

抗 ICAM-1 抗体による急性腎炎の抑制

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⁾

急性腎炎モデルとして、ラットの馬杉腎炎を用い、抗ICAM-1抗体の影響を調べた。蛋白尿を指標としても形態学的観察からも抗ICAM-1は急性腎炎を抑制することが明らかになった。

〔はじめに〕

急速進行性糸球体腎炎 (RPGN) のモデルに相当するとされる馬杉腎炎は強い白血球の糸球体内への浸潤を伴う。この白血球がどのような機序で循環血中から糸球体局所に集まりいかなる働きをするかは、糸球体腎炎の発生、増悪を考える上で大変重要であると思われる。

前回、馬杉腎炎糸球体で、白血球の浸潤の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。この糸球体局所で増強するICAM-1分子が、馬杉腎炎の白血球浸潤やその結果もたらされる蛋白尿の密接に関与しているかどうかを検討するため、抗Rat-ICAM-1をRat Active馬杉腎炎に投与し検討を行った。

〔研究方法〕

1. 実験動物

Wister系雄性ラット(体重240-250g) 8匹を用いた。

2. Nephrotoxic serum(NTS)の作製

Wister系腎皮質から金属メッシュを用い単離糸球体を作製した。1MNaCl中に浮遊し超音波下で糸球体を破壊し、顕微鏡にてGBMの分離を確認したのち、遠沈を繰り返しGBNの抽出を行った。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疫した。以後、2週間隔で3回imcomplete adjuvantを用いて皮下注射により booster を行った後脱血し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をラット尾静脈から注射して、馬杉腎炎を発症させるNTS投与量(1ml)を決定した。

3. 実験プロトコール (Fig.1)

8匹のラットに家兎globulin (4mg in 0.75mlFCA)を皮下注射し、5日後にNTSを尾静脈より投与し、Active馬杉腎炎を発症させ、以下の2群 (各n=4) に分けた。

1) 順天堂大学免疫学 2) 都立臨床医学総合研究所免疫研究部

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

A群：NTS投与により抗ニトロフェノールモノクローナル抗体 2mg/kgを連日尾静脈より6日間投与

B群：同様に抗ラットICAM-1モノクローナル抗体 2mg/kg

4. 一日尿蛋白量の測定

一日尿蛋白量は、代謝ゲージで24時間蓄尿した尿を1500rpm, 10分間遠沈後、尿量を測定すると同時にピロガロールレッド法(マイクロTP-テストクロー)にて蛋白濃度を測定し一日尿蛋白量を決定した。

5. 腎は11日目に光顕用に採取した。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3 μ に薄切りHE, PAS染色を施した後、顕鏡を行った。

〔結果〕

1. 一日尿蛋白量

NTS投与一日後より10日後までA群に比較しB群は、ANOVAによる分析をした結果 $P < 0.02$ の危険率で有意差があった。(Fig.2) 経時的に比較したU検定では2日のみ有意にB群に蛋白尿が抑制されていた。その他の測定日では有意差は認められなかったが、常にB群の方が蛋白尿が抑制される傾向がみられた。(Fig.3) 回帰分析による検討ではA群とB群の間で尿蛋白量の増加傾向の傾きに差は認められなかったが、両群間には形態学的な差がみられた。(Fig.4)

2. 光学顕微鏡所見

NTS投与後11日目に採取した腎組織では両群ともNTSを投与しなかった腎組織に比較し有核細胞数が増加し、管内増殖型腎炎を呈していた。B群はA群に比較し細胞の増加が軽度で

ある傾向が認められたが、有意な差は認められなかった。

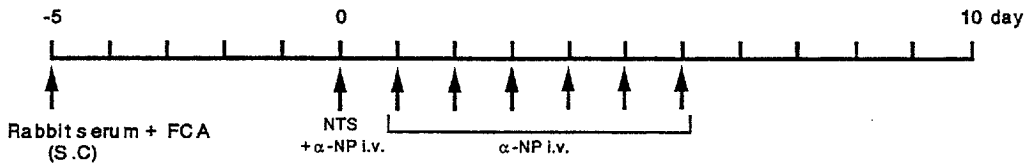
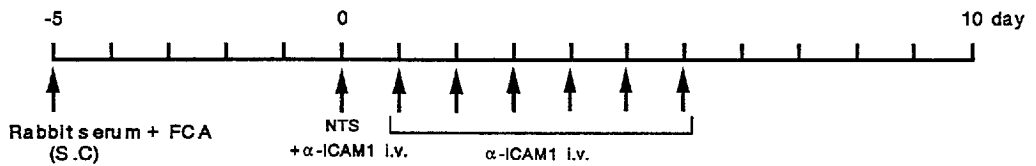
〔考察〕

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等が白血球をこの反応局所に誘引すると考えられている。事実これを示唆する文献は多数報告されている。その他、糸球体基底膜上のIgG分子のFc部分で誘導される説や感作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がある。しかし、このように炎症の場である糸球体に白血球が誘引されてもどのようなメカニズムによって糸球体の血管内皮細胞へ接着し、定着または浸潤していくかは今日まで明らかではなかった。一方、最近血管内皮細胞への白血球の接着機構が分子的なレベルで明らかになってきて、血管内皮細胞-白血球相互作用は複数のレセプター・リガンドシステムによって司られ、これらの接着分子の中でも特に炎症部位で発現がみられるIVAM-1, ELAM-1, VCAM-1, GMP-140分子が炎症の際の白血球の浸潤に重要な役割を果たしていることが知られるようになった。そこで我々は前回炎症の場である馬杉腎炎糸球体にICAM-1の発現の増強が観察でき、これが馬杉腎炎時の糸球体への白血球浸潤に密接に関与していると考えた。今回は抗Rat-ICAM-1をActive馬杉腎炎に投与し、糸球体に増加しているICAM-1をblockすることによりどのような影響を及ぼすか検討を行った。結果は抗Rat-ICAM-1はActive馬杉腎炎に蛋白尿減少効果をもたらした。Fig.4の回帰分析が示す

とおり両群ともに蛋白尿の増加傾向に大きな差はないが2群とも確実に増加傾向を示している。このことは本実験で採用したActive馬杉腎炎が強すぎたため抗Rat-ICAM-1に治療効果または腎炎発症防止効果があるにもかかわらず結果的に増悪傾向に向

かったとも考えられた。とにかく抗Rat-ICAM-1抗体を投与した群は、蛋白尿が軽度の傾向がみられるため本実験では腎に対する保護作用があると推測できた。白血球の浸潤には他の接着分子の関与も多く考えられ、今後検討していく予定である。

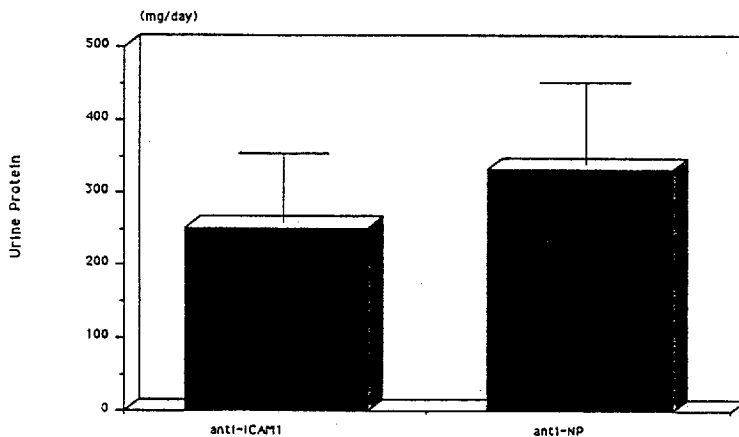
Experimental design



- α-ICAM1: α-Rat ICAM1 2 mg/ml
- α-NP : α-nitrophenol 2 mg/ml
- NTS : Rabbit α-Rat GBM anti body

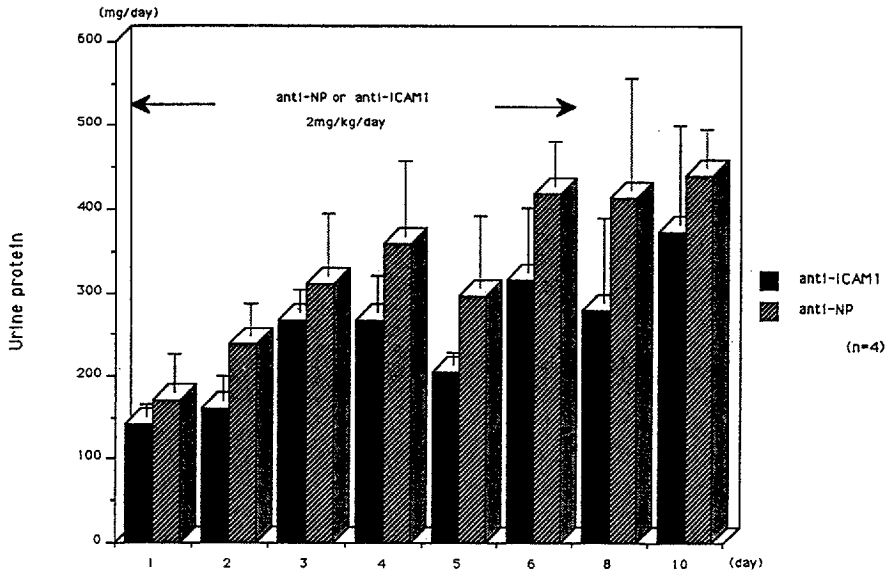
(Fig 1)

ラット馬杉腎炎に対する抗ラットICAM1 抗体による尿蛋白量減少効果



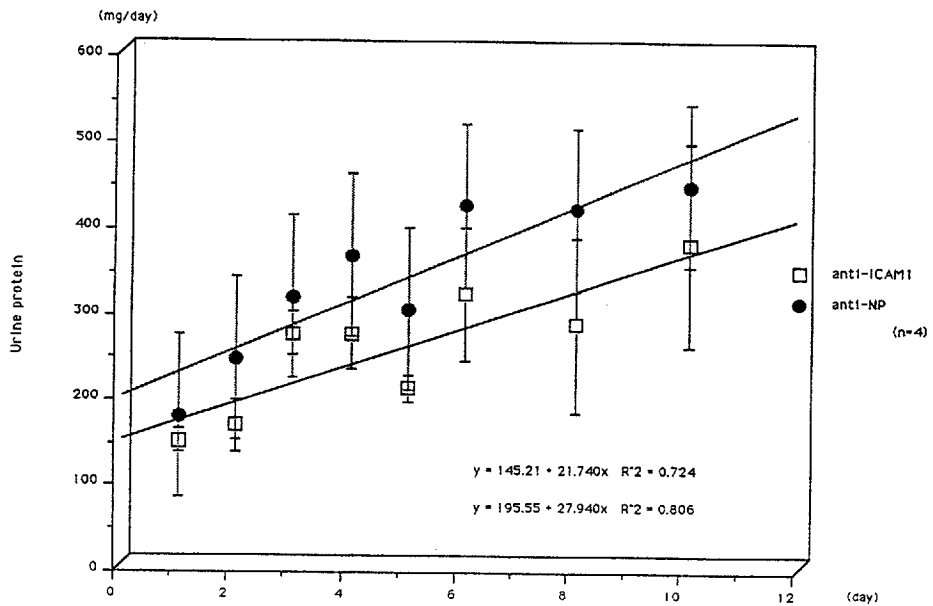
(Fig 2)

ラット馬杉腎炎に対する抗ラットICAM1 抗体による尿蛋白量減少効果



(Fig. 3)

抗ラットICAM1 抗体投与群と非投与群の回帰直線

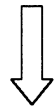


(Fig. 4)



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



[はじめに]

急速進行性糸球体腎炎(RPGN)のモデルに相当するとされる馬杉腎炎は強い白血球の糸球体内への浸潤を伴う。この白血球がどのような機序で循環血中から糸球体局所に集まりいかなる働きをするかは、糸球体腎炎の発生、増悪を考える上で大変重要であると思われる。前回、馬杉腎炎糸球体で、白血球の浸潤の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。この糸球体局所で増強するICAM-1分子が、馬杉腎炎の白血球浸潤やその結果もたらされる蛋白尿の密接に関与しているかどうかを検討するため、抗Rat-ICAM-1をRat Active馬杉腎炎に投与し検討を行った。