

マクロファージと糸球体障害

III. ラット馬杉腎炎における糸球体硬化の 進展とマクロファージの動態

柴田 信男

信州大学医学部第1病理学教室

(指導: 重松 秀一教授)

Macrophages in Glomerular Injury

III. The Participation of Macrophages in Glomerulosclerosis in Accelerated Masugi Nephritis in the Rat

Nobuo SHIBATA

Department of Pathology, Shinshu University School of Medicine

(Director: Prof. Hidekazu SHIGEMATSU)

The relationship between the kinetics of macrophages and the progress of glomerulosclerosis was studied morphometrically for 3 months in accelerated Masugi nephritis in the rat. Non-immune-mediated macrophage accumulation in glomerular mesangium caused by polyvinyl alcohol (PVA) administration was also examined.

Sclerotic changes became detectable 1 month after nephrotoxic serum injection. At 2 and 3 months, a significant increase in sclerotic index was found, which paralleled the deterioration in biochemical data. The accumulation of macrophages continued for 3 months even in sclerotic glomeruli. The glomeruli of PVA-treated rats also contained almost equal numbers of macrophages as in Masugi nephritis rats for 3 months but no overt morphologic injury or functional disorders were observed.

Morphologic and functional conditions differed remarkably between PVA-treated and Masugi nephritis rats. The injuries of capillary loops including endothelial cells, glomerular basement membrane and visceral epithelial cells were supposed to be the main factor responsible for the development of glomerulosclerosis in Masugi nephritis rats. It was suggested that macrophages did not play a primary role in glomerulosclerosis in this model. *Shinshu Med. J.*, 91-104, 1991

(Received for publication September 25, 1990)

Key words: macrophage, glomerulosclerosis, rat Masugi nephritis

マクロファージ, 糸球体硬化症, ラット馬杉腎炎

I 緒 言

糸球体の硬化すなわちメサンギウム基質の増加によるメサンギウム硬化は、ヒト¹⁾⁻⁵⁾および実験動物⁶⁾⁻¹³⁾

における種々の腎炎で認められ、腎機能低下を示唆するきわめて重要な形態的変化である。

なんらかの機転により、メサンギウム細胞の増生が惹起され、増加したメサンギウム基質が糸球体の多く

の部分置換することにより硬化が進行するとされているが⁵⁾、どのような機序が直接的にあるいは間接的にメサンギウム硬化ひいては糸球体硬化を引き起こすのかは明らかでない。

マクロファージは、種々のヒト¹⁴⁾⁻¹⁶⁾および実験動物⁷⁾¹⁷⁾⁻¹⁹⁾での腎炎において、その進展・修復に関わっていることが報告されているが、結果的に硬化に至った糸球体腎炎の前段階⁷⁾あるいは硬化が生じている糸球体中¹⁰⁾にも認められており、メサンギウム細胞増殖～基質増加への関与が示唆されている。

この実験は、糸球体に集積したマクロファージが糸球体の硬化にどのように関与するのかを検討するために、ラットに加速型馬杉腎炎を惹起し、硬化に至るまでの過程をマクロファージの動態とともに観察した。併せて、免疫系の関与がなく糸球体メサンギウムにその沈着とマクロファージの集積をきたすモデル²⁰⁾²¹⁾として、ポリビニールアルコール投与により糸球体へのマクロファージの集積を惹起せしめ、糸球体障害と硬化の程度を比較検討した。

II 材料および方法

A 材料

1 動物：実験開始時6週齢の雄のWistar系ラット（静岡県実験動物農業協同組合）を使用した。

2 Rabbit nephrotoxic serum（以下NTSと略）：Wistar系ラットの腎を生理的食塩水で灌流した後採取した。皮質を細切した後、3段階のステンレス製篩を用い糸球体を分離した¹⁷⁾。適当量の生理的食塩水に糸球体を懸濁し、超音波破砕器で破砕後、免疫抗原とした。

湿重量25mgの抗原（容量1ml）を等容量のFreundのcomplete adjuvant（ヤトロロン）（以下FCAと略）と混合し、2週間隔で4回、ウサギ足蹠および皮下に投与した。最終免疫終了2週後に、総頸動脈より採血し、分離血清をNTSとして用いた。

3 γ -globulin rich rabbit serum（以下 γ -GSと略）：1mlの生理的食塩水に溶解した3mgのferritin（ICN Pharmaceutical, Inc.）を等容量のFCAと混合し、2週間隔で5回、ウサギの足蹠および皮下に投与した。最終免疫終了2週後に、総頸動脈より採血し、分離血清を γ -GSとした。

B 実験方法

γ -GS 0.5mlを等容量のFCAと混合したものを軽いエーテル麻酔下に90匹のラットの足蹠および皮下に

投与した。ラットを各30匹よりなる3群に分け、それぞれ馬杉腎炎群、ポリビニールアルコール（Wako）（以下PVAと略）投与群および対照群とした。馬杉腎炎群には免疫8日後にNTS 0.7mlを尾静脈より投与し、腎炎を惹起した。PVA投与群には、免疫8日後より隔日に生理的食塩水2mlに溶解したPVA100mg/bodyを皮下投与した。対照群には、同様に免疫8日後に0.7mlの生理的食塩水を尾静脈に投与した。これらの処置後あるいは処置開始後（PVA投与群）3日、1週、2週、1ヵ月、2ヵ月および3ヵ月後にそれぞれ各5匹を屠殺し検索に用いた。

屠殺は、ネンブタール（Abbott Laboratories）麻酔下で実施した。まず、頸静脈より生化学検査用の血液を採取した後、開腹し、腹大動脈を露出させた。腎を灌流固定するため左右両腎動脈分岐部より頭側を結紮し血流を止めた後、総腸胃動脈分岐部より逆行性にカニューレを入れ、130cm H₂O圧で固定液を注入した。注入開始後直ちに腹大静脈を切断した。約5分間灌流後、摘出し組織学的な諸検査に用いた。

灌流固定液は、0.1Mリン酸緩衝液（pH7.4）に溶かした4%パラホルムアルデヒド液を用いた。

1 光顕検索：灌流固定した腎の一部を3mm厚の標本とし、再度同じ固定液に浸漬固定した。常法に従いパラフィン切片とし、ヘマトキシリン・エオジン染色（HE）、過ヨウ素酸シッフ染色（PAS）および必要に応じその他の染色を施し鏡検した。

2 形態計測的検索：全例について、過ヨウ素酸・メセナミン銀染色（PAM）標本作製し、形態計測的検索を実施した。すなわち、各個体について、鏡検下で血管極を含むほぼ最大径が出ている糸球体8個を選び、係蹄の最外側を結んだ全面積に対するPAM染色陽性部分の面積の比（%）を糸球体の硬化率として算出し、硬化の進行を定量的に検討した。計測は、Olympus SP-500 Color Image Analyzerを用いた。

3 電顕検索：灌流固定した腎皮質の一部を細切り、0.1Mリン酸緩衝液（pH7.4）に溶かした2.5%グルタルアルデヒド液に浸漬固定した。2%オスミウム酸水溶液で後固定し、脱水後Luveak 812（NA-KARAI）に包埋した。超薄切片は、ウラン・鉛二重染色を行い、JEM-1200-EX電子顕微鏡により観察した。

一部の切片については、PAM染色を行い、同様に鏡検した。

4 Non-specific esterase（以下NSEと略）標本

の観察：灌流固定した腎の一部を3mm厚の標本とし、灌流固定液に sucrose 7%を加えた固定液におよそ24時間、0～4℃で浸漬固定した。水洗後 gum-sucrose 液に移し、およそ24時間、0～4℃で浸漬した後、クリオスタットで薄切し染色した。

NSE 染色は、Yamら²²⁾の方法を一部改変して実施した。基質は、 α -naphthyl butylate (SIGMA)を使用した。

NSE 陽性細胞の動態は、各個体につき、鏡検下では最大径の出ている糸球体20個を選び、糸球体中に認められたNSE陽性細胞を数え、1糸球体当たりのマクロファージの出現個数として算出した。

なお、PVA投与群については、一部のPVA食食マクロファージは明らかなNSE反応性を示したが、多くの細胞は、胞体が泡沫状と成り、NSE陽性性が

低下したため、泡沫状となった細胞をマクロファージとして算出した²⁰⁾²¹⁾。

5 免疫組織学的検索：ラットIgGおよびウサギIgGの局在についてはクリオスタットでの薄切までNSE染色と同様に処理した標本を用い、直接法により検索した。特異抗体は、FITC標識抗ラットIgGおよびFITC標識抗ウサギIgG（いずれもFunakoshi）を用いた。ラミニンの局在については光顕観察用のパラフィン切片を用い、peroxidase-antiperoxidase (PAP) 法により検索した。特異抗体は、抗ラットラミニン (Chemicon international Inc.) を用いた。

6 血清生化学検査：頸静脈より採取した血液から血清を分離し、BUN、クレアチニン、総コレステロールおよび総蛋白をHitachi 705自動分析装置により測定した。

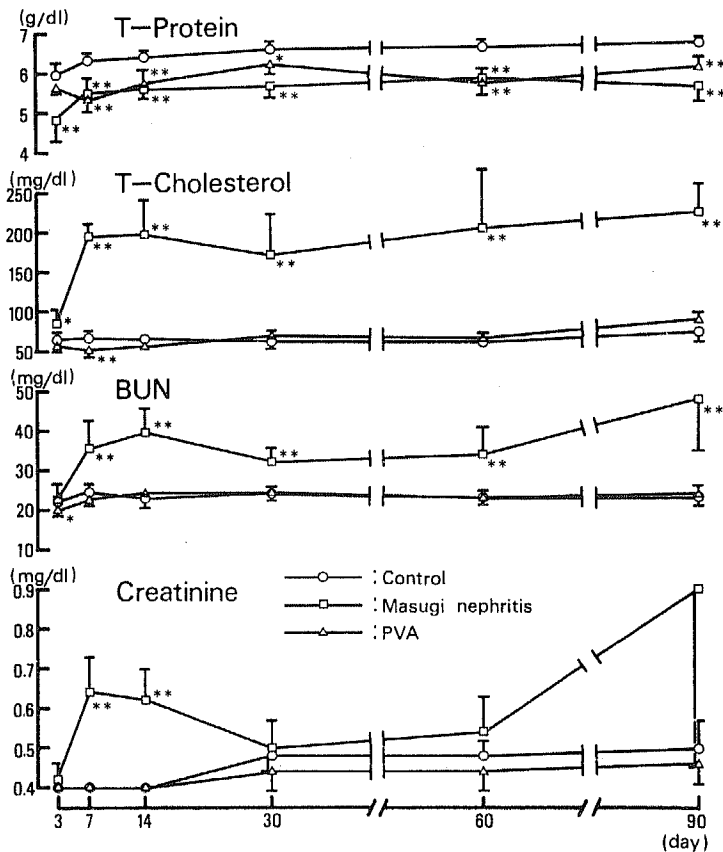


Fig. 1 Results of serum chemistry.

Each point represents the mean \pm S. D..

*: $p < 0.05$, **: $P < 0.01$

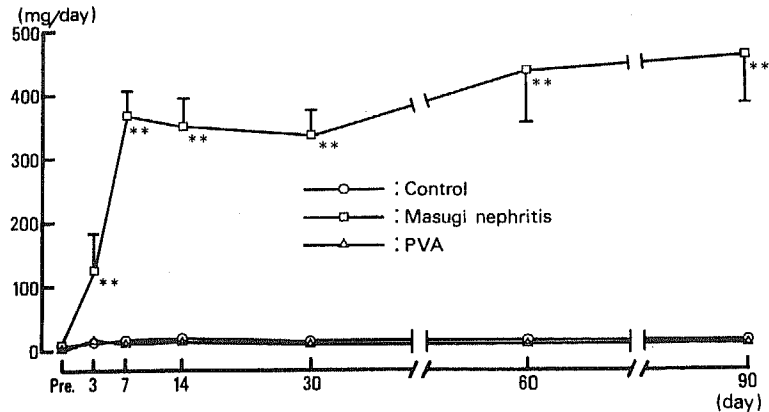


Fig. 2 Changes in urinary protein excretion.

Each point represents the mean \pm S. D..

** : $p < 0.01$

7 尿中蛋白の測定：ラットを各ステージの屠殺前日より代謝ケージに収容し、24時間採尿した。

尿中蛋白の定量は、Micro TP-Test wako(Wako)により実施した。

III 実験成績

A 血清生化学検査

結果を Fig. 1 に示す。

総蛋白では、PVA 投与群の3日の測定値のみ対照群と差がなかったのを除き、馬杉腎炎群およびPVA投与群とも3カ月間を通じ、対照群に比し、有意に低値であった。

総コレステロールでは、馬杉腎炎群の測定値がすべての測定時に対照群より有意に高値を示し、特に1週からの測定値は対照群のおよそ3倍であった。PVA

投与群では、1週の測定値が対照群より有意に低かったが、他は差がなかった。

BUN では、馬杉腎炎群の測定値が3日を除いたすべての測定時に対照群より有意に高値を示したが、1および2週の測定値が高く、1カ月でやや低下し2および3カ月と再び上昇傾向がみられた。PVA 投与群では、3日の値が対照群より有意に低かったが、他は差がなく推移した。

クレアチニンでは、馬杉腎炎群の値が1および2週で有意な高値を示したが、1および2カ月では差がなく、3カ月ではバラツキが大きかったため、有意差は見られないものの、再度上昇する傾向がうかがわれた。PVA 投与群には、変動がみられなかった。

B 尿中蛋白測定

結果を Fig. 2 に示す。

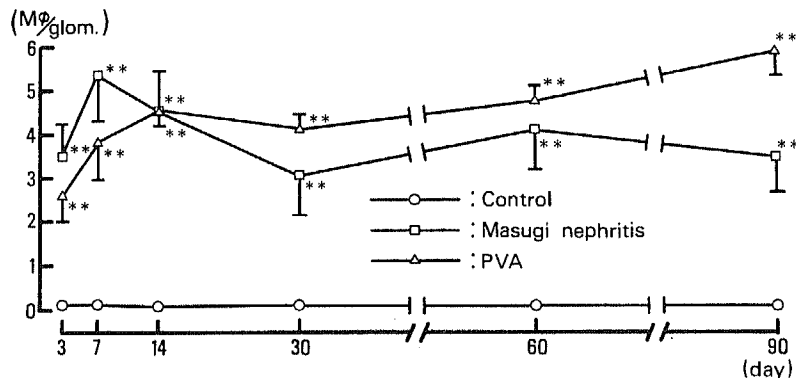


Fig. 3 Changes in macrophage counts per glomerulus.

Each point represents the mean \pm S. D..

** : $p < 0.01$

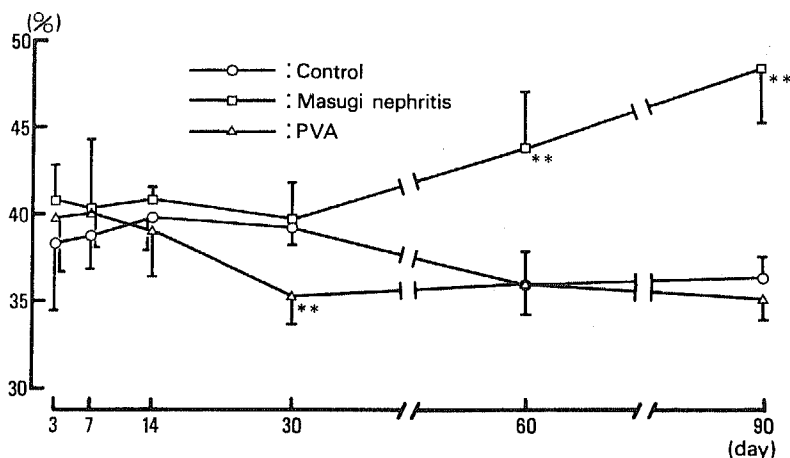


Fig. 4 Changes in sclerotic index of glomerulus.

Each point represents the mean \pm S. D..**: $p < 0.01$

馬杉腎炎群の測定値が3日より有意に高値となり、1週から3カ月までは400mg/day前後の値が持続し、かつ、2カ月、3カ月とさらに上昇する傾向がうかがわれた。

PVA投与群では、有意な変動を認めなかった。

C 糸球体中のマクロファージ出現率の推移

結果をFig. 3に示す。

馬杉腎炎群およびPVA投与群とも3日より有意な増加がみられた。馬杉腎炎群では1週に出現のピークがあり、その後はやや減少傾向がみられたが、3カ月まで依然多数が観察された。

PVA投与群では、2週でプラトーに達し、3カ月まで同程度のまま推移した。

D 糸球体硬化率の推移

結果をFig. 4に示す。

馬杉腎炎群では、1カ月までは対照群と差がなかったが、2カ月から有意な硬化率の増加が認められ、3カ月ではさらに増加する傾向がみられた。

PVA投与群では、1カ月の時点で、有意な硬化率の低下がみられたが、本質的に対照群との差はみられなかった。

E 形態的検索

1 馬杉腎炎群：3日には、糸球壁の肥厚やメサンギウムの膨化により開存血管腔の減少あるいは狭小化がみられた。一部の個体には少数の多形核白血球の浸潤や末梢糸球に硝子様物質の沈着も散見された。電顕的には、血管腔内、内皮下およびメサンギウム内に、

多数のマクロファージを認めた (Fig. 5)。内皮下には、これらの遊走細胞の進入の他に血清成分の漏出によると思われる浮腫性の変化が高度に認められ、赤血球を伴う例も観察された。上皮細胞足突起には、扁平化が認められた。

なお、ウサギIgG (Fig. 5) およびラットIgGとも基底膜に沿って強い線状の蛍光が観察された。

1週には、3日と同様、糸球壁の肥厚やメサンギウムの膨化により開存血管腔の減少あるいは狭小化が明らかだった。富核や糸球に硝子様物質の沈着がみられる糸球体あるいはボウマン嚢との癒着がみられる糸球体も少数認められた。糸球体中には、多くのNSE陽性細胞が観察された (Fig. 6)。電顕的には、血管内、内皮下あるいはメサンギウムに多くのマクロファージが認められた。一部の血管腔は集積したマクロファージにより完全に閉塞されていた。内皮下の浮腫も依然高度で、メサンギウム基質の融解等も観察された。滲出性変化の高度な糸球では、血清成分の漏出に起因したと思われる扁平化した上皮細胞足突起の挙上もみられた。

2週では、1週でみられた所見に加え、糸球体とボウマン嚢との癒着がしばしば認められた。癒着部に硝子様変性を伴う糸球体も散見された。電顕的には、糸球の高度な浮腫 (Fig. 6) 等、1週でみられた変化に加え、扁平化した上皮細胞足突起の剝離もしばしば観察された。

1カ月では、糸球壁の肥厚が軽減し、血管腔の開存

に多少の改善がみられたが、ボウマン嚢上皮と癒着を呈する糸球体が多数認められるようになった。一部の糸球体では、癒着部からボウマン嚢上皮下への血清成分の漏出を思わせる像がみられ、中に多少の細胞成分がみられる場合もあった。間質には線維化や単核球の浸潤巣も散見された。電顕的には、光顕像に一致し、係蹄末梢の浮腫性の変化は軽減したが、基底膜の厚さが著しく不均一となり、極端に菲薄化した部分では扁平化した上皮細胞足突起に血清成分様物質の漏出に起因したと思われる挙上を観察された。硝子化を伴った血清成分様物質の内皮下への漏出巣も観察されたが、このような病巣を被う部分の上皮の変性が連続する他の部分より高度になる傾向も認められた (Fig. 7)。PAM 染色標本では、基底膜の PAM 染色陽性成分がしばしば細い二重構造となって観察された (Fig. 7)。メサンギウム増殖性変化も認められるようになり、しばしば全周性のメサンギウム間入がみられる係蹄も観察された。マクロファージはメサンギウム内に多数認められ、増生したメサンギウムとともにしばしば血管腔を著しく狭小化していた。

2 カ月では、多くの例でメサンギウムの拡大が認められ、血管腔の開存はみられるものの、開存血管腔数の減少が明らかだった。管外性の変化はさらに高度となり、1 カ月で少数認められた係蹄とボウマン嚢上皮の癒着部からボウマン嚢上皮下への血清成分様物質の漏出像が多数観察された。ほぼ全周性にボウマン嚢と癒着し、無構造となり荒廃した糸球体も多くみられるようになった。NSE 陽性マクロファージは管外性病巣にもしばしば認められるようになった (Fig. 8)。電顕的には、1 カ月にみられた基底膜の変化がさらに高度となり、しばしば蛇行がみられたり、構造が著し

く不明瞭となる場合もあった (Fig. 8)。メサンギウムの増生はさらに進行し、係蹄末梢へのメサンギウム細胞の伸長あるいは全周性の間入等も多く観察された。上皮細胞の変化も高度で、漏出蛋白の再吸収像と思われる高電子密度顆粒を大量に容れたり、空胞変性がみられたり、扁平化した足突起の基底膜接触部分にマイクロフィラメントの凝集がみられた。上皮細胞が剝離し、係蹄とボウマン嚢上皮が癒着する像も多々みられた。メサンギウム内に認められるマクロファージはしばしば胞体が泡沫状となっていた。

3 カ月では、3 匹のラットのほぼ総ての糸球体および2匹のラットの約半数の糸球体に著明な硬化像がみられた。完全に荒廃し、周囲を線維性半月体に被われ、少数の血管腔を残すのみの糸球体も多くみられた (Fig. 9a)。硬化糸球体中には、しばしば泡沫細胞も観察された。NSE 陽性マクロファージは管内性にも認められたが、2 カ月と同様に、管外性病変部にもしばしば観察された。尿細管の萎縮、間質の線維化も高度に認められた。電顕的には、増加したメサンギウム基質により係蹄は一様に無構造となっていた。しばしば末梢係蹄に硝子様変性巣が観察されたが、これらの病巣は多くの場合、基底膜構造および上皮細胞を欠き、ボウマン嚢上皮と係蹄が癒着して形成された線維性半月体様構造中に露出していた。上皮細胞の変性はきわめて高度で、大量の漏出蛋白の再吸収顆粒や空胞が観察された。

ウサギ IgG およびラット IgG は、比較的構造の保たれた糸球体には、減弱したもの、基底膜に沿った線状の蛍光が認められた。しかしながら、硬化の著しい糸球体には、両者とも残存する係蹄にかすかに認められたのみだった。ラミネンは、2 カ月より明らかな

Fig. 5 Macrophages are seen in capillary lumen and mesangial area. Aggregation of platelets with fibrin formation are also seen in capillary lumen. Masugi nephritis rat, 3 days. $\times 4,800$
Inset shows rabbit IgG staining demonstrated in a linear pattern along the capillary loops. Masugi nephritis rat, 3 days. $\times 240$
Ma: macrophage, Ms: mesangium cell, En: endothelium.

Fig. 6 Prominent edematous changes with macrophage infiltration are seen in subendothelial space accompanied by narrowing of capillary lumen. Masugi nephritis rat, 2 weeks. $\times 4,500$
Inset shows a few NSE-positive cells in glomeruli. Masugi nephritis rat, 1 week. NSE staining, $\times 180$
Ma: macrophage, En: endothelium.

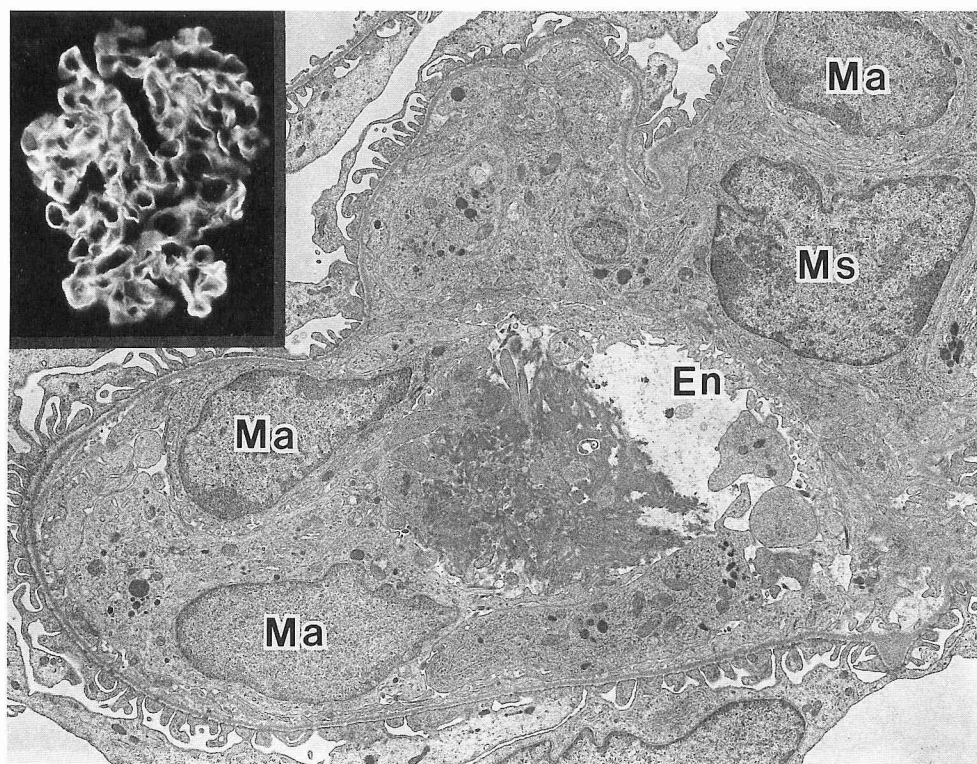


Fig. 5

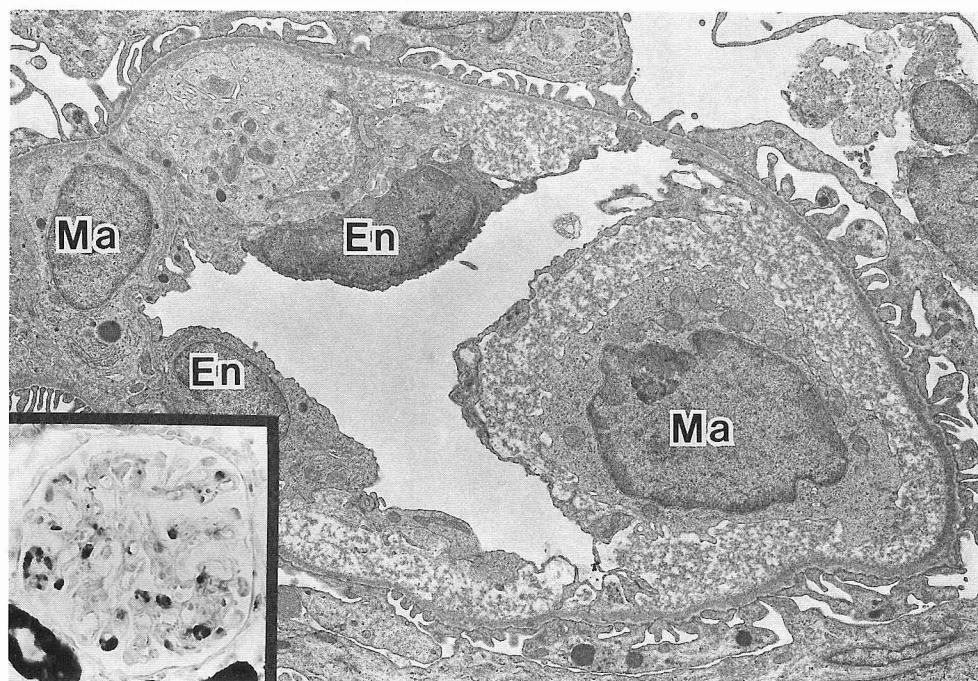


Fig. 6

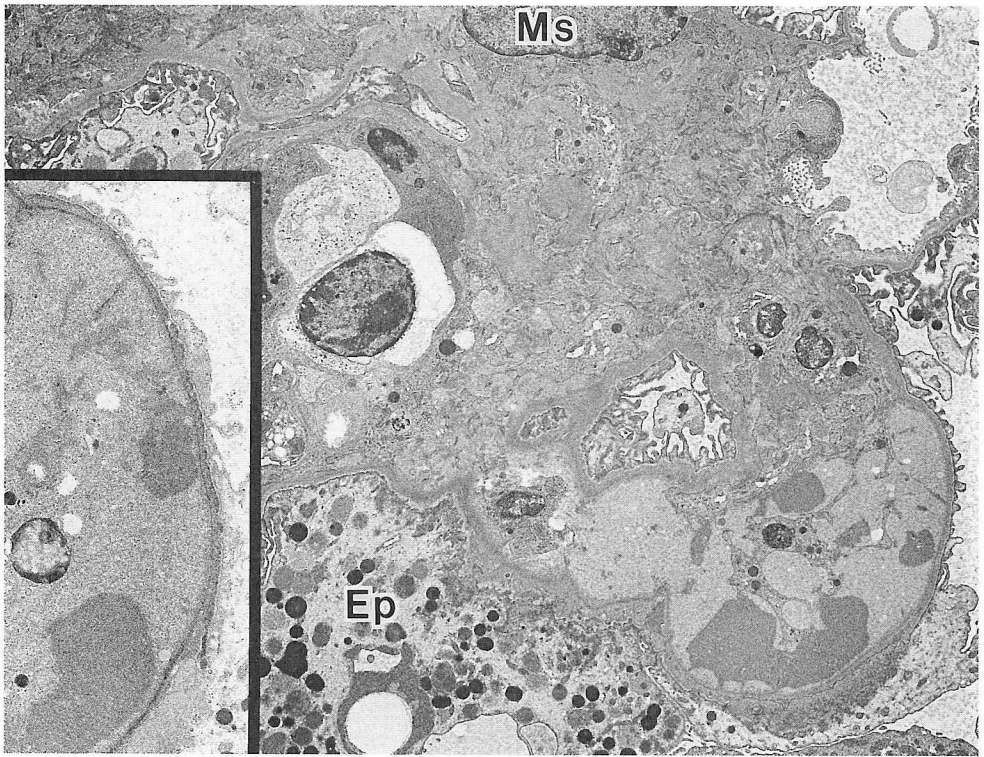


Fig. 7

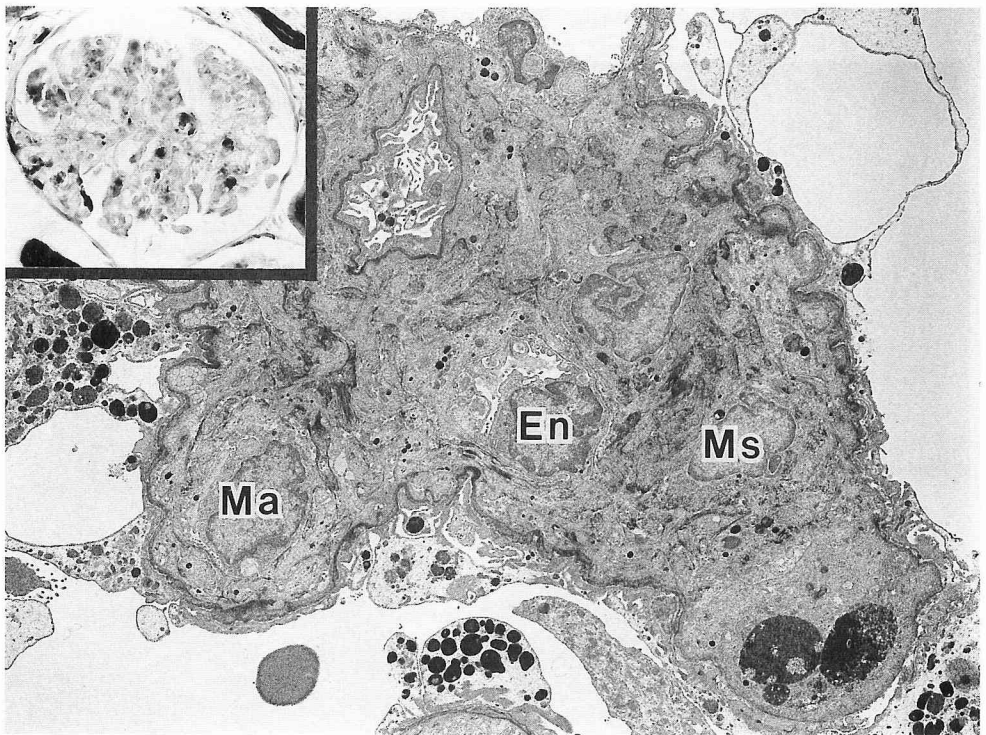


Fig. 8

陽性染色域の広がりが見られるようになっていたが、3カ月では硬化糸球体の全域に検出された (Fig. 9b, 9c)。

2 PVA 投与群: 3日より、メサンギウムに大量のPVAを貪食したマクロファージが認められた。PVAの一部は内皮細胞にも貪食されていたが、係蹄には明らかな形態異常を認めなかった。経時的にメサンギウム中のPVA貪食マクロファージは腫大し、メサンギウム細胞の圧排像が見られるようになり、また拡大したメサンギウムによる多少の血管腔の狭小化も観察されたが、係蹄には明らかな形態異常を認めなかった (Fig. 9d, 10)。糸球体には、1カ月よりメサンギウムの拡大により多少の肥大が認められた。

なお、NSE染色では、多くの細胞は胞体が泡沫状となったため、NSE反応性が低下したが、一部の泡沫細胞には明らかな陽性所見が認められた (Fig. 9e)。

実験期間を通じ、ウサギIgGおよびラットIgGとも有意な陽性所見を認めなかった。ラミニンについても、明らかな陽性染色域の広がりには観察されなかった。

3 対照群: なんらの形態的異常を認めなかった。

IV 考 察

糸球体の硬化、すなわちメサンギウム基質の増加に至る前段階と考えられるメサンギウム細胞の増殖を惹起する要因としては、マクロファージの浸潤⁷¹⁶⁾、高血圧¹³⁾、高脂血症¹⁹⁾、メサンギウムへの過剰負荷¹²⁾、上皮細胞障害¹⁰¹¹⁾、マクロファージ等からのインター

ロイキン-1 (IL-1)⁷²⁹⁾およびインターロイキン-6 (IL-6)²⁴⁾の分泌、血小板由来の増殖因子²⁵⁾、さらにメサンギウム細胞自身が分泌する増殖因子²⁶⁾等、種々の直接的あるいは間接的な因子が報告されているが、いずれも明確に機序を説明するには至っていない。

マクロファージの硬化への関与については、MagilとCohen¹⁶⁾が巣状分節性糸球体硬化症 (FGS) 患者の糸球体のうち、局所的な病変のみられる糸球体では、72%に単球あるいは泡沫細胞が認められるのに対し、病変を認めない糸球体には7%しかこれらの細胞を認めないことから、FGS病変形成への単球および顆粒細胞 (泡沫細胞) の関与を示唆している。また、MatsumotoとAtkins⁷⁾は、ラットに惹起したアミノヌクレオシドとプロタミン硫酸投与によるFGSモデルを80日間観察し、FGSの認められる糸球体の培養では、FGSの認められない糸球体の場合に比し、より多くのマクロファージが検出されたことより、やはりマクロファージが持続的にメサンギウム～糸球体硬化に関わる可能性を示唆している。

免疫系が関与する実験腎炎で、硬化へのマクロファージの関与を長期にわたり観察した報告はほとんどない。今回の実験では、馬杉腎炎群の1カ月より硬化性の病変が認められるようになり、2カ月、3カ月とさらに進展がみられた。硬化部位に一致し、ラミニンが広範に染め出され、硬化がメサンギウム基質の増加によることが示唆された⁵⁾。PAM染色陽性部分の面積率も1カ月では対照群と明らかな差はなかったが、2

Fig. 7 Segmental sclerotic changes can be seen. Degeneration of epithelial cells are prominent especially in the area covering the hyalinosis lesions of capillary lumen. Masugi nephritis rat, 1 month. $\times 3,200$

Inset shows a high magnification view of the PAM-stained basement membrane at the hyalinosis lesion demonstrated in Fig. 7 (lower, right). PAM-positive dual components of basement membrane can be seen. Masugi nephritis rat, 1 month. PAM, $\times 5,300$ Ms: mesangium cell, Ep: epithelium.

Fig. 8 Increased formation of mesangial matrix accompanied by macrophage accumulation can be seen. The basement membranes are folded and lost their integrity. The hyalinosis lesion (lower, right) lost the basement membrane and the epithelial covering. Masugi nephritis rat, 2 months. PAM, $\times 2,800$

Inset shows a few NSE-positive cells in the glomeruli including extracapillary lesion. Masugi nephritis rat, 2 months. NSE staining, $\times 180$

Ma: macrophage, Ms: mesangium cell, En: endothelium.

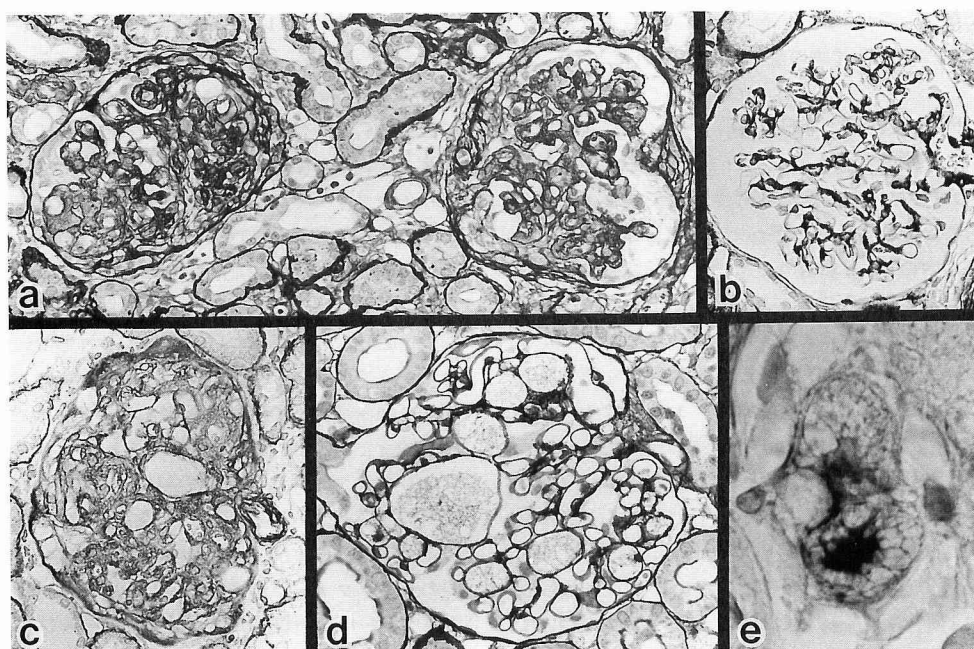


Fig. 9

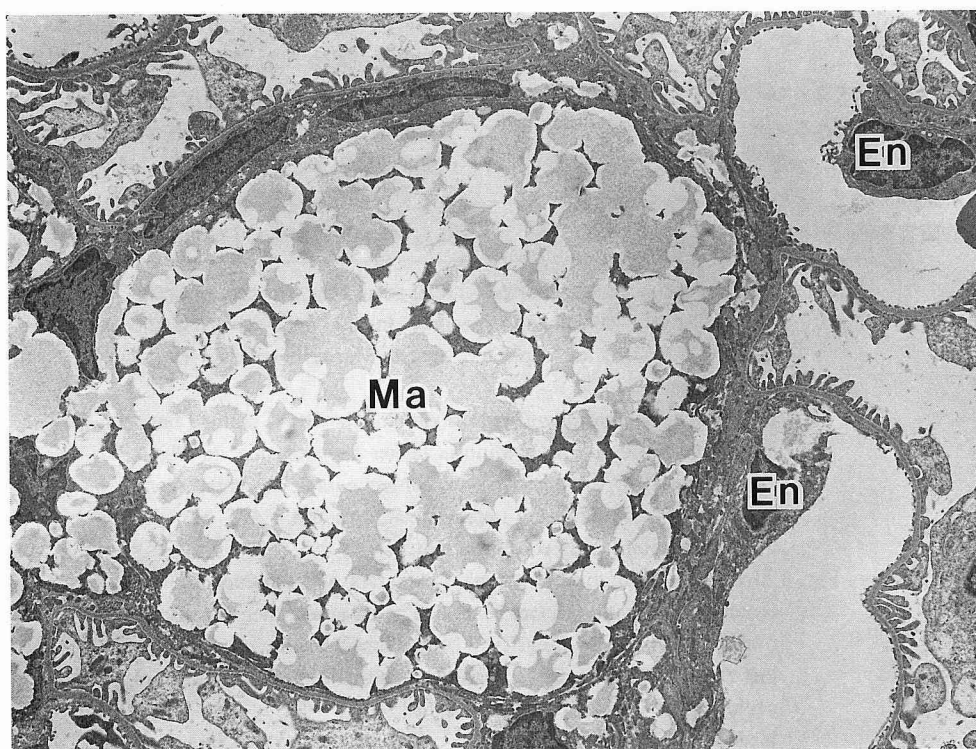


Fig. 10

ヵ月、3ヵ月と経時的に有意な増加が認められ、形態的所見とほぼ一致した。蛋白尿はすでに7日より大量に発現していたが、やはり2ヵ月、3ヵ月とさらに増加する傾向をみせ、また血清生化学検査パラメーターも1ヵ月に多少の改善傾向をみせた後に、2ヵ月、3ヵ月と悪化が認められる等、硬化像の進展は腎機能の悪化とも一致がみられた。

マクロファージは我々の前報¹⁷⁾¹⁸⁾での成績と同じく、腎炎惹起初期に高度な滲出性の変化とともにピークを示し、1ヵ月以降は軽度の減少傾向がうかがわれたものの3ヵ月まで依然多数が観察され、硬化が進行する糸球体に持続的に存在することが確認された。しかしながら、2および3ヵ月と経時的に進展した硬化に対応した増加あるいは減少等の明らかな傾向は認められなかった。3ヵ月の時点においても、糸球体係蹄壁にはNTS(ウサギIgG)およびラットIgGの局在が確認されたことより、液性抗体による炎症の持続あるいは細胞性免疫の関与²⁷⁾²⁸⁾がマクロファージの持続的集積にあずかっている可能性がある。

MatsumotoとAtkins²⁾は、ラットでのアミノヌクレオシドとプロタミン硫酸投与によるFGSモデルにおいて、FGSの認められるラットの糸球体の培養でマクロファージが多数検出され、なおかつ経時的なマクロファージの動態と平行したIL-1の産生を認めており、マクロファージがIL-1の産生を介して糸球体硬化に関与する可能性を示唆している。Horiiら²⁴⁾はメサンギウム増殖性腎炎(PGN)患者の50%の尿中にIL-6を認め、また培養したラットメサンギウム細胞にIL-6を作用させると、メサンギウムの増生が惹

起されることを報告しており、PGNへのIL-6の関与を示唆している。マクロファージには、これら2つのサイトカイン以外にも、やはりメサンギウムの増殖への関与が示唆される血小板由来増殖因子の分泌も知られており²⁹⁾、腎炎の惹起によりメサンギウム内あるいは場合によっては内皮下に浸潤したマクロファージからこれらの物質が分泌され硬化に至った可能性が推察される。MacCarthyら³⁰⁾は、マクロファージ産生物がメサンギウムのプロスタグランジンE産生を介してメサンギウムを増殖させる可能性についても報告している。

しかしながら、PVA投与群では、馬杉腎炎群と同等のマクロファージがメサンギウム内に認められたにもかかわらず、泡沫細胞様となり腫大したマクロファージによるメサンギウムの拡大あるいは多少の血管腔の狭小化以外に形態的異常を認めず、機能的にも対照群と差がなかった。Seilerら²⁰⁾およびSterzelら²¹⁾も50mg/bodyのPVAを28日間ラット皮下に連日投与したが、やはり形態的異常あるいは機能的異常を認めていない。

浸潤したマクロファージはメサンギウム内で多量のPVAを貪食したものと予測され²⁰⁾²¹⁾、馬杉腎炎群でみられたマクロファージがやはりメサンギウム内で流入した免疫複合体あるいは脂質を貪食したであろう点と挙動的にも大差はないと思われるが、両者の結末には大きな差異があった。少なくともマクロファージがメサンギウムのみに集積する場合にあっては、硬化性の機転は認められず、マクロファージに予想されるメサンギウム増生に関与するサイトカイン等の分

- Fig. 9 a : Glomeruli become sclerotic. Atrophy of the tubules are also seen. Masugi nephritis rat, 3 months. PAM, $\times 220$
 b : No apparent increase of laminin is seen. Control rat, 3 months. PAP, $\times 230$
 c : The sclerotic glomeruli are diffusely stained with laminin. Masugi nephritis rat, 3 months. PAP, $\times 230$
 d : Glomeruli are swollen with foam cells (PVA-laden macrophages) in mesangium, but any other changes can not be seen. PVA treated rat, 3 months. PAM, $\times 260$
 e : Some foam cells in glomeruli of PVA treated rat show apparently positive NSE-reactivity. PVA treated rat, 3 months. NSE staining, $\times 890$

Fig. 10 PVA-laden swollen macrophages are seen in mesangium. PVA treated rat, 3 months. $\times 3,900$
 Ma : macrophage, En : endothelium.

泌⁷⁾²⁴⁾²⁹⁾³⁰⁾もないものと推察される。

馬杉腎炎群およびPVA投与群の両者におけるマクロファージの動態あるいは経時的な病態での相違点は、馬杉腎炎群でみられた係蹄の変化であった。同群では炎症の初期より、尿蛋白の増加と平行して、係蹄にマクロファージの浸潤が認められ、高度な滲出性の変化が観察された。内皮細胞は血管内腔側へ浮き上がり、あるいは剝離脱落し、基底膜および上皮細胞には強い変性がみられ、経時的に高度となった。

内皮細胞³¹⁾および上皮細胞³²⁾はヘパリン様物質を合成分泌することが知られているが、ヘパリンもしくはヘパリン様物質は、メサンギウム細胞の増殖を抑制することが確認されている³²⁾。また同時に、内皮細胞の剝離した基底膜部では、血小板の凝集等も予測され³³⁾、やはりメサンギウムの増殖因子である血小板由来増殖因子の分泌も推察される³³⁾。これらの事実より、係蹄の組織障害が2次的にメサンギウム増殖を惹起し、糸球体を硬化に至らしめた可能性が示唆された。Friesら¹¹⁾もアドリマイシン投与後に腎の部分切除を実施し、代償性肥大に至らしめたラット糸球体で、硝子化を伴った分節性糸球体硬化病巣あるいは硝子物質沈着のみられる係蹄に、ほぼ例外なく上皮細胞の消失あるいは高度な変性を認め、糸球体硬化の要因として、上皮細胞の障害あるいは消失に注目している。マクロファージは、持続的に糸球体中に観察されたが、直接的には糸球体硬化に関与しないものと推察された。2および3カ月で認められた経時的な硬化の進展に、集積マクロファージ数が対応した増減を示さなかった事実もこの推論を支持する。また、PVA投与群で示されたように、マクロファージは、少なくともメサンギウム内に集積する限りにおいては、なんらの増殖性の変化を惹起しないことが認められたが、馬杉腎炎群とPVA投与群とでマクロファージの活性化の状態が異なる可能性も考えられ、馬杉腎炎群において前述の種々のサイトカインの分泌を介した硬化への関与⁷⁾²⁴⁾²⁹⁾³⁰⁾も否定できないが、本実験においてこのような機序が生じていたか否かは現時点では言及し得ない。

い。

なお、有意な変化ではなかったが、1カ月の時点で、腎機能検査値に多少の改善傾向が認められ、形態的にも血管腔の開存等改善がみられた後、2カ月、3カ月と硬化が進行し腎機能の悪化をみているが、同様な傾向は、著者の前報¹⁷⁾でも認めている。1カ月の超微形態的な観察では、多少の硬化性の病変が観察され始めるものの、2週まで認められた高度な滲出性の変化の消退が観察され、腎機能検査値の改善傾向に呼応していた。したがって、本実験モデルでは、1カ月の時点は高度な滲出性の炎症性変化が消退し、硬化へと進行するターニングポイントと考えられる。この時点についての詳細な検討は、硬化のメカニズム解明にさらに多くの知見を提供してくれる可能性がある。

近年、糸球体の硬化とアテローム性動脈硬化症とに類似の病理発生があるとの観点から、高脂血症が糸球体硬化の因子として注目されており、これを支持する多くの実験成績が報告されている¹⁹⁾。我々の加速型馬杉腎炎モデルは、前報¹⁷⁾¹⁸⁾でも述べたごとく、炎症惹起後に高コレステロール血症を引き起こすことが判明している。今回の実験でも、1週から血清コレステロールレベルは対照群の約3倍の値を示しており、3カ月にはコレステロールを貪食したマクロファージと思われる泡沫細胞¹⁷⁾を硬化した糸球体中に認めている。したがって、今回の実験でも高コレステロール血症の硬化への関与も十分に考え得るが、明らかな関与があったのか否か、さらにはマクロファージの存在との関連があったのか否か等については、今後の検討課題である。

本論文の要旨は、第32回日本腎臓学会総会（平成元年11月、浜松）において発表した。

稿を終るにあたり、懇切なる御指導、御校閲を賜りました恩師重松秀一教授に深く感謝の意を表します。また、実験の遂行にさいし、終始御指導、御助言を頂きました第1病理学教室、伊藤助教授に心より御礼を申し上げます。

文 献

- 1) Keane, W. F., Kasiske, B. L. and O'Donnell, M. P.: Lipids and progressive glomerulosclerosis. *Am J Nephrol*, 8: 261-271, 1988
- 2) Goldszer, R. C., Sweet, J. and Cotran, R. S.: Focal segmental glomerulo-sclerosis. *Annu Rev Med*, 35: 429-449, 1984
- 3) Shigematsu, H., Kobayashi, Y. and Hiki, Y.: Age-related character of glomerular lesions in IgA

- nephritis. *Jpn J Nephrol*, 32 : 9-15, 1990
- 4) Striker, L. M.-M., Killen, P. D., Chi, E. and Striker, G. E. : The composition of glomerulosclerosis. I. Studies in focal sclerosis, crescentic glomerulonephritis, and membranoproliferative glomerulonephritis. *Lab Invest*, 51 : 181-192, 1984
 - 5) Striker, L. J., Doi, T., Elliot, S. and Striker, G. E. : The contribution of glomerular mesangial cells to progressive glomerulosclerosis. *Semin Nephrol*, 9 : 318-328, 1989
 - 6) Adler, S., Striker, L. J., Striker, G. E., Perkinson, D. T., Hibbert, J. and Couser, W. G. : Studies of progressive glomerular sclerosis in the rat. *Am J Pathol*, 123 : 553-562, 1986
 - 7) Matsumoto, K. and Atkins, R. C. : Glomerular cells and macrophages in the progression of experimental focal and segmental glomerulosclerosis. *Am J Pathol*, 134 : 933-945, 1989
 - 8) Grond, J., Koudstaal, J. and Elema, J. D. : Mesangial function and glomerular sclerosis in rats with aminonucleoside nephrosis. *Kidney Int*, 27 : 405-410, 1985
 - 9) Grond, J., Goor, H. van, Erkelens, D. W. and Elema, J. D. : Glomerular sclerotic lesions in the rat. Histochemical analysis of their macromolecular and cellular composition. *Virchows Arch [Cell Pathol]*, 51 : 521-534, 1986
 - 10) Diamond, J. R. and Karnovsky, M. J. : Focal and segmental glomerulo-sclerosis following a single intravenous dose of puromycin aminonucleoside. *Am J Pathol*, 122 : 481-487, 1986
 - 11) Fries, J. W. U., Sandstrom, D. J., Meyer, T. W. and Rennek, H. G. : Glomerular hypertrophy and epithelial cell injury modulate progressive glomerulosclerosis in the rat. *Lab Invest*, 60 : 205-218, 1989
 - 12) Grond, J., Beukers, Y. B., Schilthuis, M. S., Weening, J. J. and Elema, J. D. : Analysis of renal structural and functional features in two rat strains with a different susceptibility to glomerular sclerosis. *Lab Invest*, 54 : 77-83, 1986
 - 13) Katsumata, H., Suzuki, H., Ohishi, A., Nakamoto, H., Saruta, T. and Sakaguchi, H. : Effects of antihypertensive agents on blood pressure and the progress of renal failure in partially nephrectomized spontaneously hypertensive rats. *Lab Invest*, 62 : 474-480, 1990
 - 14) Shigematsu, H., Shishido, H., Kuhara, K., Tsuchida, H., Suzuki, H., Hirose, K. and Tojo, S. : Participation of monocytes in transient glomerular hypercellularity in poststreptococcal glomerulonephritis. *Virchows Arch Abt B Zellpath*, 12 : 367-370, 1973
 - 15) Magil, A. B. and Wadsworth, L. D. : Monocytes in human glomerulonephritis. An electron microscopic study. *Lab Invest*, 45 : 77-81, 1981
 - 16) Magil, A. B. and Cohen, A. H. : Monocytes and focal glomerulosclerosis. *Lab Invest*, 61 : 404-409, 1989
 - 17) Shibata, N., Itoh, N. and Shigematsu, H. : Macrophages in glomerular injury. I. The kinetics of macrophages in accelerated Masugi nephritis in the rat. *Acta Pathol Jpn*, 35 : 9-22, 1985
 - 18) Shibata, N., Uchida, M., Itoh, N. and Shigematsu, H. : Macrophages in glomerular injury. II. Kinetics of macrophages and the glomerular injury in accelerated Masugi nephritis in X-irradiated rats. *Jpn J Nephrol*, 27 : 1271-1279, 1985
 - 19) Cook, H. T., Smith, J., Salmon, J. A. and Cattell, V. : Functional characteristics of macrophages in glomerulonephritis in the rat. O_2^- generation, MHC class II expression, and eicosanoid synthesis. *Am J Pathol*, 134 : 431-437, 1989
 - 20) Seiler, M. W., Hoyer, J. R. and Sterzel, R. B. : Role of macrophages in the glomerular mesangial uptake of polyvinyl alcohol in rats. *Lab Invest*, 49 : 26-37, 1983
 - 21) Sterzel, R. B., Eisenbach, G. M., Seiler, M. W. and Hoyer, J. R. : Uptake of polyvinyl alcohol by macrophages in the glomerular mesangium of rats. *Am J Pathol*, 111 : 247-257, 1983
 - 22) Yam, L. T., Li, C. Y. and Crosby, W. H. : Cytochemical identification of monocytes and granulocytes. *Am*

- J Clin Pathol, 55 : 283-290, 1971
- 23) Lovett, D. H., Ryan, J. L. and Sterzel, R. B. : Stimulation of rat mesangial cell proliferation by macrophage interleukin 1¹. J Immunol, 131 : 2830-2836, 1983
 - 24) Horii, Y., Muraguchi, A., Iwano, M., Matsuda, T., Hirayama, T., Yamada, H., Fujii, Y., Dohi, K., Ishikawa, H., Ohmoto, Y., Yoshizaki, K., Hirano, T. and Kishimoto, T. : Involvement of IL-6 in mesangial proliferative glomerulonephritis. J Immunol, 143 : 3949-3955, 1989
 - 25) Johnson, R. J., Garcia, R. L., Pritzl, P. and Alpers, C. E. : Platelets mediate glomerular cell proliferation in immune complex nephritis induced by anti-mesangial cell antibodies in the rat. Am J Pathol, 136 : 369-374, 1990
 - 26) Abboud, H. E., Poptic, E. and DiCorleto, P. : Rat mesangial cells secrete a platelet derived growth factor-like molecule. Kidney Int, 29 : 263, 1986
 - 27) Bhan, A. K., Schneeberger, E. E., Collins, A. B. and McCluskey, R. T. : Evidence for a pathogenic role of a cell-mediated immune mechanism in experimental glomerulonephritis. J Exp Med, 148 : 246-259, 1978
 - 28) Bhan, A. K., Collins, A. B., Schneeberger, E. E. and McCluskey, R. T. : A cell-mediated reaction against glomerular-bound immune complexes. J Exp Med, 150 : 1410-1420, 1979
 - 29) Shimokado, K., Raines, E. W., Madtes, D. K., Barrett, T. B., Benditt, E. P. and Ross, R. : A significant part of macrophage-derived growth factor consists of at least two forms of PDGF. Cell, 43 : 277-286, 1985
 - 30) MacCarthy, E. P., Hsu, A., Ooi, Y. M. and Ooi, B. S. : Modulation of mouse mesangial cell proliferation by macrophage products. Immunology, 56 : 695-699, 1985
 - 31) Castellot, J. J., Favreau, L. V., Karnovsky, M. J. and Rosenberg, R. D. : Inhibition of vascular smooth muscle cell growth by endothelial cell-derived heparin. J Biol Chem, 257 : 11256-11260, 1982
 - 32) Castellot, J. J., Hoover, R. L., Harper, P. A. and Karnovsky, M. J. : Heparin and glomerular epithelial cell-secreted heparinlike species inhibit mesangial-cell proliferation. Am J Pathol, 120 : 427-435, 1985
 - 33) Davies, P. F. : Biology of disease. Vascular cell interactions with special reference to the pathogenesis of atherosclerosis. Lab Invest, 55 : 5-24, 1986

(2. 9. 25 受稿)