膜(GBM)透過性の変化を検討した。ICは内皮下で形成され IC として GBM 内を移動し上皮 IC を形成した。内皮下 IC の一部は、浸潤細胞により貪食処理され、一部はメサンギウム領域へ移動した。内皮下および上皮に集積した IC は、それぞれの部位で C3 を活性化した。本モデルでは上皮 IC 形成以前より GBM 透過性亢進の存在が示唆された。