

5) ラットにおける自己免疫性腎障害

新潟大学医学部腎研究施設免疫病態学部門 清水 不二雄

Autoimmune Nephropathy in Rats

Fujio SHIMIZU

*Department of Immunology Institute of Nephrology
Niigata University School of Medicine*

An autoimmune experimental membranous nephropathy was induced in rats by immunization with an emulsion of Engelbreth-Holm-Swarm tumor and Freund's complete adjuvant. The amount of urinary protein reached over 1g/day after 1 year. Immunofluorescence, and light and electron microscopy revealed a typical membranous changes, i.e., granular deposition of host immunoglobulins along the capillary wall, the thickening of the glomerular basement membrane, spike formation, punched out lesions and electron dense deposits in subepithelial region. There seems to be common antigenicity between the immune deposits in the glomeruli in Heymann and EHS nephropathies, EHS tumor cell surface antigen, and those in the brush borders of proximal convoluted tubules. Thus a new model for human membranous nephropathy presumably with autoimmune pathogenesis has been established.

Key words: autoimmune membranous nephropathy, Heymann nephritis, EHS nephropathy, proteinuria, Fx1A
自己免疫性膜性腎症, ハイマン腎炎, EHS 腎症, 蛋白尿, Fx1A

腎における自己免疫性病変として一番よく知られているのは Goodpasture 症候群であるが、大変稀な疾患である。今回は実験モデルからの示唆により一部自己免疫性病変が疑われている膜性腎症について、新しいモデルの確立を始め、我々の検索結果の一部を報告する。膜性腎症の古典的モデルに Heymann 腎炎があり、この病因抗原はラット近位尿細管刷子縁に存在し、Fx1A と呼ばれる分画中にあるとされた。最近更に検索が進み分子量 330kd の糖蛋白質 (gp330) であり、腎糸球体上皮細胞表面の coated pits にも存在することが明らかに

された。自己抗体はこの上皮細胞上で抗原と反応し、その複合物は細胞表面よりはく離して上皮下に沈着すると考えられている。然しこの gp330 に対応する病因抗原がヒトでは見つかっておらず、新たなるモデルの開発が待たれていた。細胞間物質を産生する Engelbreth-Holm-Swarm (EHS) 腫瘍をラットに単クローン抗体作製の目的で免疫したところ、自己免疫性膜性腎病変が生じた。完全アジュバントを併用することにより、高度の蛋白尿 (1年後には1g/日以上) を惹起し得た。免疫蛍光法直接法により、10週で既に典型的な IgG の顆粒状沈着

Reprint requests to: Fujio SHIMIZU,
Department of Immunology Institute
of Nephrology, Niigata University
School of Medicine, Asahimachi-Dori,
1-757, Niigata 951, JAPAN.

別刷請求先: 〒951 新潟市旭町通り1番町757
新潟大学医学部腎研究施設免疫病態学部門
清水不二雄

が係蹄壁に沿って認められ、時間の経過とともにその大きさと強度を増しており、1年後では大小不同の顆粒が認められた。C3は経過中1度も証明されなかった。PAM染色による光顕所見は24週から1年にかけて基底膜の肥厚、spike formation, punched-out lesion等典型的な膜性病変が認められた。電顕では10週にて少数の小さな上皮下 deposit がみられるのみであったが、24週後には上皮細胞の microvilli formation, reabsorption droplet, vacuolation の諸変化に加えて上皮下に明瞭な deposit が認められた。1年後には、この deposit の周辺が lucent となった。以上の電顕所見は Ehrenreich-Churg のヒト膜性腎症の分類 stage 1, 3, 4 に各々相当し、形態学的、免疫組織化学的な所見と進展度合、尿蛋白経過も含めてこのモデルがヒト膜性腎病変のよきモデルであることが判明した。次に EHS ラット血清中抗体活性について正常ラット腎凍結切片を用いた蛍光抗体間接法により検索した結果、尿細管基底膜と近位尿細管刷子縁との両方、或いは一方のみ反応した。この抗体活性の推移と病像との間には相関がみられなかった。EHS 腫瘍凍結切片に対する蛍光抗体間接法では、EHS 腎症、Heymann 腎炎両腎病変ラット血清が EHS 細胞表面と反応することが判明し、又同部位は、抗 Fx1A ウサギ血清と反応した。EHS 腎症ラット血清をブールし繰り返して正常ラットに静注すると、糸球体係蹄壁に沿った顆粒状の陽性所見を得た(ラット IgG)。

血清による病変 transfer の可能性が示された。ついで、抗 Fx1A 血清と、EHS 腎症、Heymann 腎炎ラット腎 deposit との反応性に検索を加えたところ、両 deposit とも反応した。但し、コントロールとして同様に験された BSA 腎炎ラット腎 deposit は陰性であった。

以上両腎病変ラット血清中には近位尿細管刷子縁並びに EHS 腫瘍細胞表面と反応するという抗 Fx1A 抗体と同様の抗体活性が証明され、また抗 Fx1A 抗体は両腎病変ラット腎の deposit とも反応したことから、Fx1A 抗原と EHS 腎症病因抗原との間に交差反応性のあることが示唆された。EHS 腎症ラット腎 eluate は、EHS 腫瘍の 0.5M NaCl 可溶化物を用いた SDS-PAGE, immunoblotting 法で、20kd の band と反応した。Heymann 腎炎との異同を明らかにする意味でも、この腎症の責任抗原を同定することは今後の重要課題である。

謝 辞

本研究は昭和60年度新潟大学学術奨励金、又一部は昭和63年度医学研究助成金の援助を受けた。ここに深甚の謝意を表します。

司会 それではディスカッションをお願いします。……抗体の方でこの病気がしっかり成立するという事を突き詰めていかれたと思うのですが……何かありませんでしょうか。考えている間に蛇足を言いますと、臨床から始まって基礎という所に区分したのですが、厳密な意味では臨床というものはあるのですが、基礎の研究というものは基礎と臨床との接点ですので、清水先生の仕事も臨床というものを十分考慮したお話しますので、その変は御了承下さい。

清水 有難うございます。

司会 何かありませんでしょうか。責任抗原を迫及する場合に、モノクロナール抗体を immunoabsorbent にくっつけて、それで elution する時に使うと、そういうことでやっている訳ですか。

清水 あのぼく達は実は、まだ悪い事をするモノクロナール抗体をここから捕まえてきておりませんので、もしそれが捕まれば先生の suggestion にありました様に、逆に可溶化したものを流して、そして単純な affinity でよろしいかと思いますが、抗原を取ってきて見て、それを物理化学的に検討するという事も可能になってきます。モノクロナール抗体の一般論につきましても腎臓にくっついて実際に病変を起こすモノクロナール抗体を今ぼく達1つ2つ報告してしまして、大変に非生理的であるということ認めながら、今発表しているところなのです。そういう意味から言ったらこういう自己免疫学的な基礎がバックにあるとはいえ、そのちょうどキープポイントと言いますか target になっている抗原抗体系を取り出すことが出来ればモノクロナール抗体でも病変が起り得るのかもしれない。そしてまたそうなれば解析がすごく容易になると思っているのですが、

司会 どうも有難うございました。それでは時間も過ぎておりますので、最後の演題になりますが、実験的アレルギー性脳脊髄炎。松本先生お願いします。