ラット慢性血清病腎炎発症における 免疫複合体の動態

岡山大学医学部第三内科学教室(指導:太田善介教授)

菰 田 敬 三

(平成2年4月3日受稿)

Key words: Bovine serum albumin, Chronic serum sickness,
Circulating immune complex, Membranous nephritis,
Electron dense deposit

緒 言

Dixon^{1),2),3)}, Germuth^{4),5),6)} らによる家兎を用 いた慢性血清病腎炎(chronic serum sickness: CSS) は、流血中で形成された免疫複合体 (immune complex; IC) の糸球体への沈着に より腎炎が惹起されるいわゆる IC 型腎炎の実 験モデルとして研究が重ねられてきた。しかし この家兎を用いた CSS においては、家兎自体の 免疫反応の個体差が大きく、作成される腎炎の 組織型は多様で一定しない恨みがある. 一方後 に Arisz⁷⁾ によって作成されたラットを用いた CSS は、個体差が少なく、主として糸球体基底 膜 (glomerular basement membrane; GBM) の上皮下に IC を認める膜性腎炎を一定して得 られるすぐれた実験腎炎であり、人の膜性腎炎 発症機序を検討するのによいモデルであるとい える.

この CSS において、膜性腎炎の特徴的な所見である GBM 上皮下の IC の沈着機序については、これまで流血中の抗原過剰域で形成されたサイズの小さい IC の沈着によるものと推定されてきた。しかし今日、サイズ®、荷電®、100,111、121、affinity¹³⁾等 CIC 自体の因子だけではなく糸球体の構造および血行動態、網内系の機能^{14),15),16)}も大きく関与するといわれている。また passive Heymann nephritis の一連の研究^{17),18),19)}により流血中の IC の沈着ではなく、*in situ* IC 形成による膜性腎炎の発症が提唱され、CIC の膜

性腎炎発症機序における役割については不明な点が残されている。そこで今回筆者は、Ariszらの方法によるラット CSS を作成し、solid phase Clq binding radioimmunoassay (RIA) を用いて流血中の免疫複合体(circulating immune complex; CIC)を測定し、膜性腎炎発症における CIC の動態について検討を加えたので報告する。

実験材料と方法

1. 実験材料

実験動物は第7週齢の雌性 Fisher ラット30匹を使用した。Fisher ラットは、Table 1のごとく3群に分類した実験スケジュールに従って免疫した。第 I 群は20匹を用い Arisz らの方法に従い bovine serum albumin (BSA, Sigma Lab.) 3 mgを complete Freund's adjuvant (CFA, Difco Lab.) とともに2週毎3回皮下

Weeks	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1
Stage				- sc			- + I1	· + -		1	v		-4
Group I	BSA in CFA						BSA 1mg			BSA 2mg			
(n+20)	+		ŧ		4		t † † Hills hern fille here here						
Group II (n=5)			BSA 3mg	in	CFA	•••	Sa	line		5	alir	ie	
	Į.		+		4								
Group III			CFA				B:	SA ng	_		SA mg		
(n=5)							++	1 1111	H HH	##	####	* ##	H

Table 1 Experimental schedule of serum sickness in rats.

免疫し、7週後より BSA 1 mgを3回腹腔内投与し、8週後より BSA 2 mgを週6回、第13週まで静脈内投与した、第II群、第III群は各々5匹ずつを用いコントロール群とした。第III群は第 I 群と同様に BSA を皮下免疫し、腹腔内、静脈内投与は生理食塩水を使用した。第III群は CFA 単独で免疫し、腹腔内、静脈内投与は I 群と同様に BSA を投与した。本稿では初回免疫した週を CSS 第1週とし、CSS 第13週までの腎組織、血清、尿を実験材料として用いた。なお BSA の投与方法により CSS 第6週までは皮下免疫期(subcutaneous immunization; SC)、第7週を腹腔内免疫期(intraperitoneal immunization;IP)、第8週から第13週までを静注期(intravenous;IV)と略した。

2. 方 法

- 1) 尿蛋白測定:各ラットを採尿ケージに入れ,週3回24時間蓄尿し,トネイン TP 試薬(大塚アッセイ Lab)を用いて吸光度計(波長590nm)で尿蛋白量を測定した。正常値は7週齢ラットで2±1 mg/day (n=30) であった。
- 2) 血清総蛋白測定:血液は2週毎に尾静脈より採血し、室温にて3,000r. p. m., 10分間遠心分離し、自動分析器を用いて血清総蛋白を測定した。血清総蛋白の正常値は7週齢ラットで6.2±0.6g/dl以下のものをネフローゼラットとした。 V期の採血は静注した BSA の影響を考慮しBSA 静注24時間後とした。
- 3) 血清抗 BSA 抗体価の測定:血清抗 BSA 抗体価は、間接赤血球凝集反応を用いて測定した。羊赤血球(Cellgen, NB Lab)4 ml, 30個を用い、BSA をコーティングし、2.5%の赤血球浮遊液を作成した。被検血清は、56℃、30分非働化後、1%ウサギ非働化血清加 phosphate buffer saline (PBS) にて8倍稀釈し、反応には U 字形マイクロタイター用トレーを用いた。

4) CIC の測定

CIC は solid phase Clq binding RIA により 測定した。solid phase Clq binding RIA は Hay²⁰ らの方法に準じたが、ラットにおける CIC の測定のために、抗体は抗ラット兎 IgG を用い、 標準曲線は aggregate ラット IgG (ARG) を 用いて作成した。測定法はポリスチレンチュー ブ (Falcon, No. 2038) に 1 チューブあたりヒ ト Clq 1 ml(0.01 µg/ml)分注して, 2 時間 4 ℃ で静置し、Clq を管壁に付着させた。過剰の Clq 溶液を吸引除去し、0.05 mol NaCl-0.5%卵白 アルブミン-1.5% Tween 20溶液にて1回洗浄 後, 同液 3 mlをチューブに入れて 2 時間放置後, 吸引除去した. この作業により、被検血清と管 壁との非特異な結合を抑制できる。次に CSS ラ ットから採血,血清分離後,測定まで-70℃で 保存した被検血清を緩衝液にて50倍に稀釈し、 その1mlをチューブに入れ、回転ローターで回 転させながら、4℃、18時間反応させ、Clq に IC を結合させた. その後洗浄し, 125I 標識抗ラ ット IgG 抗体を加えて、同様に 4 ℃、 2 時間回 転反応させ、洗浄後試験管付着放射能活性を γ -シンチレーションカウンターにて測定し, ARG 換算量にて CIC 量を表現した。

使用した Clq は Yonemasu²¹⁾ の方法により 正常人血清より生成分離し、使用前まで−70℃ に貯蔵した。Clq の蛋白濃度は Lowry²²⁾ らの 方法により測定した、標準曲線作成のため使用 した ARG は、63℃、30分加熱することにより 作成し、4℃、5,000G、30分遠心し、不溶性の ARG を取り除いた。ARG の標準曲線は Fig. 1 の如くであった。ウサギ抗ラット IgG は、McConahey と Dixon²³⁾ の方法によりクロラミン T を 用いて ¹²⁵I で標識し、sephadex G-25カラムに とうし非結合 ¹²⁵I を除いた。

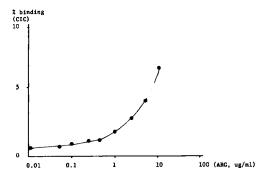


Fig. 1 Standard curve of aggregated rat IgG by solid phase Clq binding RIA.

5) 組織学的検討

腎組織は、光顕、蛍光抗体法、電顕により観察した。光顕標本は、ブアン固定後、パラフィン包埋し、約4 μ の厚さで薄切し、PAS、PAM 染色を施し観察した。また一部の組織はドライアイス・アセトンにて迅速凍結後、 4μ に薄切し、FITC 標識抗ラット IgG、C 3 および抗 BSA 血清(Cappel Lab)を用いて染色し、蛍光顕微鏡により観察した。電顕組織は2.5%グルタールアルデヒド(0.1M、PBS、pH 7.4)で4 $\mathbb C$ 、2時間固定し、さらに 2 %オスミウム酸溶液で後固定した。固定後エポン812に包埋し超薄切片を作成し、酢酸ウラニルと鉛染色液にて二重染色し透過型電顕(日立 H-700、75 KV)で観察した。

結 果

1) 尿蛋白の変動 (Fig. 2-a, b, c) 第 I 群では、尿蛋白は SC 期、IP 期では微量 であり、IP 期に入り CSS の第11週で蛋白尿が出現し始め、その後増加の一途をたどった。第11週では尿蛋白は 129 ± 203 mg/day、第13週では全てのラットで蛋白尿が出現し、 472 ± 222 mg/dayであった。第II、第III群では全期間を通じて尿蛋白は微量であった。

2) 血清総蛋白の変動 (Fig. 2-a, b, c) 第 I 群の血清総蛋白は、SC 期では上昇し、CSS 第 6 週で6.9±0.7 g/dl (n=19) とピークに達した。しかし IV 期にはいり低下し始め、CSS 第12週では5.4±1.2 g/dl (n=13) であった。このうちネフローゼラットは 8 匹で全体の38%であった、第 II 群では CSS 第 6 週で6.9±0.5 g/dl (n=3)、第12週で6.8±0.3 g/dl (n=4)と変化を認めなかった。第III 群でも同様に CSS 第 6 週で6.2±0.4 g/dl (n=3)、第12週で6.2±0.5 g/dl (n=4)と変化は認められなかった。

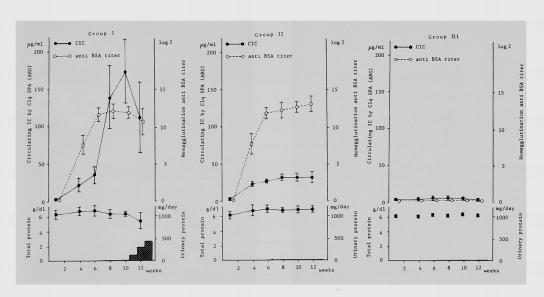


Fig. 2 Relationship of urinary protein excretion, total protein, hemagglutination anti-BSA antibodies titre and circulating immune complexes against time. CIC's were tested by solid phase Clq binding RIA.

- a. Group I : Serum CIC's and anti-BSA antibodies were detectable in high titre for 3-4 weeks prior to the oncet of proteinuria.
- b. Group II; Anti-BSA antibodies titre was high but that of CIC's was not so high. Proteinuria was not seen.
- c. Group III; Anti-BSA antibodies and CIC's were not detectable and no proteinuria was observed.

3) 血中抗 BSA 抗体価の変動 (Fig. 2-a, b, c)

第 I 群では、CSS 第 6 週で 2 ^{11.3±0.9} (n=19)、 第 8 週で 2 ^{12.0±0.8} (n=16)、第10週で 2 ^{11.7±1.3} (n=15)、第12週で 2 ^{10.7±1.4} (n=13) であった。 これは皮下免疫により急激に抗体価が上昇し、 IP、IV 期では非常に高い抗体価が持続しているが、CSS 第12週になり抗体価の低下をみることを示している。第 II 群では第 6 週で 2 ^{11.6±0.6} (n=3)、第12週で 2 ^{12.8±1.0} (n=4) と SC 期、 IP 期、IV 期を通じて高い抗体価が持続していた。第 III 群では抗体産生は認めなかった。

4) CIC の継時的変動 (Fig. 2-a, b, c) 第 I 群では、CIC は CSS 第 4 週で22.4±8.7 μg/ml (n=20)、第 6 週で32.4±9.6μg/ml (n= 19)、第 8 週で138.5±42.3μg/ml (n=16)、第10 週で163.3±43.3μg/ml (n=14)、第12週で 111.9±49.4μg/ml (n=13) であった。CIC は IV 期になって急激に上昇し高値が持続している が、CSS 第12週でやや低下傾向を示した。第12週でCIC の低下したラットは38%(8 匹)であった。第II群では SC 期 $26.3\pm2.0\mu g/ml$ (n=3)、IV 期第12週で $31.0\pm6.9\mu g/ml$ (n=4)



Fig. 3 Light micrograph of a glomerulus of a rat with CSS. Neutrophil infiltration in the glomerular capillary lumina. (arrow) PAS × 400.

Table 2 Time course of immunofluorescent and electron microscopic findings in group I rats.

			I	EM							
Weeks	No.	BSA cap. mes.		IgG cap. mes.		C 3 cap. mes.		subend.		osits subepi.	mes.
(n=1)		(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
6 (n=1)		(-)	(-)	(±)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
7 (n=1)		(-)	(-)	(±)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
9 (n=1)		(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	()	(-)
10 (n=1)		(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
11 (n=2)	1 2	(±) (#)	(-) (±)	(+) (#)	(-) (±)	(+) (#)	(-) (-)	(-) (+)	(-)	(-) (#)	(-) (+)
12 (n=3)	1 2 3	(-) (#) (#)	(-) (+) (+)	(+) (#) (#)	(-) (±) (+)	(±) (#) (#)	(-) (+) (+)	(-) (+) (+)	(+) (+) (+)	(-) (#) (#)	(-) (+) (+)
13 (n=5)	1 2 3 4 5	(#) (#) (#) (#)	(+) (+) (+) (+) (+)	(#) (#) (#) (#) (#)	(+) (+) (+) (+) (+)	(#) (#) (#) (#)	(+) (+) (+) (+) (+)	(#) (+) (+) (+) (+)	(+) (+) (+) (+) (+)	(#) (#) (#) (#) (#)	(+) (+) (+) (+) (+)

と軽度上昇がみられたのみであった。第III群では CIC は認めなかった。

5) 腎組織所見

1. 光顕所見

第 I 群では SC 期, IP 期には明らかな糸球体変化は認められなかった。IV 期の CSS 第 9 週頃から好中球、単球の糸球体毛細血管内腔への浸潤を認め(Fig. 3)第12週で GBM が部分的に肥厚し、一部 spike も形成され、またメサンギウム基質の軽度の肥厚が観察された。増殖性変化、半月体形成、硬化性変化、尿細管、間質の変化は観察されなかった。第 II, 第 III 群では、CSS 第13週まで明らかな糸球体変化は観察されなかった。

2. 蛍光抗体所見 (Table 2)

第 I 群の SC 期, IP 期では、糸球体毛細血管

係蹄壁と間質の血管壁に微量の IgG の沈着が観 察されただけであった。IV 期では、CSS 第9 週でごく部分的ではあるが、末梢の糸球体毛細 血管係蹄壁に IgG 単独の顆粒状沈着が観察され た. さらに CSS 第9週に BSA 静注2時間後 で糸球体を観察したものでは毛細血管内腔に大 量の IC と思われる BSA・IgG・C3 複合体が 観察された (Fig. 4-a) CSS 第10週で初めて, BSA, IgG, C3ともに糸球体毛細血管係蹄壁に そい、び慢性顆粒状の沈着が観察された。(Fig. 4-b) BSA を静注するに従い、輝度は増強し、 CSS 第13週では全ラットで糸球体毛細血管係蹄 壁にそい蛍光輝度の強い,び慢性顆粒状の BSA, IgG, C3の沈着が観察された.しかし一部には第 11週以後では IgG, C3に比べ BSA の輝度は減 弱あるいは消失するものもみられた。第II,第





Fig. 4 a. Glomerulus of a rat with CSS, stained by direct immunofluorescence technique for IgG, immediately after the injection of BSA. A large number of deposits are seen in the glomerular capillary lumina. $\times 200$.

b. Glomerulus of a rat with CSS, stained by direct immunofluorescence technique for IgG. Granular deposits are seen along the glomerular capillary walls and some mesangial area. \times 200.

Ⅲ 群では SC 期から IV 期まで全期間を通じて 特異的な IC の糸球体沈着は観察されなかった。

3. 電顕所見 (Table 2)

第 I 群の IP 期までは、電顕による観察でも 糸球体に変化を認めなかった。血中で大量の IC が形成されている IV 期には糸球体毛細血管内 腔に好中球が浸潤し、好中球の胞体が蛋白様物 質をどん食、処理している所見がみられ、(Fig. 5)また同様に単球の浸潤も観察された。(Fig. 6) IV 期で、蛋白尿が出現した CSS 第11週で は、GBM 上皮下が主であるが GBM 内、内皮 下、メサンギウムにも electron dense deposits



Fig. 5 Electron micrograph of the glomerulus of a rat with CSS at the 10th week, showing phagocytosis of immune complexes or protein (arrow) by polymorphonuclear leucocyte (PMN) in the glomerular capillary lumen. (bar $l\mu$)



Fig. 6 Electron micrograph of the glomerulus of a rat with CSS at the 10th week, showing monocyte infiltration in the glomerular capillary lumen. (bar $l\mu$).

が観察された、内皮下の deposits は少数で、全般に糸球体毛細血管の末梢側に大きな集積物のような形態を呈していた。(Fig. 7)メサンギウムの deposits も少数であり、大きさも小さく、メサンギウム細胞の増殖、基質の増加は軽度であった。第11週の上皮下の deposits は全周性ではなく、巨大な hump 様の deposits が目立ち、その後第12週、第13週では小さいものから中等度のものまで種々の大きさの deposits が全周性に観察された。(Fig. 8)第12週では GBM 内のdeposits は小さく GBM を内皮側から上皮側へ貫通しているように見える deposits も観察された。(Fig. 9)上皮細胞の足突起は上皮下の

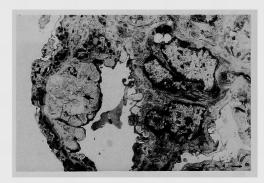


Fig. 7 Electron micrograph of the glomerulus of a rat with CSS at the 11th week, showing subendothelial coarse immune-deposit-like material. (arrow) (bar $l\mu$).

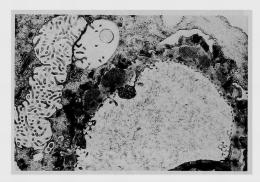


Fig. 8 Electron micrograph of the glomerular capillary walls of a rat with CSS at the 11th week, showing subepithelial and intramembranous electron dense deposits. (bar l\(\mu\)).



Fig. 9 Electron micrograph of the glomerular capillary walls of a rat with CSS at the 12thweek, showing electron dense deposits penetrating from the inner side to the outer side of GBM. (bar l_{μ}).

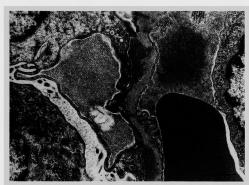


Fig. 10 Electron micrograph of the glomerulus of a rat with CSS at the 11th week, showing protein-like materials in the cyst formed of epithelial foot process. (bar l_{μ})

deposits の出現時期に一致して広範囲に消失融合し、一部足突起が伸展して cyst 状を呈している部分では蛋白様物質が含有されている所見が観察され、(Fig. 10) また hump 様の deposits の部位に一致して接触している上皮細胞の細胞内小器管に電子密度の高い所見を得た。(Fig. 11) CSS 第13週では、GBM には局所的な spike も観察された。第II、第III群では電顕的にも変化を認めなかった。

考案

人の膜性腎炎発症における IC の関与を検討する目的で、ラット CSS 腎炎により実験的膜性腎炎を作成した。今回作成したラット CSS 腎炎

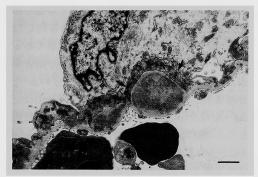


Fig. 11 Electron micrograph of a glomerular epithelial cell of a rat with CSS at the 11th week, showing electron dense zone (arrow) along subepithelial deposits. (bar $l\mu$)

は著明な蛋白尿とともに GBM 上皮下を主とする IC の沈着が観察され、人膜性腎炎類似の所見がえられた。人膜性腎炎では一般的に CIC は低値であると報告されており、また抗原は多くは不明である^{24),25)}. そのため GBM 上皮下にみられる IC が CIC に由来するという見解に関しては否定的な、in situ IC 形成説もある。しかし人膜性腎炎で測定されている CIC は非特異的な検出法によるものであり、必ずしも腎炎惹起性の CIC を測定しているのではないが、HBV腎症、ループス腎炎など CIC の存在が認められている膜性腎炎もある。また人では膜性腎炎発症前には CIC の測定は不可能であり、発症前には CIC が存在する可能性は否定できない。

そこで本研究では、人膜性腎炎の発症機序を実験的に研究する目的で、ラット CSS 腎炎を作成し、腎炎の発症における IC の動態を CIC の測定と糸球体の免疫組織学的変化に注目して検討した。これまで実験腎炎においては CIC を測定した報告はマウスの CSS²⁶⁾ においてみられるが、ラットでは1980年、Abrass²⁷⁾ らが active Heymann 腎炎において測定しているだけである。

先述したように膜性腎炎の発症機序に関しては CIC 説と in situ IC 形成説が提唱されている。 In situ IC 形成説は passive Heymann 腎炎で一連の研究がなされているが、CSS 腎炎では抗原として BSA が使用されており、FxlA を

抗原とする passive Heymann 腎炎とは全く機序が異なっている。抗原の荷電を陽性化した cationic BSA を使用した場合には,抗原である BSA がまず上皮下に沈着し,後で抗体が結合するという。 in situ IC 形成が報告されている「11」、今回使用した抗原は native BSA であり cationic Ag・Ab complex ではない。しかも、そうだとしても抗原のみ沈着した時期は認められなかった。さらに腎炎発症の段階で deposits が内皮側より上皮下へ貫通する所見もえられており、今回の CSS 腎炎が in situ で IC が形成されたものではないと考えられた。

次にこの CSS 腎炎における CIC の性状は如 何なるものであったかを検討した。今回の実験 は in vivo の実験なので明確な抗原抗体比率は 解らないが、抗原を静注し続けたにもかかわら ず CSS 第12週の段階でも抗 BSA 抗体は消費 されてしまうことなく高値を持続した。これは CSS 腎炎が形成された全期間を通じて抗原量が 抗体量より少ないことを意味するもので、抗体 過剰域で IC が形成されていることを示唆する ものである。ただし抗体過剰の程度は明らかで はない、Arisz"らの報告によると上皮下に IC が沈着する以前に一過性にメサンギウムに沈着 した時期があったとしている. これは IC の形 成が BSA を静注することにより抗体過剰から 抗原過剰に傾き, 腎炎形成の初期の段階では抗 体過剰域での lattice の大きい IC が産生され、 その後、抗原過剰域で小さい IC が形成され、 上皮下に沈着したと推察するものである. しか し Noble²⁸⁾ らはラット CSS 腎炎で抗原の投与 量を10mg/day とした場合, 抗原量が増えて早期 に抗原過剰になっているにもかかわらずメサン ギウムに IC が沈着したと報告しており, in vivo では補体による IC の可溶化29),30), 網内系での 処理等が行われ、必ずしも in vitro での定説ど うり抗原抗体比によってのみ IC の沈着部位が 決まるわけではないといえる. 一方, 馬杉31)ら が Aggr. ヒト IgG で作製したラット CSS 腎炎 では、継時的に腎組織に抗原を反応させると、 上皮下に沈着した IC に抗原が結合することよ り、糸球体に沈着している IC は抗体過剰域で できた IC であると報告している。これは筆者 の CSS 腎炎における抗体過剰域での糸球体上皮下への IC の沈着という推測を支持するものである

さらに今回の実験から最も注目すべきことは BSA の静注後 CIC は直ちに高値をとるが腎炎 が発症するまでには数週間の time lag があっ たことである. Fleuren ら32) は in vitro で作成 した IC を動物に静注しているが、腎炎は発症 しないと報告している。この報告と同じことが 今回の実験においても起きている. IV 期には CIC が高値であるにもかかわらず、糸球体上皮下の IC の沈着は認められず、蛋白尿もない、そのⅣ 期で、BSA静脈内投与2時間後に観察したラッ トの糸球体毛細血管内腔には大量の CIC が認め られたにもかかわらず、24時間後に観察したラ ットでは糸球体毛細血管内腔より消失している. 又、この時期には好中球や単球様細胞が糸球体 毛細血管内腔に浸潤し蛋白様物質を処理してい る所見が観察された. この事実は腎炎の発症に は CIC が形成されて網内系が処理をするという サイクルが繰り返され,この間に網内系が飽和 されて CIC の処理能力が低下することが必要で あることを示している。Dixon33) らもウサギ血 清病腎炎の一連の研究において, one-shot の BSA 静注では IC の90%以上が肝の Kupffer 細 胞で除去され、腎炎の発症には長期に抗原を投 与し IC の形成が持続することが必要であると 報告している. 糸球体障害の明らかな CSS にお いては、この IC 形成の持続ということが IC の 病因の最も重要な点である.

以上、AriszのCSS 腎炎を作成して腎炎発症における IC の動態を検討した。現在まで上皮下 IC の沈着する膜性腎炎の発症機序としては、やや抗原過剰域で形成された IC か、陽性荷電の抗原による in situ IC 形成が報告されている。今回の結果より、網内系の処理能力の低下により抗体過剰領域での CIC の沈着によっても上皮下に IC が形成されうるという結論を得たが、その他、抗原、抗体、IC のサイズ、荷電、affinityなどの詳細な検討が今後必要である。

結 語

1. Arisz らの方法により作製したラット CSS

腎炎では GBM 上皮下への抗原、抗体、補体の 沈着はほぼ同時期であり、メサンギウムへの沈 着や抗原のみの沈着は認められなかった. 抗 BSA 抗体価は SC 期より上昇しており、抗原の静注 を続けた静注期においても低下せず、抗体過剰 域の IC の存在が推測された.

2. CIC 値はⅣ期になって初めて高値となり、 腎炎発症まで3-4週間の time lag が存在した。この時期には毛細血管内に大量の IC の沈着、多核白血球、単球の浸潤など網内系による 処理も観察され、腎炎発症には網内系の飽和が 必要であるといえた。

以上より膜性腎炎は抗体過剰域の CIC 形成と その持続による網内系の飽和により惹起される という結果を得た。

稿を終えるにあたり御指導御校閲を賜りました恩師第三内科教授太田善介先生に深謝いたします。さらに御指導頂きました天野哲基講師,本学教育学部助教授高橋香代先生に感謝いたします。

文 献

- 1) Dixon FJ, Vazqez JJ, Weigle WO and Cochrane CG: Pathogenesis of serum sickness. Am Acad Path (1958) 65, 18-28,
- Dixon FJ, Feldman JD and Vazques JJ: Experimental glomerulonephritis. The pathogenesis of a laboratory model resembling the spectrum of human glomerulonephritis. J Exp Med (1961) 113, 899

 —919.
- 3) Unanue ER and Dixon FJ: Experimental glomerulonephritis. Immunological events and pathologic mechanism. Adv Immunol (1967) 6, 1-90.
- 4) Germuth FG, Senterfit LB and Pollak AD: Immune complex disease. I. Experimental acute and chronic glomerulonephritis. Johns Hopkins Med J (1967) 120, 225-241.
- 5) Germuth FG, Senterfit LB and Dressman GR: Immune complex disease. V. The nature of the circulating alterations in the chronic BSA-rabbit system. Johns Hopkins Med J (1971) 130, 344—357.
- 6) Germuth FG, Taylor JT, Siddiqui SY and Rodriguez E: Immune comlex disease. VI. Some determinants of the varieties of glomerular lesions in the chronic bovine serum albumin-rabbit system. Lab Invest (1977) 37, 162—169.
- 7) Arisz L, Noble B, Milgrom M, Brentjens JR and Andres GA: Experimental chronic serum sickness in rats. A model of immune complex glomerulonephritis and systemic immune complex deposition. Int Arch Allergy Appl Immunol (1979) 60, 80—88.
- 8) Koyama A, Niwa Y, Shigematsu H, Taniguchi M and Tada T: Studies on passive serum sickness. II. Factors determining the location of antigen-antibody complexes in the murine renal glomerulus. Lab Invest (1978) 38, 253-262.
- 9) Nagase M and Honda N: Protein permiability and immune complex deposition in glomerular walls of rats. Renal Physiol (1980) 3, 244-249.
- 10) Border WA, Kamil ES, Ward HJ and Cohen AH: Antigenic charge as a determinant of immune complex localization in the rat glomerulus. Lab Invest (1981) 40, 442—4499.
- 11) Border WA, Ward HJ, Kamil ES and Cohen AH: Induction of membranous nephropathy in rabbits by administration of an exogenous cationic antigen. J Clin Invest (1982) 69, 451—461.
- 12) Cavallo T, Goldman M, Graves K and Lambert PH: Altered glomerular permiability in the early phase of immune complex nephritis. Kidney Int (1983) 24, 632—637.
- 13) Steward MW: Chronic immune complex disease in mice. The role of antibody affinity. Clin Exp

- Immunol (1979) 38, 414-423.
- 14) Hunsicker LG, Shearer TP, Palttner SB and Weisenburger D: The role of monocyte in serum sickness nephritis. J Exp Med (1979) 150, 413-425.
- 15) Holdsworti SR, Neale TJ and Wilson CB: Abrogation of macrophage-dependent injury in experimental glomerulunephritis in the rabbit. J Clin Invest (1981) 68, 686—698.
- 16) Sanchez-Crespo M, Alonso J, Barat A and Egido J: Rat serum sickness: possible role of inflammatory mediators allowing deposition of immune complexes in the glomerular basement membrane. Clin Exp Immunol (1982) 49, 631-638.
- 17) Couser WG, Steinmuller DR, Stilmant MM, Salant DJ and Lowenstein M: Experimental glomerulonephritis in the isolated perfused kidney. J Clin Invest (1978) 62, 1275—1287.
- 18) Salant DJ, Darby C and Couser WG: Experimental membranous glomerulonephritis in rats. J Clin Invest (1980) 66, 71—81.
- 19) Nishi T and Nosaka K: Experimental studies on membranous nephropathy I. Studies on morphology and pathogenesis of pasiive Heymann nephritis. Jpn J Nephrol (1983) 25, 937—948.
- 20) Hay FC, Nineham LJ and Roitt IM: Routine assay for the detection of immune complexes of known immunoglobulin class using solid phase Clg. Clin Exp Immunol (1976) 24, 396-400.
- 21) Yonemasu K and Stroud RM: Clq: rapid purification method for preparation of monospecific antisera and biochemical studies. J Immunol (1971) 106, 304—313.
- 22) Lowry OH, Rosenbrogh NJ and Randall RJ: Protein measurement with the Folin phenol reagent. J Biol Chem (1951) 193, 265-269.
- 23) McConahey PJ and Dixon FJ: A method of trace iodination of proteins for immunologic studies. Int Arch Allerg Appl Immunol (1966) 29, 185—189.
- 24) Woodroffe AJ, Border WA, Theofilopoulos AN, Gotze O, Glassock RJ, Dixon FJ and Wilson CB: Detection of circulating immune complexes in patients with glomerulonephritis. Kidney Int (1977) 12. 268-278.
- 25) Border WA: Immune complex detection in glomerular diseases. Nephron (1979) 24, 105-113,
- 26) Chen X, Hiki Y, Aozuka S and Kobayashi Y: Bovine serum albumin (BSA) nephritis in mice. —Its indction and immunoserological analysis—. J Jpn Nophrol (1987) 29, 123—136.
- 27) Abrass CK, Border WA and Glassock RJ: Circulating immune complexes in rats with autologous immune complex nephritis. Lab Invest (1980) 43, 18-27.
- 28) Noble B, Milgrom M, Vanliew J and Brentjens JR: Chronic serum sickness in the rat: influence of antigen dose, route of antigen administration and strain of rat on the development of disease. Clin Exp Immunol (1981) 46, 499-507.
- 29) Miller GW and Nussenzweig V: A new complement function: Solubilization of antigen-antibody aggregates. Proc Natl Acad Sci (1975) 72, 418-422.
- 30) Schifferli JA, Morris SM, Dash A and Peters DK: Complement-mediated solubilization in patients with systemic lupus erythematosus, nephritis or vasculitis. Clin Exp Immunol (1981) 46, 557—564.
- 31) 馬杉洋三,益田幸成,佐野順次郎,小黒辰夫,杉崎祐一,石崎正通:実験的血清病型腎炎における糸球体沈 着免疫複合物の in vitro 抗原結合能について,第22回日本腎臓学会総会(講演)(1982).
- 32) Fleuren G, Grond J and Hoedemaeker PJ: *In situ* formation of subepitherial glomerular immune complexes in pasiive serum sickness. Kidney Int (1980) 17, 631-637.
- 33) Wilson CB and Dixon FJ: Quantitation of acute and chronic serum sickness in the rabbit. J Exp Med (1971) 134, 7-18.

Kinetics of circulating immune complex formation during the induction of chronic serum sickness in rats

Keizo Komoda

Third Department of Internal Medicine, Okayama University Medical School, Okayama 700, Japan

(Director: Prof. Z. Ota)

To study the mechanism of the induction of nephritis, chronic serum sickness (CSS) was induced in Fisher rats and the kinetics of immune complex formation and immunohistological glomerular alterations were studied up to the 13th week following pre-immunization with bovine serum albumin (BSA).

Serum circulating immune complexes (CIC) were detectable in high titer from the 8th week (intravenous stage). After immunization with BSA, serum anti-BSA antibodies increased gradually and remained high in titer even after injection of BSA. At the 9th week, BSA, IgG and C3 were detectable transiently by immunofluorescence in glomerular capillary lumens. Light and electron microscopic findings were normal. At the 12th week, BSA, IgG and C3 were observed by immunofluorescence in glomerular basement membrane and increased in intensity with time. Urinary protein excretion was detected at the 11th week and the amount excreted increased with time.

In conclusion, the change in antibody titer and CIC level indicated a smaller amount of antigens than antibodies during the induction of nephritis and CIC seemed to be formed in antibody excess. In addition, there was a time-lag of several weeks between the onset of nephritis (the onset of proteinuria and the deposition of IC in a glomerulus) and the rise of the CIC titer. The continuation of the high CIC titer and the saturation of the reticuloendothelial system seemed to be necessary to induce CSS nephritis in rats.