

ラット血清病腎炎における糸球体病変の 進展と硬化に関する病理形態学的研究

加 藤 正 裕
信州大学医学部第1病理学教室
(指導: 重松秀一教授)

Patho-morphological Study of Progression and Sclerotic Change of Glomerular Lesions in Serum Sickness Nephritis in Rats

Masahiro KATO

Department of Pathology, Shinshu University School of Medicine
(Director: Prof. Hidekazu Shigematsu)

Chronic glomerulonephritis with persistent massive proteinuria was induced in male F344/Ncl rats by bovine serum albumin (BSA). In this experimental model, the progression and sclerotic change of glomerular lesions were investigated. In the peripheral tuft, glomerular epithelial detachment was observed throughout the experimental period. This lesion was followed by capsular adhesion with capsular epithelial covering resulting in the progression of segmental sclerosis and/or hyalinosis. In the axial region, progression of mesangial sclerosis resulting from edematous and lytic lesions was observed. It was concluded that glomerular injury in serum sickness nephritis in rats is characterized by complex sclerotic processes in both peripheral tuft and axial region. *Shinshu Med. J.*, 84: 56-74, 1986

(Received for publication October 21, 1985)

Key words: glomerular epithelial detachment, capsular adhesion, segmental sclerosis and/or hyalinosis, mesangial sclerosis, serum sickness nephritis

糸球体上皮細胞剝離, 係蹄ポウマン嚢癒着, 局所的硬化ないし硝子化, 軸部の硬化, 血清病腎炎

緒 言

一般的に, 糸球体腎炎(以下腎炎と略す)は治癒する場合と進展ないし持続してついに硬化性腎炎に至る場合との両極端がある。すなわち慢性化する場合, 形態学的に見ると, 糸球体病変は, 主として硬化性病変が進展してゆき, ついには糸球体荒廃の終末像であるいわゆる硝子化糸球体に至る非可逆性の過程が考えられる。このような糸球体の硬化, 荒廃化の過程について, 最近, ラット馬杉腎炎¹⁾やラットアミノスクレオシド腎症²⁾などの研究から, 糸球体係蹄とポウマン嚢との

癒着に始まる糸球体硬化性病変が注目されている。まったく異なる発生病理を持つこの2つの糸球体疾患モデルに認められた癒着に始まる一連の糸球体病変の進展は, 非特異的な病理的過程と考えられる。血清病腎炎は, 血中循環性免疫複合体の糸球体沈着と時を同じくして発症する腎炎で慢性化傾向を示す腎炎の実験モデルであるが, 癒着硬化病変を含めた糸球体荒廃過程の研究はまだない。そこで今回, 著者は, ラット血清病腎炎を作製し, 主として糸球体病変の進展と硬化について形態学的および組織化学的に検討した。

材料と方法

実験には、体重140-170gの雄ラット F344/Ncl (7週令)(静岡県実験動物農業協同組合)を40匹用いた。ラットの血清病腎炎の惹起は、Yamamoto ら³⁾の方法を準拠した。まず、結晶化ウシ血清アルブミン(BSA)(Reheis Chemi, Phoenix, Arizona, U.S.A.) 2.5 mg を complete Freund's adjuvant (Iatron Lab, Tokyo, Japan) とともに、後足趾と背部に皮下注射して前免疫し、8週放置した。以後、2 mg を生理的食塩水溶液 1 ml に溶解し、連日、尾静脈内に投与し、4週目で中止した。ラットは、静注開始後2週目(0期)、3-4週目(I期)、抗原投与中止後1-2週目(II期)12週目(III期)、18週目(IV期)、24週目(V期)におのおの、3匹、8匹、6匹、4匹、4匹、3匹を屠殺した。今回は、各群で、一番著明な蛋白尿を呈するラットをおもに検索した。対照群として、前もって免疫を行わず、生理的食塩水溶液 1 ml を連日4週間静注したラットを用いた。実験群とともに、2匹ずつ屠殺した。尿蛋白は、Kingsburg-Clark⁴⁾法で定量した。屠殺直前にネンプタール(pentobarbital sodium)(Abbott Lab, North Chicago, U.S.A.)麻酔下で、腹大動脈より4%パラホルムアルデヒド水溶液(0.1モル磷酸緩衝, pH7.4)で灌流固定し、両腎を摘出した。摘出腎について光顕的、電顕的、免疫組織化学的に観察した。①光顕的検索: 2 μ m のパラフィン切片に、ヘマトキシリンエオジン(H.E.)染色、過ヨウ素酸シッフ(PAS)染色、過ヨウ素酸メテナミン銀(PAM)染色、マッソン・トリクローム(MS)染色を行い、観察した。②免疫組織化学的検索: 4 μ m のパラフィン切片を用い、0.15%トリプシン(Difco Lab, Detroit Michigan, U.S.A.)水溶液(0.02モル磷酸緩衝, pH7.2)で、37°C 1.5時間処理した後⁵⁾、0.3% H₂O₂-methanol液で、30分間、内因性ペルオキシダーゼ活性を除去し、次に、Horse-radish peroxidase 標識 rabbit anti-BSA (4倍希釈溶液)、Horse-radish peroxidase 標識 goat anti-rat IgG (20倍希釈溶液)、Horse-radish peroxidase 標識 goat anti-rat C₃ (20倍希釈溶液)(Cappel Lab, West Chester, U.S.A.)とおのおのの反応させた後、0.005% 過酸化水素水加0.02% 3,3'-ジアミノベンチジン四塩酸塩(Sigma Chemi, St Louis, U.S.A.)水溶液(0.05モルトリス塩酸緩衝, pH7.6)で10分間室温で発色させ⁶⁾、さらに1%メチルグリーン水溶液で核染色を行い、観察し

た。③電顕的検索: 1%グルタルアルデヒド水溶液(0.1モル磷酸緩衝, pH7.4)および4%パラホルムアルデヒド水溶液の混合液で、4°C 6時間前固定し、1.5%四酸化オスミウム水溶液で、4°C 2時間後固定を行った後、上昇エタノール液系列で脱水し、Quetol 812(日新EM)に包埋した。LKB-4800型超ミクロトームで干渉色シルバーゴールドの超薄切片を1%酢酸ウラニール水溶液とクエン酸鉛⁷⁾で二重染色後、日立HU-11A型透過型電子顕微鏡(75kv)で観察した。

結 果

1 尿所見

ラットは、I期から急激に尿蛋白が増量した(1176.03 \pm 861.92mg/24h)。I期以降、蛋白尿は慢性に進行した。II期では、2349.13 \pm 359.74mg/24h、III期では、2376.69 \pm 1848.40mg/24h、IV期では、2462.50 \pm 1601.06mg/24h、V期では、3258.75 \pm 1033.85mg/24hであった。対照群のラットでは、全経過を通じて、平均20mg/24h前後であった。

2 光学顕微鏡所見

I期では、著しいメサンギウムの膨化とともに、係蹄血管腔と軸部に、多くの単核細胞に多形核白血球を混じえた浸潤像が認められた。糸球体係蹄の分業化が目立ち、diffuse segmental or global endocapillary proliferative glomerulonephritisの所見であった。また、おのおのの動物の糸球体を600個ずつ観察し、平均して約30%の糸球体に、軸部の嚢状拡大(balooning)が、局所性に認められた(Fig.1)。マッソン・トリクローム染色では、橙黄色を呈する粗大顆粒状の沈着物が軸部、係蹄壁内に、上皮側に多量に形成されていた。上皮側には、半球状の大きな沈着物も観察された。係蹄壁から傍メサンギウム領域にかけて、沈着物が連珠状に形成されている場合もあった。またボウマン嚢腔にも、橙黄色を呈する物質が認められた。おのおのの動物の糸球体を600個ずつ観察し、平均して約15%の糸球体に、ボウマン嚢腔側上皮細胞の細胞質突起が、糸球体係蹄と接着している像が観察された(Fig.2)。II期では、糸球体の細胞増生性変化はI期よりも軽減したが、軸部の嚢状拡大は、持続して認められた。また、沈着物の大きさは、I期と比べると、やや小さめであったが、沈着部位や量には変化はなかった。また、ボウマン嚢腔にもI期と同様に、マッソン・トリクローム染色で橙黄色を呈する物質が認められた。ほとんどすべての糸球体で、末梢係蹄に係蹄とボ

ウマン嚢との癒着が、2カ所以上に見られた (Fig. 3)。癒着部の表面は、ボウマン嚢壁側上皮細胞によって被覆されていた。また、嚢状拡大部とボウマン嚢との癒着は、嚢状拡大病変を有する糸球体の約10%に観察された (Fig. 4)。Ⅲ-Ⅳ期では、一般に、軸部の著しい基質の増加と細胞成分の減少を認めた。また改築性硬化病変が観察された。分葉化した係蹄全体とボウマン嚢との癒着が目立った (Fig. 5)。この癒着部の両端では、ボウマン嚢被膜側が層状の膜様肥厚を示し、肥厚した係蹄基底膜と接していた (Fig. 6)。また、この係蹄には、硝子様物質が、半球状の沈着物として観察されることがあった。近傍の係蹄軸部では、基質の増加が認められた。Ⅴ期では、軸部には、細胞成分の減少が目立ち、また、硬化部の拡大が顕著であった (Fig. 7)。この時期には、ほぼ全周性にボウマン嚢との癒着が見られ、尿腔はごく一部にしか残存していなかった (Fig. 8)。また、マッソン・トリクローム染色で、糸球体にほとんど沈着物は認められなかった。ほぼ全体が硝子化した糸球体も散見された。

対照群のラットの糸球体には、形態学的な変化は認められなかった。

3 免疫組織化学所見

腎炎が発症していない0期では、ラット IgG, BSAが、軸部と一部の係蹄壁に見られた (Fig. 9, 10)。ラット IgG は、BSA よりも量的に多く観察された。ラット C₃ は、認められなかった。Ⅰ期では、各反応産物が軸部と係蹄壁に見られた。ほとんどの糸球体で、各反応産物は、傍メサンギウム領域に量的に目立った。係蹄壁では、各反応産物は、上皮側に粗大顆粒状で連続的に認められた (Fig. 11-15)。また、嚢状拡大を示す部分の壁にも認められた (Fig. 13)。ラット IgG は BSA よりも量的に多く観察された。一方、ラット C₃ は、おのおの糸球体で最も量的に少なかった。また、おのおの反応産物は、ボウマン嚢腔にも塊状に認められ、尿管極への集積も見られた (Fig. 11, 14, 15)。Ⅱ期では、反応産物の局在に主たる変化は認められなかったが、ラット IgG は、Ⅰ期と比べおのおの糸球体で量的に減少し、ラット IgG と BSA との間には、量的にほとんど差がなくなっていた (Fig. 16-18)。また、糸球体係蹄とボウマン嚢との癒着部や硬化集中には、反応産物が減少ないし消失していた (Fig. 16-18)。Ⅲ-Ⅳ期では、おのおの動物の糸球体を 600 個ずつ観察し、平均して約 5 % の糸球体に、各成分とも量的に減少しているが、軸部、特に傍メサンギウム領

域に認められた。

4 電子顕微鏡所見

a) 係蹄壁の変化

Ⅰ-Ⅱ期では、主に上皮下、基底膜内に、高電子密度沈着物 (DP) が多量に形成され、肥厚した係蹄壁が目立った (Fig. 19-25)。糸球体係蹄上皮細胞下では、こぶ状の大きな DP が目立ったが、電子密度は均質ではなかった。ほぼ上皮下 DP の形成部に一致して糸球体係蹄上皮細胞に、足突起の減少、扁平化、細胞質内の DP よりかなり高い電子密度を示す大小の空胞の形成、細胞表面の微絨毛の増加、細胞質内の内腔表面に微絨毛の形成がある嚢胞様構造物 (Fig. 20) などが観察された。DP に接する糸球体係蹄上皮細胞の底部は、DP よりも高い電子密度を有する細線維様構造物が認められ (Fig. 21)、時に DP との間には、低電子密度の層が観察された。しばしば糸球体係蹄上皮細胞の糸球体基底膜からの剝離、細胞質の崩壊などの病変も認められた (Fig. 23, 25)。特に、Ⅰ期では、ボウマン嚢に近接する末梢係蹄壁の糸球体係蹄上皮細胞に由来すると考えられる細胞質の崩壊産物が、糸球体基底膜の外周に見られた。このほぼ露出した糸球体基底膜に、ボウマン嚢壁側上皮細胞が、一部細胞質突起を伸べて糸球体基底膜に接着している像が観察された (Fig. 25)。このボウマン嚢壁側上皮細胞は、細胞質に大小の空胞形成と豊富な polyribosomes を含む腫大しているのが特徴であった。この係蹄の血管腔は、内皮細胞層が消失しており、泡沫細胞化した単球系細胞が内腔に見られた。この様な係蹄壁では、DP は、一部の内皮下に認められるだけであった。ボウマン嚢腔には、DP と同程度の電子密度を呈する塊状物質が目立った (Fig. 22, 23)。また、DP と同程度の電子密度を示す物質が、糸球体係蹄上皮細胞の開孔した細胞質からボウマン嚢腔へ流出している像が観察された (Fig. 24)。Ⅱ期では、係蹄とボウマン嚢との癒着部位で、粗面小胞体が目立つ腫大したボウマン嚢壁側上皮細胞が、ボウマン嚢被膜内側にできた基質の上を被覆し、おのおの近接の糸球体係蹄上皮細胞と接着している像が見られた (Fig. 26)。この部には、係蹄構造の残存が示唆されたが、電子密度の異なる物質によって埋められ、一端はメサンギウムに移行していた。Ⅲ-Ⅴ期では、DP は、基質の増加した軸部と肥厚した糸球体基底膜に若干認められた。肥厚した糸球体基底膜にはほぼ一致して、糸球体係蹄上皮細胞の扁平化と細胞質内の嚢胞様構造物が見られた (Fig. 31)。Ⅲ期以降、2

つ以上の係蹄にわたる癒着が目立つ様になった。この広範な癒着は、Ⅱ期で観察された一係蹄に限局した癒着と基本的な構造は同様であった (Fig. 29, 30)。癒着部位で、そのボウマン嚢であったと考えられる部には、やや低電子密度の網状、顆粒状物質が充満していた。一方、係蹄構造が残存している部では、その電子密度が増すとともに萎縮し、一部電子密度の低下部位が散見された (Fig. 32)。ボウマン嚢壁側上皮細胞が、接着部位で多層化している像が観察された (Fig. 29)。ボウマン嚢に面していない部位では、露出した糸球体基底膜を糸球体係蹄上皮細胞が再被覆し、局所的に、いわゆる偽腺管 (pseudotubulus) を呈していた (Fig. 29)。局所の癒着部位では、構造が比較的保たれている係蹄も観察された (Fig. 27, 28)。

b) 軸部の変化

I-Ⅱ期では、傍メサンギウム領域に多量の DP が形成されていた (Fig. 19, 22)。DP の沈着とともに、軸部の基質の電子密度が低下し、浮腫性に膨化したメサンギウム融解 (mesangiolysis) の所見を呈した (Fig. 19, 22)。この部位には、しばしば泡沫細胞の存在が認められた (Fig. 22)。軸部を覆う糸球体係蹄上皮細胞には、係蹄壁で述べたと同様の剝離や細胞質の崩壊病変が随伴していた (Fig. 22)。Ⅲ-V期では、軸部の基質の増加、細胞の減少が目立ち、一部では係蹄壁に沿ってメサンギウム細胞の増生 (circumferential interposition) も認められた (Fig. 29, 30, 33)。係蹄とボウマン嚢との癒着部位に連続するメサンギウムには、しばしば著しい基質の増加と泡沫細胞の存在が認められた (Fig. 36)。癒着部位の係蹄軸部が、一部に低電子密度の部と変性細胞質を含んだ高電子密度の無構造物質に変貌している像が観察された (Fig. 34, 35)。

5 病理組織学的所見の要約

ラット血清病腎炎における糸球体の硬化ないし硝子化に至る組織障害は、軸部では、浮腫性沈着性病変から進展するびまん性の硬化と破壊性病変から進展する改築性硬化とに要約できる。末梢側では、糸球体係蹄上皮細胞の障害に始まり、係蹄とボウマン嚢との癒着病変から進展する係蹄の硬化と硝子化が特徴であった。この末梢、軸部の両変化が相俟って、最終的に、硝子化糸球体に至るという複合的な糸球体荒廃の過程を呈した。

考 察

多くの糸球体腎炎は、免疫学的背景を有していると

考えられており、その解析のため、種々の免疫操作を加えることによる実験腎炎の惹起が試みられている。実験的血清病腎炎は、免疫複合体による腎炎のモデルであるが、ラットにおいてはその惹起が困難であった。本実験で用いられた血清病腎炎モデルは、Yamamoto ら³⁾により報告され、予備免疫を行うことが、その後の連続投与に基づく腎炎惹起に有用であることが示されている。事実、今回の実験と同系のラットに卵白アルブミンで予備免疫を行い、4週放置後、肝臓、脾臓、腎糸球体に、有意の抗原提示細胞が存在することが観察されており⁸⁾、この実験系における予備免疫の持つ抗体産生にかかわる重要性が指摘されている。さらに、腎炎の発症が、ほぼ6週と8週放置群に限られるという事実があり、一定の放置期間が有意の抗体産生を誘導する上で必要であることが指摘されている⁹⁾。今回の研究では、糸球体への抗原 (BSA)、抗体 (IgG)、補体 (C₃) の局在をペルオキシダーゼ標識抗体法で検討した。静注開始2週目では、腎炎は発症していないが、抗原と抗体が一部の係蹄壁と軸部に認められた。抗原よりも抗体の方が、量的に多く認められた。この傾向は、腎炎発症時にも観察された。このことは、免疫沈着物の存在局所では、沈着当初から抗体過剰であることを示唆するものと考えられる。また、Ⅱ期では、抗原と抗体との間には、量的に差がなくなっていた。これは、1つには抗体過剰から抗原過剰に転じ、免疫沈着物への過剰抗原の結合による部分的可溶化¹⁰⁾と糸球体係蹄上皮細胞からボウマン嚢腔への係蹄壁の免疫沈着物の流出とが関与していると考えられる。免疫沈着物の存在は光顕的にも電顕的にも糸球体係蹄壁、メサンギウムに認められ、その量的変化が係蹄壁、軸部の透過性の変化とも相俟って、この実験腎炎の慢性化、糸球体の硬化性病変に密接に関係しているとみられる。

係蹄壁に見られた所見では、糸球体係蹄上皮細胞の著しい形態変化があげられよう。この所見は、腎炎発症時点から、持続的蛋白尿とともに継続して見られた。同様の糸球体係蹄上皮細胞の形態変化は、リポイドネフロシスの実験モデルであるアミノスクレオシドネフロシスでも観察され、蛋白尿との関連が指摘されている¹¹⁾¹²⁾。糸球体係蹄上皮細胞の変化は、上皮下の高電子密度沈着物の形成部にほぼ一致して見られることから、糸球体基底膜の透過性亢進に基づく変化であると考えられる。事実、本実験モデルでは、高度の上皮下沈着物が糸球体基底膜の電気的バリアー (charge barrier) を障害して、蛋白尿発現の一因となっ

ていることが観察されている¹³⁾。また慢性期では、同様の変化が、高電子密度沈着物の形成に由来すると考えられる糸球体基底膜の肥厚部やメサンギウム細胞の増生を伴った肥厚部にも見られ、同部では透過性が亢進していることを示唆している。近年、糸球体係蹄上皮細胞の変化のなかでも糸球体係蹄上皮細胞の細胞質の崩壊を含めた糸球体基底膜からの剝離病変は、ネフローゼ型蛋白尿を示す巣状糸球体硬化症との関連性から注目されている¹⁴⁾。糸球体係蹄上皮細胞の剝離について、Cohen ら¹⁵⁾は、濾過された蛋白や液状成分を糸球体係蹄上皮細胞が過剰に吸収することで、細胞質の破綻を生じ、その後、糸球体基底膜が露出するという見解を示しており、蛋白尿に起因する変化と結論している。次に、剝離後に展開する変化が問題となるが、剝離により露出した糸球体基底膜は、通常、隣接する糸球体係蹄上皮細胞の再被覆によって修復されることが知られているが、今回の観察では、ボウマン嚢に近接する糸球体基底膜では、ボウマン嚢壁側上皮細胞によって被覆修復される傾向が強いことがわかった。何故、ボウマン嚢に近接する糸球体基底膜の修復において、糸球体係蹄上皮細胞よりボウマン嚢壁側上皮細胞の方が優位に働くかは不明である。このボウマン嚢壁側上皮細胞による糸球体基底膜の異常な修復は、糸球体基底膜とボウマン嚢基底膜との癒着を生じた。癒着は、非可逆的な変化として残存した。癒着部の係蹄では、基質の増加や内皮下腔に硝子様物質の沈着が進行し、次第に係蹄血管腔は狭小化し、閉塞をきたし、ついには増加した基質ないし硝子様物質に埋めこまれる様になり、局所的な硬化ないし硝子化病変に変貌していく経時的な過程が観察された。同様の病理過程が、ラット馬杉腎炎の慢性期においても認められている¹⁾。また、ヒトの巣状糸球体硬化症の実験モデルとして知られているラットの慢性アミノスクレオシドネフローシス²⁾、ラットの5/6腎切除後の残存腎¹⁶⁾、加齢ラット¹⁷⁾などにも糸球体癒着病変と関連した同様の局所的な硬化ないし硝子化が観察されている。したがって、癒着現象にひき続く硬化ないし硝子化過程自体は、非特異的な現象と考えられる。本実験では、急性期(I-II)、慢性期(III-V期)を問わず、ボウマン嚢壁側上皮細胞による糸球体基底膜の異常な修復が認められた。このことは、局所的な癒着が同一の糸球体に多発性におこることを意味している。新しい癒着病変が付加的に形成されると、隣接する局所的な癒着部同志が次々と連結する様になり、最終的に、全周性の癒着を生じ

た。癒着部が拡大するとともに、虚脱硬化ないし硝子化した係蹄が増加し、次第に末梢部に、血管腔を欠く塊状の硬化ないし硝子化病巣が形成されていく過程が観察された。この過程は、ラット馬杉腎炎の慢性期の糸球体の血管鑄型を用いた走査電顕の観察で、血管腔の占める部分が経過とともに減少していく過程とよく一致している¹⁸⁾。

慢性期の軸部では、びまん性の硬化性病変とともに異常に拡大した改築硬化性病変が認められた。軸部のびまん性変化は、軸部の透過性亢進や沈着物の蓄積による軸部の浄化機能の障害の結果生じた組織障害と考えられている。森田ら¹⁹⁾²⁰⁾は、ハブ毒を用いた腎糸球体障害実験で、メサンギウム融解(mesangiolysis)の経時的な変化について観察しており、それによると融解部は、ひき続く細胞増多を呈する時期を経て次第に基質が増生し、ついには改築硬化病変に至るという。本実験においても改築硬化病変は、急性期に見られたmesangiolysisに由来すると推察される。また、慢性期に見られたcircumferential interpositionは、急性期に軸部だけでなく係蹄内皮下にも強い浮腫性変化が存在したことを意味している²¹⁾。その浮腫性変化の持続が、軸部からのメサンギウム細胞の係蹄壁への伸長と基質の増加を結果したと考えられる。ひき続く係蹄血管内腔の狭窄は、血行動態に影響し、硬化性病変を促進すると考えられる。一方、軸部の上皮側には、係蹄壁に見たとほぼ同様の透過性亢進に基づく上皮障害があり、隣接する露出した糸球体基底膜同志が接着することで、係蹄同志の癒合が生じ、末梢部における塊状の硬化ないし硝子化病巣の形成の一因となっている。

結 語

ラット血清病腎炎における糸球体病変の進展と硬化について形態学的および組織化学的に検討し、以下の結果および結論を得た。

1. 抗原静注開始2週目で腎糸球体の軸部と係蹄壁に沈着物が認められ、腎炎発症時には軸部と係蹄上皮下に多量の沈着物が認められた。これらの沈着物は、電顕的に高電子密度を呈し、組織化学的に免疫結合物であることが考えられた。
2. 糸球体係蹄上皮細胞の著しい形態変化は、腎炎発症時点から持続性蛋白尿とともに継続して見られ、免疫沈着物による糸球体基底膜の障害に起因する変化であることが示唆された。

3. ボウマン嚢に近接する糸球体係蹄での上皮細胞の剝離は、ボウマン嚢壁側上皮細胞による露出した糸球体基底膜の異常な修復を生じ、糸球体基底膜とボウマン嚢基底膜との局所的な癒着に進展した。この局所的な癒着は腎炎の急性期から慢性期を通じて認められた。このことは、局所的な癒着が、同一の糸球体に多発性におこることを意味している。さらに癒着部が増加するとともに、隣接する癒着部同志が連結し、最終的には、全周性の癒着が生じた。

4. 局所的な癒着部における糸球体係蹄は、糸球体基底膜の増加と硝子様物質の沈着により次第に係蹄血管腔が狭窄、閉塞し、ついには局所的な虚脱硬化ないし硝子化病変に変貌した。癒着が拡大するとともに局所的な虚脱硬化ないし硝子化した係蹄が増加し、さらに隣接する係蹄同志の癒合も加わって、末梢部に血管腔を欠く塊状の硬化ないし硝子化病巣が形成された。

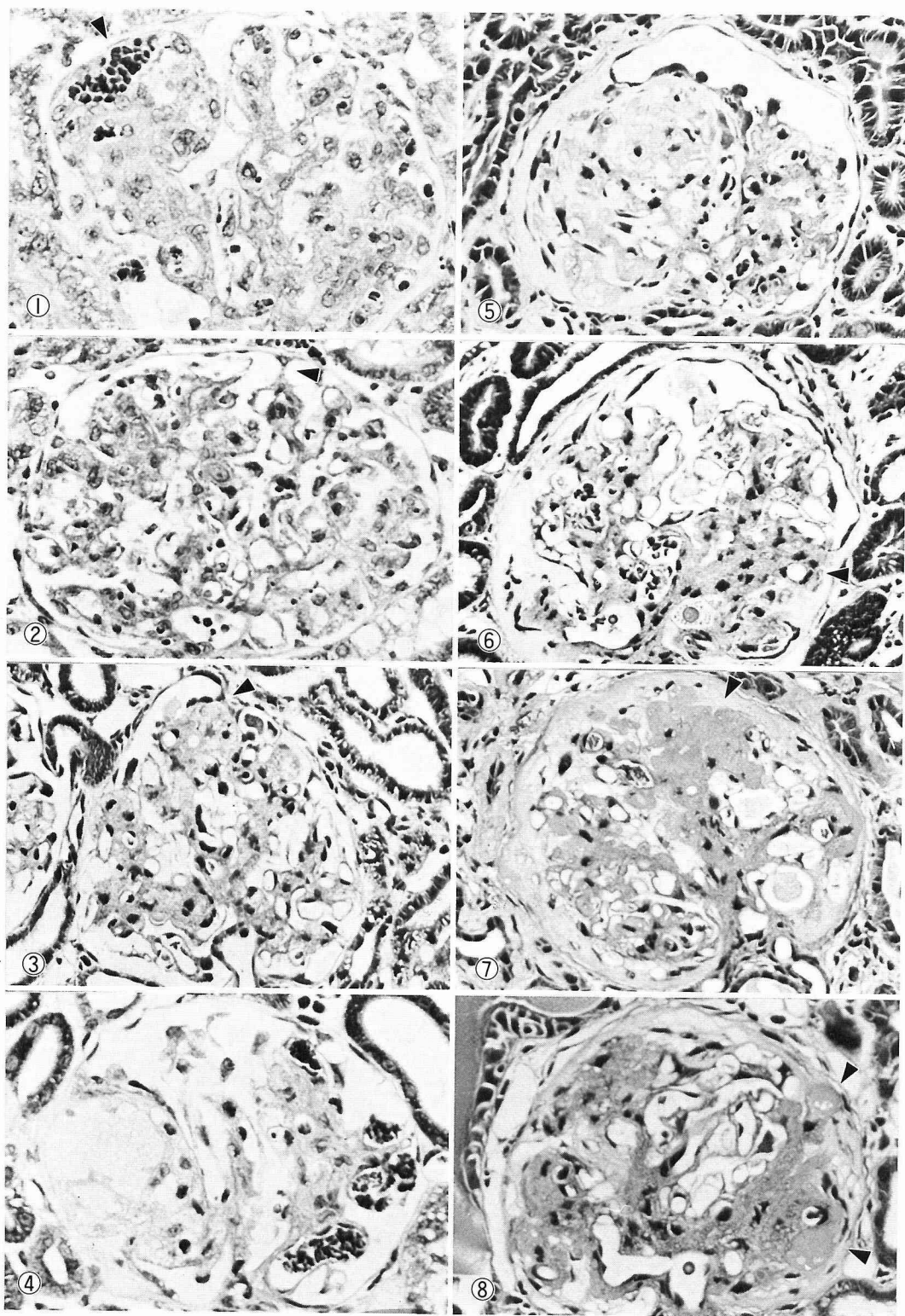
5. 糸球体軸部では、浮腫性沈着性病変から進展したびまん性の硬化と破壊性病変から進展した改築性硬化病変とが認められた。

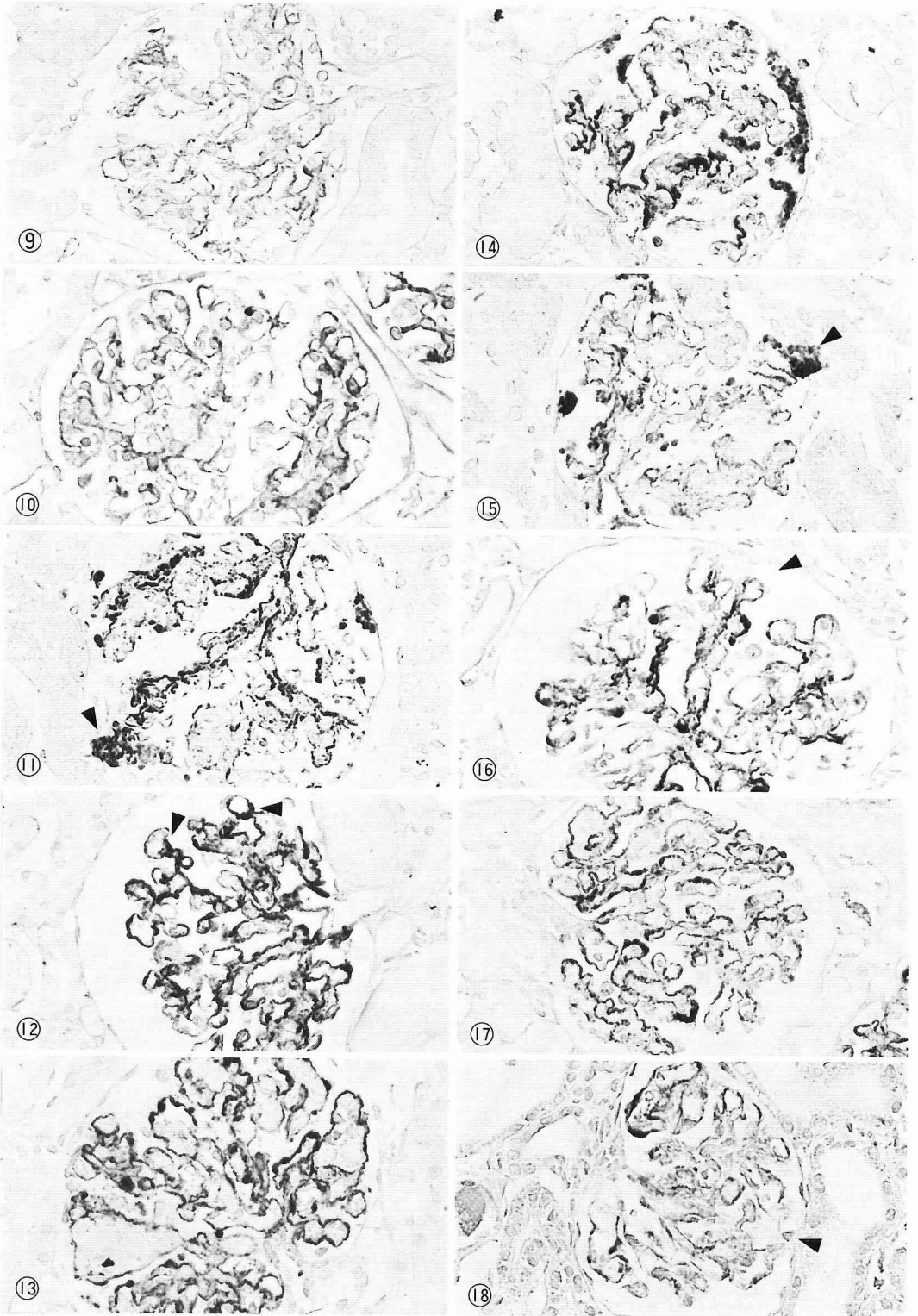
以上の結果より、ラット血清病腎炎の糸球体硬化過程には、係蹄上皮細胞の変性剝離に始まるボウマン嚢との癒着現象と、係蹄軸部の浮腫性融解性変化の両者が基本過程として認められ、その引き金が循環性ないし沈着性の免疫複合体の存在と考えられた。

本論文の要旨は、第74回日本病理学会総会（昭和60年、東京）で発表した。

稿を終わるにあたり懇篤なる御指導・御校閲を賜りました恩師重松秀一教授に深甚なる謝意を表します。さらに標本作製その他に御協力いただきました当教室、山口真貴子氏、西沢朋子氏、青島典子氏ならびに総合研究室の皆様心から感謝の意を表します。

- Fig. 1 Light micrograph of a glomerulus at I-period, stained with MS. Note moderate mesangial widening with cellular proliferation and segmental mesangial cystic expansion at 10-o'clock position (arrow head).
- Fig. 2 Light micrograph of a glomerulus at I-period, stained with MS. A fine cytoplasmic process of the capsular epithelial cell (CEP) is attached to the peripheral glomerular tuft at 1-o'clock position (arrow head).
- Fig. 3 Light micrograph of a glomerulus at II-period, stained with MS. Note multiple adhesion of glomerular tufts with the Bowman's capsule. At one adhesion site, the capsular basement membrane (CBM) is swollen (arrow head).
- Fig. 4 Light micrograph of a glomerulus at II-period, stained with MS. Note a partial adhesion of segmental capillary loop with the Bowman's capsule and the foam cell accumulation beneath the adherent site.
- Fig. 5 Light micrograph of a glomerulus at III-period, stained with MS. The left half of this glomerulus is segregated from the urinary space and enclosed within markedly swollen capsular basement membrane (CBM).
- Fig. 6 Light micrograph of a glomerulus at IV-period, stained with MS. Note one adhesion site, partially thickened capillary wall along with marked mesangial sclerotic enlargement at 3-o'clock position (arrow head).
- Fig. 7 Light micrograph of a glomerulus at V-period, stained with H.E. A segmental sclerotic mass with wrinkled surface appearance, and loss of cellular component and capillary structure, is found at 1-o'clock position (arrow head). The urinary space scarcely remains.
- Fig. 8 Light micrograph of a glomerulus at V-period, stained with H.E. Note deposition of hyaline materials in adherent tufts at 2- and 4-o'clock positions (arrow heads). The urinary space scarcely remains.





Figs. 9-18 Light photomicrographs of glomeruli by immunoperoxidase method.

Fig. 9 Light photomicrograph, stained with rabbit anti-BSA at O-period.

Fig. 10 Light photomicrograph, stained with goat anti-rat IgG at O-period.

Fig. 11 Light photomicrograph, stained with rabbit anti-BSA at I-period.
Note accumulation of reaction products (black) in the glomerular urinary pole (arrow head).

Fig. 12 Light photomicrograph, stained with goat anti-rat IgG at I-period.
Note reaction products in the paramesangium (arrow heads).

Fig. 13 Light photomicrograph, stained with goat anti-rat IgG at I-period.
Note reaction products in the wall of segmental mesangial expansion (arrow head).

Fig. 14 Light photomicrograph, stained with goat anti-rat IgG at I-period.
Note accumulation of reaction products in the urinary space.

Fig. 15 Light photomicrograph, stained with goat anti-rat C₃ at I-period.
Note accumulation of reaction products in the glomerular urinary pole (arrow head).

Fig. 16 Light photomicrograph, stained with rabbit anti-BSA at II-period.
Note no reaction products in the adhesion site (arrow head).

Fig. 17 Light photomicrograph, stained with goat anti-rat IgG at II-period.

Fig. 18 Light photomicrograph, stained with goat anti-rat C₃ at II-period.
Note no reaction products in the adhesion site (arrow head).

Figs.19-34 Electron micrographs of glomeruli, stained with uranyl acetate and lead citrate.

Fig. 19 Electron micrograph of a glomerular tuft and mesangium at I-period. The electron dense deposits are found within the subepithelial space, glomerular basement membrane (GBM) and mesangium (especially paramesangium). In this axial region, the matrix shows low electron density, suggestive of mesangiolysis. Broad flattening of epithelial foot processes is observed on the GBM with subepithelial deposits. $\times 4,127$

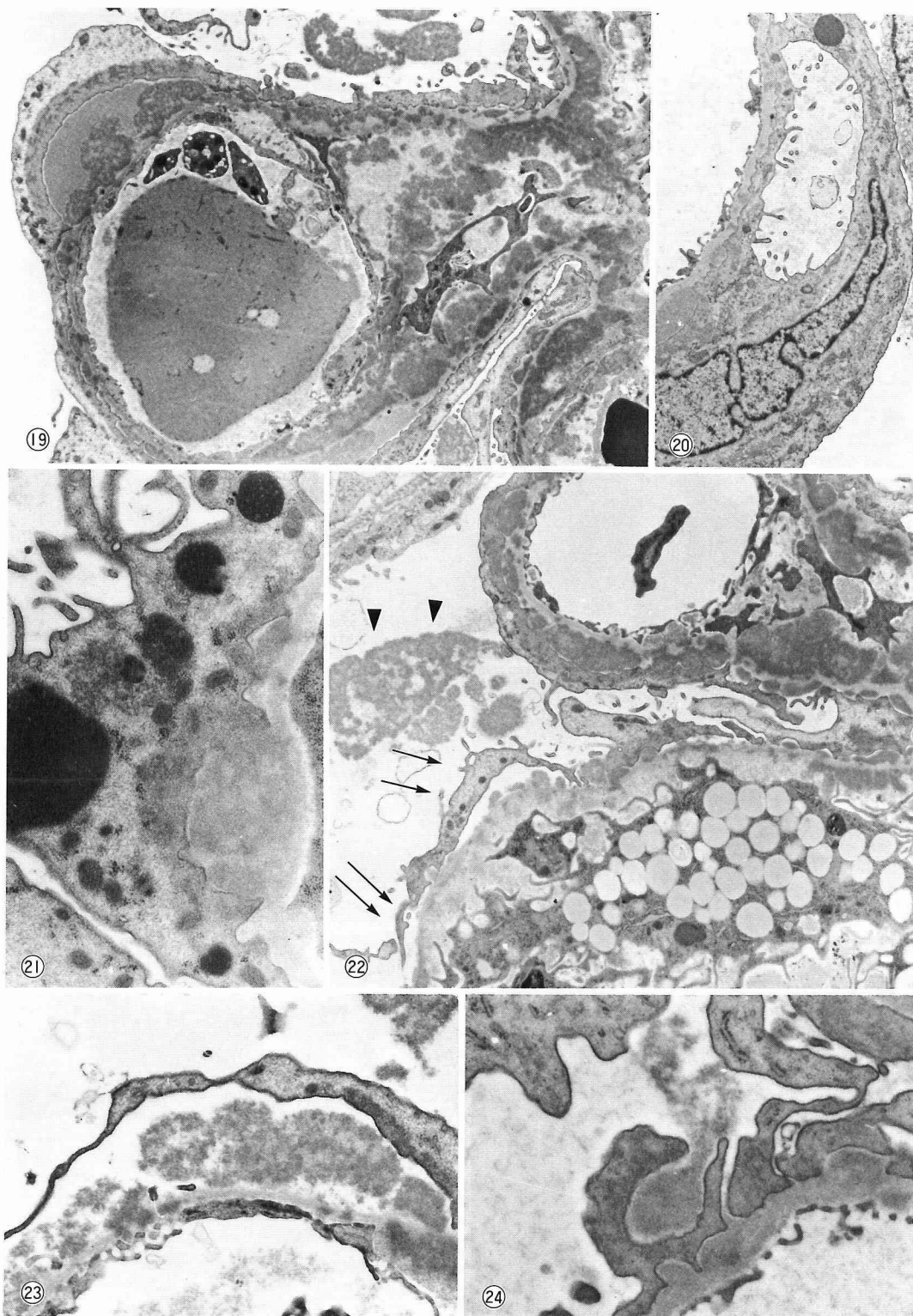
Fig. 20 Electron micrograph of a part of a glomerular tuft at I-period. A cystic structure with microvilli on the inner surface is observed in the flattened epithelial cytoplasm. $\times 5,114$

Fig. 21 Electron micrograph of a part of a glomerular tuft at II-period. Banded accumulation of microfilaments is observed in the epithelial basal part in contact with subepithelial deposits. The same podocyte has microvilli on the outer surface and high electron dense droplets in the cytoplasm. $\times 13,333$

Fig. 22 Electron micrograph of a glomerular tuft and mesangium at I-period. The accumulation of foam cells is observed in the axial region showing mesangiolysis. Partial detachment of the podocyte is found on the same region (arrows). Small mass in the urinary space has similar density to electron dense deposits (arrow heads). $\times 4,479$

Fig. 23 Electron micrograph of a part of a glomerular tuft at I-period. Partial detachment of the podocyte is seen. In this detached area, subepithelial deposits are free from the GBM. $\times 9,167$

Fig. 24 Electron micrograph of a part of a glomerular tuft at I-period. The materials showing similar density to subepithelial deposits flow out from the epithelial cytoplasm. $\times 7,197$



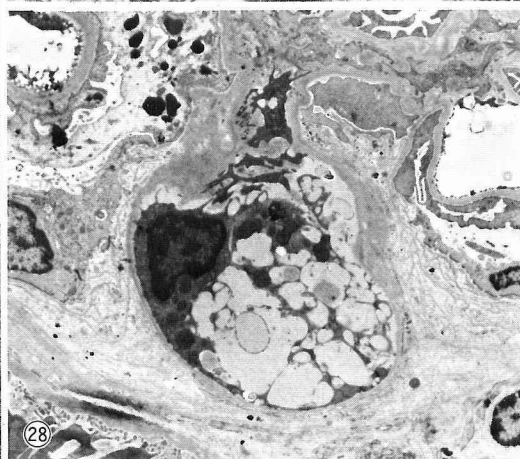
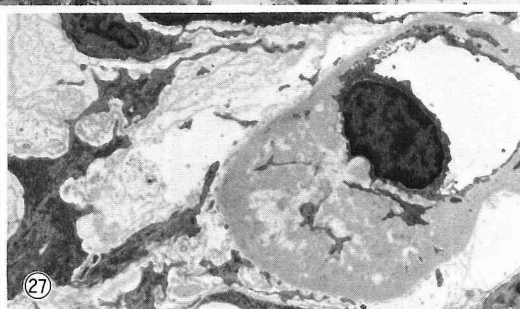
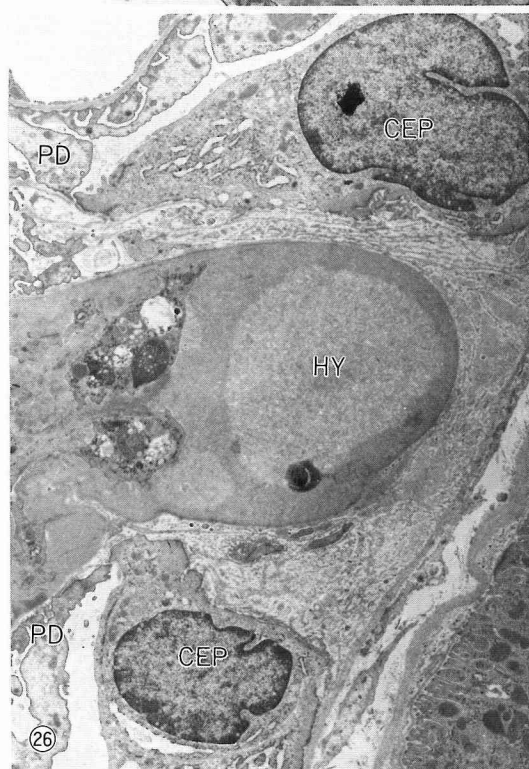
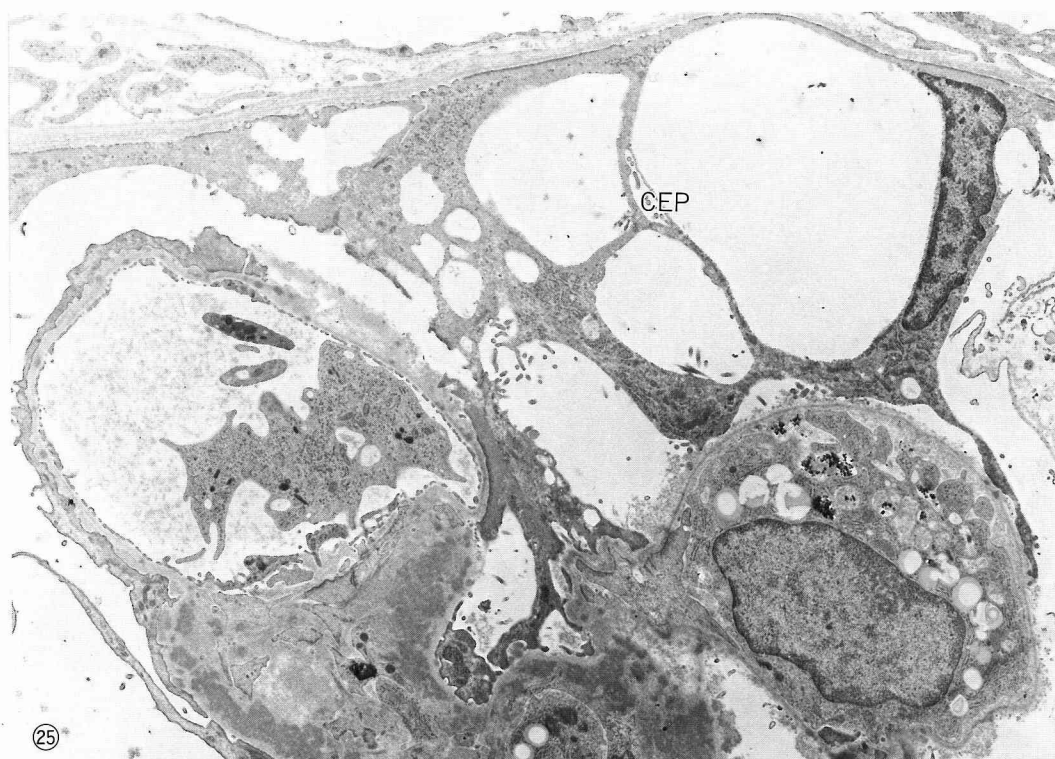


Fig. 25 Electron micrograph of a peripheral glomerular tuft at I-period. The denuded GBM is attached to one swollen capsular epithelial cell (CEP) with some large vacuoles. The foam cell is seen in the capillary lumen without the endothelial sheet. $\times 4,285$

Fig. 26 Electron micrograph of a peripheral glomerular tuft at II-period. Two capsular epithelial cells with mild swollen rough ER are found to cover the hyaline obsolete tuft (HY). These capsular epithelial cells (CEP) are attached to neighboring podocytes (PD). This adherent tuft is enclosed within markedly swollen capsular basement membrane (CBM) containing cellular debris and fine fibrillar substances. $\times 3,765$

Fig. 27 Electron micrograph of a peripheral glomerular tuft at III-period. Note sclerotic thickening of the denuded GBM of the adherent tuft. $\times 3,555$

Fig. 28 Electron micrograph of a peripheral glomerular tuft at III-period. Two capsular epithelial cells are found to cover the denuded GBM. The outline of the tuft is barely preserved. The foam cell is seen in the capillary lumen without the endothelial sheet. $\times 2,800$

Fig. 29 Electron micrograph of a part of a glomerulus at III-period. An adhesion of denuded GBM with layering of capsular epithelial cells is seen (arrow head). The denuded GBM distant from the Bowman's capsule is recovered by neighboring podocytes (arrows). Such podocytes show pseudotubulus. In this area, the urinary space is preserved. $\times 1,186$

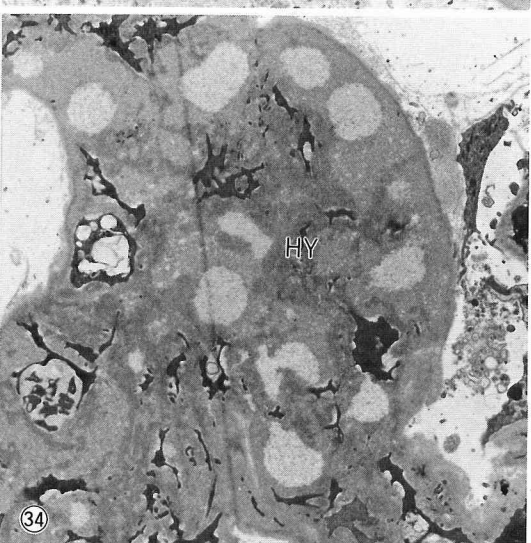
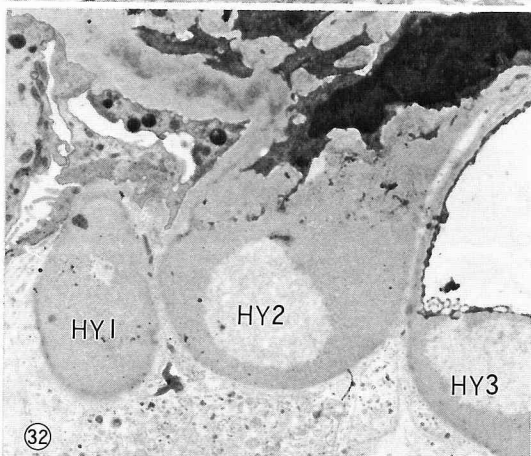
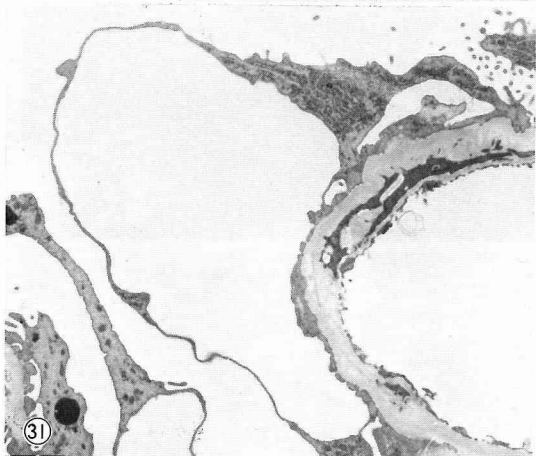
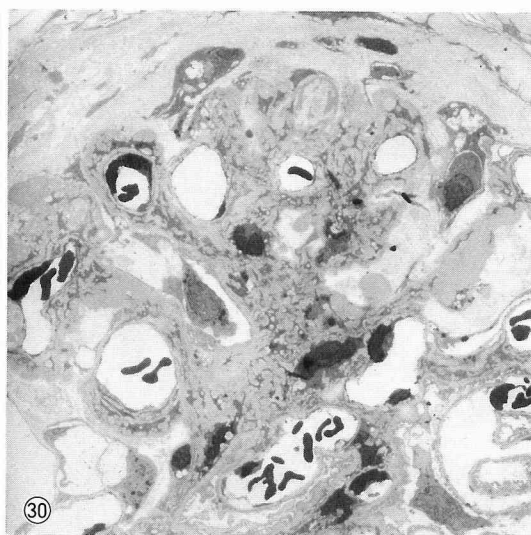
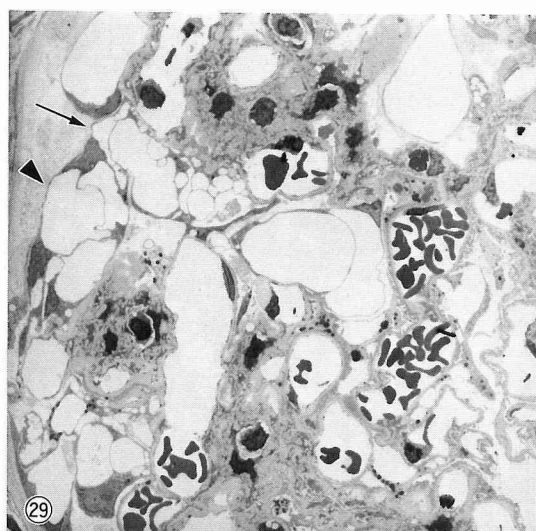
Fig. 30 Electron micrograph of a part of a glomerulus at IV-period. Note segmental sclerosis and/or hyalinosis at adherent glomerular segments. Irregular thickening and/or folding of the GBM with mesangial interposition along with the mesangial sclerotic enlargement is observed. $\times 1,445$

Fig. 31 Electron micrograph of a peripheral glomerular tuft at IV-period. Broad flattening of epithelial foot processes is observed on the thickened GBM with mesangial interposition. A large cystic structure is also observed in the flattened epithelial cytoplasm. $\times 3,409$

Fig. 32 Electron micrograph of a peripheral glomerular tuft at IV-period. Note hyaline obsolete tufts (HY1 and HY2) and deposition of hyaline materials in the subepithelial space (HY3), at adhesion site. $\times 4,952$

Fig. 33 Electron micrograph of a glomerular tuft at IV-period. Note mesangial interposition (MI1 and MI2) and broad flattening of covering epithelial foot processes. $\times 4,167$

Fig. 34 Electron micrograph of a peripheral glomerular tuft at IV-period. The mesangium is entirely obliterated by deposition of hyaline materials (HY). Broad disappearance of epithelial covering is observed at adhesion site. $\times 3,429$



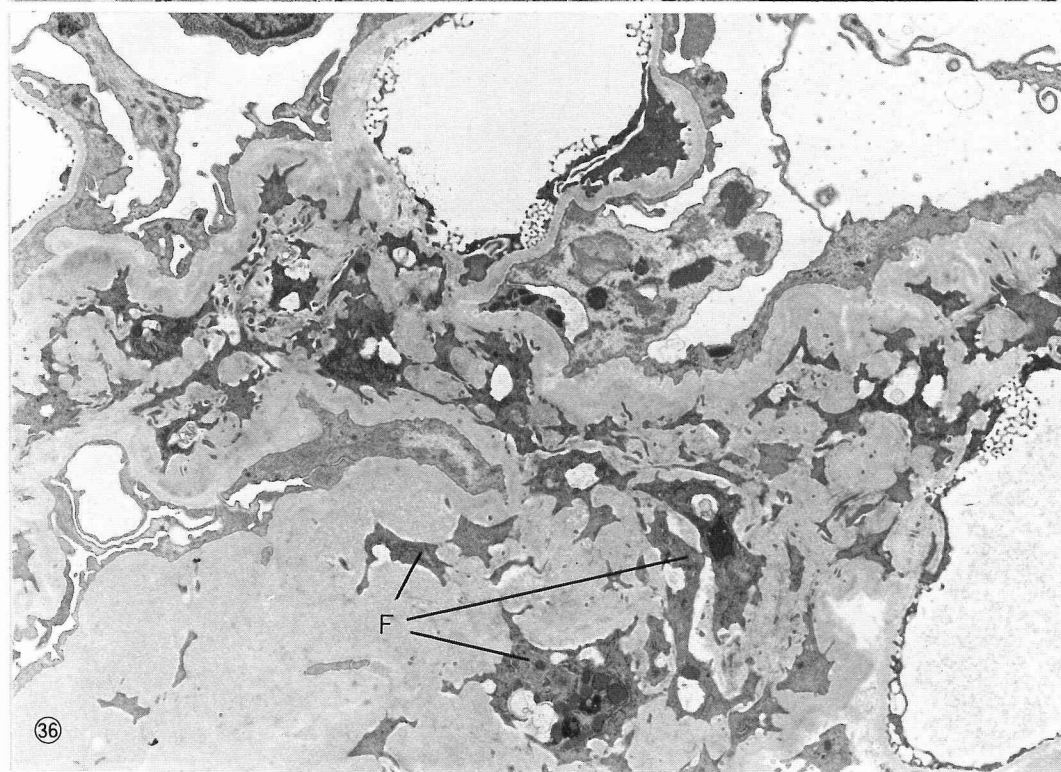
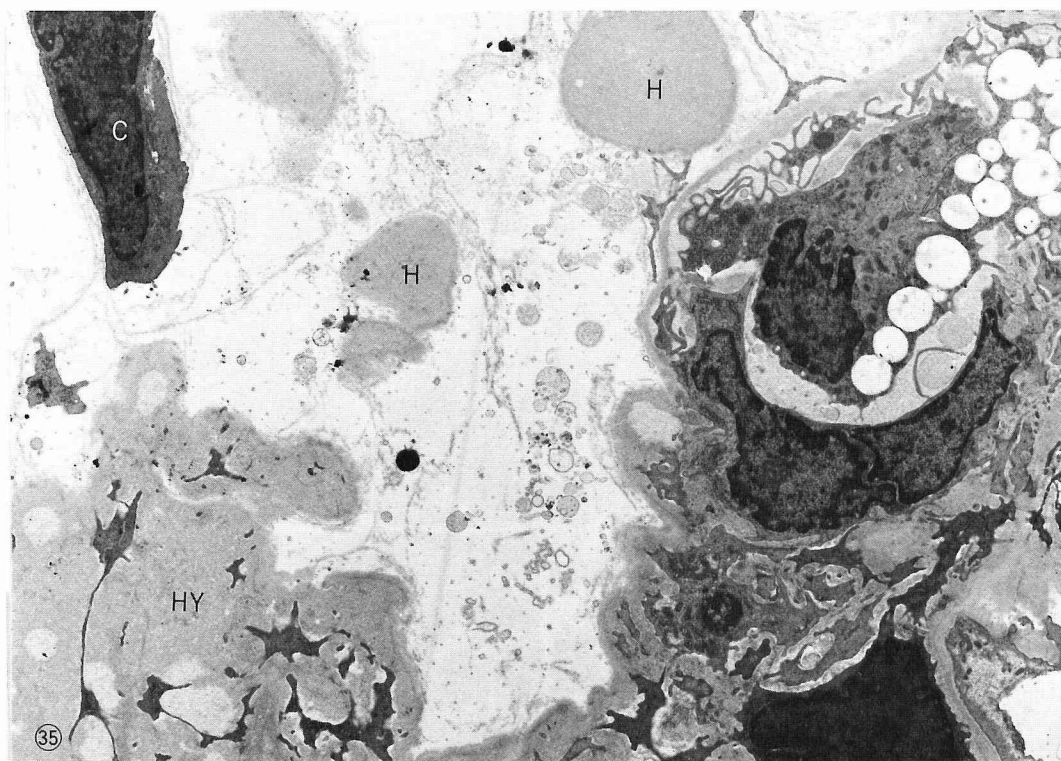


Fig. 35 Electron micrograph of a peripheral glomerular tuft at V-period. Broad disappearance of epithelial covering is observed at adhesion site. Hyaline mass (HY) with wrinkled surface appearance is found. The foam cell is seen in the capillary lumen, partly without the endothelial sheet. C : a floating capsular epithelial cell within the swollen CBM. H : floating hyaline materials. $\times 4,333$

Fig. 36 Electron micrograph of a part of a glomerulus at V-period. A marked increase of the mesangial matrix is observed close to the adhesion site. F : foam cell cytoplasm. $\times 4,436$

文 献

- 1) Kondo, Y. and Akikusa, B. : Chronic Masugi nephritis in the rats. An electron microscopic study on evolution and consequences of glomerular capsular adhesions. *Acta Path Jpn*, 32 : 231-242, 1982
- 2) Glasser, R. J., Veolsa, J. A. and Michael, A. F. : Experimental model of focal sclerosis. I. Relationship to protein excretion in aminonucleoside nephrosis. *Lab Invest*, 36 : 519-534, 1977
- 3) Yamamoto, T., Kihara, I., Morita, T. and Oite, T. : Bovine serum albumin (BSA) nephritis in rats. I. Experimental model. *Acta Path Jpn*, 28 : 859-866, 1978
- 4) Kingsbury, F. B., Clark, C. P., Williams, G. and Post, A. L. : The rapid determination of albumin in urine. *J Lab Clin Med*, 11 : 981-989, 1926
- 5) 堤 寛 : パラフィン切片による光顕的酵素抗体法染色. 渡辺慶一, 中根一穂 (編), 酵素抗体法, pp.72-88, 学際企画, 東京, 1985
- 6) 川生 明 : 酵素抗体法. 日本組織細胞化学会 (編), 組織細胞化学1984, pp.89-110, 学際企画, 東京, 1984
- 7) Reynolds, E. S. : The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *J Cell Biol*, 17 : 208-212, 1963
- 8) Shigematsu, H. and Yano, A. : Antigen presentation and glomerulonephritis. *Acta Path Jpn*, (in press), 1986
- 9) 宮崎 滋, 山本 格 : ラット BSA 腎炎の発症機構, 日腎誌, 27 : 973-975, 1985
- 10) Mannik, M. and Streiker, G. E. : Removal of glomerular deposits of immune complexes in mice by administration of excess antigen. *Lab Invest*, 42 : 483-489, 1980
- 11) Ryan, G. B. and Karnovsky, M. J. : An ultrastructural study of the mechanisms of proteinuria in aminonucleoside nephrosis. *Kidney Int*, 8 : 219-232, 1975
- 12) Caulfield, J. P., Reid, J. J. and Farquhar, M. G. : Alterations of the glomerular epithelium in acute aminonucleoside nephrosis. Evidence for formation of occluding junctions and epithelial cell detachment. *Lab Invest*, 34 : 43-59, 1976
- 13) Uchida, M., Shibata, N., Katoh, M. and Shigematsu, H. : Altered glomerular localization of heparan sulfate proteoglycan in experimental nephritis. *Acta Path Jpn* (in press)
- 14) Grishman, E. and Churg, J. : Focal glomerular sclerosis in nephrotic patients : An electron microscopic study of glomerular podocytes. *Kidney Int*, 7 : 111-122, 1975
- 15) Cohen, A. H., Mampaso, F. and Zamboni, L. : Glomerular podocyte degeneration in human renal disease. An ultrastructural study. *Lab Invest*, 37 : 30-42, 1977
- 16) Olson, J. L., Urdaneta, A. G. and Heptinstall, R. H. : Glomerular hyalinosis and its relation to hyperfiltration. *Lab Invest*, 52 : 387-398, 1985
- 17) Couser, W. G. and Stilmant, M. M. : Mesangial lesions and focal glomerular sclerosis in the aging rats. *Lab Invest*, 33 : 491-501, 1975
- 18) Takizawa, J., Shigematsu, H. and Kondo, Y. : Structural distortion of glomerular capillary loops in the chronic phase of rat Masugi nephritis. *Lab Invest*, 40 : 519-528, 1979
- 19) Morita, T., Kihara, I., Oite, T., Yamamoto, T. and Suzuki, Y. : Mesangiolysis. Sequential ultrastructural study of Habu venom-induced glomerular lesions. *Lab Invest*, 38 : 94-102, 1978
- 20) Morita, T. and Churg, J. : Mesangiolysis. *Kidney Int*, 24 : 1-9, 1983
- 21) Arakawa, M. and Kimmelstiel, P. : Circumferential mesangial interposition. *Lab Invest*, 21 : 276-284, 1969

(60.10.21 受稿)