

氏名	かど だし 嘉戸 摂
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲第557号
学位授与年月日	平成18年 3月10日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Immunohistochemical characterization of glomerular inflammatory cells and expression of adhesion molecules in anti-glomerular basement membrane (anti-GBM) glomerulonephritis induced in WKY rats with monoclonal anti-GBM antibodies of different subclasses (異なるサブクラスを使ったモノクローナル抗系球体基底膜抗体腎炎ラットにおける系球体浸潤細胞と接着分子発現の免疫組織化学的特徴)
学位論文審査委員	(主査) 林 一彦 (副査) 村脇義和 神崎晋

学位論文の内容の要旨

抗系球体基底膜(抗GBM)抗体腎炎の発症および進展のメカニズムとして、接着分子であるLFA-1、ICAM-1を介したマクロファージ、CD8陽性細胞浸潤が重要であるといわれている。一方、モノクローナル抗GBM抗体によって誘導された腎炎が、IgGサブクラス依存性の重症度を示すことが明らかとなったが、その機序は不明である。今回、そのメカニズムを解明するために、モノクローナル抗GBM抗体の異なるサブクラスで誘発した腎炎ラットにおける系球体浸潤炎症細胞と接着分子発現について免疫組織化学的特徴を検討した。

方法

ラットモノクローナル抗GBM抗体のサブクラスIgG1、IgG2a、IgG2bのそれぞれ300 μ gを、メスWKYラット(体重150~200g)に腹腔内注射して腎炎を誘導し、各サブクラス投与群(n=12)と生理食塩水投与のコントロール群(n=18)の計4群に分けて検討した。尿検査は各群で投与後1、3、10日目の16時間採尿の蛋白尿を測定した。腎組織検査は、パラフィン包埋切片で、①hematoxylin、PAS染色による組織変化と系球体内多形核白血球(PMN)数、②ラットマクロファージモノクローナル抗体(ED1)を用いた系球体内マクロファージ数、③ラットCD8陽性細胞モノクローナル抗体(MRC-OX8)を用いた系球体内CD8陽性細胞数の評価を、凍結切片では、rat ICAM-1モノクローナル抗体(1A29)、rat LFA-1モノクローナル抗体(WT1)を用い

てそれぞれ④糸球体内 ICAM-1 発現強度、⑤糸球体内 LFA-1 陽性細胞数を評価した。

結果

尿蛋白量は抗体投与後1日から10日まで3群とも日毎に増加した。3日目の尿蛋白は、IgG2a、IgG2b 投与群は IgG1 投与群、コントロール群と比較して有意に上昇し($p < 0.05$)、10日目の尿蛋白は、IgG1 投与群もコントロール群と比較し有意な上昇を認めた($p < 0.05$)。IgG2a と IgG2b 投与群間の尿蛋白量には有意差を認めなかった。半月体形成とメサンギウム基質増加は、尿蛋白量に相当する病変経過を示し、群間差を認めた。ラット IgG と C3 沈着は、いずれの抗体投与群間でも観察期間中に有意差がみられなかった。

PMN 集積は期間中全群で、ほぼ無視できる程度に軽微であった。マクロファージ数は、投与後1日目から IgG2a 群 (3.52 ± 0.58) と IgG2b 群 (8.49 ± 2.71) では IgG1 群 (0.73 ± 0.34) と比較して有意な増加を認めた($p < 0.05$)。CD8 陽性細胞数も、1日目から IgG2a 群 (1.49 ± 0.87) と IgG2b 群 (1.49 ± 0.58) ではコントロール群 (0.22 ± 0.08) と比較しわずかながら有意な増加を認めた($p < 0.05$)。糸球体細胞増殖病変での ICAM-1 発現強度は、3、10日目に IgG2a、IgG2b 群で IgG1 群より増強を認めた。LFA-1 陽性細胞数は、1日目から IgG2b 群で高度、IgG2a 群で中等度の増加を示したが、IgG1 群ではほとんど集積を認めず、3日目にわずかに増加したのみであった。

考察

WKY ラット抗 GBM 腎炎は、補体や PMN でなくむしろ CD8 陽性細胞関連の糸球体傷害が病因と考えられている。また、ED1 陽性マクロファージの初期の糸球体内浸潤については、Fc レセプターの関与が報告されている。これまでの研究で、本疾患モデルにおける組織障害の程度や蛋白尿量は、IgG2a と IgG2b 群では IgG1 群より増強することが知られている。本研究の糸球体係蹄壁の補体沈着はわずかであると同時に、群間差を認めなかったことより、糸球体内マクロファージ数における群間差は、抗体 IgG サブクラスの Fc レセプターへの親和性の違いに基づくと考えられる。

一方、他の半月体形成性腎炎モデル誘導においては、糸球体固有細胞、浸潤細胞からのサイトカイン、ケモカイン放出や糸球体内皮細胞上の ICAM-1 発現などが重要な役割を果たすと言われている。本研究では、炎症細胞数増加と LFA-1/ICAM-1 発現増強の間にサブクラス依存の関連性が認められ、本モデルでも LFA-1/ICAM-1 架橋の重要性が示唆された。

IgG2a 群と IgG2b 群間には、糸球体傷害度および蛋白尿量に有意差はなかったが、LFA-1 陽性細胞や ED1 陽性細胞は、IgG2a より IgG2b 群で有意に多かった。しかし、CD8 陽性細胞数での有意差はなかった。この原因として、ED1 陽性細胞数は、CD8 陽性細胞集積の結果起こるマクロファージ/単球の活性化を受けたものとは相関していないか、または糸球体マクロファージ浸潤が CD8 陽性細胞集積に必要な程度高度に起きていたことなどが推測された。また、LFA-1 はリンパ球に高発現することから、LFA-1 陽性細胞の IgG2a 群と IgG2b 群間での有意差につい

ては、CD8陽性細胞以外のリンパ球集積がおこっていたものと思われる。

結 論

抗系球体基底膜抗体腎炎ラットモデルにおいては、投与抗体 IgG サブクラスの違いにより、糸球体浸潤細胞や接着因子の発現の程度が異なり、さらには、これらによってひき続き誘発される糸球体腎炎傷害の程度が異なることが示された。これらの病態には、異なる生物学的反応を引き起こす抗体 IgG サブクラスの Fc レセプターの違いが関与すると推察される。

審 査 結 果 の 要 旨

本研究は抗系球体基底膜（抗 GBM）抗体腎炎ラットモデルにおいて、投与されるモノクローナル抗 GBM 抗体の IgG サブクラスの違いによるこの腎炎の重症度が異なる病態機序を解明する目的で、ラットモノクローナル抗 GBM 抗体のサブクラス IgG1、IgG2a、IgG2b を WKY ラットに注射して腎炎を誘導し、各サブクラス投与群とコントロール群での蛋白尿測定や腎組織でのマクロファージ数、CD8 陽性細胞数と糸球体内 ICAM-1 発現強度や糸球体内 LFA-1 陽性細胞数等を評価した。その結果、IgG2a と IgG2b 群では IgG1 群より蛋白尿量や組織障害の程度が増強し、さらに、マクロファージや炎症細胞数増加と LFA-1/ICAM-1 発現も、同様なサブクラス依存性で有意に増強していることを明らかにした。本論文の内容は、抗 GBM 抗体腎炎の重症度が、投与される抗体 IgG サブクラスの Fc レセプターの違いによる炎症細胞浸潤と接着分子発現の強度に依存し、この病態での LFA-1/ICAM-1 架橋の重要性を示唆したものであり、明らかに小児科学ならびに腎臓病学分野の学術水準を高めたものと認める。