



動脈炎・腎炎を自然発症するSL／Niマウスの病理組織学的ならびに免疫組織学的研究

白根, 博文

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

1979-03-14

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

乙0639

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D2000639>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



氏名・（本籍）	しらねひろふみ 白根博文（岡山県）
学位の種類	医学博士
学位記番号	医博ろ第555号
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位授与の日付	昭和54年3月14日
学位論文題目	動脈炎・腎炎を自然発症するSL/Niマウスの病理組織学的ならびに免疫組織学的研究

審査委員 主査教授 京極方久
教授 杉山武敏 教授 馬場茂明

論文内容の要旨

I 緒言

1942年Coons等により発明された蛍光抗体法はその後多くの免疫疾患、とくにループス腎炎をはじめとした人間の腎炎や、実験的に誘発したり、自然発症した動物の腎炎の病因解明に大きな貢献をした。一方、すべての膠原病には多発性動脈炎と類似したフィブリノイド動脈炎が発症するが、これらは症例も少なく、よい動物モデルが見つからないため病因の解明は著しく遅れている。このように症例も少なく複雑な人間の疾患の病因を研究する場合には、病因を単純化して実験的に誘発した動物モデルを用いると同時に、自然発症モデルを見つけて研究することも効果的であると考えられる。

最近、人のループス腎炎、結節性動脈周囲炎に類似した病変を高率に自然発症するSL/Niマウスが開発された。著者はこのマウスの血管病変、腎糸球体病変を光学顕微鏡的ならびに免疫組織学的に検討し、その病変の発症機序にも言及した。

II 材料と方法

1ヶ月令から25ヶ月令までのSL/Niマウスを使用して、全臓器を普通光顕用に、腎皮質、傍子宮結合織を含む子宮壁を蛍光抗体染色に用いた。蛍光抗体染色法で腎糸球体にr-globulinの証明されたSL/Niマウスのうち15匹については凍結切片を未固定のまま0.1M, PH 6.3のKSCN溶液、0.02M, PH 3.2のクエン酸緩衝液及び2M, PH 7.2のNaCl溶液で処理して結合しているr-globulinを溶出した後、抗核抗体陽性のSLE患者血清及び抗ss-DNAウサギ血清と反応させ、その後蛍光抗体染色を行なった。更にこのように腎糸球体内にr-globulinの証明されるSL/Niマウスでは未固定の腎切片をDNase, RNaseで消化した後、蛍光抗体染色を行なった。

また、この SL/Ni マウスの尾静脈から採血して血中の抗核抗体、抗 DNA 抗体、抗 RNA 抗体を測定し、末梢血中の T cell, B cell 数も算定した。

Ⅲ 結 果

1. 動脈炎

このマウスの動脈炎の発生率は 34.4 % で、発生部位は傍子宮結合織の動脈、頸動脈、大動脈弓部、腎臓内の中小動脈の順に高かった。組織学的には動脈炎の初期病変は中膜の平滑筋細胞の変性であり、中膜の一部は水腫様に膨化したり、平滑筋細胞の変性濃縮、周囲マトリックスの肥厚が見られた。蛍光抗体染色ではこの時期には IgM の沈着を見るのみであった。また電顕的にはこの時期には中膜の平滑筋細胞壁から type CRNA virus が発芽して周囲マトリックスに増殖している時期にあたる。この病変が進行して来ると、小動脈では中膜寄りから変性が進み中膜は完全にフィブリノイド物質に置き変わり、フィブリノイド動脈炎が完成する。この時期の蛍光抗体染色では血管全層にわたって IgG, IgM, 補体成分の沈着が見られた。中～大動脈ではこのフィブリノイド変性の周囲に著明な肉芽型動脈炎が見られた。この 2 つの type の動脈炎は動脈の caliber と関連しており、小動脈ではフィブリノイド動脈炎は少なく、ほとんどが肉芽型動脈炎であった。

2. 腎 炎

腎臓の光顕では HE 染色, PAS 染色, PAM 染色を用いて、1 標本につき平均 200 個の糸球体を観察して、1) 富核、2) メサンジウム・マトリックスの増加、3) 基底膜の変化を検索し、基底膜に deposit を有するものについてはそれが内皮寄りか上皮寄りかについても判定した。上記の所見が 50 % 以上の糸球体に見られるものを腎炎とした。この基準によると光顕的に腎炎の所見を呈したものは全体の 71 % であった。4 ケ月令くらいまでのマウスは約 50 % は腎糸球体にほとんど変化を認められず、約 50 % は mesangial proliferative glomerulonephritis の像を呈しており、蛍光抗体染色ではメサンジウム領域にのみ IgG, IgM, C3 の沈着を認めた。5～10 ケ月令になると、腎炎の発生率は 64 % に達しメサンジウムの変化に加えて基底膜の強い肥厚を認めた。蛍光抗体染色では主として基底膜に IgG, IgM, C3 が微細顆粒状に沈着していた。10 ケ月令以後になって血管炎を合併して来るとメサンジウムの著明な増加に基底膜の肥厚を伴った人の membranoproliferative glomerulonephritis に似た終末像が中心になって来、蛍光抗体染色では IgG, IgG, C3 がメサンジウム領域及び末梢血管係蹄壁に粗大顆粒状に沈着しているのが認められた。糸球体基底膜に deposit の認められた症例で、血管炎を合併した群では deposit は内皮寄りに、血管炎を合併しない老年群でも deposit は内皮寄りであったが、血管炎を合併しない若年群では deposit は上皮寄りに多い傾向が見られた。

このように γ -globulin の沈着の見られた腎糸球体では腎切片から γ -globulin を溶出させた後、抗核抗体陽性の SLE 患者血清及び ss-DNA ウサギ血清と反応させ、その後に蛍光抗体染色を行なったが、いずれも陰性であり、DNase, RNase 蛍光抗体染色を行なっても染色性に変化はなかった。

末梢血中の Tcell, Bcell の数は Tcell が 6 カ月令でわずかに低下しており、Bcell が 6 カ月以後でやや上昇している程度で全月令を通じてほとんど変化がなかった。

Ⅳ 考 按

動脈炎の発症機序に関しては現在ほとんどわかっておらないが、3の有名なモデルがある。その一つは古くからいわれているいわゆるⅢ型のアレルギー反応、immune complex type によるもので、代表的なものに Arthus 反応と血清病がある。また PN 様血管炎を発症する動物モデルには PN/n マウス、NZB/WF₁ マウスの一部等があり、これらの動物の血管壁、腎糸球体には type C RNA virus が証明されている。SL/Ni マウスにおいても血管炎の初期病変には中膜平滑筋から type C RNA virus の発芽が認められており、蛍光抗体染色ではこの部分に IgM の沈着のみを認めている。IgG, IgA 補体の証明されないことに注目したい。

一方、腎炎を自然発症する動物は多数あるが、これらにもいずれも type C RNA virus が証明されている。SL/Ni マウスの腎病変は初期には主として mesangial proliferative glomerulonephritis であり、それが次第に membranous glomerulonephritis に、そして最後には membranoproliferative glomerulonephritis へと移行して行く。そしてこれらの病変部にはいずれも IgG, IgM, C3 の沈着を認めており、吉木等の報告によると、この病変部には γ -globulin の分布に一致して Rauscher murine leukemia virus の envelop の構造蛋白である gp 70 を認めている。

このように SL/Ni マウスの血管病変、腎糸球体病変にはいずれも immune complex, とりわけ type C RNA virus に関係した immune complex が関与していると考えられるが、そのかかわり方には明らかな差がある。即ち腎炎の方は木崎、松本等により確認を得た circulating immune complex の沈着によるものであろうが、動脈炎の方はまず type C RNA virus の発芽、それに IgM の付着から始まり circulating immune complex は末期にフィブリノイド壊死の完成に向けて沈着するものと考えられる。

沈着した immune complex の抗原としてはウイルス抗原の他に DNA, RNA 等の核成分やその他の外来性の抗原の存在が考えられたが、われわれの方法では DNA, RNA を immune complex の沈着部位から証明することは出来なかった。おそらくこれらの成分は抗原として重要な役割りを果たしていないであろうことは、血中の抗 DNA 量と病変の重症度が必ずしも平行しなかったことも明らかである。immune complex の生産異常の背景に suppressor T cell の低下のあることが松本等により立証されているが、末梢の血球数にその明らかな反映を見ることになかった。

Ⅴ 要 約

人の PN 様動脈炎及びループス腎炎に酷似した糸球体病変を高率に自然発症する SL/Ni マウスの血管病変、糸球体病変を組織学的ならびに免疫組織学的に検索し以下の成績を得た。

1) SL/Ni マウスの動脈炎の発生率は全体で 34.4% であり、好発部位は傍子宮結合組織の動脈、頸動脈、大動脈弓部、腎臓内の中小動脈である。小動脈ではフィブリノイド動脈炎が、中～大動脈では肉芽型動脈炎が多い。

2) フィブリノイド動脈炎の初期病変は光学顕微鏡的には中膜の変化であり、その部分は PAS 染色陽性であり、蛍光抗体法では病変部に IgM の沈着を認めた。これがさらに進行すると中膜は完全にフィブリノイド物質におきかわり、IgG, IgM 補体成分の粗大顆粒状の沈着が見られた。

3) SL/Ni マウスの腎糸球体病変の発生率は光学顕微鏡的には71%であり、蛍光抗体法ではほぼ100%に達した。この腎糸球体病変は初期にはmesangial proliferative glomerulonephritisであり、5～10ヶ月頃にはmembranous nephropathyが、10ヶ月以後になると人のmembranoproliferative glomerulonephritis 様の病変が多くなった。

4) KSCN抽出法によっても病変部に沈着したimmune deposit中にはDNAなどの核成分は証明されなかった。また血管病変及び腎糸球体病変の発症にはウイルス抗原の他に外来性あるいは内因性の抗原が関与している可能性が考えられた。

5) 以上の事実によりSL/Ni マウスの腎炎の発病原因は、流血中のimmune complexの沈着がほとんどすべてであるが、動脈炎の場合にはその沈着はフィブリノイド壊死の完成には必要であっても、発症の引き金にはならない。動脈の中膜細胞から発芽するウイルスに対するIgMの沈着とそれに続く中膜の平滑筋細胞の変性壊死が重要な初期病変と考えられた。

論文審査の結果の要旨

医学の長足の進歩にもかかわらずなおその病因が完全には明らかにならず、従って治療方針も抜本的なものの立て難い疾患群、所謂難病の中に“膠原病”と概括される疾患群がある。すべての膠原病には多発性動脈炎と類似したフィブリノイド動脈炎が共通の病変として発生することが知られている。これを足懸りにしてその病因を明らかに出来れば膠原病全体の病因解明も夢ではない。しかしこれらは症例も少なく病因解明の材料として研究対象となるものの数的な不足が研究の隘路となっていた。ところが、最近愛知がんセンターの西塚泰章博士の下で人のループス腎炎と多発性動脈炎に酷似した病変を一諸に高率に自然発症する純系マウスSL/Niが発見され、神戸大学京極病理にその研究を全面委託された。この研究は、その一環をなすもので、このマウスの血管病変、腎糸球体病変を光学顕微鏡的ならびに免疫組織学的に検討し、その病変の発症機序に追ったものである。

その結果次のことが明らかにされた。

1) SL/Ni マウスの腎炎は71%の高率に発生し、蛍光抗体法では殆んど全例にIgG, IgM, C3のimmune complexの沈着があり、しかも経過と共にメサンギウム型から膜性、最後には膜性増殖性にまで移行して行くことが明らかとなり、ヒトのSLEなどのimmune complex型腎炎と酷似していた。KSCN抽出法などを用いて沈着したimmune depositの中から抗原成分を求めたがDNAなどの核成分は証明されずこの点SLEとは異なることが明らかとなった。

2) 動脈炎の発生率は終生で約34%であり、好発部位は傍子宮卵巣組織や頸部動脈で人間のPNの好発部位とはかなり異っていた。しかしその組織像は殆んど区別の出来ない程ヒトのPNに酷似していた。蛍光抗体法によると病変の初期にはIgMが僅かに血管壁に見つかるのみで他の免疫グロブリンはなく、電顕的にこの時期に動脈壁にウイルス粒子(C型マウス白血病ウイルス)の発芽が見られることから、この動脈炎の初発症状はこのウイルスに対するIgM抗体の結合とそれに引き続いての筋細胞の破壊であって、完成したフィブリノイド動脈炎の際に大量に沈着しているIgG,

IgM, C3の粗大沈着は二次的に本動脈炎を悪化せしむるものであらうと考えられた。ヒトのPNにおいてこの様なウイルスの発芽を見たとの報告はないがHBs抗原とのimmune complexによってPNが発生するとの報告もあり、今後注目してよいことだと考えられる。

以上本研究は世界で唯一のフィブリノイド動脈炎モデルSL/Niマウスの病変が形態学的にも免疫組織学にも一見ヒトのSLE腎症と多発性動物脈炎に酷似していることを明らかにし、しかもその中でいくつかの点でヒトの病変と異っている点をも明確にして、本動物モデルがヒトの膠原病の動物モデルとして利用される最も必要な基礎的データを提供したもので、今後の免疫病理学の研究発展に欠くべからざる優れた業績とみなし医学博士の学位を得る資格ありと認める。